

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 1 月 8 日 第 27 卷 第 1 期 (Volume 27 Number 1)



1 / 2019

ISSN 1009-3079



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



述评

- 1 特利加压素治疗肝肾综合征的循证医学依据
张晶巧, 吴云海, 祁兴顺
- 6 胰腺癌免疫治疗的挑战与前景
朱世凯, 许甜, 汪瑞
- 13 DNA甲基化在胰腺癌早期诊断及治疗中的研究进展
卢家俊, 袁周

基础研究

- 20 胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响
陈钟权, 符春茹, 符风亲, 陈颖, 符昌文, 高凌峰

临床研究

- 29 中国宁夏人群HOTAIR单核苷酸多态性与胃癌易感性的相关性研究
姚丽, 冯雅宁, 游颜杰, 罗明, 辛瑞娟

文献综述

- 36 原发性胆汁性胆管炎中胆管上皮细胞损伤的机制研究进展
唐映梅, 余海燕
- 43 酒精性肝病与肠道微生态的研究进展
杨雅, 艾国, 王鸣
- 50 肠道微生物与自身免疫性肝病研究进展与评价
池肇春

临床实践

- 63 CEUS和增强CT对原发性肝癌TACE术后疗效的评估价值比较
张心荣, 欧阳骏, 黄敬垣
- 68 溃疡性结肠炎患者粪菌移植后胃肠道功能及肠道菌群的影响分析
章科清, 江琴, 张海兵

消 息

- 19 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
- 28 《世界华人消化杂志》正文要求
- 35 《世界华人消化杂志》修回稿须知
- 42 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

钟碧慧, 教授, 博士研究生导师, 中山大学附属第一医院感染科主任兼消化内科副主任。现任中华医学会肝病学会脂肪性肝病和酒精性肝病学组秘书、消化病学分会肝胆组及老年医学分会消化病学组委员, 广东省医学会肝脏病学分会副主委兼脂肪肝病学组组长, 广东省肝病学会脂肪肝专业委员会主委等。参与多个中国肝病临床指南的制定, 包括《2018非酒精性脂肪性肝病防治指南》、《2018酒精性肝病防治指南》、《2017脂肪肝中心组织与实施规范》、《2014中国脂肪肝防治指南(科普版)》、《2013中国脂肪性肝病诊疗规范化专家建议》、《2014乙型肝炎相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理》等。

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-01-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 27 Number 1 Jan 8, 2019

EDITORIAL

- 1 Current evidence regarding terlipressin for treatment of hepatorenal syndrome
Zhang JQ, Wu YH, Qi XS
- 6 Prospects and challenges of immunotherapy for pancreatic cancer
Zhu SK, Xu T, Wang R
- 13 Application of DNA methylation in early diagnosis and treatment of pancreatic cancer
Lu JJ, Yuan Z

BASIC RESEARCH

- 20 Effect of piperine on arecoline induced contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits
Chen ZQ, Fu CR, Fu FQ, Chen Y, Fu CW, Gao LF

CLINICAL RESEARCH

- 29 Association between polymorphisms of HOTAIR and risk of gastric cancer in a population in Ningxia, China
Yao L, Feng YN, You YJ, Luo M, Xin RJ

REVIEW

- 36 Progress in research of mechanism of biliary epithelial cell injury in primary biliary cholangitis
Tang YM, Yu HY
- 43 Alcoholic liver disease and intestinal microecology
Yang Y, Ai G, Wang M
- 50 Intestinal microbiome and autoimmune liver disease
Chi ZC

CLINICAL PRACTICE

- 63 Comparison of CEUS and enhanced CT in evaluating efficacy of TACE for hepatocellular carcinoma
Zhang XR, Ouyang J, Huang JY
- 68 Effect of fecal microbiota transplantation on gastrointestinal function and intestinal flora in patients with ulcerative colitis
Zhang KQ, Jiang Q, Zhang HB

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 27 Number 1 Jan 8, 2019

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Bi-Hui Zhong, Professor, Vice-Director of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, NO. 58 Zhongshan Road, Yuexiu District, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date January 8, 2019

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

特利加压素治疗肝肾综合征的循证医学依据

张晶巧, 吴云海, 祁兴顺

张晶巧, 沈阳药科大学 辽宁省沈阳市 110016

吴云海, 沈阳市第六人民医院重症监护病房 辽宁省沈阳市 110006

祁兴顺, 北部战区总医院消化内科 辽宁省沈阳市 110016

张晶巧, 主要从事消化系统疾病相关药物的研究.

作者贡献分布: 本文由张晶巧完成; 由吴云海修改; 由祁兴顺修改及审核.

通信作者: 祁兴顺, 副主任医师, 110016, 辽宁省沈阳市沈河区文化路83号, 北部战区总医院消化内科. xingshunqi@126.com

收稿日期: 2018-09-16

修回日期: 2018-10-26

接受日期: 2018-11-08

在线出版日期: 2019-01-08

Current evidence regarding terlipressin for treatment of hepatorenal syndrome

Jing-Qiao Zhang, Yun-Hai Wu, Xing-Shun Qi

Jing-Qiao Zhang, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Yun-Hai Wu, Intensive Care Unit, the Sixth Hospital of Shenyang, Shenyang 110006, Liaoning Province, China

Xing-Shun Qi, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command (formerly General Hospital of Shenyang Military Area), Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Corresponding author: Xing-Shun Qi, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command (formerly General Hospital of Shenyang Military Area), 83 Wenhua Road, Shenyang 110840, Liaoning Province, China. xingshunqi@126.com

Received: 2018-09-16

Revised: 2018-10-26

Accepted: 2018-11-08

Published online: 2019-01-08

Abstract

Hepatorenal syndrome (HRS) is a serious complication of liver cirrhosis, which is characterized by oliguria, severe urinary sodium retention, and elevated serum creatinine levels. Liver transplantation is the best choice of therapy, but is rarely available. Current mainstay pharmacological therapy is vasoconstrictors with albumin. Terlipressin is a synthetic analog of vasopressin, and it has been used for the treatment of HRS. This article reviews the current status regarding terlipressin in the management of HRS from the perspective of evidence-based medicine.

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

Key Words: Terlipressin; Hepatorenal syndrome; Liver cirrhosis; Noradrenaline; Clinical trial

Zhang JQ, Wu YH, Qi XS. Current evidence regarding terlipressin for treatment of hepatorenal syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 1-5

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/1.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.1>

摘要

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是肝硬化的严重并发症之一, 主要表现为少尿、尿钠潴留和血清肌酐升高. 肝移植是治疗肝肾综合征的最佳方式, 但仅有少部分患者进行了肝移植. 目前药物治疗方式主要为血管收缩剂联合白蛋白. 特利加压素是一种人工合成的血管加压素类似物, 主要用于治疗肝肾综合征. 本文旨在从循证医学角度回顾特利加压素治疗HRS的当前现状.

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

关键词: 特利加压素; 肝肾综合征; 肝硬化; 去甲肾上腺素; 临床试验

核心提要: 目前, 血管活性药物联合白蛋白是肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)的主要药物治疗手段. 循证医学证据显示, 特利加压素联合白蛋白可有效改善HRS患者的肾功能.

张晶巧, 吴云海, 祁兴顺. 特利加压素治疗肝肾综合征的循证医学依据. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 1-5

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/1.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.1>

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是肝硬化的致命性并发症之一^[1-3], 同时也是一种特殊类型的急性肾损伤^[4]. 根据国际腹水委员会, 将肝肾综合征分为两类, 即 I 型肝肾综合征(Hepatorenal syndrome I, HRS I)与 II 型肝肾综合征(Hepatorenal syndrome II, HRS II). HRS I 的特点为进展迅速、预后较差, HRS II 的特点为进展缓慢、预后相对较好^[5]. HRS治疗方法^[6]包括肝移植^[7]、经颈静脉肝内门腔静脉分流术^[8]和血管活性药物^[9](如特利加压素^[10]、去甲肾上腺素、多巴胺和奥曲肽)联合白蛋白. 特利加压素^[11-13]主要用于治疗急性静脉曲张破裂出血^[14,15]和肝肾综合征, 与血管平滑肌细胞的V1受体结合, 收缩血管, 减少门静脉的血流, 降低门静脉的压力^[16]. 特利加压素可降低肾素浓度, 减少血管紧张素 II 产生, 减轻肾脏血管收缩, 增加肾脏血流灌注, 显著增加肾小球滤过率, 增加尿钠排泄^[17]. 特利加压素治疗期间可发生的不良反应^[18]主要有胃肠道症状、低钠血症^[19,20]、皮肤缺血^[21]或坏死和心、肺栓塞等. 本文简要回顾特利加压素治疗HRS的临床试验证据.

1 特利加压素联合白蛋白与白蛋白或安慰剂联合白蛋白比较

目前, 有5项随机对照试验比较了特利加压素联合白蛋白与单独应用白蛋白或安慰剂联合白蛋白治疗HRS的疗效. Neri等^[22]发现了特利加压素联合白蛋白组($n = 26$)肌酐改善显著优于单独应用白蛋白组($n = 26$)($P < 0.001$)(特利加压素组治疗后 $112 \mu\text{mol/L} \pm 32 \mu\text{mol/L}$; 单独应用白蛋白组治疗后 $188 \mu\text{mol/L} \pm 43 \mu\text{mol/L}$), 且特利加压素联合白蛋白组的生存率较单独应用白蛋白组更高($P < 0.0001$). Martin-Llahi等^[23]也发现了对于HRS患者, 特利加压素联合白蛋白组($n = 23$)肾功能改善比率显著优于单独应用白蛋白组($n = 23$)($43.5\% \text{ vs } 8.7\%$, $P = 0.017$), 但两组3 mo生存率无显

著差异($27\% \text{ vs } 19\%$, $P = 0.7$).

Sanyal等^[24]比较了特利加压素联合白蛋白与安慰剂联合白蛋白对HRS I 的疗效. 结果显示, 特利加压素联合白蛋白组($n = 56$)肌酐改善显著优于安慰剂组($n = 56$)($-0.7 \text{ mg/dL vs } 0 \text{ mg/dL}$, $P < 0.009$), 且HRS I 逆转率显著优于安慰剂组($34\% \text{ vs } 13\%$, $P = 0.008$); 尽管特利加压素联合白蛋白组治疗成功率较安慰剂组更高, 但无显著差异($25\% \text{ vs } 12.5\%$, $P = 0.093$); 两组的不良反应发生率相似. Solanki等^[25]发现, 特利加压素联合白蛋白组($n = 12$)较安慰剂组($n = 12$)尿量显著增加($P < 0.05$)(特利加压素组治疗后 $1068 \text{ mL/24 h} \pm 56 \text{ mL/24 h}$; 安慰剂组治疗后 $291 \text{ mL/24 h} \pm 45 \text{ mL/24 h}$), 肌酐清除率显著改善($P < 0.05$)(特利加压素组治疗后 $35 \text{ mL/min} \pm 2.8 \text{ mL/min}$; 安慰剂组治疗后 $9.3 \text{ mL/min} \pm 1.7 \text{ mL/min}$), 平均动脉压显著增加($P < 0.05$)(特利加压素组治疗后 $95 \text{ mmHg} \pm 1.6 \text{ mmHg}$; 安慰剂组治疗后 $70 \text{ mmHg} \pm 1.4 \text{ mmHg}$), 15 d生存率显著增加($41.7\% \text{ vs } 0\%$, $P < 0.05$). Boyer等^[26]发现, 特利加压素联合白蛋白组($n = 97$)HRS I 完全逆转率高于安慰剂组($n = 99$), 但无显著差异($19.6\% \text{ vs } 13.1\%$, $P = 0.22$); 较安慰剂组肌酐显著降低(肌酐降低的平均值: $1.1 \text{ mg/dL vs } 0.6 \text{ mg/dL}$, $P < 0.001$); 两组总体生存率相似. 由此可见, 特利加压素联合白蛋白可有效改善HRS患者的肾功能.

但是, 这些研究仍有一定的局限性, 需要更大样本量的随机双盲试验探讨特利加压素的疗效, 以及特利加压素在不同剂量、疗程情况下的疗效.

2 特利加压素联合白蛋白与去甲肾上腺素联合白蛋白比较

去甲肾上腺素是一种儿茶酚胺, 主要具有 α -肾上腺素能活性, 使内脏动脉血管收缩, 从而改善循环功能, 静脉给药后起效迅速^[27]. 目前, 有7项随机对照试验比较了特利加压素与去甲肾上腺素治疗HRS的疗效.

Sharma等^[28]比较了特利加压素与去甲肾上腺素治疗HRS I 的疗效. 结果显示, 特利加压素组($n = 20$)和去甲肾上腺素组($n = 20$)血肌酐水平均显著降低($P < 0.05$)(特利加压素组治疗后 $1 \text{ mg/dL} \pm 0.4 \text{ mg/dL}$; 去甲肾上腺素组治疗后 $1.2 \text{ mg/dL} \pm 0.5 \text{ mg/dL}$), 肌酐清除率均显著升高($P < 0.05$)(特利加压素组治疗后 $59.8 \text{ mL/min} \pm 14.2 \text{ mL/min}$; 去甲肾上腺素组治疗后 $54.9 \text{ mL/min} \pm 27.5 \text{ mL/min}$), 平均动脉压和尿量均显著增加; 两组肾素活性均降低, 但无显著差异; 特利加压素组有1例严重不良反应. Goyal等^[29]也发现, 特利加压素组($n = 20$)与去甲肾上腺素组($n = 21$)HRS I 逆转率无显著差异($45\% \text{ vs } 47.6\%$, $P = \text{NS}$); 两组血肌酐水平均显著降低, 平均动脉压

均显著增加; 两组均无严重不良反应。Ghosh等^[30]的研究提示, 特利加压素组($n = 23$)和去甲肾上腺素组($n = 23$)HRS II 逆转率无差异(73.9% vs 73.9%, $P = \text{NS}$); 两组90 d的死亡率也无差异(65% vs 61%, $P = \text{NS}$); 两组均无严重不良反应。Singh等^[31]同样发现, 特利加压素组($n = 23$)和去甲肾上腺素组($n = 23$)HRS I 逆转率无显著差异(39.1% vs 43.4%, $P = 0.764$); 两组15 d死亡率无差异; 两组均无严重不良反应。Alessandria等^[32]发现, 特利加压素组($n = 10$)与去甲肾上腺素组($n = 12$)HRS逆转率无显著差异(83% vs 70%, $P = \text{NS}$), 均可显著改善肾脏和循环功能; 两组均无严重不良反应。Sait等^[33]发现, 特利加压素组($n = 30$)HRS逆转率为57%, 去甲肾上腺素组($n = 30$)HRS逆转率为53%。两组在降低血肌酐、增加尿量方面均无差异。这些研究表明, 特利加压素和去甲肾上腺素治疗HRS效果相当。

最近, Arora等^[34]比较了特利加压素与去甲肾上腺素治疗慢加急性肝衰竭合并肝肾综合征的疗效。与去甲肾上腺素组($n = 60$)相比, 特利加压素组($n = 60$)第4 d(26.1% vs 11.7%, $P = 0.03$)和第7 d(41.7% vs 20%, $P = 0.01$)应答率更高; 特利加压素组HRS逆转率更高(40% vs 16.7%, $P = 0.04$); 特利加压素组中需肾脏替代治疗的比率显著降低(56.6% vs 80%, $P = 0.006$); 特利加压素组中28 d生存率明显改善(48.3% vs 20%, $P = 0.001$); 特利加压素组中限制药物使用的不良反应发生率更高(23.3% vs 8.3%, $P = 0.02$)。这项研究表明, 特利加压素联合白蛋白治疗慢加急性肝衰竭合并肝肾综合征的疗效可能优于去甲肾上腺素联合白蛋白。

目前多数研究显示特利加压素与去甲肾上腺素的疗效是相近的。然而, 最近的研究发现在慢加急性肝衰竭合并肝肾综合征患者中特利加压素的疗效可能更佳。

3 特利加压素联合白蛋白与多巴胺联合呋塞米及白蛋白比较

小剂量多巴胺主要作用于多巴胺受体, 使肾及肠系膜血管扩张, 使肾血流量及肾小球滤过率增加, 尿量及钠排泄量增加。静脉滴入后体内分布广泛, 5 min内起效^[35]。目前, 仅有1项随机对照试验比较了特利加压素联合白蛋白与多巴胺联合呋塞米及白蛋白治疗HRS的疗效。

Srivastava等^[36]比较了特利加压素联合白蛋白和多巴胺联合呋塞米及白蛋白治疗HRS的疗效。对于HRS I 患者, 特利加压素联合白蛋白组($n = 20$)和多巴胺联合呋塞米及白蛋白组($n = 20$)24 h尿量和尿钠均显著增加, 血清肾素活性均显著降低; 两组15 d的生存率无差异(21% vs 20%, $P = \text{NS}$); 两组1 mo的生存率也无差异(15.7% vs 15%, $P = \text{NS}$)。对于HRS II 患者, 特利加压素联

合白蛋白组($n = 20$)和多巴胺联合呋塞米及白蛋白组($n = 20$)24 h尿量和尿钠均显著增加, 血清肾素活性均显著降低; 两组15 d的生存率无差异(47% vs 65%, $P = \text{NS}$); 两组1 mo的生存率也无差异(35% vs 31%, $P > 0.2$)。两组均无严重不良反应。研究提示, 特利加压素联合白蛋白和多巴胺联合呋塞米及白蛋白治疗HRS疗效相当。

4 特利加压素联合白蛋白与奥曲肽联合米多君及白蛋白比较

奥曲肽为生长抑素类似物, 可降低内脏血流。米多君为 α_1 肾上腺素受体激动剂, 可使血管收缩^[37]。目前, 仅有1项随机对照试验比较了特利加压素联合白蛋白与奥曲肽联合米多君及白蛋白治疗HRS的疗效。

Cavallin等^[38]比较了特利加压素联合白蛋白和奥曲肽联合米多君及白蛋白治疗HRS的疗效。特利加压素组($n = 27$)逆转肾功能方面显著优于(70.4% vs 28.6%, $P = 0.01$)奥曲肽联合米多君及白蛋白组($n = 22$); 两组1 mo的生存率无显著差异(70% vs 67%, $P = \text{NS}$); 两组3 mo的生存率也无显著差异(59% vs 43%, $P = \text{NS}$)。特利加压素组有1例严重不良反应。总的来说, 这项研究表明, 特利加压素联合白蛋白改善肾功能的效果优于奥曲肽联合米多君及白蛋白。

5 有关特利加压素治疗肝肾综合征的荟萃分析

目前有12项关于特利加压素治疗HRS的荟萃分析^[39-50], 本文主要简述5项研究的结果。Israelsen等^[42]系统评价了10项研究以探讨特利加压素治疗HRS的疗效和安全性。特利加压素和其他血管活性药物在治疗应答、死亡率和严重不良反应事件($\text{RR} = 0.96$)等方面无差异。Nanda等^[40]系统评价了13项研究; 特利加压素较安慰剂($\text{OR} = 4.72$, $P < 0.003$)、米多君联合奥曲肽($\text{OR} = 5.94$, $P < 0.005$)更有效。特利加压素与去甲肾上腺素相比无统计学差异。Sridharan等^[39]系统评价了16项研究; 特利加压素和去甲肾上腺素均可逆转HRS($\text{OR} = 6.65$ 和 6.81), 但死亡率无显著差异($\text{OR} = 0.6$)。Zheng等^[41]系统评价了11项研究; 特利加压素可有效逆转HRS I、降低短期死亡率, 但不良反应较去甲肾上腺素更多。李慧等^[43]发现, 特利加压素联合白蛋白治疗HRS I 较单独应用白蛋白可明显提高HRS缓解率、提高生存率、降低血肌酐水平、升高平均动脉压, 但对尿量无明显影响。

6 持续静脉泵入特利加压素与静脉推注特利加压素的比较

Cavallin等^[44]比较持续静脉泵入与静脉推注特利加压素对HRS的疗效。此项随机对照试验结果显示, 持续

静脉泵入特利加压素不良反应发生率显著低于静脉推注(35.29% vs 62.16%, $P < 0.025$). 两组治疗有效率无统计学差异(76.47% vs 64.85%, $P = \text{NS}$). 持续静脉泵入特利加压素平均日剂量显著低于静脉推注特利加压素($2.23 \text{ mg/d} \pm 0.65 \text{ mg/d}$ vs $3.51 \text{ mg/d} \pm 1.77 \text{ mg/d}$, $P < 0.05$).

7 结论

基于当前临床试验证据, 特利加压素联合白蛋白可有效改善HRS患者的肾功能. 特利加压素联合白蛋白优于奥曲肽联合米多君及白蛋白, 但与去甲肾上腺素联合白蛋白、多巴胺联合呋塞米及白蛋白疗效相似. 已有临床试验仍存在的问题, 仍需扩大样本量以验证上述结论. 未来研究需要更全面地分析临床及实验室指标, 如平均动脉压、肾素、醛固酮水平、一氧化氮合成酶水平等, 以比较不同血管活性药物逆转HRS的潜在机制. 日后也需要更多的临床试验探讨延长特利加压素的给药疗程和增加给药剂量在治疗HRS方面的疗效差异.

8 参考文献

- Angeli P, Merkel C. Pathogenesis and management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S93-S103 [PMID: 18304678 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.010]
- Pillebout E. Hepatorenal syndrome. *Nephrol Ther* 2014; 10: 61-68 [PMID: 24388293 DOI: 10.1016/j.nephro.2013.11.005]
- Prabhu MV, Sukanya B, Santosh Pai BH, Reddy S. The hepatorenal syndrome - a review. *G Ital Nefrol* 2014; 31 [PMID: 25030015]
- 宋廷雪, 祁兴顺, 高帆, 郭晓钟. 肝硬化肝肾综合征急性肾损伤的诊治进展. *临床肝胆病杂志* 2017; 3: 572-576 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.03.039]
- European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 397-417 [PMID: 20633946 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.004]
- 彭阿平, 朱莹. 肝肾综合征的发病机制及诊治的研究进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23:1440-1446 [DOI: 10.11569/wjcd.v23.i9.1440]
- Wong F, Leung W, Al Beshir M, Marquez M, Renner EL. Outcomes of patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome type 1 treated with liver transplantation. *Liver Transpl* 2015; 21: 300-307 [PMID: 25422261 DOI: 10.1002/lt.24049]
- Song T, Rössle M, He F, Liu F, Guo X, Qi X. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for hepatorenal syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis* 2018; 50: 323-330 [PMID: 29422242 DOI: 10.1016/j.dld.2018.01.123]
- Colle I, Laterre PF. Hepatorenal syndrome: the clinical impact of vasoactive therapy. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 12: 173-188 [PMID: 29258378 DOI: 10.1080/17474124.2018.1417034]
- Nguyen-Tat M, Götz E, Scholz-Kreisel P, Ahrens J, Sivanathan V, Schattenberg J, Rey JW, Wörns MA, Galle PR, Marquardt JU. [Response to Terlipressin and albumin is associated with improved outcome in patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome]. *Dtsch Med Wochenschr* 2015; 140: e21-e26 [PMID: 25612289 DOI: 10.1055/s-0040-100444]
- Gluud LL, Christensen K, Christensen E, Krag A. Terlipressin for hepatorenal syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 9: CD005162 [PMID: 22972083 DOI: 10.1002/14651858.CD005162.pub3]
- Rajekar H, Chawla Y. Terlipressin in hepatorenal syndrome: Evidence for present indications. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 109-114 [PMID: 21199521 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06583.x]
- Mazur JE, Cooper TB, Dasta JF. Terlipressin in hepatorenal syndrome. *Ann Pharmacother* 2011; 45: 380-387 [PMID: 21386023 DOI: 10.1345/aph.1P195]
- 周新苗, 祁兴顺, 贾继东. 特利加压素治疗食管胃静脉曲张出血的循证医学依据. *中华肝脏病杂志* 2018; 4: 245-248 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.04.002]
- Ioannou G, Doust J, Rockey DC. Terlipressin for acute esophageal variceal hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; CD002147 [PMID: 12535432 DOI: 10.1002/14651858.cd002147]
- Arroyo V, Fernández J. Management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7: 517-526 [PMID: 21826080 DOI: 10.1038/nrneph.2011.96]
- Papaluca T, Gow P. Terlipressin: Current and emerging indications in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 591-598 [PMID: 28981166 DOI: 10.1111/jgh.14009]
- Zhang J, Zhou X, Zhao H, Deng J, Qi X. Adverse events of terlipressin in liver cirrhosis with acute gastrointestinal bleeding: a clinical pharmacist's real-world observational study. *Dig Med Res* 2018; 1: 2 [DOI: 10.21037/dmr.2018.06.02]
- 祁兴顺, 周新苗, 许向波, 郭晓钟. 肝硬化患者应用特利加压素治疗期间发生低钠血症的现状研究. *医学信息* 2018; 9: 1-3 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2018.09.001]
- Šima M, Pokorný M, Paďour F, Slačanč O. Terlipressin Induced Severe Hyponatremia. *Prague Med Rep* 2016; 117: 68-72 [PMID: 26995205 DOI: 10.14712/23362936.2016.7]
- Sundriyal D, Kumar N, Patnaik I, Kamble U. Terlipressin induced ischaemia of skin. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 23907969 DOI: 10.1136/bcr-2013-010050]
- Neri S, Pulvirenti D, Malaguarnera M, Cosimo BM, Bertino G, Ignaccolo L, Siringo S, Castellino P. Terlipressin and albumin in patients with cirrhosis and type I hepatorenal syndrome. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 830-835 [PMID: 17939047 DOI: 10.1007/s10620-007-9919-9]
- Martín-Llahí M, Pépin MN, Guevara M, Díaz F, Torre A, Monescillo A, Soriano G, Terra C, Fábrega E, Arroyo V, Rodés J, Ginès P; TAHRS Investigators. Terlipressin and albumin vs albumin in patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome: a randomized study. *Gastroenterology* 2008; 134: 1352-1359 [PMID: 18471512 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.024]
- Sanyal AJ, Boyer T, Garcia-Tsao G, Regenstein F, Rossaro L, Appenrodt B, Blei A, Güllberg V, Sigal S, Teuber P; Terlipressin Study Group. A randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of terlipressin for type 1 hepatorenal syndrome. *Gastroenterology* 2008; 134: 1360-1368 [PMID: 18471513 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.014]
- Solanki P, Chawla A, Garg R, Gupta R, Jain M, Sarin SK. Beneficial effects of terlipressin in hepatorenal syndrome: a prospective, randomized placebo-controlled clinical trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 152-156 [PMID: 12542598]
- Boyer TD, Sanyal AJ, Wong F, Frederick RT, Lake JR, O'Leary JG, Ganger D, Jamil K, Pappas SC; REVERSE Study Investigators. Terlipressin Plus Albumin Is More Effective Than Albumin Alone in Improving Renal Function in Patients With Cirrhosis and Hepatorenal Syndrome Type 1. *Gastroenterology* 2016; 150: 1579-1589.e2 [PMID: 26896734 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.05.002]

- 10.1053/j.gastro.2016.02.026]
- 27 Lenz K. Noradrenaline in the treatment of patients with hepatorenal syndrome - back to the roots? *J Hepatol* 2012; 57: 925; author reply 926 [PMID: 22763151 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.008]
- 28 Sharma P, Kumar A, Shrama BC, Sarin SK. An open label, pilot, randomized controlled trial of noradrenaline versus terlipressin in the treatment of type 1 hepatorenal syndrome and predictors of response. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1689-1697 [PMID: 18557715 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01828.x]
- 29 Goyal O, Sidhu SS, Sehgal N, Puri S. Noradrenaline is as Effective as Terlipressin in Hepatorenal Syndrome Type 1: A Prospective, Randomized Trial. *J Assoc Physicians India* 2016; 64: 30-35 [PMID: 27762512]
- 30 Ghosh S, Choudhary NS, Sharma AK, Singh B, Kumar P, Agarwal R, Sharma N, Bhalla A, Chawla YK, Singh V. Noradrenaline vs terlipressin in the treatment of type 2 hepatorenal syndrome: a randomized pilot study. *Liver Int* 2013; 33: 1187-1193 [PMID: 23601499 DOI: 10.1111/liv.12179]
- 31 Singh V, Ghosh S, Singh B, Kumar P, Sharma N, Bhalla A, Sharma AK, Choudhary NS, Chawla Y, Nain CK. Noradrenaline vs. terlipressin in the treatment of hepatorenal syndrome: a randomized study. *J Hepatol* 2012; 56: 1293-1298 [PMID: 22322237 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.01.012]
- 32 Alessandria C, Ottobrelli A, Debernardi-Venon W, Todros L, Cerenzia MT, Martini S, Balzola F, Morgando A, Rizzetto M, Marzano A. Noradrenalin vs terlipressin in patients with hepatorenal syndrome: a prospective, randomized, unblinded, pilot study. *J Hepatol* 2007; 47: 499-505 [PMID: 17560680 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.04.010]
- 33 Saif RU, Dar HA, Sofi SM, Andrabi MS, Javid G, Zargar SA. Noradrenaline versus terlipressin in the management of type 1 hepatorenal syndrome: A randomized controlled study. *Indian J Gastroenterol* 2018 [PMID: 30178092 DOI: 10.1007/s12664-018-0876-3]
- 34 Arora V, Maiwall R, Vijayaraghavan R, Jindal A, Saggere Muralikrishna S, Kumar G, Jain P, Sarin SK. Terlipressin is superior to noradrenaline in the management of acute kidney injury in acute on chronic liver failure. *Hepatology* 2018 [PMID: 30076614 DOI: 10.1002/hep.30208]
- 35 Bennett WM, Keeffe E, Melnyk C, Mahler D, Rösch J, Porter GA. Response to dopamine hydrochloride in the hepatorenal syndrome. *Arch Intern Med* 1975; 135: 964-971 [PMID: 1156055]
- 36 Srivastava S, Shalimar, Vishnubhatla S, Prakash S, Sharma H, Thakur B, Acharya SK. Randomized Controlled Trial Comparing the Efficacy of Terlipressin and Albumin with a Combination of Concurrent Dopamine, Furosemide, and Albumin in Hepatorenal Syndrome. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5: 276-285 [PMID: 26900268 DOI: 10.1016/j.jceh.2015.08.003]
- 37 Angeli P, Volpin R, Gerunda G, Craighero R, Roner P, Merenda R, Amodio P, Sticca A, Caregaro L, Maffei-Faccioli A, Gatta A. Reversal of type 1 hepatorenal syndrome with the administration of midodrine and octreotide. *Hepatology* 1999; 29: 1690-1697 [PMID: 10347109 DOI: 10.1002/hep.510290629]
- 38 Cavallin M, Kamath PS, Merli M, Fasolato S, Toniutto P, Salerno F, Bernardi M, Romanelli RG, Colletta C, Salinas F, Di Giacomo A, Ridola L, Fornasiere E, Caraceni P, Morando F, Piano S, Gatta A, Angeli P; Italian Association for the Study of the Liver Study Group on Hepatorenal Syndrome. Terlipressin plus albumin versus midodrine and octreotide plus albumin in the treatment of hepatorenal syndrome: A randomized trial. *Hepatology* 2015; 62: 567-574 [PMID: 25644760 DOI: 10.1002/hep.27709]
- 39 Sridharan K, Sivaramakrishnan G. Vasoactive Agents for Hepatorenal Syndrome: A Mixed Treatment Comparison Network Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis of Randomized Clinical Trials. *J Gen Intern Med* 2018; 33: 97-102 [PMID: 28924736 DOI: 10.1007/s11606-017-4178-8]
- 40 Nanda A, Reddy R, Safraz H, Salameh H, Singal AK. Pharmacological Therapies for Hepatorenal Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Gastroenterol* 2018; 52: 360-367 [PMID: 28991106 DOI: 10.1097/mcg.0000000000000913]
- 41 Zheng JN, Han YJ, Zou TT, Zhou YJ, Sun DQ, Zhong JH, Braddock M, Zheng MH. Comparative efficacy of vasoconstrictor therapies for type 1 hepatorenal syndrome: a network meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 1009-1018 [PMID: 28708431 DOI: 10.1080/17474124.2017.1356223]
- 42 Israelsen M, Krag A, Allegretti AS, Jovani M, Goldin AH, Winter RW, Gluud LL. Terlipressin versus other vasoactive drugs for hepatorenal syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 9: CD011532 [PMID: 28953318 DOI: 10.1002/14651858.CD011532.pub2]
- 43 李慧, 金哲, 吴利娟, 白艳丽, 顾俊霞, 金建军. 特利加压素联合白蛋白治疗 I 型肝肾综合征疗效的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2016; 24: 4805-4812 [DOI: 10.11569/wcjd.v24.i36.4805]
- 44 Cavallin M, Piano S, Romano A, Fasolato S, Frigo AC, Benetti G, Gola E, Morando F, Stanco M, Rosi S, Sticca A, Cillo U, Angeli P. Terlipressin given by continuous intravenous infusion versus intravenous boluses in the treatment of hepatorenal syndrome: A randomized controlled study. *Hepatology* 2016; 63: 983-992 [PMID: 26659927 DOI: 10.1002/hep.28396]
- 45 Sagi SV, Mittal S, Kasturi KS, Sood GK. Terlipressin therapy for reversal of type 1 hepatorenal syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 880-885 [PMID: 20074149 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06132.x]
- 46 Fabrizi F, Dixit V, Martin P. Meta-analysis: terlipressin therapy for the hepatorenal syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 935-944 [PMID: 16948805 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03086.x]
- 47 Gluud LL, Christensen K, Christensen E, Krag A. Systematic review of randomized trials on vasoconstrictor drugs for hepatorenal syndrome. *Hepatology* 2010; 51: 576-584 [PMID: 19885875 DOI: 10.1002/hep.23286]
- 48 Dobre M, Demirjian S, Sehgal AR, Navaneethan SD. Terlipressin in hepatorenal syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol* 2011; 43: 175-184 [PMID: 20306131 DOI: 10.1007/s11255-010-9725-8]
- 49 Mattos ÁZ, Mattos AA, Ribeiro RA. Terlipressin versus noradrenaline in the treatment of hepatorenal syndrome: systematic review with meta-analysis and full economic evaluation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016; 28: 345-351 [PMID: 26649801 DOI: 10.1097/meg.0000000000000537]
- 50 Nassar Junior AP, Farias AQ, D' Albuquerque LA, Carrilho FJ, Malbouissou LM. Terlipressin versus norepinephrine in the treatment of hepatorenal syndrome: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9: e107466 [PMID: 25203311 DOI: 10.1371/journal.pone.0107466]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



胰腺癌免疫治疗的挑战与前景

朱世凯, 许甜, 汪瑞

朱世凯, 许甜, 汪瑞, 电子科技大学附属医院·四川省人民医院肝胆胰外科·器官移植中心 四川省成都市 610072

朱世凯, 副教授, 副主任医师, 主要从事胰腺癌发病机制与防治的研究。

作者贡献分布: 本文由朱世凯、许甜及汪瑞共同完成。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81402029; 四川省卫生健康委员会科研课题, No. 16PJ429。

通讯作者: 朱世凯, 副教授, 副主任医师, 610072, 四川省成都市青羊区一环路西二段32号, 电子科技大学附属医院·四川省人民医院肝胆胰外科·器官移植中心。zhushikai37@163.com
电话: 028-87393707

收稿日期: 2018-09-12

修回日期: 2018-10-24

接受日期: 2018-11-08

在线出版日期: 2019-01-08

Prospects and challenges of immunotherapy for pancreatic cancer

Shi-Kai Zhu, Tian Xu, Rui Wang

Shi-Kai Zhu, Tian Xu, Rui Wang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Organ Transplant Center, Hospital of University of Electronic Science and Technology of China and Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81402029; Research Project of Health Commission of Sichuan Province, No. 16PJ429.

Corresponding author: Shi-Kai Zhu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Organ Transplant Center, Hospital of University of Electronic Science and Technology of China and Sichuan Provincial People's Hospital, No. 32, West 2nd Section, First Ring Road, Qingyang District, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. zhushikai37@163.com

Received: 2018-09-12

Revised: 2018-10-24

Accepted: 2018-11-08

Published online: 2019-01-08

Abstract

Pancreatic cancer is a highly malignant digestive system tumor with an extremely poor prognosis. It has been reported that pancreatic cancer has now surpassed breast cancer as the third leading cause of cancer death in the United States. Due to its low early diagnosis rate, most patients have lost the chance of surgery at the time of diagnosis. However, various treatment strategies (like radiotherapy, chemotherapy, targeted therapy, etc.) have not been able to significantly improve their survival rate. A large body of evidence suggests that an important cause of high lethality in pancreatic cancer is the immune privilege of tumors driven by factors such as immunosuppressive microenvironment, low T cell infiltration, and low gene mutation load. In recent years, tumor immunotherapy has become a hot spot in the field of oncology, and significant progress has been made in the treatment of pancreatic cancer. At present, various new immunotherapies such as immunological checkpoint blockers, adoptive cell therapy, and tumor vaccine have entered the clinical or preclinical stage, and all of them have hope to become a new treatment strategy to improve the treatment of patients with pancreatic cancer. Here, we briefly summarize the recent advances in immunotherapy for pancreatic cancer that is being researched and promising in recent years, as well as the challenges and prospects, with an aim to open up new horizons for the development of new and effective immunotherapy for pancreatic tumors.

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

Key Words: Pancreatic cancer; Immunotherapy; Immune checkpoint; Cancer vaccine; Adoptive cell therapy

Zhu SK, Xu T, Wang R. Prospects and challenges of immunotherapy for pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 6-12
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/6.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.6>

摘要

胰腺癌是一种恶性程度极高的消化系统恶性肿瘤, 预后极差. 有报告称胰腺癌当前已超过乳腺癌成为美国第三位的癌症死亡病因. 由于胰腺癌早期诊断率较低, 大多数患者在确诊时已失去手术的机会, 而且各种现有的治疗策略(如放疗、化疗、靶向治疗等)尚无法显著提高其生存率. 大量证据表明导致胰腺癌高致死性的一个重要原因是由免疫抑制微环境, T细胞浸润低和基因突变负荷低等因素驱动而获得的肿瘤免疫特权. 近年来, 肿瘤免疫治疗已成为肿瘤学领域的热点, 在胰腺癌的治疗方面也取得了显著的进展. 目前, 各种新的免疫治疗策略如免疫检查点阻断剂, 过继性细胞疗法和肿瘤疫苗等已进入临床或临床前期阶段, 都有希望成为提高胰腺癌患者救治率的新治疗手段. 因此, 本文简要概括近些年正在研究且有希望的胰腺癌免疫疗法的最新进展, 以及当前所面临的挑战与前景, 为以后研发新的高效的胰腺癌免疫治疗手段开阔视野.

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

关键词: 胰腺癌; 免疫治疗; 免疫检查点; CAR-T疗法; 肿瘤疫苗

核心提要: 研究表明胰腺癌高致死性归因于由免疫抑制微环境, T细胞浸润低和基因突变负荷低等因素驱动而获得的肿瘤免疫特权. 目前, 各种新的免疫治疗的手段如免疫检查点阻断剂, 过继性细胞疗法和肿瘤疫苗等已进入临床或临床前期阶段, 都有希望成为提高胰腺癌患者救治率的新治疗策略.

朱世凯, 许甜, 汪端. 胰腺癌免疫治疗的挑战与前景. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 6-12

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/6.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.6>

0 引言

胰腺癌是一种恶性程度极高的消化系统恶性实体肿瘤. 根据美国癌症协会最新数据报告, 目前胰腺癌已超过乳腺癌成为美国第3位的癌症死亡病因, 仅次于肺癌和结肠癌, 5年存活率仅为8%^[1]. 近年来, 胰腺癌的发病率和死亡率都在不断增加, 预计到2030年它将成为癌症死亡病因的第2位^[2]. 目前, 胰腺癌的临床治疗仍采用以根治性手术为主, 放化疗为辅的综合策略. 由于胰腺癌早期发现困难, 又缺乏有效的筛查指标, 绝大多数患者在确诊时已处于肿瘤晚期, 致使仅有不到20%的患者具有手术根治的机会^[3]; 而对于晚期胰腺癌患者多采用姑息性治疗手段如化疗等, 预后更差. 吉西他滨是胰

腺癌的一线化疗药物, 有研究表明采用吉西他滨和厄洛替尼联合治疗仅能使胰腺癌患者中位生存期延长约2 wk^[4]; 而联合吉西他滨与白蛋白结合型紫杉醇也只能使其位生存期延长2-4 mo^[5]. 另外, 与吉西他滨为主的化疗方案相比, 采用FOLFIRINOX联合化疗虽能使胰腺癌患者的中位生存期延长1倍, 但同时也大大增加了化疗的毒副作用^[6].

近年来, 人们发现胰腺癌细胞是通过动员宿主各种免疫细胞, 建立一个免疫抑制性肿瘤微环境, 来逃避宿主免疫监视的. 因此, 靶向和恢复宿主的肿瘤免疫力可作为一种治愈胰腺癌患者强有力的治疗策略. 近年来, 肿瘤免疫治疗已成为肿瘤学领域的热点, 在胰腺癌的治疗方面也取得了显著的进展. 目前, 各种新的免疫治疗的策略如免疫检查点阻断剂, 过继性细胞疗法和肿瘤疫苗等已进入临床或临床前期阶段, 都有希望成为提高胰腺癌患者救治率的新治疗手段. 因此, 本文就近些年正在研究且有希望的胰腺癌的免疫疗法如免疫检查点抑制剂、过继性细胞疗法以及肿瘤疫苗等的最新进展, 以及当前所面临的困境与前景进行简要述评, 为以后研发新的高效的胰腺癌免疫治疗手段开阔视野.

1 胰腺癌免疫治疗的概况

机体免疫系统与肿瘤细胞的对抗过程主要经历三个不同阶段: 消除期、平衡期和逃避期. 在肿瘤消除期, 机体免疫系统能够识别并消除恶性转化的细胞, 随后逃离消除期的恶性转化细胞会进入平衡期; 在平衡期, 肿瘤细胞通过改变自身的基因组和构建适合生存的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)使其早期病变能够存活; 最后在肿瘤逃避期, 肿瘤细胞将募集免疫抑制细胞如骨髓衍生抑制细胞(marrow-derived suppressor cell, MDSC), 调节性T细胞(regulatory T cells, Treg细胞)以及肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)营建一个免疫抑制的肿瘤微环境, 逃避宿主免疫监视, 致使肿瘤的发生和发展^[7].

肿瘤免疫治疗是一种当前备受瞩目的新型抗癌疗法, 旨在提高肿瘤细胞的免疫原性, 激发和增强机体抗肿瘤免疫应答, 协同机体免疫系统杀伤肿瘤, 抑制肿瘤的生长和进展. 早在19世纪90年代, 美国的外科医生William Coley便开始采用Coley毒素治疗肿瘤, 开启了肿瘤免疫治疗的先河. 目前肿瘤免疫治疗大致分为两种类别: 被动免疫治疗和主动免疫治疗. 被动免疫疗法是通过识别肿瘤相关抗原(tumor associated antigens, TAAs)直接靶向清除肿瘤细胞, 如免疫检查点抑制剂包括PD-1(Programmed cell death-1)/PD-L1(Programmed death-ligand 1)单抗和

表 1 FDA批准用于肿瘤免疫治疗药物或疗法

通用名(商品名)	申请机构	靶点/机制	适应症
Pembrolizumab(Keytruda)	默沙东	PD-1	非鳞状非小细胞肺癌
Nivolumab(Opdivo)	百时美施贵宝	PD-1	非鳞状非小细胞肺癌
Atezolizumab(Tecentriq)	罗氏/基因泰克	PD-L1	转移性非小细胞肺癌
Durvalumab(Imfinzi)	阿斯利康	PD-L1	晚期或转移性尿路上皮癌
Avelumab(Bavencio)	默克/辉瑞	PD-L1	默克尔细胞癌
Ipilimumab(Yervoy)	百时美施贵宝	CTLA-4	晚期黑色素瘤
Tisagenlecleucel(Kymriah)	诺华制药	CAR-T	B细胞前体急性淋巴性白血病
axicabtagene ciloleucel(Yescarta)	风竹制药	CAR-T	非霍奇金淋巴瘤

CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4)单抗, 以及过继性T细胞治疗包括CAR-T(chimeric antigen receptor T cell)疗法等; 主动免疫疗法如肿瘤疫苗是通过激活患者体内的抗癌免疫细胞, 引发强烈而持久的抗癌免疫应答反应。目前, 已被美国FDA批准的新型的肿瘤免疫疗法主要包括单抗类免疫检查点抑制剂、CAR-T细胞疗法等(表1)。

胰腺癌是一种难治性的消化道实体肿瘤, 其特征性表现在具有一个呈高度免疫抑制状态的肿瘤微环境, 大量的免疫抑制性细胞广泛浸润其中, 包括调节性T细胞、肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、骨髓源性抑制细胞(MDSC)等, 同时还有因肿瘤基质增生而形成致密结缔组织屏障包绕, 从而阻碍了抗肿瘤效应T细胞进入肿瘤内部消灭肿瘤^[8-10]。近年来, 各种新型的肿瘤免疫疗法(如检查点阻断剂、过继性T细胞疗法等)在许多恶性肿瘤的临床治疗中获得了巨大的成功。不幸的是, 近期的临床试验表明免疫检查点阻断剂如PD-1/PDL-1单抗, CTLA-4单抗治疗胰腺癌的临床效果欠佳; 而对于胰腺癌的肿瘤疫苗而言, 尽管I期临床试验数据比较理想, 但后期临床数据已经证实对胰腺癌治疗无效^[11-13]。最近研究人员发现一小部分瘤内T细胞浸润率高的胰腺癌患者获得更长的生存时间, 这也表明用肿瘤免疫疗法具有治愈胰腺癌的潜力^[14]。虽然目前针对胰腺癌免疫的临床治疗效果不尽人意, 但是在各种免疫治疗策略的研究方面还是取得了很大的进展。接下来, 我们将总结下当前研究热点的胰腺癌免疫治疗手段的研究进展以及所面临的诸多挑战。

2 胰腺癌免疫治疗的研究进展与挑战

2.1 免疫检查点抑制剂

肿瘤细胞表面抗原可与抗原呈递细胞表面的负性共刺激性的配体或受体(即免疫检查点分子)相结合, 使得体内T细胞凋亡或活性减弱, 从而导致肿瘤细胞逃避免疫系统的监视^[15]。免疫检查点抑制剂作用靶点为免疫检查点分子, 主要包括程序性死亡蛋白-1(PD-1)/程序性死亡蛋白配体-1(PD-L1)和细胞毒性T

淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)等负性调节T细胞功能的分子。目前理论上认为如果通过有效的手段阻断这些免疫检查点分子的功能, 就能使肿瘤的免疫抑制系统难以维持, 继而解除肿瘤细胞的逃逸机制, 使得机体免疫细胞重新激活而清除肿瘤细胞^[16]。

PD-1/PD-L1通路是一种负性调节机体免疫应答重要的信号通路, 在肿瘤的免疫逃逸中发挥着重要作用^[17-20]。PD-1蛋白在活化的T细胞表面表达, 与肿瘤细胞表达的配体PD-L1相结合, 抑制效应性T细胞的活化, 从而导致肿瘤细胞逃逸机体的免疫监视^[21-24]。近年来, PD-L1/PD-1单抗已经在黑色素瘤和肺癌等恶性肿瘤免疫治疗中取得了显著的成绩。然而, 令人遗憾的是其在胰腺癌临床治疗中的单一使用往往不能达到理想疗效^[25], 究其原因可能是由于胰腺癌具有较低水平的PD-1⁺T细胞浸润和缺乏新的抗原表位。有研究发现在一些高微卫星不稳定性(MSI)的胰腺癌患者中, 肿瘤抗原新表位负荷高的患者, 对PD-1单抗治疗是有效的^[26]; 而对于未出现肿瘤抗原新表位的患者, 也发现PD-1单抗治疗能够有效促进T细胞浸入到肿瘤微环境中^[27]。然而, 最近有研究发现在一些同时具有活化的T细胞和可检测的肿瘤新表位的胰腺癌患者, 对PD-1单抗治疗则无效^[28]。进一步研究发现胰腺癌细胞高表达多种其他免疫抑制分子如TIM3, TIGIT和LAG3, 它们同样也可以抑制抗肿瘤的效应性T细胞活化, 因此, 联合多种免疫检查点抑制剂的治疗策略可能提高胰腺癌的临床疗效^[28]。

另一个研究热点的免疫检查点分子是CTLA-4, 其表达于T细胞表面, 对配体B7-1和B7-2具有很高的亲和力^[29]。阻断CTLA-4使得肿瘤相关抗原无法启动足够的活化信号来激活B7/CD28和MHC/TCR共刺激通路, 从而促进T细胞的增殖及活化, 达到抑制肿瘤的效果^[30,31]。早在1996年Allison等^[31]人就发现抗CTLA-4的单抗可通过增强免疫力来杀伤肿瘤细胞。近年来, 研究表明CTLA-4单抗对转移性黑色素瘤^[32]和肝癌^[33]患者的治疗效果尤为显著, 然而将其运用到胰腺癌的治疗, 却未见显著的临床疗效。Royal等^[12]对27例胰腺癌

患者接受单独的CTLA-4单抗(Ipilimumab)治疗的II期临床试验, 两周后复查所以患者病情并未得到明显缓解。然而, Le等^[34]在Ib期试验中发现Ipilimumab联合基于GM-CSF的全细胞疫苗(GVAX)胰腺癌患者的中位生存期和1年总生存期明显延长。Allard等^[35]研究发现靶向抑制CD73表达可以增强抗PD-1和抗CTLA-4单克隆抗体的抗肿瘤活性。因此, 联合治疗策略如PD-L1/PD-1单抗辅助化疗、肿瘤疫苗、CTLA-4单抗等可通过增强肿瘤免疫原性, 提高胰腺癌的疗效, 这可能是目前解决胰腺癌免疫治疗困境的最佳策略^[36,37]。

2.2 过继性T细胞治疗 过继性T细胞治疗(adoptive cell transfer, ACT)是通过复杂的离体培养和细胞工程方法, 将体外大量扩增的具有抗肿瘤反应性的细胞回输到癌症患者体内的新型免疫疗法。目前, ACT根据扩增T细胞的类型, 可分为肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)疗法、T细胞受体(T cell receptor, TCR)疗法和嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)疗法。CAR-T治疗是目前最具潜力的肿瘤免疫治疗方法, 为患有难治性癌症的患者提供了希望。Beatty等^[38]在治疗复发转移性胰腺癌患者中, 采用二代CAR-T回输, 结果成功使一例患者肝转移灶消失。Stromnes等^[39]对小鼠T细胞进行TCR编辑并回输给自发性胰腺癌小鼠模型体内, 结果发现TCR编辑的T细胞聚集于肿瘤区, 并能诱导细胞凋亡及基质重塑。令人可喜的是, CAR-T在B细胞恶性肿瘤中表现出显著的临床疗效, 且治疗反应率高达90%。最近, 两种CAR-T疗法tisagenlecleucel和axicabtagene ciloleucel分别被美国FDA批准用于B细胞前体急性淋巴细胞性白血病和非霍奇金淋巴瘤。

尽管CAR-T细胞疗法对血液肿瘤表现出显著的临床疗效, 但是仍存在许多障碍阻碍了其立即应用于人类实体肿瘤, 包括胰腺癌。目前, 虽然许多通过胰腺癌过表达的自身抗原如CEA, PSCA, 间皮素和HER等构建的CAR-T细胞已在小鼠胰腺癌模型中证实是有效的, 但是大多数CAR-T疗法的后期临床试验数据却都不尽人意。通常认为肿瘤治疗的关键点在于能否保证CAR-T细胞在肿瘤部位的持续存在。因此, 我们推测CAR-T疗法治疗胰腺癌失败可能存在多方面的原因。首先, CAR-T细胞必须能够有效地进入肿瘤才能保证其治疗效果。Ward-Kavanagh等^[40]联合淋巴耗竭全身照射(WBI)和抗CD40激动剂(α CD40)治疗原发性神经内分泌胰腺肿瘤, 研究发现联合WBI和 α CD40治疗可显著延长T细胞的增殖并增加供体T细胞在小鼠淋巴器官和胰腺中的积累。近来, 针对其他实体恶性肿瘤的研究表明加入乙酰肝素酶或肿瘤靶向细胞因子受体的CAR-T疗法可显著改善

其肿瘤内运输和抗肿瘤反应。此外, 多项针对间皮瘤的研究表明CAR-T的区域性给药比全身给药更有效^[41]。因此, 保证CAR-T细胞能够顺利进入肿瘤内部的措施可能有利于增强CAR-T疗法的疗效。其次, 目前许多正在研究中的针对胰腺癌的CAR-T疗法多是含有部分鼠源性单链可变片段, 易于通过抗体介导反应而消除, 影响CAR-T细胞持续发挥其治疗作用。因此, 可能需要构建完全人源性CAR或联合清除B细胞才能解决此难题。另外, CAR-T细胞很快就被胰腺癌的免疫抑制肿瘤微环境所消耗, 也阻碍了其最大程度发挥其治疗效果。近来, Chapuis等^[42]研究表明增加阻断CTLA-4的肿瘤特异性T细胞可诱导黑色素瘤患者体内的T细胞持续存在并具有记忆性, 这也为提高CAR-T疗法在胰腺癌中的疗效提供了新的思路。

此外, CAR-T疗法所面临挑战主要在于由于T细胞输注引发的诸如不完全肿瘤靶向特异性, 神经毒性和严重细胞因子释放综合征的挑战引起了显著的安全性问题。此外, 肿瘤抗原丢失和肿瘤异质性也是目前CAR-T细胞疗法所面临的难题。为了应对以上这些挑战, 人们已经开始研发具有更多功能的CAR-T细胞, 包括门控系统的CAR-T细胞, 自杀系统的CAR-T细胞以及诱导基因表达的CAR-T细胞等, 可以在空间和/或时间上精密调控CAR-T细胞的效能, 减少CAR-T疗法的相关并发症。

2.3 肿瘤疫苗 肿瘤治疗性疫苗具有诱导强大的抗肿瘤免疫应答的潜力, 也是当前研究胰腺癌免疫治疗的热点方向之一。肿瘤疫苗主要包括肿瘤细胞、肿瘤相关蛋白或多肽、表达肿瘤抗原的重组基因等, 旨在激活循环中的肿瘤特异性T细胞, 达到消灭肿瘤目的^[43]。GVAX是一种由肿瘤细胞组成的癌症疫苗, 经基因修饰可分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子。Jaffee等^[44]对14例胰腺癌患者采用GVAX疫苗, 其中3例患者生存期大于25 mo。Le等^[45]在早期临床试验中发现, 使用GVAX能够提高癌症患者的总体生存期。然而, 近来的II b/III期临床数据证实GVAX尚不能显著提高胰腺癌患者的生存率^[13]。Middleton等^[46]运用源自肿瘤相关自身抗原人端粒酶(hTERT)的单肽疫苗的III期临床试验显示, 对于转移性肿瘤的患者并没在生存时间上获益, 甚至未发现有免疫应答反应。另外, 超急性胰腺癌疫苗(Algenpantucel-L)由表达鼠 α -1,3-半乳糖基转移酶的经照射的同种异体胰腺癌细胞组成。Hardacre等^[47]研究发现胰腺癌患者在术后接受吉西他滨和基于5-氟尿嘧啶的放化疗及Algenpantucel-L疫苗, 能够显著提高患者1年生存率并且降低肿瘤复发率。然而, 不幸的是其与GVAX具有同样的结局, 在最近的III期临床试验中也未能表现出显著提高胰腺癌患者的存活率^[48]。

最近, 研究发现肿瘤疫苗在佐剂辅助下发挥更大的疗效. Mehla等^[49]利用肿瘤抗原靶向抗体mAb-AR20.5、抗PD-L1和PolyICLC联合免疫治疗, 诱导抵抗表达人自身抗原MUC1的胰腺肿瘤, 并产生持久的MUC1特异性的细胞免疫应答反应. Arlen等^[50]将表达癌胚抗原(CEA)和MUC1的肿瘤疫苗接种晚期胰腺癌患者, 并以粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)为佐剂, 研究结果表明接种肿瘤疫苗的晚期胰腺癌患者的生存时间明显延长. 另外, Abou-Alfa等^[51]报告的I/II期临床数据表明, 接种表达K-ras突变基因编码肽段的肿瘤疫苗, 辅以GM-CSF佐剂, 能够显著提高胰腺癌患者的免疫应答反应强度, 并且显著延长患者的中位生存期. 最近的研究数据表明, 佐剂可能不像之前认为的那样有利于肿瘤疫苗发挥疗效. 研究发现佐剂不仅可能降低肿瘤疫苗的整体免疫反应的强度, 而且还在肺癌术后肿瘤微环境中表现出强烈的免疫抑制作用^[52,53].

3 结论

胰腺癌当前依然是一种难治性消化道实体癌, 预后极差. 尽管当前针对胰腺癌的各种新型免疫疗法的临床效果仍尚未明确, 但是很多疗法已经展现出非常光明的应用前景. 近些年来, 经历大量单一免疫治疗策略的临床试验失败的教训, 使我们充分认识到由于胰腺癌的分子生物学变异比较大, 单个靶点的阻断不足以完全阻断活化的肿瘤增殖通路. 因此, 将目前已经证实的临床有效的免疫疗法的联合应用可能取得更好的临床疗效. 此外, 基于目前的大数据和二代基因测序技术的发展, 探寻更多更具有特异性的肿瘤生物标志分子, 研发新的靶向药物和肿瘤疫苗, 这些都是将来具有广阔前景的肿瘤免疫治疗的研究方向. 尽管目前胰腺癌的免疫治疗面临着许多困难与挑战, 但我们仍有希望克服重重困难, 开发更为有效的胰腺癌的免疫疗法, 最终战胜这种令人胆寒的绝症.

4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 7-30 [PMID: 29313949 DOI: 10.3322/caac.21442]
- 2 Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res* 2014; 74: 2913-2921 [PMID: 24840647 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155]
- 3 Moyer MT, Gaffney RR. Pancreatic adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2014; 371: 2140 [PMID: 25427125 DOI: 10.1056/NEJMc1412266]
- 4 Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, Figer A, Hecht JR, Gallinger S, Au HJ, Murawa P, Walde D, Wolff RA, Campos D, Lim R, Ding K, Clark G, Voskoglou-Nomikos T, Ptasynski M,

- Parulekar W; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960-1966 [PMID: 17452677 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.9525]
- 5 Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, Seay T, Tjulandin SA, Ma WW, Saleh MN, Harris M, Reni M, Dowden S, Laheru D, Bahary N, Ramanathan RK, Tabernero J, Hidalgo M, Goldstein D, Van Cutsem E, Wei X, Iglesias J, Renschler MF. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 2013; 369: 1691-1703 [PMID: 24131140 DOI: 10.1056/NEJMoa1304369]
- 6 Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécauarn Y, Adenis A, Raoul JL, Gourgou-Bourgade S, de la Fouchardière C, Bennouna J, Bachet JB, Khemissa-Akouz F, Péré-Vergé D, Delbaldo C, Assenat E, Chauffert B, Michel P, Montoto-Grillot C, Ducreux M; Groupe Tumeurs Digestives of Unicancer; PRODIGE Intergroup. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-1825 [PMID: 21561347 DOI: 10.1056/NEJMoa1011923]
- 7 Banerjee K, Kumar S, Ross KA, Gautam S, Poelaert B, Nasser MW, Aithal A, Bhatia R, Wannemuehler MJ, Narasimhan B, Solheim JC, Batra SK, Jain M. Emerging trends in the immunotherapy of pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2018; 417: 35-46 [PMID: 29242097 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.12.012]
- 8 Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 914-923 [PMID: 23385730 DOI: 10.1038/bjc.2013.32]
- 9 Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 2016; 16: 582-598 [PMID: 27550820 DOI: 10.1038/nrc.2016.73]
- 10 Wachsmann MB, Pop LM, Vitetta ES. Pancreatic ductal adenocarcinoma: a review of immunologic aspects. *J Invest Med* 2012; 60: 643-663 [PMID: 22406516 DOI: 10.2310/JIM.0b013e31824a4d79]
- 11 Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, Drake CG, Camacho LH, Kauh J, Odunsi K, Pitot HC, Hamid O, Bhatia S, Martins R, Eaton K, Chen S, Salay TM, Alaparthi S, Grosso JF, Korman AJ, Parker SM, Agrawal S, Goldberg SM, Pardoll DM, Gupta A, Wigginton JM. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2455-2465 [PMID: 22658128 DOI: 10.1056/NEJMoa1200694]
- 12 Royal RE, Levy C, Turner K, Mathur A, Hughes M, Kammula US, Sherry RM, Topalian SL, Yang JC, Lowy I, Rosenberg SA. Phase 2 trial of single agent Ipilimumab (anti-CTLA-4) for locally advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma. *J Immunother* 2010; 33: 828-833 [PMID: 20842054 DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181e1ec14c]
- 13 Dung T, Le AHK, Wainberg ZA, Picozzi VJ, Kindler HL, Wang-Gillam A. Results from a phase 2b, randomized, multicenter study of GVAX pancreas and CRS-207 compared to chemotherapy in adults with previously-treated metastatic pancreatic adenocarcinoma (ECLIPSE Study). *J Clin Oncol* 2017; 35: 345-345
- 14 Balachandran VP, Łuksza M, Zhao JN, Makarov V, Moral JA, Remark R, Herbst B, Askan G, Bhanot U, Senbabaoglu Y, Wells DK, Cary CIO, Grbovic-Huezo O, Attiye M, Medina B, Zhang J, Loo J, Saglimbeni J, Abu-Akeel M, Zappasodi R, Riaz N, Smoragiewicz M, Kelley ZL, Basturk O; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative; Garvan Institute of

- Medical Research; Prince of Wales Hospital; Royal North Shore Hospital; University of Glasgow; St Vincent's Hospital; QIMR Berghofer Medical Research Institute; University of Melbourne, Centre for Cancer Research; University of Queensland, Institute for Molecular Bioscience; Bankstown Hospital; Liverpool Hospital; Royal Prince Alfred Hospital, Chris O'Brien Lifehouse; Westmead Hospital; Fremantle Hospital; St John of God Healthcare; Royal Adelaide Hospital; Flinders Medical Centre; Envoi Pathology; Princess Alexandra Hospital; Austin Hospital; Johns Hopkins Medical Institutes; ARC-Net Centre for Applied Research on Cancer, Gönen M, Levine AJ, Allen PJ, Fearon DT, Merad M, Grjatic S, Iacobuzio-Donahue CA, Wolchok JD, DeMatteo RP, Chan TA, Greenbaum BD, Merghoub T, Leach SD. Identification of unique neoantigen qualities in long-term survivors of pancreatic cancer. *Nature* 2017; 551: 512-516 [PMID: 29132146 DOI: 10.1038/nature24462]
- 15 Yao S, Zhu Y, Chen L. Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nature Reviews Drug Discov* 2013; 12: 130-146
 - 16 Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science* 2015; 348: 56-61 [PMID: 25838373 DOI: 10.1126/science.aaa8172]
 - 17 Zhang J, Braun MY. PD-1 deletion restores susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis in miR-155-deficient mice. *Int Immunol* 2014; 26: 407-415 [PMID: 24648472 DOI: 10.1093/intimm/ixu043]
 - 18 Liu C, Jiang J, Gao L, Wang X, Hu X, Wu M, Wu J, Xu T, Shi Q, Zhang X. Soluble PD-1 aggravates progression of collagen-induced arthritis through Th1 and Th17 pathways. *Arthritis Res Ther* 2015; 17: 340 [PMID: 26608464 DOI: 10.1186/s13075-015-0859-z]
 - 19 Yanaba K, Hayashi M, Yoshihara Y, Nakagawa H. Serum levels of soluble programmed death-1 and programmed death ligand-1 in systemic sclerosis: Association with extent of skin sclerosis. *J Dermatol* 2016; 43: 954-957 [PMID: 26945563 DOI: 10.1111/1346-8138.13339]
 - 20 罗亮, 舒美兰, 李舒眉, 蔡扬. 口腔扁平苔藓患者血清中可溶性程序性死亡受体1及其配体表达与免疫功能的相关性. *中华口腔医学杂志* 2015; 50: 585-589
 - 21 Park JJ, Omiya R, Matsumura Y, Sakoda Y, Kuramasu A, Augustine MM, Yao S, Tsushima F, Narazaki H, Anand S, Liu Y, Strome SE, Chen L, Tamada K. B7-H1/CD80 interaction is required for the induction and maintenance of peripheral T-cell tolerance. *Blood* 2010; 116: 1291-1298 [PMID: 20472828 DOI: 10.1182/blood-2010-01-265975]
 - 22 Yang J, Riella LV, Chock S, Liu T, Zhao X, Yuan X, Paterson AM, Watanabe T, Vanguri V, Yagita H. The novel costimulatory programmed death ligand 1/B7.1 pathway is functional in inhibiting alloimmune responses in vivo. *J Immunol* 2011; 187: 1113 [PMID: 21697455 DOI: 10.4049/jimmunol.1100056]
 - 23 Paterson AM, Brown KE, Keir ME, Vanguri VK, Riella LV, Chandraker A, Sayegh MH, Blazar BR, Freeman GJ, Sharpe AH. The programmed death-1 ligand 1:B7-1 pathway restrains diabetogenic effector T cells in vivo. *J Immunol* 2011; 187: 1097-1105 [PMID: 21697456 DOI: 10.4049/jimmunol.1003496]
 - 24 Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, Sharpe AH, Freeman GJ. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 2007; 27: 111-122 [PMID: 17629517 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.016]
 - 25 Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, Sosman JA, McDermott DF, Powderly JD, Gettinger SN, Kohrt HE, Horn L, Lawrence DP, Rost S, Leabman M, Xiao Y, Mokatri A, Koeppen H, Hegde PS, Mellman I, Chen DS, Hodi FS. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014; 515: 563-567 [PMID: 25428504 DOI: 10.1038/nature14011]
 - 26 Lupinacci RM, Goloudina A, Buhard O, Bachet JB, Maréchal R, Demetter P, Cros J, Bardier-Dupas A, Collura A, Cervera P, Scriva A, Dumont S, Hammel P, Sauvanet A, Louvet C, Delpéro JR, Paye F, Vaillant JC, André T, Closset J, Emile JF, Van Laethem JL, Jonchère V, Abd Alsamad I, Antoine M, Rodenas A, Fléjou JF, Dusetti N, Iovanna J, Duval A, Svrcek M. Prevalence of Microsatellite Instability in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Gastroenterology* 2018; 154: 1061-1065 [PMID: 29158190 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.11.009]
 - 27 Winograd R, Byrne KT, Evans RA, Odorizzi PM, Meyer AR, Bajor DL, Clendenin C, Stanger BZ, Furth EE, Wherry EJ, Vonderheide RH. Induction of T-cell Immunity Overcomes Complete Resistance to PD-1 and CTLA-4 Blockade and Improves Survival in Pancreatic Carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2015; 3: 399-411 [PMID: 25678581 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0215]
 - 28 Balli D, Rech AJ, Stanger BZ, Vonderheide RH. Immune Cytolytic Activity Stratifies Molecular Subsets of Human Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res* 2017; 23: 3129-3138 [PMID: 28007776 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2128]
 - 29 Quezada SA, Peggs KS, Simpson TR, Allison JP. Shifting the equilibrium in cancer immunoediting: from tumor tolerance to eradication. *Immunol Rev* 2011; 241: 104-118 [PMID: 21488893 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01007.x]
 - 30 Kwon ED, Foster BA, Hurwitz AA, Madias C, Allison JP, Greenberg NM, Burg MB. Elimination of residual metastatic prostate cancer after surgery and adjunctive cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) blockade immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 15074-15079 [PMID: 10611340]
 - 31 Krummel MF, Sullivan TJ, Allison JP. Superantigen responses and co-stimulation: CD28 and CTLA-4 have opposing effects on T cell expansion in vitro and in vivo. *Int Immunol* 1996; 8: 519-523 [PMID: 8671638]
 - 32 Yuan J, Ginsberg B, Page D, Li Y, Rasalan T, Gallardo HF, Xu Y, Adams S, Bhardwaj N, Busam K, Old LJ, Allison JP, Jungbluth A, Wolchok JD. CTLA-4 blockade increases antigen-specific CD8(+) T cells in prevaccinated patients with melanoma: three cases. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1137-1146 [PMID: 21465316 DOI: 10.1007/s00262-011-1011-9]
 - 33 Sangro B, Gomez-Martin C, de la Mata M, Iñarrairaegui M, Garralda E, Barrera P, Riezu-Boj JI, Larrea E, Alfaro C, Sarobe P, Lasarte JJ, Pérez-Gracia JL, Melero I, Prieto J. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2013; 59: 81-88 [PMID: 23466307 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.02.022]
 - 34 Le DT, Lutz E, Uram JN, Sugar EA, Onners B, Solt S, Zheng L, Diaz LA Jr, Donehower RC, Jaffee EM, Laheru DA. Evaluation of ipilimumab in combination with allogeneic pancreatic tumor cells transfected with a GM-CSF gene in previously treated pancreatic cancer. *J Immunother* 2013; 36: 382-389 [PMID: 23924790 DOI: 10.1097/CJI.0b013e31829fb7a2]
 - 35 Allard B, Pommey S, Smyth MJ, Stagg J. Targeting CD73 enhances the antitumor activity of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 mAbs. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 5626-5635 [PMID: 23983257 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0545]
 - 36 Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD. Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol* 2016; 27: 409-416 [PMID: 26681673 DOI: 10.1093/annonc/mdv615]

- 37 Luheshi NM, Coates-Ulrichsen J, Harper J, Mullins S, Sulikowski MG, Martin P, Brown L, Lewis A, Davies G, Morrow M, Wilkinson RW. Transformation of the tumour microenvironment by a CD40 agonist antibody correlates with improved responses to PD-L1 blockade in a mouse orthotopic pancreatic tumour model. *Oncotarget* 2016; 7: 18508-18520 [PMID: 26918344 DOI: 10.18632/oncotarget.7610]
- 38 Beatty GL, Haas AR, Maus MV, Torigian DA, Soulen MC, Plesa G, Chew A, Zhao Y, Levine BL, Albelda SM, Kalos M, June CH. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies. *Cancer Immunol Res* 2014; 2: 112-120 [PMID: 24579088 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0170]
- 39 Stromnes IM, Schmitt TM, Hulbert A, Brockenbrough JS, Nguyen H, Cuevas C, Dotson AM, Tan X, Hotes JL, Greenberg PD, Hingorani SR. T Cells Engineered against a Native Antigen Can Surmount Immunologic and Physical Barriers to Treat Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell* 2015; 28: 638-652 [PMID: 26525103 DOI: 10.1016/j.ccell.2015.09.022]
- 40 Ward-Kavanagh LK, Kokolus KM, Cooper TK, Lukacher AE, Schell TD. Combined sublethal irradiation and agonist anti-CD40 enhance donor T cell accumulation and control of autochthonous murine pancreatic tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2018; 67: 639-652 [PMID: 29332158 DOI: 10.1007/s00262-018-2115-2]
- 41 Parente-Pereira AC, Burnet J, Ellison D, Foster J, Davies DM, van der Stegen S, Burbridge S, Chiapero-Stanke L, Wilkie S, Mather S, Maher J. Trafficking of CAR-engineered human T cells following regional or systemic adoptive transfer in SCID beige mice. *J Clin Immunol* 2011; 31: 710-718 [PMID: 21505816 DOI: 10.1007/s10875-011-9532-8]
- 42 Chapuis AG, Roberts IM, Thompson JA, Margolin KA, Bhatia S, Lee SM, Sloan HL, Lai IP, Farrar EA, Wagener F, Shibuya KC, Cao J, Wolchok JD, Greenberg PD, Yee C. T-Cell Therapy Using Interleukin-21-Primed Cytotoxic T-Cell Lymphocytes Combined With Cytotoxic T-Cell Lymphocyte Antigen-4 Blockade Results in Long-Term Cell Persistence and Durable Tumor Regression. *J Clin Oncol* 2016; 34: 3787-3795 [PMID: 27269940 DOI: 10.1200/JCO.2015.65.5142]
- 43 Le DT, Jaffee EM. Next-generation cancer vaccine approaches: integrating lessons learned from current successes with promising biotechnologic advances. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11: 766-772 [PMID: 23847215]
- 44 Jaffee EM, Hruban RH, Biedrzycki B, Laheru D, Schepers K, Sauter PR, Goemann M, Coleman J, Grochow L, Donehower RC, Lillemoe KD, O'Reilly S, Abrams RA, Pardoll DM, Cameron JL, Yeo CJ. Novel allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic cancer: a phase I trial of safety and immune activation. *J Clin Oncol* 2001; 19: 145-156 [PMID: 11134207 DOI: 10.1200/jco.2001.19.1.145]
- 45 Le DT, Wang-Gillam A, Picozzi V, Greten TF, Crocenzi T, Springett G, Morse M, Zeh H, Cohen D, Fine RL, Onners B, Uram JN, Laheru DA, Lutz ER, Solt S, Murphy AL, Skoble J, Lemmens E, Grous J, Dubensky T Jr, Brockstedt DG, Jaffee EM. Safety and survival with GVAX pancreas prime and *Listeria Monocytogenes*-expressing mesothelin (CRS-207) boost vaccines for metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 1325-1333 [PMID: 25584002 DOI: 10.1200/jco.2014.57.4244]
- 46 Middleton G, Silcocks P, Cox T, Valle J, Wadsley J, Propper D, Coxon F, Ross P, Madhusudan S, Roques T, Cunningham D, Falk S, Wadd N, Harrison M, Corrie P, Iveson T, Robinson A, McAdam K, Eatock M, Evans J, Archer C, Hickish T, Garcia-Alonso A, Nicolson M, Steward W, Anthoney A, Greenhalf W, Shaw V, Costello E, Naisbitt D, Rawcliffe C, Nanson G, Neoptolemos J. Gemcitabine and capecitabine with or without telomerase peptide vaccine GV1001 in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer (TeloVac): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15: 829-840 [PMID: 24954781 DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70236-0]
- 47 Hardacre JM, Mulcahy M, Small W, Talamonti M, Obel J, Krishnamurthi S, Rocha-Lima CS, Safran H, Lenz HJ, Chiorean EG. Addition of algenpantucel-L immunotherapy to standard adjuvant therapy for pancreatic cancer: a phase 2 study. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 94-100; discussion 100-101 [PMID: 23229886 DOI: 10.1007/s11605-012-2064-6]
- 48 Covelev AL, Rossi GR, Vahanian NN, Link C, Chiorean EG. Algenpantucel-L immunotherapy in pancreatic adenocarcinoma. *Immunotherapy* 2016; 8: 117-125 [PMID: 26787078 DOI: 10.2217/imt.15.113]
- 49 Mehla K, Tremayne J, Grunkemeyer JA, O'Connell KA, Steele MM, Caffrey TC, Zhu X, Yu F, Singh PK, Schultes BC, Madiyalakan R, Nicodemus CF, Hollingsworth MA. Combination of mAb-AR20.5, anti-PD-L1 and PolyICLC inhibits tumor progression and prolongs survival of MUC1. Tg mice challenged with pancreatic tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2018; 67: 445-457 [PMID: 29204701 DOI: 10.1007/s00262-017-2095-7]
- 50 Arlen PM, Gulley JL, Madan RA, Hodge JW, Schlom J. Preclinical and clinical studies of recombinant poxvirus vaccines for carcinoma therapy. *Crit Rev Immunol* 2007; 27: 451-462 [PMID: 18197807]
- 51 Abou-Alfa GK, Chapman PB, Feilchenfeldt J, Brennan MF, Capanu M, Gansukh B, Jacobs G, Levin A, Neville D, Kelsen DP, O'Reilly EM. Targeting mutated K-ras in pancreatic adenocarcinoma using an adjuvant vaccine. *Am J Clin Oncol* 2011; 34: 321-325 [PMID: 20686403 DOI: 10.1097/COC.0b013e3181e84b1f]
- 52 Predina J, Eruslanov E, Judy B, Kapoor V, Cheng G, Wang LC, Sun J, Moon EK, Fridlender ZG, Albelda S, Singhal S. Changes in the local tumor microenvironment in recurrent cancers may explain the failure of vaccines after surgery. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: E415-E424 [PMID: 23271806 DOI: 10.1073/pnas.1211850110]
- 53 Kimura T, McKolanis JR, Dzubinski LA, Islam K, Potter DM, Salazar AM, Schoen RE, Finn OJ. MUC1 vaccine for individuals with advanced adenoma of the colon: a cancer immunoprevention feasibility study. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 18-26 [PMID: 23248097 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0275]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



DNA甲基化在胰腺癌早期诊断及治疗中的研究进展

卢家俊, 袁周

卢家俊, 袁周, 上海交通大学附属第六人民医院普外科 上海市 200233

卢家俊, 研究生, 主要从事肝胆胰外科的诊疗和开展CTCs及ctDNA在胰腺癌中的相关研究.

作者贡献分布: 文献收集整理由卢家俊完成; 论文写作由卢家俊与袁周共同完成.

通讯作者: 袁周, 主任医师, 副教授, 200233, 上海市徐汇区宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院普外科. zhouyuan669@163.com
电话: 021-24058413

收稿日期: 2018-09-17

修回日期: 2018-10-20

接受日期: 2018-11-08

在线出版日期: 2019-01-08

Application of DNA methylation in early diagnosis and treatment of pancreatic cancer

Jia-Jun Lu, Zhou Yuan

Jia-Jun Lu, Zhou Yuan, Department of General Surgery, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China

Corresponding author: Zhou Yuan, Chief Physician, Associate Professor, Department of General Surgery, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, No. 600, Yishan Road, Shanghai 200233, China. zhouyuan669@163.com

Received: 2018-09-17

Revised: 2018-10-20

Accepted: 2018-11-08

Published online: 2019-01-08

Abstract

Pancreatic cancer (PC) is one of the most malignant gastrointestinal tumors, characterized by a poor prognosis. Most of the patients have an advanced disease at the time of diagnosis and lose the opportunity

of radical surgery, resulting in a 5-year survival rate of less than 5%. Circulating tumor DNA, whose concentration in plasma of patients with pancreatic adenocarcinoma is higher than that in health controls, carries specific gene mutation and aberrant DNA methylation. Epigenetic change is one of the important characteristics of cell carcinogenesis. DNA methylation is an early event in tumorigenesis, which is more helpful for early diagnosis than gene mutation and can be observed in each stage of PC. Therefore, the detection of aberrant DNA methylation in the promoter region in patients with PC may be a non-invasive method for early cancer detection, predicting prognosis, and monitoring recurrence. In the present review, we discuss the recent advances in the study of DNA methylation in the early diagnosis of PC, and the potential application value in the treatment of PC.

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

Key Words: DNA methylation; Circulating tumor DNA; Pancreatic cancer; Early diagnosis; Therapy

Lu JJ, Yuan Z. Application of DNA methylation in early diagnosis and treatment of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 13-19

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/13.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.13>

摘要

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是恶性程度最高的消化道系统肿瘤之一,多数患者就诊时已属中晚期从而失去根治性手术机会,导致5年生存率不到5%。PC患者外周血中循环肿瘤DNA浓度明显高于正常健康人群,并且携带有肿瘤特有的基因突变与甲基化改变。DNA甲基化是表观遗传学的重要表现形式,也是肿瘤发生中的早期事件,早于基因突变并且可以出现

在PC进展的各个阶段. 因此, PC患者启动子区异常DNA甲基化的检测可能为肿瘤的早期诊断、预后评价以及复发监测提供了一种简便的、无创的有效方法. 本文就近年来人们对于DNA甲基化在PC早期诊断中的研究进展及其对于PC治疗的潜在价值进行综述.

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

关键词: DNA甲基化; ctDNA; 胰腺癌; 早期诊断; 治疗

核心提要: DNA甲基化是在基因在DNA序列不发生改变的情况下, 通过对基因的调控和修饰重塑作用, 使基因的表达异常, 从而导致肿瘤的发生发展, 其过程往往发生在体细胞癌变之前, 对于肿瘤的早期诊断具有极大的价值, 并且通过运用药物改变DNA甲基化的状态有可能促进癌症的治疗.

卢家俊, 袁周. DNA甲基化在胰腺癌早期诊断及治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 13-19

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/13.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.13>

0 引言

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是一种恶性程度极高的消化道恶性肿瘤, 大约60%的PC患者在确诊时已发生远处转移, 仅有约20%的病人可以得到根治性手术切除治疗, 导致总体五年生存率低于5%, 而接受根治性手术后的患者5年生存率也只有20%^[1,2]. 根据美国癌症研究协会的调查, 2017年美国PC死亡率高居肿瘤相关死亡的第四位, 并且呈现上升趋势^[3]. 常规的肿瘤标志物CA19-9的检测及影像学检查作为高危人群的筛查方法对PC早期诊断帮助较小^[4,5]. 因此, 发现一种有效的标记物来用于PC的早期诊断成为了研究的热点.

近年来, 研究者们发现表观遗传学通过对基因的调控和修饰重塑在促进肿瘤的发生发展过程中起到作用. DNA甲基化是表观遗传学的一种常见形式, 其改变往往发生在体细胞癌变之前, 是肿瘤发生的早期事件. 在人体的多种体液中能够检测到甲基化的DNA, 例如胆汁、排泄物以及血液. ctDNA是由肿瘤细胞释放到血液中的游离DNA, 携带着肿瘤细胞中的基因突变和表观遗传学改变^[6]. 随着二代测序及ddPCR技术的发展, ctDNA得到了广泛的研究, 已检测到多种恶性肿瘤患者ctDNA中有多种基因存在异常甲基化, 且与肿瘤患者的临床病理特征存在不同程度的相关性, 具有检测稳定性好, 组织特异性高的优点, 使得DNA甲基化成为一个能够指导诊断、分期、判断预后及监测复发的有前景的

生物标记.

1 DNA甲基化与PC的发病机制

DNA甲基化是指在三种主要的DNA甲基化转移酶(DNMT1, DNMT3a和DNMT3b)的作用下, 从甲基供体转移甲基到胞嘧啶5'位的过程^[7]. 理论上任何人类基因组上每个C都可以发生甲基化, 但人类的DNA甲基化通常发生在基因的CPG岛上, 大约60%的人类基因中存在启动子区的CPG岛, 其中仅有5%的启动子基因发生甲基化^[8]. 目前许多研究已经在各种肿瘤中检测到了异常的启动子甲基化模式(表1^[9-21]), 为揭示肿瘤发生、发展的分子机制提供了线索, 并被视为一种潜在的标志物来检测肿瘤.

DNA甲基化主要通过CPG岛的异常高甲基化使得抑癌基因表达沉默或低甲基化使得癌基因表达上调, 从而影响到甚至导致肿瘤的发生, 因此理论上我们也能在PC疾病进展的各个阶段中检测到这一改变. 胰腺导管腺癌是目前PC最常见的病理类型, 其的发生发展通常是从非侵袭性的癌前病变演化而来, 其中最常见的类型是胰腺上皮内瘤变(PanINs)^[1]. Sato等^[22]人对胰腺上皮内瘤变的病变组织进行了甲基化的研究, 结果发现有8种基因(CAH3、reprimin、CLDN5、LHX1、NPTX2、SARP2、SPARC、ST14)的启动子区发生了不同程度的甲基化. Yokoyama等^[23]人在胰腺导管腺癌患者中发现异常甲基化的基因MUC4和MUC1, 并证明了其低甲基化状态与不良的预后有关. Sato^[24]的另一项实验通过对5组PC细胞株中的癌基因MMP-2、MMP-7、MMP-9的CPG岛甲基化状态进行研究发现, 在表达的3组细胞株中检测到基因中CPG岛绝大部分表现为低甲基化状态, 另外2组不表达的细胞株, 其CPG岛则呈正常甲基化状态. 此外, 宋海荣等^[25]和杨卫华等^[26]分别对比了PC肿瘤组织与癌旁组织中APC与P16基因的表达及其甲基化的水平, 结果都发现在PC中上述两种抑癌基因的启动子序列均呈现高甲基化状态, 并且Ginesta等^[27]在71% PC患者的胰液中发现了甲基化的APC基因. 这些研究说明了在PC进展的不同阶段有多种基因启动子区的CPG岛异常甲基化起到作用. 不仅如此, Yi等^[28]的研究发现在PanINs患者中甲基化的BNC1随着PanINs病变的进展检出率得到提升, 在PaIN-3患者中达100%, 并且在其他研究中也发现了在一些肿瘤进展的不同阶段某些基因的CPG岛甲基化状态也被随之发生变化^[29,30]. DNA甲基化还被证实参与了在一些肿瘤的浸润转移过程^[31,32], 但在PC中尚缺少有关研究.

随着研究的不断进展, 除了以上这些主要的基因以外, 又有许多与PC相关的甲基化基因进入了研究

表 1 常见肿瘤中的潜在DNA甲基化标记物

肿瘤名称	甲基化基因	引用
肝癌	<i>CDKN2A</i>	[9]
	<i>RASSF1A</i>	[10]
	<i>RUNX3</i>	[11]
	<i>CDO1</i>	[12]
结肠癌	<i>SEPT9</i>	[13]
	<i>VIM</i>	[14]
胃癌	<i>CDH1</i>	[15]
	<i>CDKN2A</i>	[16]
胰腺癌	<i>CD1D</i>	[17]
乳腺癌	<i>BRCA1</i>	[18]
	<i>RARB2</i>	[19]
肺癌	<i>RARB2</i>	[20]
	<i>SHOX2</i>	[21]

者的视线, 比如抑癌基因*RASSF10*^[33], 转录调控基因*INSM2*^[34]等等. 由于这些癌基因与抑癌基因能在多种肿瘤中被发现, 仍然需要进一步的研究去寻找对PC特异性及敏感度高的甲基化标志物.

2 DNA甲基化与PC早期诊断

随着影像学的逐步发展, 越来越多的肿瘤可以在早中期被发现, 但对于早期且微小的胰腺恶性病变仍然较难做出准确的诊断. 将近80%的患者在确诊时已经丧失了手术治疗的时机, 其中位生存期仅6-9 mo, 但有研究表明对于肿块小于1 cm的PC患者接受手术切除治疗后的五年生存率高达80%以上, 远高于晚期肿瘤患者^[35]. 因此提升PC的早期诊断变得尤为迫切. 澳大利亚的PC基因组计划(APGI)最近的一项研究发现, 在PC发生的关键信号通路中存在高水平的异常甲基化, 证明它作为PC诊断的生物标志物是可行的^[36].

PanINs向恶性肿瘤演变的过程非常缓慢, 可能需要10-15年才能完成^[37], 这就给予了这些病人能够实现早期诊断及根治性治疗的机会. 对此, 一项研究发现了*NTPX2*、*SARP2*、*RPRM*及*LHX1*在PanINs中出现异常甲基化而导致基因沉默表达, 这些基因的发现在PC的早期诊断及高危病人的一级预防中可能发挥一定的作用^[22].

胰液中含有来自胰腺各部分的脱落细胞, 是检测胰腺导管细胞中异常基因表达的理想来源, 可能在区分无特异症状的胰腺良恶性疾病时发挥作用. 一项研究表明, 在胰液中检测到*CCND2*、*TFPI2*、*PENK*、*NPTX2*和*FOXEl*这五种基因中的2种及以上甲基化可以区分癌症患者和包括慢性胰腺炎在内的非肿瘤患者, 且具有较高的敏感性(82%)和特异性(100%)^[38]. 此

外, Kisiel等^[17]人在研究中对102名实验对象的*CD1D*、*KCNK12*、*CLEC11A*、*NDRG4*、*IKZF1*和*PKRCB*的甲基化改变进行分析, 其中包括61名PC患者, 22名慢性胰腺炎病人以及19位健康对象, 发现了*CD1D*可以区分PC和正常组织, 其敏感性和特异性分别为75%和95%, 并且与慢性胰腺炎鉴别时特异性达到了91%.

PC患者外周血中存在着循环DNA, ctDNA可以用来定量血液中肿瘤的DNA, 为我们提供患者体内肿瘤负荷的信息, 并且可以揭示肿瘤DNA的甲基化状态, 在微小病变患者中, 释放进入血液中的ctDNA浓度也较低^[39]. 而各类实验中通常会以检测到相应的基因突变作为区别ctDNA与正常循环DNA的方法^[40], 但是由于基因突变的位点的多样性导致即使在同一种肿瘤中其基因序列也可能在大范围的区域内发生变化, 而大部分基因发生甲基化的位点多位于启动子的CPG岛的特定区域^[41-43]. 因此与基因突变相比, DNA甲基化在同一肿瘤中具有更高的一致性, 可使ctDNA的检出率提高^[44,45]. Yi等^[28]从PC肿瘤组织中筛选出与PC特异相关较高的基因位点*BNC1*和*ADAMTS1*基因, 之后又在PC患者的血清中检测到*BNC1*和*ADAMTS1*基因启动子区发生异常的高甲基化, 其敏感度分别为79%和48%, 特异度分别为89%和92%, 并且更进一步的分析显示在PanINs患者以及I期PC患者中也能检测到*BNC1*(PanINs患者中70%, PC I期患者中97%)和*ADAMTS1*基因(PanINs患者中25%, PC I期患者中63%)的甲基化状态, 最终通过对10例早期PC患者的血清进行检测来验证其对PC的诊断价值, 结果显示这两个基因位点的敏感度均达到90%, 故研究者认为检测血清中*BNC1*和*ADAMTS1*基因启动子的甲基化状态可能成为早期诊断PC的肿瘤标记物.

上文中我们阐述了在一些研究中发现*P16*、*APC*及*RASSF1A*等基因在PC组织中存在高甲基化状态, 但是Kawasaki等^[42]人在胃癌、肺癌、乳腺癌和肝癌的样本中检测*P16*的甲基化状态也得到了相似的结果. Schneikert^[46]的一项研究表明*APC*基因启动子高甲基化能在结直肠癌、肺癌、子宫内膜癌等多种肿瘤中被检出. Leodolter等^[47]发现在胃癌中可以检测到*RASSF1A*基因的高甲基化. 因此血浆中*P16*、*APC*及*RASSF1A*等基因甲基化在PC诊断中缺乏特异性, 其临床的应用价值还有待进一步研究讨论.

但是无论从胰液或者组织标本中获取DNA甲基化信息, 患者都需要接受一定程度的有创操作, 并且难以反复获取, 而从血液获取的甲基化的ctDNA则具有无创、易获得、方便简洁的优点, 我们可以通过测定患者血液中的甲基化ctDNA来对患者的整个疾病进展过程

进行检测, 对于具有癌前病变的病人进行监测相应基因的甲基化状态, 例如PanINs患者, 可以做到早期诊断. 但这仍只存在于我们的设想中, 能作为PC特异性诊断标记物的甲基化位点仍未发现, 仍然需要更多的实验研究来攻克这一难题.

3 甲基化与PC的治疗及预后评价

目前PC发病机制尚不清楚, 越来越多的证据显示PC发病与多基因病变有关, 这包括DNA序列变化引起的基因突变和非DNA序列变化引起的基因表达改变, 后者与基因的突变不同, 表观遗传学的改变大都是可逆的, 因此, 利用药物来改变细胞的表观遗传学状态可能是治疗癌症的一条新途径. 针对异常的甲基化DNA可以被逆转, Dammann等^[48]发现用去甲基化药物 5-重氮-2'脱氧嘧啶(5-Aza-2'dC)处理PC细胞后, 可使沉默的RASSF1A基因重新获得表达. 同样有研究表明, 通过使用药物如5-氮杂-2'脱氧胞苷处理PC细胞后, 发现表达沉默的SPARC基因可以得到逆转, 这样的作用还能出现在宫颈癌及大肠癌中^[49-51]. Shakya等^[52]人发现在胰腺导管腺癌中存在STAT1的高甲基化状态, 而5-重氮-2'脱氧嘧啶与 γ 干扰素合用可以对胰腺导管腺癌产生正性抗增殖作用, 为进一步研究去甲基化药物与细胞因子和免疫治疗的结合提供了理论基础. 但是PC的发病并非单基因的作用, 尽管部分DNA的甲基化状态可以被药物纠正, PC的进展仍然难以逆转.

至今为止, 根治性手术仍是治愈PC的唯一希望, 并且药物治疗敏感性低, 使得一些研究开始转向PC患者的预后评估以及对药物的反应监测. 许多研究已经表明在一些肿瘤中部分单基因的甲基化与患者生存率有关^[53,54]. 在一项对30例PC患者的血液标本中的启动子区甲基化的研究中, 研究者们发现甲基化的TNFRSF10C和ACIN 1基因与较短的生存时间存在显著的相关性^[55]. 并且有进一步的研究发现在PC患者中检测到基因MUC1和MUC4的低甲基化状态较其高甲基化状态具有更加不良的预后^[23]. 此外, Thompson等^[33]发现了PC患者基因FAM150A、ONECUT1和RASSF10启动子区CPG岛的甲基化状态与不良的预后有关. 外周血液中ctDNA的半衰期一般小于2 h, 因此其浓度能作为一种快速检测术后病人是否有肿瘤残余的手段, 而DNA甲基化检测较基因突变能提高ctDNA的检出率, 且一些研究表明, 术后ctDNA阳性的患者具有更短的生存时间^[56]. 对于大部分中晚期肿瘤患者而言, 确诊时已经失去难以行根治性手术治疗的机会, 化学治疗成为了主要的治疗方式, 而目前吉西他滨作为PC治疗的一线化疗药物, 仅不足25%的患者具有敏感性. Tan^[57]的一项研究发现吉西他滨可

能对携带高甲基化基因GSTM1和ONECU的PC患者具有更高的敏感性. 这一发现可以使得我们对部分PC患者的化学治疗效果有更好的预测. 我们想通过常规的影像学检查及肿瘤标记物了解到患者的治疗效果通常至少需要3个化疗周期, 这往往可能延误了对药物不敏感的患者得到其他有效的治疗, Mahon等^[58]人发现在前列腺癌患者血浆中的异常甲基化的GSTP1(约存在大于90%的前列腺癌患者中^[59])能作为追踪前列腺癌化疗效果的指标, 该研究对35名前列腺癌患者进行了化疗后的随访, 发现在第一次化疗后出现甲基化的GSTP1提示前列腺癌仍在进展.

虽然目前已经进行了许多关于异常DNA甲基化与肿瘤的治疗及监测的研究, 并取得了一系列的进展, 在许多肿瘤中我们可以持续性监测患者的治疗后ctDNA浓度动态变化, 为后续的治疗提供了更加精准的判断和治疗措施. 但DNA甲基化在PC治疗及预后判断中仍存在大量的空白, 而作为一种极具前景的生物标记物, 我们仍需要大量的研究及实验来推动DNA甲基化在PC治疗及预后判断中的应用.

4 结论

PC是临床上常见预后不良的恶性肿瘤之一. 目前, PC仍缺乏高特异度及灵敏度的早期诊断标记物和有效的治疗手段. 在PC发病中, 表观遗传学在控制细胞行为方面扮演着重要的角色, 并且能在PC的各个阶段中得以检测, 而外周血中的ctDNA携带着肿瘤基因突变及甲基化改变. 甲基化ctDNA作为表观遗传学与液体活检技术的结合, 具有无创、简便、易获得的优点, 并且检测敏感性高于基于基因突变的ctDNA, 能查出更微小的病灶, 具有早期诊断的优势, 并且能预测肿瘤的预后、监测肿瘤的复发及药物治疗效果, 为肿瘤早期诊断、治疗提供了新的方向. 但由于ctDNA的外周血中的含量较少, 难以被检测出, 而其中的甲基化位点的检测则更是难上加难, 虽然随着目前ctDNA的检测技术如二代测序及ddPCR得到了极大的进展, 使得检出率有所提升, 但是仍然不能满足我们临床应用的要求. PC的发病机制是多基因层面的, 虽然目前的研究发现已知的PC中的DNA甲基化的基因位点较多, 但缺乏特异性, 这些甲基化同时也能在乳腺癌、肺癌、胃癌、大肠癌等肿瘤中被发现. 目前进行的PC DNA甲基化的相关研究大多侧重于单个基因位点启动子甲基化在PC诊断中的敏感性与特异度研究, 且目前还没有合适的单个基因位点能够作为PC的诊断标记物. 同时, 能逆转PC患者某些基因启动子甲基化状态的去甲基化药物对于PC的疗效尚需大量的研究及临床试验加以验证. DNA甲基化虽然为我

们对于PC发病机制的研究提供了一条线索并且为PC患者提供了早期诊断及预后监测的可能, 但是仍然缺乏有效的生物标记物. 因此今后的研究应该更加注重于发现特异性和敏感性更高的PC诊断标记物, 并为PC的早期诊断及治疗提供监测手段.

5 参考文献

- Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *Lancet* 2016; 388: 73-85 [PMID: 26830752 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00141-0]
- Witkowski ER, Smith JK, Tseng JF. Outcomes following resection of pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 97-103 [PMID: 22991309 DOI: 10.1002/jso.23267]
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017; 67: 7-30 [PMID: 28055103 DOI: 10.3322/caac.21387]
- Morris-Stiff G, Taylor MA. Ca19-9 and pancreatic cancer: Is it really that good? *J Gastrointest Oncol* 2012; 3: 88-89 [PMID: 22811875 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.016]
- Su SB, Qin SY, Chen W, Luo W, Jiang HX. Carbohydrate antigen 19-9 for differential diagnosis of pancreatic carcinoma and chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4323-4333 [PMID: 25892884 DOI: 10.3748/wjg.v21.i14.4323]
- Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem* 2015; 61: 112-123 [PMID: 25388429 DOI: 10.1373/clinchem.2014.222679]
- Chen ZX, Riggs AD. DNA methylation and demethylation in mammals. *J Biol Chem* 2011; 286: 18347-18353 [PMID: 21454628 DOI: 10.1074/jbc.R110.205286]
- Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 1057-1068 [PMID: 20944598 DOI: 10.1038/nbt.1685]
- Wahid B, Ali A, Rafique S, Idrees M. New Insights into the Epigenetics of Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1609575 [PMID: 28401148 DOI: 10.1155/2017/1609575]
- Huang ZH, Hu Y, Hua D, Wu YY, Song MX, Cheng ZH. Quantitative analysis of multiple methylated genes in plasma for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Exp Mol Pathol* 2011; 91: 702-707 [PMID: 21884695 DOI: 10.1016/j.yexmp.2011.08.004]
- Zhang C, Li J, Huang T, Duan S, Dai D, Jiang D, Sui X, Li D, Chen Y, Ding F, Huang C, Chen G, Wang K. Meta-analysis of DNA methylation biomarkers in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 81255-81267 [PMID: 27835605 DOI: 10.18632/oncotarget.13221]
- Andresen K, Boberg KM, Vedeld HM, Honne H, Hektoen M, Wadsworth CA, Clausen OP, Karlsen TH, Foss A, Mathisen O, Schruppf E, Lothe RA, Lind GE. Novel target genes and a valid biomarker panel identified for cholangiocarcinoma. *Epigenetics* 2012; 7: 1249-1257 [PMID: 22983262 DOI: 10.4161/epi.22191]
- Adler A, Geiger S, Keil A, Bias H, Schatz P, deVos T, Dhein J, Zimmermann M, Tauber R, Wiedenmann B. Improving compliance to colorectal cancer screening using blood and stool based tests in patients refusing screening colonoscopy in Germany. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 183 [PMID: 25326034 DOI: 10.1186/1471-230X-14-183]
- Ned RM, Melillo S, Marrone M. Fecal DNA testing for Colorectal Cancer Screening: the ColoSure™ test. *PLoS Curr* 2011; 3: RRN1220 [PMID: 21487548 DOI: 10.1371/currents.RRN1220]
- Ichikawa D, Koike H, Ikoma H, Ikoma D, Tani N, Otsuji E, Kitamura K, Yamagishi H. Detection of aberrant methylation as a tumor marker in serum of patients with gastric cancer. *Anticancer Res* 2004; 24: 2477-2481 [PMID: 15330201]
- Abbaszadegan MR, Moaven O, Sima HR, Ghafarzadegan K, A'rabi A, Forghani MN, Raziee HR, Mashhadinejad A, Jafarzadeh M, Esmaili-Shandiz E, Dadkhah E. p16 promoter hypermethylation: a useful serum marker for early detection of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2055-2060 [PMID: 18395906 DOI: 10.3748/wjg.14.2055]
- Kisiel JB, Raimondo M, Taylor WR, Yab TC, Mahoney DW, Sun Z, Middha S, Baheti S, Zou H, Smyrk TC, Boardman LA, Petersen GM, Ahlquist DA. New DNA Methylation Markers for Pancreatic Cancer: Discovery, Tissue Validation, and Pilot Testing in Pancreatic Juice. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 4473-4481 [PMID: 26023084 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2469]
- Sharma G, Mirza S, Parshad R, Gupta SD, Ralhan R. DNA methylation of circulating DNA: a marker for monitoring efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Tumour Biol* 2012; 33: 1837-1843 [PMID: 22744714 DOI: 10.1007/s13277-012-0443-y]
- Liggett TE, Melnikov AA, Marks JR, Levenson VV. Methylation patterns in cell-free plasma DNA reflect removal of the primary tumor and drug treatment of breast cancer patients. *Int J Cancer* 2011; 128: 492-499 [PMID: 20473856 DOI: 10.1002/ijc.25363]
- Ponomaryova AA, Rykova EY, Cherdynseva NV, Skvortsova TE, Dobrodeev AY, Zav'yalov AA, Bryzgalov LO, Tuzikov SA, Vlassov VV, Laktionov PP. Potentialities of aberrantly methylated circulating DNA for diagnostics and post-treatment follow-up of lung cancer patients. *Lung Cancer* 2013; 81: 397-403 [PMID: 23806794 DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.05.016]
- Schmidt B, Beyer J, Dietrich D, Bork I, Liebenberg V, Fleischacker M. Quantification of cell-free mSHOX2 Plasma DNA for therapy monitoring in advanced stage non-small cell (NSCLC) and small-cell lung cancer (SCLC) patients. *PLoS One* 2015; 10: e0118195 [PMID: 25675432 DOI: 10.1371/journal.pone.0118195]
- Sato N, Fukushima N, Hruban RH, Goggins M. CpG island methylation profile of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2008; 21: 238-244 [PMID: 18157091 DOI: 10.1038/modpathol.3800991]
- Yokoyama S, Higashi M, Kitamoto S, Oeldorf M, Knippschild U, Kornmann M, Maemura K, Kurahara H, Wiest E, Hamada T, Kitazono I, Goto Y, Tasaki T, Hiraki T, Hatanaka K, Mataka Y, Taguchi H, Hashimoto S, Batra SK, Tanimoto A, Yonezawa S, Hollingsworth MA. Aberrant methylation of MUC1 and MUC4 promoters are potential prognostic biomarkers for pancreatic ductal adenocarcinomas. *Oncotarget* 2016; 7: 42553-42565 [PMID: 27283771 DOI: 10.18632/oncotarget.9924]
- Sato N, Maehara N, Su GH, Goggins M. Effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on matrix metalloproteinase expression and pancreatic cancer cell invasiveness. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 327-330 [PMID: 12591989]
- 宋海容, 苏利沙, 李洁平, 李蕾花, 刘红春. 胰腺癌中APC基因的甲基化和表达的相关性研究. *中华检验医学杂志* 2013; 8: 713-717 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2013.08.010]
- 杨卫华, 王春友, 朱求实, 阎雷. 胰腺癌中p16基因甲基化改变及其蛋白表达分析. *临床外科杂志* 2007; 7: 454-456 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-6483.2007.07.012]
- Ginesta MM, Diaz-Rascos ZV, Busquets J, Pelaez N, Serrano T, Peinado MÀ, Jorba R, García-Borobia FJ, Capella G, Fabregat J. APC promoter is frequently methylated in pancreatic juice of patients with pancreatic carcinomas or periampullary tumors. *Oncol Lett* 2016; 12: 2210-2216 [PMID: 27602165 DOI: 10.3892/ol.2016.4868]
- Yi JM, Guzzetta AA, Bailey VJ, Downing SR, Van Neste L,

- Chiappinelli KB, Keeley BP, Stark A, Herrera A, Wolfgang C, Pappou EP, Iacobuzio-Donahue CA, Goggins MG, Herman JG, Wang TH, Baylin SB, Ahuja N. Novel methylation biomarker panel for the early detection of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 6544-6555 [PMID: 24088737 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3224]
- 29 Kang GH, Lee S, Kim JS, Jung HY. Profile of aberrant CpG island methylation along multistep gastric carcinogenesis. *Lab Invest* 2003; 83: 519-526 [PMID: 12695555]
- 30 Xu XL, Yu J, Zhang HY, Sun MH, Gu J, Du X, Shi DR, Wang P, Yang ZH, Zhu JD. Methylation profile of the promoter CpG islands of 31 genes that may contribute to colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3441-3454 [PMID: 15526363 DOI: 10.3748/wjg.v10.i23.3441]
- 31 Suzuki M, Shiraishi K, Eguchi A, Ikeda K, Mori T, Yoshimoto K, Ohba Y, Yamada T, Ito T, Baba Y, Baba H. Aberrant methylation of LINE-1, SLIT2, MAL and IGFBP7 in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2013; 29: 1308-1314 [PMID: 23381221 DOI: 10.3892/or.2013.2266]
- 32 Oliveira AM, Ross JS, Fletcher JA. Tumor suppressor genes in breast cancer: the gatekeepers and the caretakers. *Am J Clin Pathol* 2005; 124 Suppl: S16-S28 [PMID: 16468415 DOI: 10.1309/5XW3L8LU445QWGQR]
- 33 Thompson MJ, Rubbi L, Dawson DW, Donahue TR, Pellegrini M. Pancreatic cancer patient survival correlates with DNA methylation of pancreas development genes. *PLoS One* 2015; 10: e0128814 [PMID: 26039411 DOI: 10.1371/journal.pone.0128814]
- 34 Cai T, Chen X, Wang R, Xu H, You Y, Zhang T, Lan MS, Notkins AL. Expression of insulinoma-associated 2 (INSM2) in pancreatic islet cells is regulated by the transcription factors Ngn3 and NeuroD1. *Endocrinology* 2011; 152: 1961-1969 [PMID: 21343251 DOI: 10.1210/en.2010-1065]
- 35 Egawa S, Toma H, Ohigashi H, Okusaka T, Nakao A, Hatori T, Maguchi H, Yanagisawa A, Tanaka M. Japan Pancreatic Cancer Registry: 30th year anniversary: Japan Pancreas Society. *Pancreas* 2012; 41: 985-992 [PMID: 22750974 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318258055c]
- 36 Nones K, Waddell N, Song S, Patch AM, Miller D, Johns A, Wu J, Kassahn KS, Wood D, Bailey P, Fink L, Manning S, Christ AN, Nourse C, Kazakoff S, Taylor D, Leonard C, Chang DK, Jones MD, Thomas M, Watson C, Pinese M, Cowley M, Rooman I, Pajic M; APCI, Butturini G, Malpaga A, Corbo V, Crippa S, Falconi M, Zamboni G, Castelli P, Lawlor RT, Gill AJ, Scarpa A, Pearson JV, Biankin AV, Grimmond SM. Genome-wide DNA methylation patterns in pancreatic ductal adenocarcinoma reveal epigenetic deregulation of SLIT-ROBO, ITGA2 and MET signaling. *Int J Cancer* 2014; 135: 1110-1118 [PMID: 24500968 DOI: 10.1002/ijc.28765]
- 37 Yachida S, Jones S, Bozic I, Antal T, Leary R, Fu B, Kamiyama M, Hruban RH, Eshleman JR, Nowak MA, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Iacobuzio-Donahue CA. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature* 2010; 467: 1114-1117 [PMID: 20981102 DOI: 10.1038/nature09515]
- 38 Matsubayashi H, Canto M, Sato N, Klein A, Abe T, Yamashita K, Yeo CJ, Kalloo A, Hruban R, Goggins M. DNA methylation alterations in the pancreatic juice of patients with suspected pancreatic disease. *Cancer Res* 2006; 66: 1208-1217 [PMID: 16424060 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2664]
- 39 Lennon AM, Wolfgang CL, Canto MI, Klein AP, Herman JM, Goggins M, Fishman EK, Kamel I, Weiss MJ, Diaz LA, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Hruban RH. The early detection of pancreatic cancer: what will it take to diagnose and treat curable pancreatic neoplasia? *Cancer Res* 2014; 74: 3381-3389 [PMID: 24924775 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0734]
- 40 Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, Thornton K, Agrawal N, Sokoll L, Szabo SA, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA Jr. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14: 985-990 [PMID: 18670422 DOI: 10.1038/nm.1789]
- 41 Ahmed AA, Etemadmoghadam D, Temple J, Lynch AG, Riad M, Sharma R, Stewart C, Fereday S, Caldas C, Defazio A, Bowtell D, Brenton JD. Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. *J Pathol* 2010; 221: 49-56 [PMID: 20229506 DOI: 10.1002/path.2696]
- 42 Kawasaki H, Igawa E, Kohosozawa R, Kobayashi M, Nishiko R, Abe H. Detection of aberrant methylation of tumor suppressor genes in plasma from cancer patients. *Person Med Univer* 2013; 2: 20-24 [DOI: 10.1016/j.pmu.2013.04.007]
- 43 Montavon C, Gloss BS, Warton K, Barton CA, Statham AL, Scurry JP, Tabor B, Nguyen TV, Qu W, Samimi G, Hacker NF, Sutherland RL, Clark SJ, O'Brien PM. Prognostic and diagnostic significance of DNA methylation patterns in high grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2012; 124: 582-588 [PMID: 22115852 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.11.026]
- 44 Warton K, Samimi G. Methylation of cell-free circulating DNA in the diagnosis of cancer. *Front Mol Biosci* 2015; 2: 13 [PMID: 25988180 DOI: 10.3389/fmolb.2015.00013]
- 45 Sakakura C, Hamada T, Miyagawa K, Nishio M, Miyashita A, Nagata H, Ida H, Yazumi S, Otsuji E, Chiba T, Ito K, Ito Y. Quantitative analysis of tumor-derived methylated RUNX3 sequences in the serum of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 2619-2625 [PMID: 19596937]
- 46 Schneikert J, Behrens J. The canonical Wnt signalling pathway and its APC partner in colon cancer development. *Gut* 2007; 56: 417-425 [PMID: 16840506 DOI: 10.1136/gut.2006.093310]
- 47 Leodolter A, Alonso S, González B, Ebert MP, Vieth M, Röcken C, Wex T, Peitz U, Malfertheiner P, Perucho M. Somatic DNA Hypomethylation in H. pylori-Associated High-Risk Gastritis and Gastric Cancer: Enhanced Somatic Hypomethylation Associates with Advanced Stage Cancer. *Clin Transl Gastroenterol* 2015; 6: e85 [PMID: 25928808 DOI: 10.1038/ctg.2015.14]
- 48 Dammann R, Schagdarsurengin U, Liu L, Otto N, Gimm O, Dralle H, Boehm BO, Pfeifer GP, Hoang-Vu C. Frequent RASSF1A promoter hypermethylation and K-ras mutations in pancreatic carcinoma. *Oncogene* 2003; 22: 3806-3812 [PMID: 12802288 DOI: 10.1038/sj.onc.1206582]
- 49 Nagaraju GP, Sharma D. Anti-cancer role of SPARC, an inhibitor of adipogenesis. *Cancer Treat Rev* 2011; 37: 559-566 [PMID: 21237573 DOI: 10.1016/j.ctrv.2010.12.001]
- 50 Sova P, Feng Q, Geiss G, Wood T, Strauss R, Rudolf V, Lieber A, Kiviat N. Discovery of novel methylation biomarkers in cervical carcinoma by global demethylation and microarray analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 114-123 [PMID: 16434596 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0323]
- 51 Yang XJ, Seto E. HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene* 2007; 26: 5310-5318 [PMID: 17694074 DOI: 10.1038/sj.onc.1210599]
- 52 Shakya R, Gonda T, Quante M, Salas M, Kim S, Brooks J, Hirsch S, Davies J, Cullo A, Olive K, Wang TC, Szabolcs M, Tycko B, Ludwig T. Hypomethylating therapy in an aggressive stroma-rich model of pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 2013; 73: 885-896 [PMID: 23204224 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1880]
- 53 Conway K, Edmiston SN, May R, Kuan PF, Chu H, Bryant C, Tse CK, Swift-Scanlan T, Geradts J, Troester MA, Millikan

- RC. DNA methylation profiling in the Carolina Breast Cancer Study defines cancer subclasses differing in clinicopathologic characteristics and survival. *Breast Cancer Res* 2014; 16: 450 [PMID: 25287138 DOI: 10.1186/s13058-014-0450-6]
- 54 Kuo IY, Chang JM, Jiang SS, Chen CH, Chang IS, Sheu BS, Lu PJ, Chang WL, Lai WW, Wang YC. Prognostic CpG methylation biomarkers identified by methylation array in esophageal squamous cell carcinoma patients. *Int J Med Sci* 2014; 11: 779-787 [PMID: 24936140 DOI: 10.7150/ijms.7405]
- 55 Dauksa A, Gulbinas A, Barauskas G, Pundzius J, Oldenburg J, El-Maarri O. Whole blood DNA aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma shows association with the course of the disease: a pilot study. *PLoS One* 2012; 7: e37509 [PMID: 22629410 DOI: 10.1371/journal.pone.0037509]
- 56 Earl J, Garcia-Nieto S, Martinez-Avila JC, Montans J, Sanjuanbenito A, Rodríguez-Garrote M, Lisa E, Mendía E, Lobo E, Malats N, Carrato A, Guillen-Ponce C. Circulating tumor cells (Ctc) and kras mutant circulating free Dna (cfDNA) detection in peripheral blood as biomarkers in patients diagnosed with exocrine pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 797 [PMID: 26498594 DOI: 10.1186/s12885-015-1779-7]
- 57 Tan AC, Jimeno A, Lin SH, Wheelhouse J, Chan F, Solomon A, Rajeshkumar NV, Rubio-Viqueira B, Hidalgo M. Characterizing DNA methylation patterns in pancreatic cancer genome. *Mol Oncol* 2009; 3: 425-438 [PMID: 19497796 DOI: 10.1016/j.molonc.2009.03.004]
- 58 Mahon KL, Qu W, Devaney J, Paul C, Castillo L, Wykes RJ, Chatfield MD, Boyer MJ, Stockler MR, Marx G, Gurney H, Mallesara G, Molloy PL, Horvath LG, Clark SJ; PRIME consortium. Methylated Glutathione S-transferase 1 (mGSTP1) is a potential plasma free DNA epigenetic marker of prognosis and response to chemotherapy in castrate-resistant prostate cancer. *Br J Cancer* 2014; 111: 1802-1809 [PMID: 25144624 DOI: 10.1038/bjc.2014.463]
- 59 Meiers I, Shanks JH, Bostwick DG. Glutathione S-transferase pi (GSTP1) hypermethylation in prostate cancer: review 2007. *Pathology* 2007; 39: 299-304 [PMID: 17558856 DOI: 10.1080/00313020701329906]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响

陈钟权, 符春茹, 符凤亲, 陈颖, 符昌文, 高凌峰

陈钟权, 符春茹, 符凤亲, 陈颖, 符昌文, 高凌峰, 海南医学院机能学实验室 海南省海口市 571199

陈钟权, 本科, 主要从事生理学研究.

基金项目: 2018年海南省省级大学生创新训练项目, No. 201811810037.

作者贡献分布: 此课题由陈钟权、符春茹、符凤亲、陈颖及符昌文设计; 动物制作与数据分析由陈钟权、符春茹、符凤亲、陈颖及符昌文操作完成; 论文写作由陈钟权、符春茹、符凤亲、陈颖、符昌文及高凌峰完成.

通讯作者: 高凌峰, 高级实验师, 571199, 海南省海口市学院路3号, 海南医学院机能学实验室. lfgao6500@163.com
电话: 0898-66895765

收稿日期: 2018-11-12

修回日期: 2018-12-21

接受日期: 2018-12-25

在线出版日期: 2019-01-08

Effect of piperine on arecoline induced contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits

Zhong-Quan Chen, Chun-Ru Fu, Feng-Qin Fu, Ying Chen, Chang-Wen Fu, Ling-Feng Gao

Zhong-Quan Chen, Chun-Ru Fu, Feng-Qin Fu, Ying Chen, Chang-Wen Fu, Ling-Feng Gao, Functional Laboratory of Hainan Medical University, Haikou 571199, Hainan Province, China

Supported by: 2018 Hainan Provincial University Students Innovation Training Program, No. 201811810037.

Corresponding author: Ling-Feng Gao, Senior Technician, Functional Laboratory of Hainan Medical University, 3 Xueyuan Road, Haikou 571199, Hainan Province, China. lfgao6500@163.com

Received: 2018-11-12

Revised: 2018-12-21

Accepted: 2018-12-25

Published online: 2019-01-08

Abstract

AIM

To investigate the effect of piperine on arecoline induced contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits and explore the possible mechanism involved.

METHODS

The method of *ex vitro* smooth muscle perfusion at a constant temperature was used to collect the rabbit small intestine *in vitro*. The effect of piperine solution at concentrations of 0.06 g/L, 0.6 g/L, and 6 g/L on the spontaneous contraction of isolated rabbit small intestinal smooth muscle was observed using the BL-420 bio-functional experiment system. Then, the effect of piperine and arecoline, alone or in combination, on spontaneous contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits was observed. To explore the mechanism by which piperine affected the contraction of isolated rabbit small intestinal smooth muscle, an inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) receptor antagonist (heparin, HP), a ryanodine receptor antagonist (ruthenium red, RR), and a nitric oxide synthase (NOS) inhibitor (nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) were used.

RESULTS

Piperine inhibited the spontaneous contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits. At a concentration of 6 g/L, piperine showed a significant inhibitory effect on the amplitude of spontaneous contractions ($P < 0.01$). On this basis, arecoline solution at 0.006 g/L significantly increased the amplitude of contraction of isolated rabbit small intestinal smooth muscle ($P < 0.05$), but the amplitude of small intestinal smooth muscle contraction was smaller than that treated with arecoline alone ($P < 0.05$). IP3 receptor antagonist heparin could strengthen the relaxation effect of piperine on intestinal smooth muscle ($P < 0.05$),

but ryanodine receptor antagonist ruthenium red had no effect on the relaxation effect of piperine ($P > 0.05$). L-NAME inhibited the relaxation effect of piperine ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Piperine can inhibit the amplitude of spontaneous and arecoline induced contraction of rabbit intestinal smooth muscle. The mechanism may be related to the increase of NO concentration in intestinal smooth muscle and the inhibition of intracellular Ca^{2+} release via IP3 of sarcoplasmic reticulum.

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

Key Words: Piperine; Arecoline; Rabbit; Isolated small intestinal smooth muscle; Calcium; Nitric oxide

Chen ZQ, Fu CR, Fu FQ, Chen Y, Fu CW, Gao LF. Effect of piperine on arecoline induced contraction of isolated small intestinal smooth muscle from rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 20-28

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/20.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.20>

摘要

目的

观察胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响及其作用机制。

方法

采用离体平滑肌恒温灌流的方法, 取家兔离体小肠, 通过BL-420生物机能实验系统测定其张力的变化, 观察不同浓度(0.06 g/L、0.6 g/L、6 g/L)胡椒碱溶液对正常状态下家兔离体小肠平滑肌自发性收缩的影响; 先观察胡椒碱对家兔离体小肠平滑肌自发性收缩的影响, 随后观察加入槟榔碱后对家兔离体小肠平滑肌自发性收缩的影响; 为研究胡椒碱抑制家兔离体小肠平滑肌收缩的作用机制, 应用IP3受体(inositol 1, 4, 5-trisphosphate, IP3)阻断剂肝素(Heparin, HP)、肌浆网ryanodine受体阻断剂钌红(ruthenium red, RR)和一氧化氮合酶抑制剂左旋硝基精氨酸甲酯(N^{G} -nitro-L-arginine-methylesterhydrochloride, L-NAME), 共同阐明胡椒碱对家兔离体小肠平滑肌作用的机制。

结果

胡椒碱抑制家兔离体小肠平滑肌自发性收缩, 药物浓度在6 g/L时可显著抑制家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅($P < 0.01$); 在此基础上加入0.006 g/L槟榔碱溶液促进家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅($P < 0.05$)且升高小肠收缩幅度小于单个槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅($P < 0.05$); IP3受体HP能增强胡

椒碱舒张家兔离体小肠平滑肌收缩的作用($P < 0.05$), 而肌浆网ryanodine受体阻断剂钌红对胡椒碱舒张家兔小肠平滑肌的作用无明显影响($P > 0.05$); L-NAME能够部分阻断胡椒碱舒张家兔离体小肠平滑肌收缩的作用($P < 0.05$).

结论

胡椒碱可显著抑制家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅; 抑制单个槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅; 其机制可能与增加一氧化氮浓度, 抑制IP3受体介导的内钙释放有关, 但对肌浆网ryanodine受体途径引起的内钙释放无关。

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

关键词: 胡椒碱; 槟榔碱; 家兔小肠平滑肌; 钙离子; 一氧化氮

核心提要: 本文通过大量实验观察胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响, 并进一步研究胡椒碱对家兔离体小肠平滑肌收缩的作用机制, 从而为胃肠功能紊乱性疾病的治疗提供理论依据, 具有广阔的开发前景。

陈钟权, 符春茹, 符凤亲, 陈颖, 符昌文, 高凌峰. 胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响. *世界华人消化杂志* 2019; 27(1): 20-28

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/20.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.20>

0 引言

胡椒碱是胡椒中主要活性成分。胡椒碱在生物医药方面具有抗氧化^[1]、镇静、抗惊厥^[2]、抗抑郁^[3]、抗肿瘤的作用^[4]、抗消化系统溃疡等作用^[5]。研究表明胡椒对离体平滑肌运动具有抑制作用, 但尚未见胡椒抑制消化道运动机制的报道^[6]。槟榔碱是槟榔中主要活性成分, 具有兴奋拟副交感神经和胃肠道平滑肌作用^[7]; 槟榔碱可明显增高家兔十二指肠肠管的张力, 减小收缩振幅, 不影响收缩频率, 其兴奋家兔十二指肠的作用可能由胆碱能M受体介导, 并且涉及肠平滑肌细胞膜对异搏定敏感的 Ca^{2+} 通道^[8]。

随着人们生活节奏越来越紧凑、工作压力越来越大, 加之饮食结构不合理, 高血压、胃肠道疾病已越来越常见, 腹胀、腹泻、便秘等消化道症状严重影响人们的生活质量。本项目旨在研究胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响, 在胡椒碱抑制家兔离体小肠平滑肌收缩振幅的基础上, 进一步观察加入槟榔碱后促进其家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅, 从而开发胡椒

碱的药用资源, 阐明胡椒碱对动物胃肠道运动的调控机制, 为该药在防治消化道疾病的应用中提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试动物: 健康成年家兔10只, 空腹24 h, 动物自由饮水。体重1.5-2.1 kg, 雌雄兼用, 由长沙市天勤生物技术有限公司提供(scxk(湘)2014-0010)。

1.1.2 药品与仪器: 胡椒碱(纯度97%, 由上海麦克林生化科技有限公司提供, CAS号: 94-62-2)、槟榔碱(纯度97%, 由上海麦克林生化科技有限公司提供, CAS号: 300-08-3)、羧甲基纤维素钠(Carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na)溶液(由上海麦克林生化科技有限公司提供, CAS号: 9004-32-4)、肝素(由上海麦克林生化科技有限公司提供, CAS号: 9041-08-1)、钯红(纯度95%, 由上海麦克林生化科技有限公司提供, CAS号: 11103-72-3)、左旋硝基精氨酸甲酯(纯度98%, 由上海源叶生物科技有限公司提供, CAS号: 51298-65-5); 自制(槟榔碱溶液 2.54×10^{-5} mol/L 10 mL, 胡椒碱溶液 2.10×10^{-4} mol/L、 2.10×10^{-3} mol/L、 2.10×10^{-2} mol/L各10 mL, 0.5%羧甲基纤维素钠溶液500 mL, 新鲜台氏液, 10^{-4} mol/L阿托品溶液10 mL, 钯红溶液 1×10^{-3} mol/L 10 mL, 左旋硝基精氨酸甲酯溶液 1×10^{-4} mol/L 10 mL, 肝素50 g/L 10 mL, 蒸馏水5000 mL); BL-420生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司); HW-200型恒温平滑肌槽(成都泰盟科技有限公司); 张力换能器(中国北京航天医学工程研究院)。

1.1.3 0.5%羧甲基纤维素钠溶液的配制: 取2.5 g的羧甲基纤维素钠粉末溶于500 mL的蒸馏水中。

1.1.4 胡椒碱溶液的配制: 精密称取3份2 g胡椒碱粉末, 分别装入试剂瓶中, 用0.5%羧甲基纤维素钠溶液分别配制成3组不同浓度的胡椒碱溶液(2.10×10^{-4} mol/L, 2.10×10^{-3} mol/L, 2.10×10^{-2} mol/L)。

1.1.5 槟榔碱溶液的配制: 取10 g槟榔碱粉末, 装入试剂瓶中, 用0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制成 2.54×10^{-5} mol/L的槟榔碱溶液。

1.1.6 钯红溶液的配制: 取0.79 mg钯红粉末, 装入试剂瓶中, 用蒸馏水配制成 1×10^{-3} mol/L的钯红溶液。

1.1.7 左旋硝基精氨酸甲酯溶液的配制: 取0.27 mg左旋硝基精氨酸甲酯粉末, 装入试剂瓶中, 用甲醇配制成 1×10^{-4} mol/L的左旋硝基精氨酸甲酯溶液。

1.1.8 生物机能实验系统准备: 开启生物机能实验系统, 预热和调节张力换能器, 加蒸馏水入洁净恒温平滑肌槽内, 维持水温37 ℃, 在内槽加入新鲜台氏液18 mL。

1.1.9 离体家兔肠道平滑肌的制备: 使用木锤敲击动物

头部致昏, 立即剖腹取出小肠置于台式液中, 并将肠管分剪成1-1.5 cm长的小段, 随后用台氏液将肠内容物洗净, 放入另一份台氏液浸浴中备用。用棉线结扎肠管两端, 先将肠管置于盛有37 ℃恒温台氏液试管中洗净, 然后将肠管固定在恒温平滑肌槽内37 ℃。

1.2 方法

1.2.1 羧甲基纤维素钠溶液对离体小肠平滑肌运动的影响: 待小肠张力描记曲线稳定, 注入0.5%羧甲基纤维素钠溶液1 mL(阴性对照组), 观察并记录小肠张力描记曲线频率和幅度的变化情况。

1.2.2 胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌运动的影响: 待肠管收缩稳定后, 分别加入浓度为0.06 g/L、0.6 g/L、6 g/L的胡椒碱溶液1 mL, 加药间隔时间为1-3 min, 观察并记录小肠张力描记曲线频率和幅度的变化情况。每次加1种药物浓度完成后, 待家兔离体小肠平滑肌收缩平稳, 用温的台式液润洗小肠3次。

1.2.3 槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌运动的影响: 待肠管收缩稳定后, 加入浓度为0.006 g/L的槟榔碱溶液1 mL, 加药间隔时间为1 min, 观察并记录小肠张力描记曲线频率和幅度的变化情况。每次加1种药物浓度完成后, 待家兔离体小肠平滑肌收缩平稳, 用温的台式液润洗小肠3次。

1.2.4 胡椒碱溶液与阿托品溶液分别对槟榔碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌运动的影响: 待肠管收缩稳定后, 胡椒碱+槟榔碱组和阿托品+槟榔碱组分别加入6 g/L胡椒碱溶液和 10^{-4} mol/L阿托品溶液1 mL, 观察1 min, 再加入0.006 g/L槟榔碱溶液1 mL。观察并记录小肠张力描记曲线频率和幅度的变化情况。每次加1组药物浓度完成后, 待家兔离体小肠平滑肌收缩平稳, 用温的台式液润洗小肠3次。

1.2.5 不同受体药(肝素、钯红、左旋硝基精氨酸甲酯)对胡椒碱产生的影响: 待肠管收缩稳定后, 胡椒碱+肝素组、胡椒碱+钯红组、胡椒碱+左旋硝基精氨酸甲酯组均先加入6 g/L胡椒碱溶液1 mL, 观察1 min, 再分别加入50 g/L肝素、0.079 g/L钯红、0.027 g/L左旋硝基精氨酸甲酯1 mL。观察并记录小肠张力描记曲线频率和幅度的变化情况。每次加1组药物浓度完成后, 待家兔离体小肠平滑肌收缩平稳, 用温的台式液润洗小肠3次。

统计学处理 用SPSS 20.0统计软件进行统计学分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 t 检验进行分析比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, $P < 0.01$ 表示差异有高度统计学意义。

2 结果

2.1 羧甲基纤维素钠溶液对家兔离体小肠平滑肌运动

表 1 不同浓度胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌收缩振幅的影响(mean \pm SD, g)

分组	加药前	加药后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
CMC-Na	5.915 \pm 2.313	6.137 \pm 2.275	1.205	>0.05
低浓度	6.544 \pm 2.919	7.291 \pm 2.279	1.747	>0.05
中浓度	7.969 \pm 1.901	7.274 \pm 1.841	4.946	<0.01
高浓度	6.539 \pm 2.105	5.729 \pm 1.916	4.024	<0.01

CMC-Na: 羧甲基纤维素钠.

表 2 不同浓度胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌收缩频率的影响(mean \pm SD, 次/分)

分组	加药前	加药后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
CMC-Na	8.200 \pm 1.600	9.200 \pm 1.600	2.023	>0.05
低浓度	8.000 \pm 1.342	8.700 \pm 2.147	1.481	>0.05
中浓度	7.778 \pm 1.397	9.222 \pm 1.315	1.982	>0.05
高浓度	7.111 \pm 1.286	9.222 \pm 1.133	6.825	<0.01

CMC-Na: 羧甲基纤维素钠.

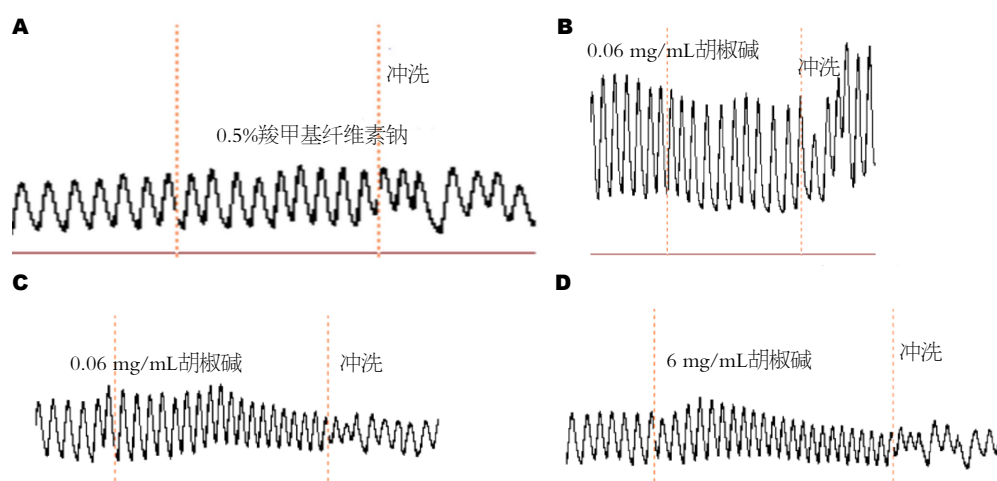


图 1 羧甲基纤维素钠溶液(A)和低浓度(B)、中浓度(C)、高浓度(D)胡椒碱溶液分别对家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图.

的影响 向平滑肌槽内加入羧甲基纤维素钠溶液后,小肠平滑肌的收缩振幅和频率基本没有变化. 加入羧甲基纤维素钠溶液作为阴性对照, 目的是观察羧甲基纤维素钠溶液对小肠平滑肌运动的影响, 结果显示加入羧甲基纤维素钠溶液前后小肠平滑肌收缩振幅和频率无明显变化, 统计学无显著差异($P>0.05$, 图1A, 图2和表1, 表2).

2.2 胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌运动的影响 0.06-6 g/L胡椒碱溶液能剂量依赖性抑制家兔小肠平滑肌收缩, 在较低浓度时对小肠平滑肌收缩振幅和频率均无影响, 随着药物浓度的增加, 对小肠平滑肌收缩的抑制作用增强, 与阴性对照组相比, 药物浓度在0.6 g/L时对小肠平滑肌收缩的振幅抑制率具有极显著差异

($P<0.01$, 图1B-D, 图2A和表1), 药物浓度在6 g/L时对频率抑制率具有极显著差异($P<0.01$, 图1B-D, 图2B, 表2).

2.3 胡椒碱对槟榔碱作用家兔离体小肠平滑肌运动的影响 与对照组相比, 0.006 g/L槟榔碱对收缩振幅具有极显著性的促进作用($P<0.01$), 对收缩频率具有显著性的抑制作用($P<0.05$, 图3); 与对照组相比, 先加入6 g/L胡椒碱溶液预处理后再加入0.006 g/L槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅和频率($P>0.05$)小于单个加入0.006 g/L槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅和频率, 见图4; 可见6 g/L胡椒碱溶液对槟榔碱溶液作用家兔离体小肠平滑肌运动的波形具有抑制作用.

2.4 阿托品溶液对槟榔碱溶液作用家兔离体小肠平滑

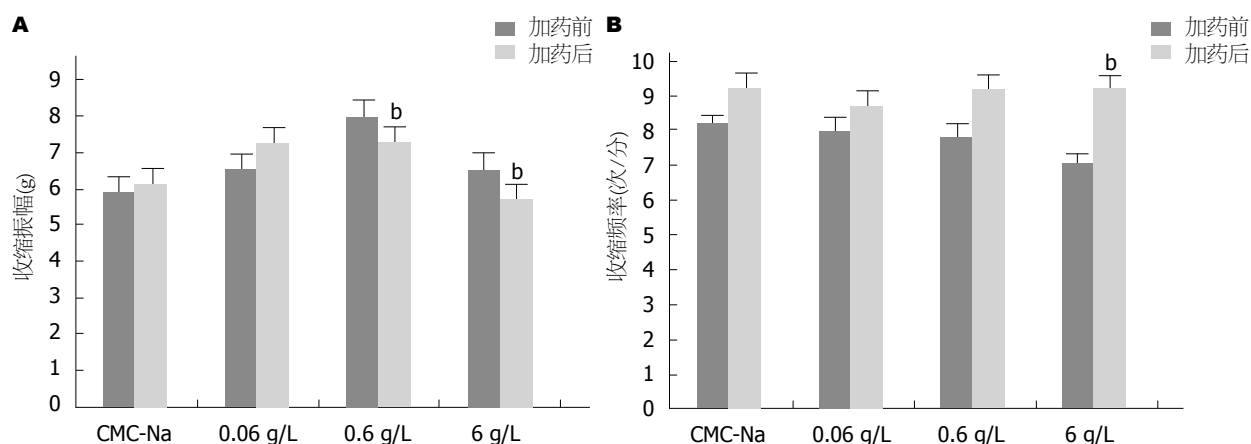


图 2 胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌运动的振幅(A)和频率(B)的影响. ^b $P < 0.01$, 与加药前相比.

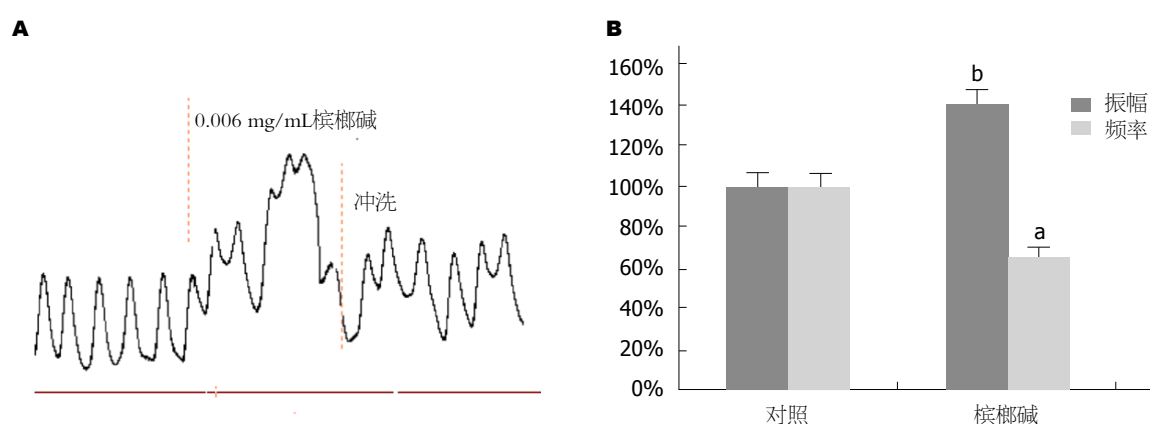


图 3 槟榔碱对家兔离体小肠平滑肌运动的影响. A: 槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅和频率的影响, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 与对照组相比.

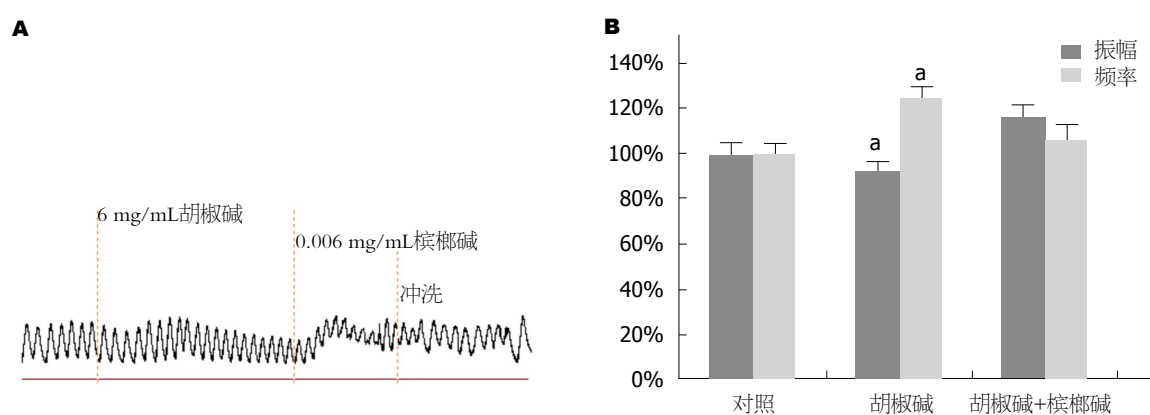


图 4 胡椒碱对槟榔碱诱导家兔离体小肠平滑肌运动的影响. A: 胡椒碱溶液对槟榔碱溶液作用家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 胡椒碱溶液对槟榔碱溶液作用家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅和频率的影响, ^a $P < 0.05$, 与对照组相比.

肌运动的影响 10^{-4} mol/L 的阿托品溶液对槟榔碱溶液诱导家兔离体小肠平滑肌运动的波形具有抑制作用, 与对照组相比, 10^{-4} mol/L 的阿托品溶液对收缩振幅具有极显著性的抑制作用 ($P < 0.01$), 对收缩频率无影响, 即无显著性差异 ($P > 0.05$). 0.006 g/L 槟榔碱溶液可以明显地增强家兔离体小肠平滑肌运动的波形, 使收缩振幅

明显增加, 具有显著性差异 ($P < 0.05$), 对收缩频率无影响, 见图5.

2.5 肝素溶液、钆红溶液、左旋硝基精氨酸甲酯溶液对胡椒碱溶液舒张家兔离体小肠平滑肌的影响 与对照组相比, 6 g/L 胡椒碱溶液对收缩振幅具有显著性的抑制作用 ($P < 0.05$), 50 g/L 肝素溶液可增强胡椒碱溶液舒张家

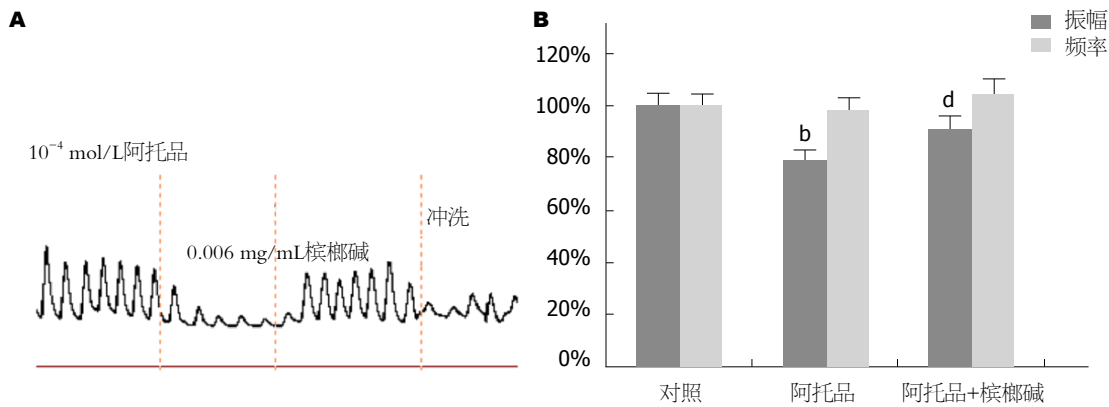


图 5 阿托品溶液对槟榔碱溶液诱导家兔离体小肠平滑肌运动的影响. A: 阿托品溶液对槟榔碱溶液诱导家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 阿托品溶液对槟榔碱溶液诱导家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅和频率的影响. ^b $P<0.01$, 与对照组相比; ^d $P<0.05$, 与阿托品组相比.

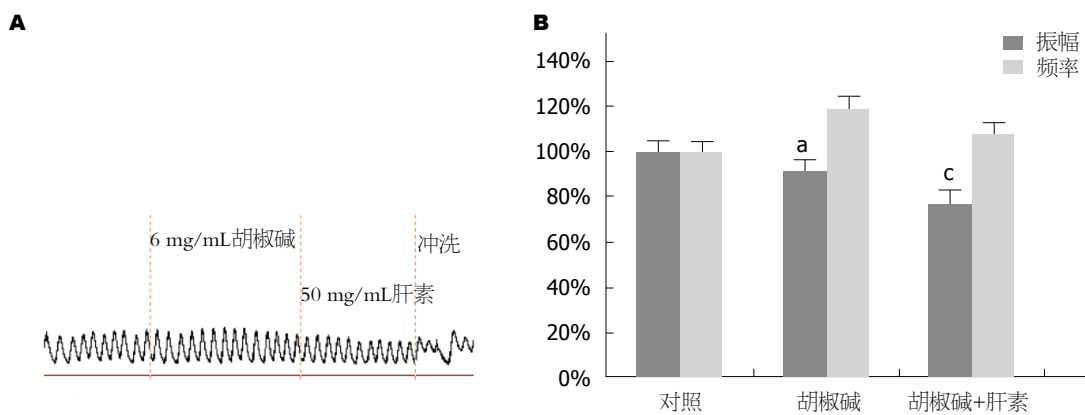


图 6 肝素溶液对胡椒碱溶液抑制家兔离体小肠平滑肌收缩的影响. A: 肝素溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 肝素溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅和频率的影响. ^a $P<0.05$, 与对照组相比; ^c $P<0.05$, 与胡椒碱相比.

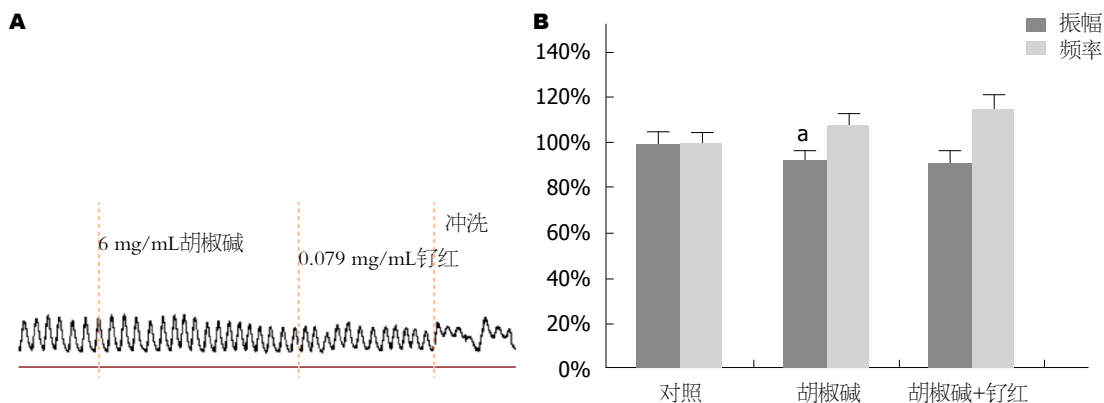


图 7 钆红溶液对胡椒碱溶液抑制家兔离体小肠平滑肌收缩的影响. A: 钆红溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 钆红溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌收缩的振幅和频率的影响, ^a $P<0.05$ 与对照组相比.

兔离体小肠平滑肌的收缩振幅($P<0.05$), 而对收缩频率无影响, 见图6. 与6 g/L胡椒碱溶液组相比, 0.079 g/L钆红溶液对6 g/L胡椒碱溶液舒张家兔离体小肠平滑肌的作用无明显影响($P>0.05$), 见图7. 0.027 g/L左旋硝基精氨酸甲酯溶液均能增强胡椒碱溶液舒张家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅和频率 ($P<0.05$), 见图8.

3 讨论

小肠的运动形式包括有紧张性收缩、蠕动、分节运动等, 这些运动的发生都是小肠平滑肌收缩的具体外部表现; 通过观察小肠平滑肌收缩张力高低和收缩频率快慢来判断小肠平滑肌兴奋性高低^[9]. 消化道对营养物质的消化和吸收的主要部位是小肠, 小肠平滑肌收缩活动

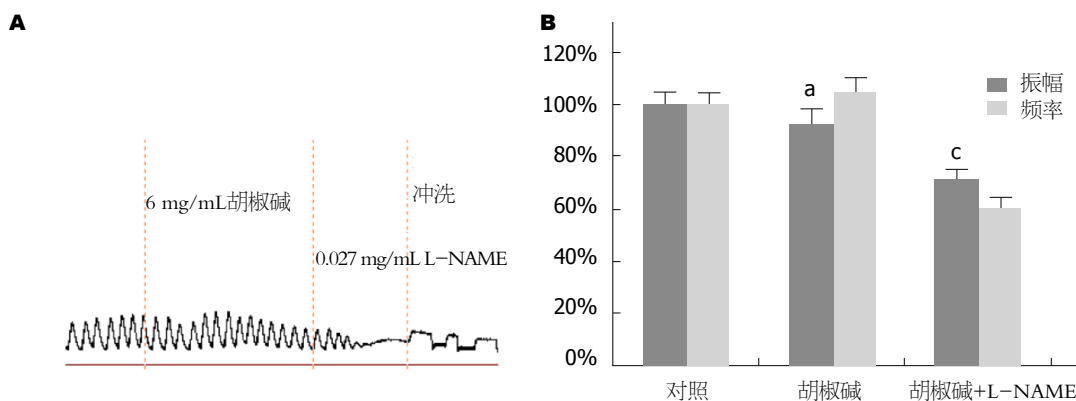


图 8 左旋硝基精氨酸甲酯溶液对胡椒碱溶液抑制家兔离体小肠平滑肌的影响. A: 左旋硝基精氨酸甲酯溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体小肠平滑肌收缩影响曲线图; B: 左旋硝基精氨酸甲酯溶液对胡椒碱溶液作用后家兔离体平滑肌收缩的振幅和频率的影响. ^a $P < 0.05$ 与对照组相比; ^c $P < 0.05$, 与胡椒碱相比.

有利于营养物质在小肠内的消化和吸收. 小肠平滑肌收缩机制及各种因素对平滑肌运动的影响, 是生理学的重要研究内容, 在临床上对防治疾病等具有重要意义. 近年来消化道疾病的增多, 对人类身体健康构成一定的威胁. 消化道疾病的发病原因主要是由于胃肠平滑肌极易受温度、理化及药物等因素的影响^[10,11].

目前研究认为胃肠道上主要存在M胆碱受体、组胺受体、5-HT受体及多种胃肠激素等受体. 胃肠运动的调节由交感神经、副交感神经系统和存在肠壁内的肠神经系统控制^[12]. 家兔离体肠段虽然失去外来神经的支配, 但是壁内神经丛仍存在, 在适宜的条件下, 仍能保持平滑肌收缩的特性及肠壁神经丛的作用^[13]. 位于环形肌黏膜下边缘与肠肌丝Cajal间质细胞是小肠慢波活动的起搏器和传导者^[14], 小肠的节律性活动是受小肠的基本电节律(即慢波)所控制. Cajal间质细胞自发活动的产生和传导易受离子环境、神经递质和激素等生物活性物质的影响. ICC产生起搏电流触发的慢波电流属于L2 Ca^{2+} 型电流, 因此, 平滑肌的舒缩活动依赖于细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化, 当胞浆内 Ca^{2+} 升高到一定水平(1-50 $\mu\text{mol/L}$)时, 与肌钙蛋白或肌调蛋白结合, 触发平滑肌收缩^[15].

生理状态下, 胃肠道运动受自主神经壁内神经丛的支配. 一定剂量的胡椒碱对胃肠运动表现为抑制作用. 本实验结果显示, 在低、中、高不同剂量的胡椒碱对正常离体肠管均具有不同程度的抑制作用, 当胡椒碱剂量达6 g/L则有非常显著性差异($P < 0.05$), 提示在与中枢神经、体液调控脱离的条件下, 胡椒碱对离体肠管有显著的抑制作用. 实验结果表明, 不同浓度的胡椒碱对家兔离体小肠平滑肌自发收缩活动具有明显的抑制作用. 由此推断, 胡椒碱能抑制胃肠痉挛, 缓解肠胃疼痛, 对治疗胃肠动力疾病如腹泻, 腹痛, 胃肠痉挛等有一定疗效.

阿托品作用下槟榔碱对家兔小肠平滑肌收缩的影响, 在正常条件下, 待小肠平滑肌收缩后, 加入终浓度为 10^{-4} mol/L的阿托品溶液可使肠道平滑肌的收缩明显减弱, 在此基础上加入浓度为0.006 g/L的槟榔碱溶液, 使肠道平滑肌收缩明显加强, 说明槟榔碱对阿托品具有显著的拮抗作用.

在正常条件下, 待小肠平滑肌收缩后, 加入6 g/L胡椒碱溶液后, 离体肠管的收缩幅度下降, 再加入0.006 g/L槟榔碱溶液, 离体肠管的收缩幅度比单个加入0.006 g/L槟榔碱溶液的收缩幅度有一定的下降趋势, 说明胡椒碱抑制槟榔碱促进离体肠管的收缩幅度, 具有M胆碱受体阻断药的药理作用.

细胞内释放的钙离子主要来自于肌浆网, 肌浆网内释放的钙离子主要通过三磷酸肌醇受体(inositol 1, 4, 5-trisphosphate, IP3)和雷诺定受体(ryanodine)来完成. 当这些受体被激活后, 可引起肌浆网内钙离子释放, 从而引起细胞内钙离子浓度增加, 诱导平滑肌收缩^[16,17].

胡椒碱可能通过IP3或雷诺定受体途径来完成其对肠平滑肌运动的抑制作用. 为此, 本试验进行了IP3阻断剂肝素(Heparin, HP)和肌浆网ryanodine受体阻断剂钌红(ruthenium red, RR)预处理下胡椒碱对肠平滑肌的作用. 结果显示, 预先应用IP3可显著减弱胡椒碱对肠平滑肌收缩的振幅($P < 0.05$), 而预先应用RR后, 对胡椒碱舒张肠平滑肌的作用无影响($P > 0.05$), 由此推断, IP3受体途径受到抑制, 引起细胞内钙离子释放减少可能介导胡椒碱舒张肠平滑肌的作用, 但雷诺定受体途径并未介导胡椒碱对肠平滑肌的舒张作用机制.

据报道, 神经递质NO通过激活平滑肌细胞内的鸟苷酸环化酶, 使胞质内c GMP浓度增高, Ca^{2+} 浓度下降, 诱导胃肠平滑肌的舒张^[18-20]. 本试验采用NO合酶抑制剂L-NAME预处理肠平滑肌细胞, 胡椒碱舒张平滑肌作

用明显减弱($P<0.05$), 表明胡椒碱对肠平滑肌的抑制作用可能与NO浓度有关, 但对其下游的鸟苷酸环化酶有无影响尚需进一步研究。

通过胡椒碱对兔小肠平滑肌运动的影响研究, 表明胡椒碱可抑制自发性肠平滑肌收缩; 通过胡椒碱对槟榔碱促进家兔离体小肠平滑肌运动的影响研究, 表明胡椒碱抑制槟榔碱促进离体肠管的收缩幅度, 具有M胆碱受体阻断药的药理作用; 通过阿托品作用下槟榔碱对家兔小肠平滑肌收缩的影响, 表明阿托品可使肠道平滑肌的收缩明显减弱, 槟榔碱使肠道平滑肌收缩明显加强, 说明槟榔碱对阿托品具有显著的拮抗作用。HP和L-NAME预处理后可显著增强胡椒碱的舒张作用, 而RR并没有影响胡椒碱的舒张作用。由此得出胡椒碱抑制兔肠平滑肌收缩的作用机制可能为增加小肠平滑肌NO浓度, 抑制IP3受体介导的内钙释放, 最终使细胞内 Ca^{2+} 浓度降低, 平滑肌舒张而达到对肠平滑肌的解痉作用。胡椒碱对动物肠平滑肌运动具有显著的舒张作用, 因此该药在胃肠功能紊乱性疾病的应用中, 具有广阔的开发前景。

文章亮点

实验背景

胡椒碱已经被众多研究证实是一个药理作用非常广泛的天然原料药, 有研究证实了胡椒碱对胃肠道平滑肌的运动具有抑制作用, 但抑制作用机制目前尚未见到相关的报道, 有研究证实了槟榔碱对家兔十二指肠具有兴奋作用, 其兴奋十二指肠的作用机制可能由胆碱受体M受体介导。

实验动机

现代人们因生活节奏快, 工作压力大而出现相应的胃肠道疾病。由于运用一些药物后出现一些不良反应, 因此开发低毒性、低残留的药物意义重大。本实验以胡椒碱和槟榔碱为基础, 阐明胡椒碱对动物胃肠道运动的调控机制, 从而开发胡椒碱的药用资源, 为该药在防治消化道疾病的应用中提供理论依据。

实验目标

观察胡椒碱、槟榔碱溶液对家兔离体小肠平滑肌的作用; 并探究不同受体药物(肝素溶液、钆红溶液、左旋硝基精氨酸甲酯溶液)与胡椒碱溶液对家兔离体小肠平滑肌收缩之间的机制作用, 发现胡椒碱、槟榔碱对消化道平滑肌的药理作用。

实验方法

本实验采用敲晕家兔进行离体肠平滑肌恒温灌流, 通过BL-420生物机能实验系统测定其张力的变化, 采用了控

制变量法和自身对比法, 便于实验的观察和对比。数据分析采用统计学 t 检验进行对比, 直观得出有无统计学意义。

实验结果

本实验达到研究目的, 证明胡椒碱溶液抑制单个槟榔碱溶液促进家兔离体小肠平滑肌的收缩振幅, 肝素溶液能增强胡椒碱舒张家兔离体小肠平滑肌收缩的作用, 钆红溶液对胡椒碱舒张家兔小肠平滑肌的作用无明显影响; 左旋硝基精氨酸甲酯溶液能够部分阻断胡椒碱舒张家兔离体小肠平滑肌收缩的作用。胃肠平滑肌过度收缩可引起腹痛腹泻疾病, 本实验证明胡椒碱溶液具有M受体阻断药的药理作用, 因此该药在胃肠功能紊乱性疾病的应用中具有广阔的开发前景。

实验结论

本研究发现胡椒碱能抑制家兔离体小肠平滑肌自发性收缩, 并通过胡椒碱对槟榔碱、阿托品对槟榔碱的拮抗作用, 推断胡椒碱可能存在M胆碱受体阻断药的药理作用。另外, 通过阻断剂肝素、L-NAME预处理后显著增强胡椒碱的舒张作用, 推断胡椒碱抑制小肠平滑肌收缩的作用机制可能为增加小肠平滑肌NO浓度、抑制IP3受体介导的内钙释放, 最终使细胞内 Ca^{2+} 浓度降低, 而达到对肠平滑肌的解痉作用, 反映胡椒碱为临床胃肠功能紊乱疾病诊疗提供有价值的参考。

展望前景

胃肠道平滑肌主要存在M受体、组胺受体、5-HT受体等, 为此应继续研究胡椒碱抑制家兔离体小肠平滑肌收缩是否还与阻断组胺、5-HT受体有关; 同时将胡椒碱与临床常见治疗功能性肠病的药物进行比较, 更能凸显其药理价值。

4 参考文献

- Mittal R, Gupta RL. In vitro antioxidant activity of piperine. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2000; 22: 271-274 [PMID: 11031726]
- 莫峥嵘, 张岐. 胡椒碱的抗氧化活性及稳定性研究. 海南师范学院学报(自然科学版) 2006; 19: 52-54 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-4942.2006.01.016]
- 裴印权, 张仲一, 李军, 崔广智. 胡椒碱对中枢神经系统功能的影响. 中国药理学杂志 2003; 38: 268-270 [DOI:10.3321/j.issn:1001-2494.2003.04.011]
- 包兰兰, 金柱, 博·格日勒图. 胡椒碱降血脂作用的实验研究. 中国民族医药杂志 2004; 10: 22-23 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6810.2004.01.016]
- 刘屏, 索婧侠, 于腾飞. 胡椒碱药理作用的研究进展. 中国药物应用与监测 2007; 4: 7-9 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-8157.2007.03.003]
- 杨阳, 姚晓慧, 周玉东, 宋疆霞, 买尼沙古丽·巴吾东, 张晓红, 余佳琳, 赵红琼. 辣椒、花椒和胡椒联合用药对小鼠离体小肠运动影响的研究. 黑龙江畜牧兽医 2016; 13 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2016.1211]
- 陈潮燕. 槟榔碱的提取分离及其对胃肠道平滑肌收缩作用的影响. 广东药学 2000; 10: 48-50 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-

- 229X.2000.02.026.]
- 8 杜志敏, 万新祥, 伍爱婵, 陈一岳. 槟榔碱对离体肠自发性蠕动的影 响. 解放军广州医高专学报 1998; 2: 98-99
- 9 朱大年, 王庭槐. 生理学. 8版. 北京: 人民卫生出版社 2013: 187-209
- 10 王玢, 左明雪. 人体及动物生理学. 2版. 北京: 高等教育出版 2001: 277-313
- 11 吕锦芳, 陈燕. 不同处理因素对离体兔小肠平滑肌运动的影响. 安徽科技学院学报 2002; 16: 17-22 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-8772.2002.01.007]
- 12 张三印, 董宇, 杨鹏. 胃肠运动障碍发病机制与证治. 中医药学 刊 2003; 21: 209-211 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7717.2003.02.022]
- 13 付立波, 邵凯, 景丽娜. 白酒对家兔离体小肠平滑肌生理特性 影响的研究. 长春师范大学学报(自然科学版) 2008; 27: 72-74 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-178X-B.2008.04.022]
- 14 付立波, 付立山, 张静菊, 曹婧. 丹参对家兔离体小肠平滑肌生 理特性的影响. 长春师范大学学报(自然科学版) 2009; 28: 35-39 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-178X-B.2009.03.011]
- 15 Bolton TB, Prestwich SA, Zholos AV, Gordienko DV. Excitation-contraction coupling in gastrointestinal and other smooth muscles. *Annu Rev Physiol* 1999; 61: 85-115 [PMID: 10099683 DOI: 10.1146/annurev.physiol.61.1.85]
- 16 Bolton TB, Gordienko DV, Pucovsky V, Parsons S, Povstyan O. Calcium release events in excitation-contraction coupling in smooth muscle. *Novartis Found Symp* 2002; 246: 154-168; discussion 168-173, 221-227 [PMID: 12164307]
- 17 McCarron JG, Chalmers S, Bradley KN, MacMillan D, Muir TC. Ca^{2+} microdomains in smooth muscle. *Cell Calcium* 2006; 40: 461-493 [PMID: 17069885 DOI: 10.1016/j.ceca.2006.08.010]
- 18 Frei E, Huster M, Smital P, Schlossmann J, Hofmann F, Wegener JW. Calcium-dependent and calcium-independent inhibition of contraction by cGMP/cGKI in intestinal smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G834-G839 [PMID: 19628652 DOI: 10.1152/ajpgi.00095.2009]
- 19 Hofmann F. The biology of cyclic GMP-dependent protein kinases. *J Biol Chem* 2005; 280: 1-4 [PMID: 15545263 DOI: 10.1074/jbc.R400035200]
- 20 Murthy KS. Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 345-374 [PMID: 16460276 DOI: 10.1146/annurev.physiol.68.040504.094707]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

中国宁夏人群HOTAIR单核苷酸多态性与胃癌易感性的相关性研究

姚丽, 冯雅宁, 游颜杰, 罗明, 辛瑞娟

姚丽, 冯雅宁, 游颜杰, 罗明, 辛瑞娟, 宁夏回族自治区人民医院消化内科 宁夏回族自治区银川市 750001

姚丽, 副主任医师, 研究方向为消化道肿瘤.

作者贡献分布: 姚丽与冯雅宁对此文所作贡献两均等; 此课题由姚丽、冯雅宁、游颜杰、罗明及辛瑞娟设计; 研究过程由冯雅宁与游颜杰操作完成; 研究用新试剂及分析工具由罗明与辛瑞娟提供; 数据分析由姚丽、冯雅宁、游颜杰、罗明及辛瑞娟完成; 本论文写作由姚丽完成.

通讯作者: 姚丽, 副主任医师, 750001, 宁夏回族自治区银川市金凤区正源北街301号, 宁夏回族自治区人民医院消化内科. panz3695@163.com

收稿日期: 2018-11-02

修回日期: 2018-12-11

接受日期: 2018-12-30

在线出版日期: 2019-01-08

Association between polymorphisms of HOTAIR and risk of gastric cancer in a population in Ningxia, China

Li Yao, Ya-Ning Feng, Yan-Jie You, Ming Luo, Rui-Juan Xin

Li Yao, Ya-Ning Feng, Yan-Jie You, Ming Luo, Rui-Juan Xin, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Ningxia Autonomous Region, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Corresponding author: Li Yao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Ningxia Autonomous Region, 301 Zhengyuan North Street, Jinfeng District, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China. panz3695@163.com

Received: 2018-11-02

Revised: 2018-12-11

Accepted: 2018-12-30

Published online: 2019-01-08

Abstract

AIM

To explore the association between HOTAIR single nucleotide polymorphisms and susceptibility to gastric cancer (GC) in Ningxia, China.

METHODS

Three HOTAIR loci rs12826786 (C>T), rs920778 (C>T), and rs4759314 (A>G) were selected for genotyping their polymorphisms; 152 patients with GC and 307 healthy controls were selected after matching age, weight, gender, and other factors. The association between single nucleotide polymorphisms and genetic susceptibility to GC was analyzed by PCR and high-throughput TaqMan technology.

RESULTS

The frequency of HOTAIR rs920778 genotype TT was 26.3% and 24.7% in the case group and the control group, respectively; the frequency of genotype C/T was 21.1% and 31.3%; and the frequency of genotype CC was 52.6% and 44.0%. The TT genotype at this locus was significantly associated with genetic susceptibility to GC ($P < 0.05$). Rs12826786 and rs4759314 were not associated with the risk of GC ($P > 0.05$). Further stratified analysis found that rs920778 locus was highly associated with genetic susceptibility to GC in men, smoking population, and GC patients with tumor size ≥ 5 cm, but there was no significant association with age, female gender, non-smokers, distant metastasis, or family history of GC.

CONCLUSION

HOTAIR rs920778 single nucleotide polymorphism is associated with genetic susceptibility to GC.

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

Key Words: HOTAIR; Single nucleotide polymorphism; Gastric cancer

Yao L, Feng YN, You YJ, Luo M, Xin RJ. Association between polymorphisms of HOTAIR and risk of gastric cancer in a population in Ningxia, China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 29-35
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/29.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.29>

摘要

目的

探索中国宁夏人群中HOTAIR单核苷酸多态性与胃癌(gastric cancer, GC)易感性的相关性研究。

方法

挑选3个HOTAIR基因位点rs12826786(C>T), rs920778(C>T), RS4759314(A>G), 对其多态性进行了基因分型; 选取152名GC患者和307名健康对照者, 按照年龄, 体重, 性别等因素相匹配, 通过PCR与高通量TaqMan分析其单核苷酸多态性对于GC遗传易感性的影响。

结果

HOTAIR Rs920778位点基因型TT在病例组和对照组中的频率分别为26.3%和24.7%, 基因型C/T在两组中的频率分别为21.1%和31.3%, 基因型CC在两组中的频率分别为52.6%和44.0%, 该位点的TT基因型与GC的遗传易感性具有显著联系, 结果具有统计学意义($P<0.05$)。Rs12826786和Rs4759314两个基因位点与GC发病危险关系的结果并无统计学意义($P>0.05$)。进一步的分层分析中发现Rs920778位点的单核苷酸多态性与男性, 吸烟人群及肿瘤大小 ≥ 5 cm的GC患者的GC遗传易感性高度相关, 而与患者的年龄因素, 女性患者, 非吸烟患者, 患者的远处转移情况及GC家族史并无显著联系。

结论

中国宁夏人群中HOTAIR Rs920778位点单核苷酸多态性与GC的遗传易感性具有一定程度的联系。

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

关键词: HOTAIR; 单核苷酸多态性; 胃癌

核心提要: 在中国宁夏人群中长链非编码RNA HOTAIR Rs920778位点单核苷酸多态性与胃癌(gastric cancer, GC)的遗传易感性具有一定程度的联系, Rs920778位点的单核苷酸多态性与男性, 吸烟人群及肿瘤大小大于或等于5 cm的GC患者的GC遗传易感性高度相关。

姚丽, 冯雅宁, 游颜杰, 罗明, 辛瑞娟. 中国宁夏人群HOTAIR单核苷酸多态性与胃癌易感性的相关性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(1): 29-35

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/29.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.29>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上死亡率高最常见的恶性肿瘤之一^[1]。最近, GLOBOCAN项目([http:// globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr))报告称GC在全球发病率和死亡率分别位于第五位和第三位^[2]。在亚洲国家尤其是中国, GC的确诊病例和每年死亡人数仍然呈上升趋势。尽管有越来越多的证据表明受环境因素影响的表现遗传/遗传效应和GC病因学具有显著联系^[3]。然而, 关于GC发展的确切机制仍知之甚少。

长链非编码RNA(lncRNA)具有的生物调节功能在广泛的范围内受到了极大的关注^[4]。许多研究已经证明lncRNA参与癌症的发病机制中, 主要通过介导表观遗传修饰, 调节转录表达过程以及介导转录后调控过程^[5-7]。在这其中lncRNA HOX转录反义基因RNA(HOTAIR)在早些时候已经被确认参与了恶性肿瘤的发展和进展过程^[8]。Gupta等^[9]人最初证明HOTAIR在乳腺癌组织中上调表达, 并与乳腺癌的进展有关。在GC中, HOTAIR表达水平在肿瘤组织中高度表达且与患者的临床表型有很强的关联, 例如侵犯静脉, 淋巴结转移和生存预后情况^[10]。此外, HOTAIR可以募集miR-331-3p, 作为竞争性内源RNA以调节HER2在GC细胞中的表达^[11]。

最近, 大量研究调查了lncRNA基因变异, 主要是基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)对癌症遗传易感性的影响。lncRNA H19的rs2839698位点最初发现与降低膀胱癌的风险显著相关^[11,12], lncRNA PCGEM1中的rs6434568位点与增加前列腺癌风险有关^[13]。同时, 有研究指出, HOTAIR中rs7958904位点的SNP对结肠直肠癌易感性和等位基因特异性细胞表型在结肠直肠癌增殖具有保护作用^[14]。此外, 尽管HOTAIR的SNP rs12826786与贲门腺癌风险有关, 但很少有证据支持HOTAIR SNP对GC易感性和基因功能的遗传效应。因此, 在这项研究中, 我们进行了一个病例对照研究来评估中国人群中HOTAIR SNPs与GC风险之间的关联。

1 材料和方法

1.1 材料 307名健康对照者均来自2008年宁夏回族自治区人民医院健康体检门诊, 其中男165例, 女142例, 年龄范围31-81岁, 中位年龄57岁。全部研究对象均为随机选取, 无血缘关系。152名GC患者均来自2008/2011年我院

消化内科GC患者, 其中男88例, 女64例, 年龄范围37-81岁, 中位年龄61岁。

1.2 方法 DNA抽取: 人外周血白细胞基因组DNA抽提取对照者或患者静脉血5 mL, EDTA抗凝, 以QUAGE公司DNA抽提试剂盒抽提血DNA。

基因多态性分析: 所有的基因多态性分析均采用Taqman基因分型技术, Pre-designed Taqman SNP基因分型探针购于Applied Biosystems(加州, 美国), PCR引物、探针及Master Mix均购于Applied Biosystems(加州, 美国)。所有的基因分型均在7900HT Fast Real-Time PCR System 384孔板完成。反应体系包括: $2 \times$ TaqMan Genotyping Master Mix 2.5 μ L, $40 \times$ TaqMan SNP Genotyping Assay 0.125 μ L, 模板DNA 2.5 μ L。质控: 每次实验均设NTC(no template controls)以及阳性对照。预读板后进行real-time PCR循环。Real-time PCR的循环条件为: 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min; 循环50次, 之后进行后读板。结果采用SDS 2.2 software分析。

统计学处理 用SPSS 16.0 for Windows软件进行数据分析。组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。Logistic回归进行危险因素独立性分析, 其风险率用比值比(odds ratio, OR)和95%CI表示, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 临床GC患者和健康对照的特点 共有449名年龄和性别匹配的土耳其科目(152名GC患者和307名健康对照)进行基因分型探讨HOTAIR单核苷酸多态性与GC易感性的关系(表1)。

2.2 HOTAIR各个基因位点与GC发病危险关系分析 HOTAIR Rs920778位点基因型TT在病例组和对照组中的频率分别为26.3%和24.7%, 基因型C/T在两组中的频率分别为21.1%和31.3%, 基因型CC在两组中的频率分别为52.6%和44.0%。以基因型CC作为对照, 该位点基因型TT的调整危险度为1.454(95%CI: 1.069-1.927, $P < 0.05$)。表明HOTAIR Rs920778位点TT基因型在GC患者和健康人群中的分布频率差异具有统计学意义, ($P < 0.05$)基因型TT在病例组和健康组中相对于CC基因型为GC发病的危险因素。而对于Rs12826786和Rs4759314两个基因位点与GC发病危险关系的结果并无统计学意义(表2)。

2.3 HOTAIR基因Rs920778位点各基因型不同分层后与GC发病危险关系分析 为消除年龄, 性别, 吸烟等混杂因素的影响, 进一步对HOTAIR Rs920778位点各基因型按不同的临床表型进行分层分析(表3)。根据性别将研究人群分为男生和女生两组, 分析发现, 此位点在

表 1 健康人群及胃癌人群的总体情况 n (%)

分组	对照组($n = 307$)	实验组($n = 152$)
年龄, 年		
≤57	173 (56.4)	59 (38.8)
>57	134 (43.6)	93 (61.2)
性别		
女性	142 (46.3)	64 (42.1)
男性	165 (53.7)	88 (57.9)
吸烟史		
从不	90 (29.3)	55 (36.2)
吸烟	217 (70.7)	97 (63.8)
肿瘤大小		
≤5 cm		69 (45.4)
≥5 cm		83 (54.6)
远处转移		
M0		94 (61.8)
M1		58 (38.2)
癌症家族史		
有		32 (21.1)
无		120 (78.9)

男性中基因型TT的OR值为1.865(95%CI: 1.266-2.457, $P < 0.05$), 为GC的危险因素, 但在女性中无统计学意义; 此外, 根据吸烟史将人群分为吸烟组和非吸烟组, 可以观察到, 在吸烟组中Rs920778位点TT基因型的OR值为1.822(95%CI: 1.151-2.458847, $P < 0.05$), 而在非吸烟组中并没有得到有意义的结果; 在依据肿瘤的大小的人群分组中, 患者肿瘤≥5 cm的人群中HOTAIR Rs920778位点TT基因型OR值为1.429(95%CI: 1.015-2.451, $P < 0.05$), 而在肿瘤≤5 cm的患者中结果无统计学意义, 最后, Rs920778位点与GC患者的肿瘤家族史因素并无显著联系。

3 讨论

作为一类新型非编码RNA, lncRNA已经吸引了更多的关注和研究, 特别是在有关癌症研究方面。虽然大多数lncRNAs的具体功能仍不清楚, 最近的研究已经开始阐明了这些分子在多种细胞过程中发挥的关键作用, 包括分化, 发育和肿瘤发生。LncRNAs在广泛的生物过程中通过与关键组件蛋白质的相互作用和参与基因过程包括表观遗传调控, 转录, 以及mRNA剪接和翻译等方式对于肿瘤的发生发展起到了重要的作用。

Guo等^[15]人发现HOTAIR Rs12826786位点T等位基因会增加GC的易感风险, 并且Rs12826786位点单核苷酸多态性会增加HOTAIR在GC中的表达量, 高表达的HOTAIR与低分化的GC类型及较差的预后情况相关。而Du等^[16]人的研究结果表明, HOTAIR Rs4759314(A>G)与

表 2 HOTAIR 中3个基因位点的单核苷酸多态性与胃癌的遗传易感相关性分析 n (%)

SNP	对照组($n = 307$)	实验组($n = 152$)	OR (95%CI)	P 值
Rs12826786				
CC	213 (69.3)	86 (56.6)	1	
C/T	72 (23.5)	42 (27.6)	2.017 (0.869–3.014)	0.978
TT	22 (7.2)	24 (15.8)	1.629 (0.854–4.146)	0.626
C/T OR TT	94 (30.7)	66 (43.3)	1.487 (0.394–2.121)	0.411
Rs920778				
CC	135 (44.0)	80 (52.6)	1	
C/T	96 (31.3)	32 (21.1)	0.942 (0.627–1.423)	0.642
TT	76 (24.7)	40 (26.3)	1.454 (1.069–1.927)	0.029
C/T OR TT	96 (21.3)	62 (21.0)	1.042 (0.727–1.493)	0.122
rs4359714				
AA	242 (78.8)	108 (71.1)	1	
A/G	47 (15.3)	31 (20.4)	0.766 (0.446–1.315)	0.334
GG	18 (5.9)	13 (8.5)	2.571 (0.418–15.170)	0.314
A/G OR GG	39 (8.6)	24 (9.1)	1.009 (0.592–1.720)	0.973

表 3 RS920778 位点与胃癌的遗传易感性的关联性分析 n (%)

分组	对照组	实验组	OR(95%CI)	P 值
性别				
男性				
CC ¹	93 (56.4)	49 (55.7)	1	
C/T	30 (18.2)	17 (19.3)	1.341 (0.596–1.802)	0.102
TT	42 (25.4)	22 (25.0)	1.865 (1.266–2.457)	0.002
C/T OR TT	72 (43.6)	39 (45.4)	1.760 (0.207–2.566)	0.235
女性				
CC	42 (29.6)	31 (48.4)	1	
C/T	66 (46.5)	15 (23.5)	0.669 (0.369–1.211)	0.184
TT	34 (23.9)	18 (28.1)	2.093 (0.766–5.649)	0.145
C/T OR TT	100 (70.4)	33 (51.6)	0.827 (0.478–1.429)	0.496
年龄, 年				
≤57				
CC	76 (43.9)	26 (44.1)	1	
C/T	63 (36.4)	22 (37.3)	0.831 (0.245–2.102)	0.214
TT	34 (19.7)	11 (18.6)	1.204 (0.917–5.143)	0.078
C/T OR TT	97 (56.1)	114 (55.9)	0.864 (0.393–2.292)	0.306
>57				
CC	59 (44.0)	54 (58.1)	1	
C/T	33 (24.6)	10 (10.7)	0.855 (0.525–1.392)	0.529
TT	42 (31.4)	29 (31.2)	0.727 (0.233–2.269)	0.583
C/T OR TT	75 (56.0)	39 (41.9)	0.840 (0.524–1.346)	0.469
吸烟史				
吸烟				
CC	113 (51.7)	46 (47.4)	1	
C/T	48 (42.6)	25 (25.8)	0.334 (0.120–1.927)	0.197
TT	56 (5.7)	26 (26.8)	1.822 (1.151–2.884)	0.035
C/T OR TT	104 (48.3)	51 (52.6)	1.931 (0.788–4.730)	0.150

从不				
CC	22 (24.5)	34 (61.8)	1	
C/T	48 (53.3)	7 (12.7)	1.042 (0.327–2.143)	0.481
TT	20 (22.2)	14(25.5)	1.749 (0.741–4.129)	0.202
C/T OR TT	68 (75.5)	21(38.2)	1.007 (0.317–2.060)	0.361
肿瘤大小				
≤5 cm				
CC	135 (44.0)	36 (52.2)	1	
C/T	96 (31.3)	15 (21.7)	0.521 (0.240–1.416)	0.197
TT	76 (24.7)	18 (26.1)	1.206 (0.118–1.964)	0.135
C/T OR TT	172 (56.0)	33 (47.8)	1.289 (0.754–5.124)	0.150
≥5 cm				
CC	135 (44.0)	44 (53.0)	1	
C/T	96 (31.3)	17 (20.5)	0.784 (0.212–1.757)	0.197
TT	76 (24.7)	22 (26.5)	1.429 (1.015–2.451)	0.047
C/T OR TT	172 (56.0)	39 (47.0)	1.081 (0.427–2.430)	0.214
远处转移				
M0				
CC	113 (51.7)	49 (52.1)	1	
C/T	48 (42.6)	20 (21.3)	0.064 (0.415–1.024)	0.652
TT	56 (5.7)	25 (26.6)	3.020 (0.816–11.178)	0.098
C/T OR TT	104 (48.3)	45 (47.9)	0.747 (0.482–1.156)	0.190
M1				
CC	113 (51.7)	31 (53.4)	1	
C/T	48 (42.6)	12 (20.7)	0.891 (0.179–1.165)	0.654
TT	56 (5.7)	15 (25.9)	2.500 (0.542–11.537)	0.240
C/T OR TT	104 (48.3)	27 (46.6)	0.944 (0.577–1.546)	0.820
癌症家族史				
有				
CC	113 (51.7)	15 (52.1)	1	
C/T	48 (42.6)	7 (21.3)	0.064 (0.415–1.024)	0.652
TT	56 (5.7)	10 (26.6)	3.020 (0.816–11.178)	0.098
C/T OR TT	104 (48.3)	17 (47.9)	0.747 (0.482–1.156)	0.190
无				
CC	113 (51.7)	65 (54.2)	1	
C/T	48 (42.6)	25 (20.8)	0.887 (0.506–1.554)	0.675
TT	56 (5.7)	30 (25.0)	3.349 (0.540–20.722)	0.194
C/T OR TT	104 (48.3)	55 (45.8)	0.953 (0.551–1.648)	0.862

¹患有基因型的病例患者/具有基因型的对照受试者的数量。

GC风险增加显著相关,特别是在老年人和男性人群中。此外,与AA基因型相比, HOTAIR Rs4759314位点AG基因型可以增加HOTAIR和HOXC11在GC组织中的表达量。在本研究中,在Rs12826786与Rs4759314位点中并没有得到有意义的结果,原因可能是因为地域因素且本研究样本数量较少。但是本研究发现在HOTAIR Rs920778位点中,TT基因型相对于CC基因型为GC的危险因素。进一步的分层分析中发现此位点与男性,吸烟人群及肿瘤大小≥5 cm的GC患者的GC遗传易感性高度相关,而与年龄因素,女性,非吸烟人群,远处转移情况及GC家族史并无显著联系。这可能与样本量及研究对象的选择

有关。

总之,在GC的发生过程中HOTAIR Rs920778位点单核苷酸多态性可能对GC的易感性产生了一定影响。充分考虑肿瘤多影响因素的复杂过程,可为全面了解GC病因提供科学依据。

文章亮点

实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上死亡率高最常见的恶性肿瘤之一,但GC的发病机制的讨论却亟待增强,目前

关于基因的单核苷酸多态性与多种肿瘤的遗传易感性之前关系的研究是一个热门话题。

实验动机

本文旨在研究长链非编码RNA与GC易感性的关联性, 并进一步探究GC的高发人群中基因单核苷酸多态性所扮演的角色, 为GC的治疗方式提供新的思路。

实验目标

探究中国宁夏人群中长链非编码RNA HOTAIR单核苷酸多态性与GC遗传易感性的相关性研究。

实验方法

本实验利用队列研究的优势, 并通过PCR与高通量TaqMan实验, 分析中国宁夏人群中长链非编码RNA HOTAIR单核苷酸多态性与GC遗传易感性的相关性研究, 并采用多因素回归分析进一步分层讨论Rs920778位点各基因型与GC发病危险关系分析。

实验结果

HOTAIR Rs920778位点基因型TT在病例组和对照组中的频率分别为26.3%和24.7%, 基因型C/T在两组中的频率分别为21.1%和31.3%, 基因型CC在两组中的频率分别为52.6%和44.0%, 该位点的TT基因型与GC的遗传易感性具有显著联系, 结果具有统计学意义($P<0.05$)。进一步的分层分析中发现Rs920778位点的单核苷酸多态性与男性, 吸烟人群及肿瘤大小 ≥ 5 cm的GC患者的GC遗传易感性高度相关。

实验结论

中国宁夏人群中HOTAIR Rs920778位点单核苷酸多态性与GC的遗传易感性具有一定程度的联系。

展望前景

GC的发生过程中HOTAIR Rs920778位点单核苷酸多态性可能对GC的易感性产生了一定影响, HOTAIR可能作为GC治疗中的一个可能性靶点。

4 参考文献

- 1 Nweke MC, Okolo CA, Daous Y, Esan OA. Challenges of Human Papillomavirus Infection and Associated Diseases in Low-Resource Countries. *Arch Pathol Lab Med* 2018; 142: 696-699 [PMID: 29848027 DOI: 10.5858/arpa.2017-0565-RA]
- 2 Arbyn M, Xu L, Simoes C, Martin-Hirsch PP. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 5: CD009069 [PMID: 29740819 DOI: 10.1002/14651858.CD009069.pub3]
- 3 Kazantseva IA, Lishchuk SV, Gribunov YP, Shestakova IN, Pavlov KA. Gastric cancer concurrent with IgG4-related

- disease: A clinical case and a review of literature. *Arkh Patol* 2016; 78: 43-47 [PMID: 27600781]
- 4 Moran VA, Perera RJ, Khalil AM. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 6391-6400 [PMID: 22492512 DOI: 10.1093/nar/gks296]
- 5 Tian D, Sun S, Lee JT. The long noncoding RNA, Jpx, is a molecular switch for X chromosome inactivation. *Cell* 2010; 143: 390-403 [PMID: 21029862 DOI: 10.1016/j.cell.2010.09.049]
- 6 Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, Song DY, Pan Q, Watt AT, Freier SM, Bennett CF, Sharma A, Bubulya PA, Blencowe BJ, Prasanth SG, Prasanth KV. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 2010; 39: 925-938 [PMID: 20797886 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.08.011]
- 7 Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, Shi Y, Segal E, Chang HY. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329: 689-693 [PMID: 20616235 DOI: 10.1126/science.1192002]
- 8 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Bruggmann SA, Goodnough LH, Helms JA, Farnham PJ, Segal E, Chang HY. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129: 1311-1323 [PMID: 17604720 DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.022]
- 9 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]
- 10 Okugawa Y, Toiyama Y, Hur K, Toden S, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Mohri Y, Kusunoki M, Boland CR, Goel A. Metastasis-associated long non-coding RNA drives gastric cancer development and promotes peritoneal metastasis. *Carcinogenesis* 2014; 35: 2731-2739 [PMID: 25280565 DOI: 10.1093/carcin/bgu200]
- 11 Lee NK, Lee JH, Park CH, Yu D, Lee YC, Cheong JH, Noh SH, Lee SK. Long non-coding RNA HOTAIR promotes carcinogenesis and invasion of gastric adenocarcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 451: 171-178 [PMID: 25063030 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.07.067]
- 12 Huang AF, Su LC, Jia H, Liu Y, Xu WD. No association of single nucleotide polymorphisms within H19 and HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) with genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and primary Sjögren's syndrome in a Chinese Han population. *Clin Rheumatol* 2017; 36: 2447-2453 [PMID: 28914367 DOI: 10.1007/s10067-017-3833-0]
- 13 Zhang S, Li Z, Zhang L, Xu Z. MEF2-activated long non-coding RNA PCGEM1 promotes cell proliferation in hormone-refractory prostate cancer through downregulation of miR-148a. *Mol Med Rep* 2018; In press
- 14 Wu B, Liu J, Wang B, Liao X, Cui Z, Ding N. Association on polymorphisms in LncRNA HOTAIR and susceptibility to HNSCC in Chinese population. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 702-706 [PMID: 29461598]
- 15 Guo W, Dong Z, Bai Y, Guo Y, Shen S, Kuang G, Xu J. Associations between polymorphisms of HOTAIR and risk of gastric cardia adenocarcinoma in a population of north China. *Tumour Biol* 2015; 36: 2845-2854 [PMID: 25476857 DOI: 10.1007/s13277-014-2912-y]
- 16 Du M, Wang W, Jin H, Wang Q, Ge Y, Lu J, Ma G, Chu H,

Tong N, Zhu H, Wang M, Qiang F, Zhang Z. The association analysis of lncRNA HOTAIR genetic variants and gastric

cancer risk in a Chinese population. *Oncotarget* 2015; 6: 31255-31262 [PMID: 26384301 DOI: 10.18632/oncotarget.5158]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须经得《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。

原发性胆汁性胆管炎中胆管上皮细胞损伤的机制研究进展

唐映梅, 余海燕

唐映梅, 余海燕, 昆明医科大学第二附属医院消化内科 云南省昆明市 650101

唐映梅, 主任医师, 主要从事自身免疫性肝病方面的研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360072, 81660102, 81760107.

作者贡献分布: 本文由唐映梅与余海燕共同完成.

通讯作者: 唐映梅, 主任医师, 650101, 云南省昆明市滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院消化内科. tangyingmei_med@kmmu.edu.cn
电话: 0871-63402288

收稿日期: 2018-09-12

修回日期: 2018-10-03

接受日期: 2018-10-29

在线出版日期: 2019-01-08

Progress in research of mechanism of biliary epithelial cell injury in primary biliary cholangitis

Ying-Mei Tang, Hai-Yan Yu

Ying-Mei Tang, Hai-Yan Yu, Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81360072, No. 81660102, and No.81760107.

Corresponding author: Ying-Mei Tang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunming 650101, Yunnan Province, China. tangyingmei_med@kmmu.edu.cn

Received: 2018-09-12

Revised: 2018-10-03

Accepted: 2018-10-29

Published online: 2019-01-08

Abstract

Primary biliary cholangitis (PBC) is an autoimmune liver disease characterized by chronic biliary cholestasis and progressive intrahepatic and small bile duct non-suppurative inflammation with early infiltration of inflammatory cells around biliary epithelial cells (BECs). BECs lining the bile duct express multiple receptors for pathogen-associated molecular patterns and can activate intracellular signaling pathways and participate in immune regulation. The etiology and pathogenesis of PBC are not fully understood yet, but the key step found in its pathogenesis is the targeted destruction of biliary cells. Since bile duct epithelial cells participate in a series of intrahepatic immune regulation processes, bile duct epithelial cell injury is an important mechanism involved in the development of intrahepatic inflammation in PBC. Therefore, understanding the mechanism of BEC injury can help us find some new targets for the treatment of PBC. This article briefly reviews the progress in the research of mechanism of biliary epithelial cell injury in PBC.

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

Key Words: Primary biliary cholangitis; Biliary epithelial cell injury; Mechanism; Progress

Tang YM, Yu HY. Progress in research of mechanism of biliary epithelial cell injury in primary biliary cholangitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 36-42

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/36.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.36>

摘要

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)是以慢性胆汁淤积, 进行性肝内中、小胆管非化脓性炎症为特征的自身免疫性肝病, 早期即可出现胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BEC)周围炎性细胞浸润。BEC衬覆于胆管内, 表达多种病原体识别抗体, 并能激活细胞内信号通路, 参与免疫调节。PBC病因及发病机制至今尚不完全清楚, 但关键步骤是靶向破坏胆管细胞。因胆管上皮细胞参与一系列肝内免疫调节, 故胆管上皮细胞损伤是参与PBC肝内炎症发生发展的重要机制, 研究胆管上皮细胞BEC损伤的机制, 则可为PBC的治疗寻找新靶点。本文就原发性胆汁性胆管炎中胆管上皮细胞损伤的机制研究进展做简要述评。

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

关键词: 原发性胆汁性胆管炎; 胆管上皮细胞损伤; 机制; 进展

核心提要: 原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)的关键步骤是靶向破坏胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BEC), 因此, 研究BEC的损伤机制是揭示PBC发生发展的关键, 并且可为PBC寻找治疗新靶点。

唐映梅, 余海燕. 原发性胆汁性胆管炎中胆管上皮细胞损伤的机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 36-42

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/36.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.36>

0 引言

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)是一种自身免疫介导的肝内胆管上皮细胞破坏导致胆汁淤积的慢性肝病, 其自身免疫特征是高度特异性抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMAs)表达和自身反应性T细胞的增殖^[1]。无特异性临床表现, 早期诊断困难。近年来PBC发病逐渐增多, 尤以女性患者居多, 中年妇女患病率为1.91-40.2/10万^[2]。PBC的病因和发病机制尚不完全清楚, 在PBC动物模型中的研究^[3]发现, 自身免疫发生于具有环境触发因素的遗传易感宿主中, 环境损害(异生物质或微生物), 最终打破肝脏耐受性。人类PBC为多因素致病, 有研究^[4-6]表明, 参与发病的包括遗传倾向, 环境因素, 病毒和细菌感染, 自身抗体, 失调的免疫功能, 趋化因子, 抗原呈递细胞, 自噬, 衰老和细胞凋亡。胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BEC)是PBC中免疫破坏的靶细胞, 故进一步研究PBC时BEC损伤机制, 有望阐明PBC的发病机制。

BEC具有胆汁吸收和分泌特性, 占肝脏细胞的一小部分(3%-5%)^[7], 是胆道系统针对外来物质的第一道防线, 胆道暴露于外来抗原, 在先天性和适应性免疫应答中起关键作用^[8], 积极参与肝脏中微生物诱导的促炎反应, 导致炎症和感染性胆管病^[9]。而胆汁成分紊乱引起的BEC损伤可能是PBC发病的第一步^[10]。因此, 研究BEC的损伤机制是揭示PBC发生发展的关键。本文回顾了近年来PBC时BEC损伤机制的相关研究。

1 胆管上皮细胞损伤与免疫学机制

PBC是慢性胆汁淤积性自身免疫性疾病, 其病理学特征表现为天然免疫细胞(NK细胞、NK/T淋巴细胞和单核细胞等)和适应性免疫细胞(T淋巴细胞和B淋巴细胞)在汇管区大量浸润, 靶向破坏BEC。因此, 免疫学机制是PBC发生发展的关键。

1.1 自身抗原暴露 PBC的特征是高滴度AMA, 肝脏中CD4⁺T和CD8⁺T细胞浸润及靶向破坏BEC^[11]。免疫显性自身抗原丙酮酸脱氢酶复合物E2亚单位(PDC-E2)的多谱系反应是疾病发病机制的重要组成部分^[12]。PDC-E2是AMA的靶标, PBC患者中, 一些PDC-E2的单克隆抗体在BEC顶端表面产生强的染色, 并在BEC顶端表面发现PDC-E2的部分内部脂酰基结构域, 而免疫显性表位位于内部脂酰基结构域^[13]。此外, PBC患者中PDC-E2特异性IgA可通过多聚免疫球蛋白受体与BEC形成复合物, 从而促进BEC的免疫病理学^[14], 表明BEC的免疫调节作用在PBC的发生发展中起着积极作用。

1.2 TOLL样受体介导 Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)家族识别病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 在先天免疫反应中起关键作用, 人类胆管细胞表达多种TLRs^[15]。在BEC上TLRs依赖性NRas激活有助于促炎/增殖反应, 且表皮生长因子受体是TLRs诱导促炎过程的组成部分^[9]。有研究^[16,17]发现, PBC患者脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)释放增多, LPS能改变单核细胞和BEC上TLR4, CD14和核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)的表达, 而BEC上具有识别PAMPs的TLRs, 可触发NF-κB的激活和促炎介质的释放, 包括肿瘤坏死因子-α(TNF-α), 白细胞介素(IL)-1β, IL-6和IL-8, 且γ-干扰素(IFN-γ)上调TLR2-5的表达, TNF-α上调TLR2的表达。其次, TLR3通过NF-κB和干扰素调节因子3(interferon regulatefactor 3, IRF3)在BEC中诱导趋化因子CCL5表达^[18]。因此, 在细胞因子、PAMPs细胞内信号传导后, 导致BEC上表达的TLRs失调, 进而参与肝内胆管的先天免疫反应。此外, TLR4刺激的自然杀伤(natural killer, NK)细胞对自体BEC具有高度细胞毒性, NK细胞的这种功能又与TLR3激活巨噬细胞合成

IFN- α 密切相关^[19]. 故BEC受损与先天性免疫反应的启动密切相关.

1.3 NK细胞介导 NK细胞是机体重要的免疫细胞, 其介导的先天性免疫反应在PBC的发生发展中起着重要作用. Shimoda等^[20]研究发现, 在高NK / BEC比率下, NK细胞攻击BEC, 导致受损BEC释放自身抗原, 通过抗原提呈细胞激活自身反应性T细胞; 在低NK/BEC比率下, NK细胞不直接损伤BEC, 而是通过NK细胞分泌的IFN- γ 诱导BEC上主要组织相容性复合物 I 类(major histocompatibility complex class-I, MHC-I)和 II 类分子的表达, 导致自体反应性CD4⁺T细胞破坏BEC. 此外, 活化的NKT细胞能导致BEC死亡^[21]. 故NK细胞介导的先天性免疫反应可能在PBC的起始阶段发挥重要作用.

1.4 凋亡诱发 凋亡细胞的清除对于组织止血和炎症病变的消退至关重要. BEC是非专业吞噬细胞, 但具有呈递源自吞噬凋亡BEC的新型线粒体自身肽能力, BEC吞噬自体凋亡的囊泡后, 分泌趋化因子CCL2、CXCL8和IL-8, 获取抗原呈递细胞功能^[22,23], BEC的这种吞噬自体凋亡作用可能促进了PBC的进展. BEC将PDC-E2转移至凋亡小体, 从而产生一种凋亡体. PBC患者中巨噬细胞、AMA与BEC凋亡小体组成的独特三联体可导致炎症细胞因子的爆发^[24]. 因此, BEC凋亡小体中的特定因子可能是导致PBC患者先天免疫反应的因素. 有研究^[25]表明, 半乳糖凝集素-3(galectin-3, Gal-3)是一种结合碳水化合物凝集素, 在炎症性疾病和自身免疫中具有多种作用, 且在炎症破坏BEC中起保护作用. 故Gal-3可能是PBC中抗细胞凋亡的靶点.

1.5 其他免疫相关因素 BEC对细胞因子(IL-1 β , TNF- α , IL-17和PAMPs)的反应产生了一种吸引朗罕氏细胞的趋化因子巨噬细胞炎症蛋白-3 α (Macrophage inflammatory protein3- α , MIP-3 α), 朗罕氏细胞在胆管上皮周围或内部作为胆管周围重要的抗原呈递细胞, 向胆管的迁移与胆管周围细胞因子环境和胆道先天免疫密切相关^[26]. 另外, PBC肝脏中过表达的几种促炎细胞因子(IL-8, IL-12, IL-17, IL-18和TNF- α)增强BEC上miR-506基因的表达, 而miR-506在胆管细胞中能促进免疫激活^[27].

黏膜相关恒定免疫T(mucosal-associated invariant T, MAIT)细胞是天然免疫样T细胞, 肝脏浸润性MAIT是具有活化效应的记忆表型, 表达 $\alpha 4\beta 7$ 和IL-12, IL-18和IL-23的受体, 并对B细胞和BEC作出应答. 此外, 其还表达T-bet和ROR γ t以及细胞因子IFN- γ , TNF- α 和IL-17, 故MAIT细胞对人肝脏胆管上皮细胞免疫监视效应有重要作用^[28]. 有研究^[29]发现, IL-33的增殖反应依赖2型固有淋巴细胞(type-2 innate lymphoid cell, ILC2)数量的增加, 其释放高水平的IL-13, 在小鼠胆管损伤模型中诱导

IL-33/ILC2/IL-13回路可促进胆管细胞增生, 进而促进上皮修复. 该信号通路激活可以改善胆道修复, 故可能为PBC中BEC损伤的修复治疗提供新思路.

2 胆管上皮细胞损伤与氧化应激

氧化应激是指活性氧和活性氮的产生与机体内抗氧化防御系统的清除之间失衡, 包括超氧化物歧化酶, 过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶等酶以及谷胱甘肽和维生素C/E等电子受体的非酶颗粒, 导致活性氧和活性氮产生过多, 造成机体组织细胞损伤^[30]. 氧化应激在多种肝脏疾病有重要作用, BEC可能是损伤的关键. PBC时, 促炎细胞因子(IFN- β , IFN- γ 和TNF- α)诱导BEC中的活性氧^[31], 氧化应激导致BEC再生或细胞周期停滞减少与进行性小胆管丧失密切相关^[32]. 其次, 炎症细胞因子诱导氧化应激导致BEC对化学诱导的细胞毒性的敏感性, 并且与抗氧化酶(醌氧化还原酶-1, NQO1)的抑制有关^[31].

衰老的BEC可以通过分泌各种衰老相关的分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)(例如细胞因子和趋化因子)来调节胆管周围的微环境. PBC时, 氧化应激诱导衰老表型, 衰老的BEC上CCL2和CXCL1的表达增加^[33,34]. Bmi1属于polycomb组基因家族的转录受体, 损伤的小胆管中, 衰老的BEC对进行性胆管丧失至关重要, 氧化应激引起bmi1表达下降导致BEC衰老是PBC发生发展的关键^[35]. 有研究^[36,37]发现, 端粒缩短是细胞衰老细胞的一个特征, 在PBC受损的小胆管BEC中存在端粒缩短, 而氧化应激损伤加速了端粒缩短的速度, 故PBC受损胆管中的端粒缩短表明端粒功能障碍可能是细胞衰老的触发因素, 且与氧化应激密切相关.

人类PBC为多因素致病, 因此没有单一模型可以完全模拟人类PBC的免疫病理生理学. 有研究^[38]发现, 培养人的BEC中, 雌激素相关受体- α (estrogen-related receptor α , ERR α)被过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 α , PGC-1 α)激活, PGC-1 α -ERR α 轴诱导脂肪酸氧化, 脂肪酸的氧化磷酸化是新陈代谢的重要组成部分, 但会产生活性氧, 从而导致细胞受损和凋亡. 因此, 氧化应激调节BEC的能量代谢可能是导致BEC损伤的一个重要因素. 而过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferators - activated receptor- γ , PPAR γ)可以抑制促炎细胞因子的产生, 其表达被IL-4(Th2-型)上调, 被IFN- γ (Th1-型)下调, 并且 PPAR γ 配体负调节脂多糖诱导的NF- κ B活化, 这些过程对维持肝内BEC的稳态起着重要的作用^[39]. 因此, 氧化应激可能是BEC损伤的致病因子, 是进一步加重PBC胆管病变的关键.

氧自由基反应和脂质过氧化反应在机体的新陈代谢过程中起着重要的作用,一旦这种协调与动态平衡产生紊乱与失调,就会引起一系列免疫功能降低。有研究^[40]发现,胆管中的脂质过氧化与谷胱甘肽-S-转移酶-pi(GSTPi)的表达降低是导致PBC胆管损伤的重要病理过程。解偶联蛋白可以保护细胞免受氧化应激,PBC时,BEC中解偶联蛋白-2的表达增强具有特异性^[41]。其次,STAT3驱动富含脯氨酸小蛋白2a(small proline rich protein 2a, SPRR2a)的表达,作为src同源3(src homology 3, SH3)结构域的配体,SPRR2a可以抑制自由基,并防止非肿瘤BEC中的氧化应激和DNA损伤^[42]。3型1,4,5-三磷酸肌醇受体(inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, ITPR3)是BEC中最丰富的细胞内钙释放通道,也是胆管分泌碳酸氢盐所必需的^[43]。氧化应激转录因子NF-E2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2)能调节肝胆转运蛋白的表达,与ITPR3的启动子结合,抑制其在BEC中的表达,导致钙信号传导和胆管分泌减少^[43]。故氧化应激可能抑制这些过程导致BEC损伤。但PBC时,参与氧化应激损伤BEC的具体炎性细胞因子及信号通路尚不完全清楚,进一步研究氧自由基反应与抗氧化系统的作用机制可能会为PBC的治疗寻找新靶点。

3 胆管上皮细胞损伤与自噬

自噬是一个吞噬自身细胞质蛋白或细胞器,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物的过程,是维持细胞更新和稳态的一个重要机制。自噬若过度激活,则可加重细胞损伤,甚至导致细胞裂解和促进细胞死亡。PBC中,在受损的小胆管中特异性地观察到自噬及细胞衰老^[44],故自噬可能介导BEC的衰老过程,并参与PBC胆管病变的发病机制。有研究^[45]发现,p62是一种特异性自噬载体,PBC时BEC中p62与受损胆管的细胞衰老密切相关,且BEC中超微结构观察到自噬溶酶体的积累,在培养BEC中敲低p62可以抑制细胞衰老及自噬。因此,p62与BEC自噬、细胞衰老过程密切相关,并且抑制p62可能为治疗PBC提供了新思路。

其次,BEC中内质网应激参与了PBC胆管上皮病变,并在失调的自噬和细胞衰老的发病机制中发挥作用^[46]。此外,PBC中细胞衰老涉及胆管反应的病理生理学,胆管反应的BEC中常见自噬,且自噬可能先于胆管反应的BEC的细胞衰老^[47]。因此,自噬可能在介导BEC衰老过程中发挥关键作用。线粒体是自噬的主要靶标,PBC胆管上皮病变中线粒体抗原表达增加,且与自噬的失调密切相关,自噬以及线粒体抗原的异常表达可能参与MHC I类或II类分子上的抗原呈递,从而导致BEC自身免疫介导的细胞毒性反应^[6]。其次,PBC中,失调的自

噬可能是导致受损胆管中BEC与炎性细胞中线粒体蛋白表达增加的原因,并且与PBC的发病机制有关^[48]。

自噬是目前研究的热点之一,但在PBC中的研究甚少。自噬既可以作为一种防御机制清除胞质内受损细胞,也作为一种细胞死亡程序诱导细胞主动死亡,而BEC衰老过程涉及多个因素,进一步深入研究自噬与BEC死亡、衰老的机制是阐明BEC损伤的关键,进而有望寻找保护受损BEC的新靶点。

4 胆管上皮细胞损伤与上皮-间质转化

上皮细胞间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞向间充质细胞的程序化转换,各种信号通路可激活EMT参与若干生理功能和病理状态^[49]。PBC患者LPS表达增高,BEC暴露于LPS或TGF- β 1时,LPS或TGF- β 1都可促进BEC中的EMT^[50]。miR-200b是miR-200家族的一员。BEC中,miR-200b可抑制TGF- β 1介导的EMT^[51],因此,PBC中细胞因子TGF- β 1和LPS可能共同对BEC的病理学进展发挥作用。

PBC患者的肝脏和外周血中IL-17A表达升高,IL-17A在体外诱导了人肝内胆管上皮细胞(IBECS)的EMT,故IL-17A在IBECS-EMT中起重要作用,IBECS-EMT和IL-17A介导的信号传导可能是PBC早期的关键致病过程^[52]。但有研究^[53]发现,IL-6可以刺激EMT,增强BEC的迁移能力,并抑制人体肝内BEC的凋亡,从而延迟细胞衰老。Mizuguchi等^[42]认为SPRR2a诱导BEC上皮-间质转化,进而促进伤口愈合。

这些研究为与BEC相关的EMT途径提供了新的见解,EMT可能介导了PBC的起始过程,BEC中EMT可能会与不同信号通路刺激产生不同的作用机制,由于BEC形态和功能的复杂性和多态性,还需进一步探索EMT在PBC发生发展中的作用。

5 胆管上皮细胞损伤与易感基因

全基因组关联分析和基因芯片等遗传学研究在揭示PBC的发病机制中发挥着重要的作用。

PBC早期,肝细胞胆碱摄取和磷脂酰胆碱合成失调,胆碱摄取相关的基因OCT1基因型可能影响PBC发病^[10]。多药耐药相关蛋白3(multidrug resistance associated protein 3, MDR3)是由位于7号染色体上的ABCB4/MDR3基因编码的肝细胞小管膜蛋白,MDR3缺失导致胆汁磷脂的分泌减少,从而引起胆汁成分紊乱,导致胆管上皮损伤,诱导细胞死亡和炎症^[54]。TBX3基因是调控生长发育相关的关键基因之一,其缺失或突变会引起尺骨-乳腺综合征,Tbx3在多能肝脏祖细胞中特异性表达,Tbx3缺失激活了BEC的分化程序,从而引起肝脏发育

异常^[55]. 有研究^[56]发现, PBC中BEC上的基因表达谱人白细胞抗原DQ α 1(HLA-DQA-1), 癌胚抗原相关细胞黏附分子1(CEACAM1), 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)和血管细胞黏附分子1(VCAM-1)局部免疫应答基因表达增加, 表明其可能参与了胆管损伤。

尽管遗传易感基因的研究日益得到关注, 但其导致BEC损伤的具体机制尚不完全清楚. 我国人口基数庞大, 并且受到地域、饮食等方面的影响, 对PBC发病人群的遗传因素研究具有一定的挑战性, 为了达到早期诊断, 早期治疗及靶向治疗, 进一步研究PBC的易感基因等均具有重要的意义。

6 结论

胆管上皮细胞靶向破坏是PBC发生发展的关键步骤. 免疫学机制、氧化应激、自噬、EMT、遗传易感基因在BEC的损伤中起到重要作用。

自身免疫功能异常是导致BEC损伤的主要环节. 氧化应激、自噬和EMT都与细胞死亡及衰老相关, 深入探索其导致BEC损伤的具体机制是研究的重点, 可能为阐明PBC的发生发展提供新思路. 但氧化应激损伤BEC的具体炎性细胞因子及信号通路尚不完全清楚; 而自噬是一把双刃剑; 研究不同信号通路激活的EMT在BEC中的作用机制可能会为治疗PBC提供新见解. 对PBC发病人群的遗传因素研究具有一定的挑战性。

因此, BEC的损伤机制仍然是未来研究的重点, 也是提高PBC早期诊断率的关键、为PBC寻找治疗新靶点提供理论基础。

7 参考文献

- Bowlus CL, Gershwin ME. The diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 441-444 [PMID: 24424173 DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.041]
- Boonstra K, Beuers U, Ponsioen CY. Epidemiology of primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis: a systematic review. *J Hepatol* 2012; 56: 1181-1188 [PMID: 22245904 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.10.025]
- Tanaka A, Leung PS, Gershwin ME. Environmental basis of primary biliary cholangitis. *Exp Biol Med* (Maywood) 2018; 243: 184-189 [PMID: 29307284 DOI: 10.1177/1535370217748893]
- Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, Lindor KD, Kaplan MM, Vierling JM; USA PBC Epidemiology Group. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology* 2005; 42: 1194-1202 [PMID: 16250040 DOI: 10.1002/hep.20907]
- Hirschfield GM, Gershwin ME. The immunobiology and pathophysiology of primary biliary cirrhosis. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 303-330 [PMID: 23347352 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164014]
- Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Increased expression of mitochondrial proteins associated with autophagy in biliary epithelial lesions in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2013; 33: 312-320 [PMID: 23231002 DOI: 10.1111/liv.12049]
- Alpini G, Lenzi R, Sarkozi L, Tavoloni N. Biliary physiology in rats with bile ductular cell hyperplasia. Evidence for a secretory function of proliferated bile ductules. *J Clin Invest* 1988; 81: 569-578 [PMID: 2448343 DOI: 10.1172/JCI113355]
- Harada K, Isse K, Sato Y, Ozaki S, Nakanuma Y. Endotoxin tolerance in human intrahepatic biliary epithelial cells is induced by upregulation of IRAK-M. *Liver Int* 2006; 26: 935-942 [PMID: 16953833 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01325.x]
- Trussoni CE, Tabibian JH, Splinter PL, O'Hara SP. Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Biliary Epithelial Cell NRas Activation Requires Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). *PLoS One* 2015; 10: e0125793 [PMID: 25915403 DOI: 10.1371/journal.pone.0125793]
- Kohjima M, Enjoji M, Yada R, Yoshimoto T, Nakamura T, Fukuizumi K, Fukushima N, Murata Y, Nakashima M, Kato M, Kotoh K, Shirabe K, Maehara Y, Nakajima A, Nozaki Y, Honda A, Matsuzaki Y, Nakamura M. Pathophysiological analysis of primary biliary cirrhosis focusing on choline/phospholipid metabolism. *Liver Int* 2015; 35: 1095-1102 [PMID: 24620780 DOI: 10.1111/liv.12526]
- Gershwin ME, Mackay IR. The causes of primary biliary cirrhosis: Convenient and inconvenient truths. *Hepatology* 2008; 47: 737-745 [PMID: 18098322 DOI: 10.1002/hep.22042]
- Lleo A, Selmi C, Invernizzi P, Podda M, Coppel RL, Mackay IR, Gores GJ, Ansari AA, Van de Water J, Gershwin ME. Apoptosis and the biliary specificity of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 49: 871-879 [PMID: 19185000 DOI: 10.1002/hep.22736]
- Migliaccio C, Van de Water J, Ansari AA, Kaplan MM, Coppel RL, Lam KS, Thompson RK, Stevenson F, Gershwin ME. Heterogeneous response of antimitochondrial autoantibodies and bile duct apical staining monoclonal antibodies to pyruvate dehydrogenase complex E2: the molecule versus the mimic. *Hepatology* 2001; 33: 792-801 [PMID: 11283841 DOI: 10.1053/jhep.2001.23783]
- McPherson A Jr. The growth and preliminary investigation of protein and nucleic acid crystals for X-ray diffraction analysis. *Methods Biochem Anal* 1976; 23: 249-345 [PMID: 12447 DOI: 10.1002/hep.1840360614]
- Yokoyama T, Komori A, Nakamura M, Takii Y, Kamihira T, Shimoda S, Mori T, Fujiwara S, Koyabu M, Taniguchi K, Fujioka H, Migita K, Yatsushashi H, Ishibashi H. Human intrahepatic biliary epithelial cells function in innate immunity by producing IL-6 and IL-8 via the TLR4-NF-kappaB and -MAPK signaling pathways. *Liver Int* 2006; 26: 467-476 [PMID: 16629651 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01254.x]
- Harada K, Isse K, Nakanuma Y. Interferon gamma accelerates NF-kappaB activation of biliary epithelial cells induced by Toll-like receptor and ligand interaction. *J Clin Pathol* 2006; 59: 184-190 [PMID: 16443736 DOI: 10.1136/jcp.2004.023507]
- Zhao J, Zhao S, Zhou G, Liang L, Guo X, Mao P, Zhou X, Wang H, Nan Y, Xu D, Yu J. Altered biliary epithelial cell and monocyte responses to lipopolysaccharide as a TLR ligand in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 485-494 [PMID: 21275501 DOI: 10.3109/00365521.2010.539624]
- Shimada T, Imaizumi T, Shirai K, Tatsuta T, Kimura T, Hayakari R, Yoshida H, Matsumiya T, Kijima H, Mizukami H, Hakamada K. CCL5 is induced by TLR 3 signaling in HuCCT1 human biliary epithelial cells: possible involvement in the pathogenesis of biliary atresia. *Biomed Res* 2017; 38: 269-276 [PMID: 29070776 DOI: 10.2220/biomedres.38.269]

- 19 Shimoda S, Harada K, Niiro H, Shirabe K, Taketomi A, Maehara Y, Tsuneyama K, Nakanuma Y, Leung P, Ansari AA, Gershwin ME, Akashi K. Interaction between Toll-like receptors and natural killer cells in the destruction of bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2011; 53: 1270-1281 [PMID: 21400555 DOI: 10.1002/hep.24194]
- 20 Shimoda S, Hisamoto S, Harada K, Iwasaka S, Chong Y, Nakamura M, Bekki Y, Yoshizumi T, Shirabe K, Ikegami T, Maehara Y, He XS, Gershwin ME, Akashi K. Natural killer cells regulate T cell immune responses in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2015; 62: 1817-1827 [PMID: 26264889 DOI: 10.1002/hep.28122]
- 21 Aso-Ishimoto Y, Yamagiwa S, Ichida T, Miyakawa R, Tomiyama C, Sato Y, Watanabe H, Aoyagi Y. Increased activated natural killer T cells in the liver of patients with advanced stage primary biliary cirrhosis. *Biomed Res* 2014; 35: 161-169 [PMID: 24759184 DOI: 10.2220/biomedres.35.161]
- 22 Allina J, Hu B, Sullivan DM, Fiel MI, Thung SN, Bronk SF, Huebert RC, van de Water J, LaRusso NF, Gershwin ME, Gores GJ, Odin JA. T cell targeting and phagocytosis of apoptotic biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2006; 27: 232-241 [PMID: 17222534 DOI: 10.1016/j.jaut.2006.11.004]
- 23 Suter AH, Lempert BL, Franks JR. Real-ear attenuation of earmuffs in normal-hearing and hearing-impaired individuals. *J Acoust Soc Am* 1990; 87: 2114-2117 [PMID: 2348018 DOI: 10.1111/cei.12046]
- 24 Lleo A, Bowlus CL, Yang GX, Invernizzi P, Podda M, Van de Water J, Ansari AA, Coppel RL, Worman HJ, Gores GJ, Gershwin ME. Biliary apoptoses and anti-mitochondrial antibodies activate innate immune responses in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52: 987-998 [PMID: 20568301 DOI: 10.1002/hep.23783]
- 25 Arsenijevic A, Milovanovic M, Milovanovic J, Stojanovic B, Zdravkovic N, Leung PS, Liu FT, Gershwin ME, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 Enhances Xenobiotic Induced Murine Primary Biliary Cholangitis by Facilitating Apoptosis of BECs and Release of Autoantigens. *Sci Rep* 2016; 6: 23348 [PMID: 26996208 DOI: 10.1038/srep23348]
- 26 Harada K, Shimoda S, Ikeda H, Chiba M, Hsu M, Sato Y, Kobayashi M, Ren XS, Ohta H, Kasashima S, Kawashima A, Nakanuma Y. Significance of periductal Langerhans cells and biliary epithelial cell-derived macrophage inflammatory protein-3 α in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2011; 31: 245-253 [PMID: 21092071 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02367.x]
- 27 Erice O, Munoz-Garrido P, Vaquero J, Perugorria MJ, Fernandez-Barrena MG, Saez E, Santos-Laso A, Arbelaz A, Jimenez-Agüero R, Fernandez-Irigoyen J, Santamaria E, Torrano V, Carracedo A, Ananthanarayanan M, Marzioni M, Prieto J, Beuers U, Oude Elferink RP, LaRusso NF, Bujanda L, Marin JJG, Banales JM. MicroRNA-506 promotes primary biliary cholangitis-like features in cholangiocytes and immune activation. *Hepatology* 2018; 67: 1420-1440 [PMID: 28922472 DOI: 10.1002/hep.29533]
- 28 Jeffery HC, van Wilgenburg B, Kurioka A, Parekh K, Stirling K, Roberts S, Dutton EE, Hunter S, Geh D, Braitch MK, Rajanayagam J, Iqbal T, Pinkney T, Brown R, Withers DR, Adams DH, Klenerman P, Oo YH. Biliary epithelium and liver B cells exposed to bacteria activate intrahepatic MAIT cells through MR1. *J Hepatol* 2016; 64: 1118-1127 [PMID: 26743076 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.12.017]
- 29 Li J, Razumilava N, Gores GJ, Walters S, Mizuochi T, Mourya R, Bessho K, Wang YH, Glaser SS, Shivakumar P, Bezerra JA. Biliary repair and carcinogenesis are mediated by IL-33-dependent cholangiocyte proliferation. *J Clin Invest* 2014; 124: 3241-3251 [PMID: 24892809 DOI: 10.1172/JCI73742]
- 30 Li S, Hong M, Tan HY, Wang N, Feng Y. Insights into the Role and Interdependence of Oxidative Stress and Inflammation in Liver Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016: 4234061 [PMID: 28070230 DOI: 10.1155/2016/4234061]
- 31 Prawan A, Buranrat B, Kukongviriyapan U, Sripa B, Kukongviriyapan V. Inflammatory cytokines suppress NAD(P)H:quinone oxidoreductase-1 and induce oxidative stress in cholangiocarcinoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 515-522 [PMID: 18820947 DOI: 10.1007/s00432-008-0483-2]
- 32 Sasaki M, Ikeda H, Nakanuma Y. Activation of ATM signaling pathway is involved in oxidative stress-induced expression of mito-inhibitory p21WAF1/Cip1 in chronic non-suppurative destructive cholangitis in primary biliary cirrhosis: an immunohistochemical study. *J Autoimmun* 2008; 31: 73-78 [PMID: 18456456 DOI: 10.1016/j.jaut.2008.03.005]
- 33 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Chemokine-chemokine receptor CCL2-CCR2 and CX3CL1-CX3CR1 axis may play a role in the aggravated inflammation in primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 358-364 [PMID: 24185682 DOI: 10.1007/s10620-013-2920-6]
- 34 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Modulation of the microenvironment by senescent biliary epithelial cells may be involved in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 318-325 [PMID: 20570384 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.008]
- 35 Sasaki M, Ikeda H, Sato Y, Nakanuma Y. Decreased expression of Bmi1 is closely associated with cellular senescence in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Am J Pathol* 2006; 169: 831-845 [PMID: 16936260 DOI: 10.2353/ajpath.2006.051237]
- 36 Sasaki M, Ikeda H, Yamaguchi J, Nakada S, Nakanuma Y. Telomere shortening in the damaged small bile ducts in primary biliary cirrhosis reflects ongoing cellular senescence. *Hepatology* 2008; 48: 186-195 [PMID: 18536059 DOI: 10.1002/hep.22348]
- 37 Sekoguchi S, Nakajima T, Moriguchi M, Jo M, Nishikawa T, Katagishi T, Kimura H, Minami M, Itoh Y, Kagawa K, Tani Y, Okanoue T. Role of cell-cycle turnover and oxidative stress in telomere shortening and cellular senescence in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 182-190 [PMID: 17295869 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04454.x]
- 38 Harada K, Isse K, Kamihira T, Shimoda S, Nakanuma Y. Th1 cytokine-induced downregulation of PPAR γ in human biliary cells relates to cholangitis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 1329-1338 [PMID: 15880426 DOI: 10.1002/hep.20705]
- 39 Harada K, Kakuda Y, Sato Y, Ikeda H, Shimoda S, Yamamoto Y, Inoue H, Ohta H, Kasashima S, Kawashima A, Nakanuma Y. Alteration of energy metabolism in the pathogenesis of bile duct lesions in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol* 2014; 67: 396-402 [PMID: 24293610 DOI: 10.1136/jclinpath-2013-201815]
- 40 Tsuneyama K, Harada K, Kono N, Sasaki M, Saito T, Gershwin ME, Ikemoto M, Arai H, Nakanuma Y. Damaged interlobular bile ducts in primary biliary cirrhosis show reduced expression of glutathione-S-transferase-pi and aberrant expression of 4-hydroxynonenal. *J Hepatol* 2002; 37: 176-183 [PMID: 12127421 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00105-8]
- 41 Taniguchi E, Harada M, Kawaguchi T, Koga H, Kumemura H, Hanada S, Shishido S, Baba S, Kumashiro R, Ueno T, Sakisaka S, Sata M. Expression of uncoupling protein-2 in biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis. *Liver* 2002; 22: 451-458 [PMID: 12445169 DOI: 10.1034/

- j.1600-0676.2002.01700.x]
- 42 Mizuguchi Y, Isse K, Specht S, Lunz JG 3rd, Corbitt N, Takizawa T, Demetris AJ. Small proline rich protein 2a in benign and malignant liver disease. *Hepatology* 2014; 59: 1130-1143 [PMID: 24123265 DOI: 10.1002/hep.26889]
 - 43 Weerachayaphorn J, Amaya MJ, Spirli C, Chansela P, Mitchell-Richards KA, Ananthanarayanan M, Nathanson MH. Nuclear Factor, Erythroid 2-Like 2 Regulates Expression of Type 3 Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor and Calcium Signaling in Cholangiocytes. *Gastroenterology* 2015; 149: 211-222.e10 [PMID: 25796361 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.03.014]
 - 44 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Autophagy mediates the process of cellular senescence characterizing bile duct damages in primary biliary cirrhosis. *Lab Invest* 2010; 90: 835-843 [PMID: 20212459 DOI: 10.1038/labinvest.2010.56]
 - 45 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. A possible involvement of p62/sequestosome-1 in the process of biliary epithelial autophagy and senescence in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2012; 32: 487-499 [PMID: 22098537 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02656.x]
 - 46 Sasaki M, Yoshimura-Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. A possible involvement of endoplasmic reticulum stress in biliary epithelial autophagy and senescence in primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol* 2015; 50: 984-995 [PMID: 25552342 DOI: 10.1007/s00535-014-1033-0]
 - 47 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Autophagy may precede cellular senescence of bile ductular cells in ductular reaction in primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 660-666 [PMID: 21989821 DOI: 10.1007/s10620-011-1929-y]
 - 48 Sasaki M, Kakuda Y, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Infiltration of inflammatory cells expressing mitochondrial proteins around bile ducts and in biliary epithelial layer may be involved in the pathogenesis in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol* 2014; 67: 470-476 [PMID: 24407434 DOI: 10.1136/jclinpath-2013-201917]
 - 49 Gonzalez DM, Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Sci Signal* 2014; 7: re8 [PMID: 25249658 DOI: 10.1126/scisignal.2005189]
 - 50 Kim Y, Lee EJ, Jang HK, Kim CH, Kim DG, Han JH, Park SM. Statin pretreatment inhibits the lipopolysaccharide-induced epithelial-mesenchymal transition via the downregulation of toll-like receptor 4 and nuclear factor- κ B in human biliary epithelial cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 1220-1228 [PMID: 26574150 DOI: 10.1111/jgh.13230]
 - 51 Xiao Y, Zhou Y, Chen Y, Zhou K, Wen J, Wang Y, Wang J, Cai W. The expression of epithelial-mesenchymal transition-related proteins in biliary epithelial cells is associated with liver fibrosis in biliary atresia. *Pediatr Res* 2015; 77: 310-315 [PMID: 25406900 DOI: 10.1038/pr.2014.181]
 - 52 Huang Q, Chu S, Yin X, Yu X, Kang C, Li X, Qiu Y. Interleukin-17A-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition of Human Intrahepatic Biliary Epithelial Cells: Implications for Primary Biliary Cirrhosis. *Tohoku J Exp Med* 2016; 240: 269-275 [PMID: 27916760 DOI: 10.1620/tjem.240.269]
 - 53 Li R, Dong J, Bu XQ, Huang Y, Yang JY, Dong X, Liu J. Interleukin-6 promotes the migration and cellular senescence and inhibits apoptosis of human intrahepatic biliary epithelial cells. *J Cell Biochem* 2018; 119: 2135-2143 [PMID: 28857276 DOI: 10.1002/jcb.26375]
 - 54 Vij M, Safwan M, Shanmugam NP, Rela M. Liver pathology in severe multidrug resistant 3 protein deficiency: a series of 10 pediatric cases. *Ann Diagn Pathol* 2015; 19: 277-282 [PMID: 26117383 DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2015.06.002]
 - 55 Suzuki A, Sekiya S, Büscher D, Izpisua Belmonte JC, Taniguchi H. Tbx3 controls the fate of hepatic progenitor cells in liver development by suppressing p19ARF expression. *Development* 2008; 135: 1589-1595 [PMID: 18356246 DOI: 10.1242/dev.016634]
 - 56 Baba N, Kobashi H, Yamamoto K, Terada R, Suzuki T, Hakoda T, Okano N, Shimada N, Fujioka S, Iwasaki Y, Shiratori Y. Gene expression profiling in biliary epithelial cells of primary biliary cirrhosis using laser capture microdissection and cDNA microarray. *Transl Res* 2006; 148: 103-113 [PMID: 16938647 DOI: 10.1016/j.trsl.2006.04.007]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

酒精性肝病与肠道微生态的研究进展

杨雅, 艾国, 王鸣

杨雅, 王鸣, 华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科 湖北省武汉市 430030

艾国, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科 湖北省武汉市 430030

杨雅, 初级技师, 主要从事消化系统疾病的研究.

基金项目: 湖北省卫生计生委面上项目, No. WJ2017M068.

作者贡献分布: 此课题由王鸣与艾国设计; 文献检索与文章撰写由杨雅与王鸣完成; 王鸣负责审核.

通讯作者: 王鸣, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市硚口区解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科. apple_wmy@163.com
电话: 027-83663753

收稿日期: 2018-10-22

修回日期: 2018-11-15

接受日期: 2018-12-17

在线出版日期: 2019-01-08

Alcoholic liver disease and intestinal microecology

Ya Yang, Guo Ai, Ming Wang

Ya Yang, Ming Wang, Department of Infectious Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Guo Ai, Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: Health and Family Planning Commission of Hubei Province, No. WJ2017M068.

Corresponding author: Ming Wang, Attending Physician, Department of Infectious Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. apple_wmy@163.com

Received: 2018-10-22

Revised: 2018-11-15

Accepted: 2018-12-17

Published online: 2019-01-08

Abstract

Alcoholic liver disease (ALD) is damage to the liver that occurs after excessive alcohol use over a long period of time, which is mainly characterized by hepatocyte steatosis and fat storage, and the disease spectrum includes steatosis, steatohepatitis, alcoholic fibrosis, and cirrhosis. Steatosis and early steatohepatitis are reversible after cessation of alcohol use. Although the pathogenesis of ALD is not yet fully understood, many studies have shown that the intestinal microecological dysbiosis is closely related to the occurrence and development of ALD. Chronic alcohol use may cause intestinal microecological dysbiosis by leading to increased intestinal mucosal permeability, intestinal flora imbalance, and bacterial translocation, which can then activate immune response, induce an inflammatory response in the liver, and thus lead to liver damage. Based on this situation, we can adjust the intestinal flora imbalance to achieve the goal of treating ALD by using various methods such as supplementing probiotics or prebiotics, properly using antibiotics, and performing fecal microbiota transplantation. In addition, targeted therapy for intestinal bacterial imbalance has also become a hotspot in current research.

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

Key Words: Intestinal microecology; Intestinal bacterial imbalance; Alcoholic liver disease; Probiotics; Fecal microbiota transplantation

Yang Y, Ai G, Wang M. Alcoholic liver disease and intestinal microecology. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 43-49
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/43.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.43>

摘要

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是由于长期大量饮酒所致的肝损害, 以肝细胞脂肪变性和脂肪贮积为主要特征, 疾病谱包括脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和酒精性肝硬化, 其中脂肪肝及早期酒精性肝炎在戒酒后可逆转. ALD的发病机制尚未完全明了, 研究认为, 肠道微生态失衡与ALD的发生发展密切相关. 慢性酒精摄入可通过影响肠道黏膜通透性、肠道菌群失调、细菌移位等方式引起肠道微生态失衡, 进而激活机体免疫应答, 诱导肝脏产生炎症反应而造成肝损伤. 基于此, 临床可通过补充益生菌或益生元、合理应用抗生素及粪菌移植等方式调节肠道菌群失调, 从而达到治疗的目的. 此外, 针对肠道微生态失衡的靶向治疗亦成为目前的研究热点.

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

关键词: 肠道微生态; 菌群失调; 酒精性肝病; 益生菌; 粪菌移植

核心提要: 慢性酒精摄入可通过多种方式引起肠道微生态失衡, 进而激活机体免疫应答, 诱导肝脏产生炎症反应而造成肝损伤. 目前, 临床上可通过补充益生菌或益生元、合理应用抗生素及粪菌移植等方式调节肠道菌群失调, 从而达到治疗酒精性肝病的目的.

杨雅, 艾国, 王鸣. 酒精性肝病与肠道微生态的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 43-49

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/43.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.43>

0 引言

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是我国最主要的慢性肝病之一, 在我国有日见增多的趋势, 在肝病住院患者中, 其所占比例不断上升, 严重危害人民健康^[1]. 肠-肝轴将肠道与肝脏紧密联系在一起, 两者起源于同一胚层, 通过门静脉相互关联, 肝脏吸收的大部分物质来自肠道, 肠道通过门静脉为肝脏提供大量肠源性物质包括细菌及其代谢产物等. 研究发现, 肠道微生态失衡在ALD的发生机制中发挥了重要作用. 本文就国内外关于ALD与肠道微生态失调相互作用的机制及通过调节肠道菌群失调治疗ALD的进展进行综述, 为ALD的临床治疗提供理论参考.

1 慢性酒精摄入导致肠道微生态失衡的表现及机制

1.1 慢性酒精摄入导致肠道微生态失衡表现 肠道微生态平衡是指肠道内各类微生物在数量和种属上保持动态平衡^[2], 其对维系人体正常代谢及消化功能发挥着重

要作用. 人类很多疾病如肥胖、胰岛素抵抗、代谢综合征、非酒精性脂肪肝、肿瘤、慢性感染性疾病等都和肠道微生态失衡息息相关. 动物实验已经证实, 酒精能选择性的促进肠道细菌的生长, 而致病菌的过度生长又能产生乙醇从而会影响肠黏膜渗透性, 导致肠道微生态失衡^[3]. 酒精导致肠道微生态失衡主要表现为: (1)肠道细菌增多长期饮酒导致肠道内细菌数量增多、肠道微生态失衡^[4-7]. 肠道细菌过度生长主要通过PCR技术或粪便培养等方法证实其数量增多. 一般认为每毫升粪便经培养包括至少 10^5 数量级的细菌为细菌过度生长^[8-10]. Yan等^[7]在2011年对两组小鼠展开实验, 分别给予这两组小鼠喂食同等热量食物(其中一组饮食中包括酒精), 发现喂食酒精组小鼠小肠内需氧菌和厌氧菌数量较另一组小鼠明显增多, 随后一周左右大肠细菌明显增多^[6], 其他齿类动物肝病终末期也能观察到这种现象^[11,12]. 与此类似的是, 长期饮酒的肝硬化患者也表现为小肠细菌明显增多^[13,14], 而此种现象与酒精性肝硬化患者的病情密切相关^[13]. (2)肠道菌群菌种变化Bajaj等^[15]在2014年提出CDR(肝硬化-微生态失调比值)的概念, 用以反映肝硬化患者肠道内“好”细菌与“坏”细菌的丰度变化情况, 该比值为肠道内“好”细菌如螺菌属细菌、疣微菌属细菌、梭杆菌属细菌的数量之和与肠道内“坏”细菌如肠杆菌属细菌、类杆菌属细菌的数量之和的比值. CDR值越低, 肝硬化患者病情越重. 研究发现, 酒精性肝硬化患者肠道内螺菌属细菌^[15-17]、疣微菌属细菌^[15,16,18]、梭杆菌属细菌^[15,16]数量减低, 而肠杆菌属细菌^[15-18]数量增多, 类杆菌属细菌在肝硬化患者中表现为增多的趋势^[15,18]. 但另有研究表明, 在肝硬化患者特别是酒精性肝硬化患者中, 肠道内肠杆菌属细菌数量减少^[17,19,20]. 不同病因所致的肝硬化患者的CDR值不同, 其中, 酒精引起的肝硬化患者的CDR值最低, 这些ALD患者体内内毒素水平较其他原因所致者更高, 大肠杆菌数量也更多^[15]. 予以肝硬化患者口服乳杆菌GG治疗四周, 结果发现患者肠道内螺菌属细菌、梭杆菌属细菌数量增多, 肠杆菌属细菌数量减少, 体内内毒素水平及肿瘤坏死因子水平降低^[21]. 肝硬化患者粪便及结肠活检标本中梭状芽孢杆菌^[22,23]、肠杆菌属细菌^[15]及其所属的大肠杆菌^[17,22,23]数量明显增多. 分析酗酒者及肝硬化患者粪便发现, 梭杆菌属细菌^[16,17]、葡萄球菌属细菌^[15]及其产生的金黄色葡萄球菌^[24]数量较对照组增多, 肠道内“好”细菌如乳酸杆菌^[25]、粪便中双歧杆菌^[23,25]数量减少. 综上, 长期大量饮酒的患者体内“好”细菌数量减少、“坏”细菌数量增多往往引起肠道微生态失衡.

1.2 慢性酒精摄入导致肠道微生态失衡机制 研究表明,

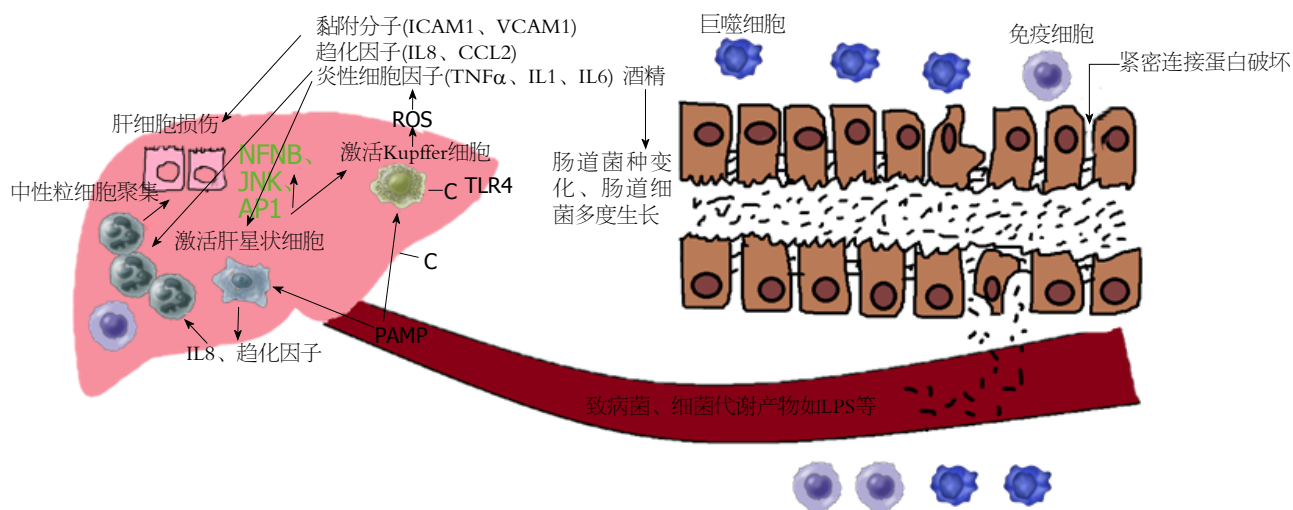


图1 酒精性肝病与肠道微生态失衡相互作用的机制。

多种因素均可导致ALD的发生和发展。酒精及其代谢产物乙醛通过门静脉进入肝脏可直接造成肝细胞的损害,同时肠源性有害物质如脂多糖水平升高,通过与Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)结合激活Kupffer细胞^[26],产生活性氧,继而产生大量黏附分子、炎性细胞因子和趋化因子,在肝脏产生炎症反应造成肝损害^[27-34]。酒精导致肠道微生态失衡机制包括(图1): (1)肠道黏膜屏障功能受损 肠道黏膜的完整性取决于肠上皮细胞表面覆盖的保护层、肠上皮细胞之间的紧密连接蛋白及肠道免疫细胞的功能状态^[35]。酒精既能通过自身对肠上皮细胞的损伤作用破坏肠黏膜屏障,又能通过其分布在血液中的代谢产物破坏肠黏膜屏障^[36]。体循环中酒精浓度升高通过引起紧密连接蛋白调控相关蛋白的mRNA表达下调,导致紧密连接蛋白表达下调,另外长期摄入酒精还能增加肠上皮细胞对致病菌的易感性^[37]。(2)基因,大部分脂肪肝患者会因长期大量饮酒使得病情进一步加重,酗酒者中高达40%-60%的人群伴有肝纤维化甚至肝硬化^[38]。有研究表明遗传因素与ALD病情进展相关。女性比男性更容易罹患酒精引起的肝脏相关疾病^[39]。细胞色素P4502E1(CYP2E1)和酒精脱氢酶-3(ADH-3)基因多态性为酗酒者发展为ALD的危险因素^[40]。Patatin样磷脂酶3(PNPLA3)基因多态性同样也是发展为酒精性肝硬化的危险因素^[41]。至于基因多态性是否通过影响肠道微生物的组成成分从而导致ALD的发生目前还不明确,但宿主基因一般能通过影响代谢对肠道微生物的组成产生一定影响^[42]。目前还需要更多的研究来阐明基因对微生物及ALD的作用及影响。(3)肠道动力因素 酒精减低肠道蠕动功能,导致肠腔细菌增多。饮酒者结肠转运时间比不饮酒者更长^[43]。肝硬化患者结肠转运时间比正常有所延长,造成肠道细菌的过度生长^[44]。胃肠动力药西

沙比利通过改善胃肠蠕动功能可改善肝硬化患者肠道细菌的过度生长^[45]。(4)胃酸分泌减少ALD患者表现为胃酸减少或者呈现胃酸分泌不足的状态,这可能与患者多伴有浅表性胃炎或萎缩性胃炎有关^[46,47]。Shindo等^[48]研究发现,在肝硬化患者中,胃酸分泌减少与小肠细菌过度生长相关。(5)胆汁酸分泌减少ALD患者粪便中总胆汁酸水平较高,然而,一旦这些患者病情进展至肝硬化阶段,其粪便中总胆汁酸水平明显下降^[19],这可能是肝硬化患者的胆汁通过肠肝循环途径被吸收致肠道减少所致^[49]。Inagaki在小鼠模型研究中发现法尼醇X受体(FXR)(肠道上皮细胞主要的胆汁酸受体之一)减少,导致多种抗生素疗效欠佳,这与小肠细菌过度生长不无关系^[50],而予以肝硬化小鼠补充胆汁酸能消除小肠细菌过度生长的情况^[51]。因此,肝硬化伴胆汁酸分泌减少可导致肠道微生物数量发生改变。(6)免疫应答异常,长期饮酒对人体免疫系统造成深远的影响。宿主抗菌分子是人体肠道固有免疫系统的主要效应分子,对肠道微生物的组成成分起着决定性的作用。肠道潘氏细胞和肠上皮细胞能分泌多种抗菌分子抑制细菌进入肠道上皮,胰再生凝集素Reg-3b和Reg-3g是其中两种。Yan等^[7]研究发现,在喂食酒精的小鼠及ALD人群中,这两种抗菌分子的表达均受到抑制。而作为肠道保护层的肠道黏膜,其在ALD患者体内是增厚的^[6]。酒精是通过何种机制对宿主免疫系统产生影响还需要进一步的研究。

2 肠道微生态失调促进ALD发生发展

2.1 肠道微生态失衡造成体内免疫、代谢的改变

人体肠道内微生物数以亿计,包括细菌、病毒、真菌等。细菌虽然数量众多,但其在分类上主要包括拟杆菌、厚壁菌和放线菌^[52]。影响人体内微生物组成结构的因素

很多, 包括饮食、年龄及是否伴发疾病等。肠道微生物对人体先天性和获得性免疫的调节发挥非常重要的作用, 肝脏作为消化器官之一, 各种营养物质的有序合成和分解如葡萄糖的代谢、胆汁酸的代谢、短链脂肪酸的分泌、维生素的合成等均与肠道菌群功能正常有着密切联系, 其中短链脂肪酸为肠黏膜上皮细胞重要能量来源, 其正常代谢有助于保持肠道完整性, 加强肠黏膜屏障功能。肝脏亦为重要的免疫器官, 来源于肠道的致病菌、病原体相关分子模式(包括模式识别受体如TLRs、Nod样受体、解旋酶受体等)等进入体循环后, 肝脏为首要受累的器官, 因而肠道微生物组成结构的改变势必会对肝脏造成影响^[52]。

2.2 肠道有害物进入肝脏造成肝损害 肠道微生态失调致使肠道细菌及其有害代谢产物随门脉循环进入肝脏, 导致ALD患者体内内毒素水平升高^[53,54]。细菌脂多糖(LPS)作为内毒素的一种, 与脂多糖结合蛋白形成复合物, 该复合物与CD14嵌合后通过与TLR4结合激活丝裂原蛋白激酶如胞外信号调节激酶(ERK-1/ERK-2)、JNK、p38、NFkB和活化蛋白1(AP-1), 继而激活Kupffer细胞^[55]。Kupffer细胞被激活后释放活性氧(ROS), 使黏附分子如细胞间黏附分子1(ICAM1)、血管黏附蛋白1(VCAM1)、趋化因子(IL-8、CCL2)、炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1、IL-6)在肝脏聚集^[56], 促炎细胞因子如IL-17诱使中性粒细胞进入肝脏, 刺激肝星状细胞产生IL-8和趋化因子CXCL1, 从而诱导其他趋化因子召集更多中性粒细胞聚集^[57], 这一系列改变均可导致肝细胞炎性改变并造成肝损伤(图1)。

3 ALD基于肠道微生态失衡的治疗方法

3.1 戒酒 众所周知, 乙醇可引起肠黏膜功能障碍, 导致肠道渗透性升高引起营养物质流失、肠道有害代谢物进入体循环, 因此凡能阻止肠道渗透性升高的干预措施都不失为ALD的有效治疗方法。例如, 乙醇可通过引起机体缺锌从而损伤肠黏膜屏障功能^[58], 给予体内缺锌的小鼠补充锌剂能恢复其肠道功能^[59]。尽管饮酒所致的部分肠道微生态损害无法逆转, 如饮酒造成普氏粪杆菌的减少(重要的肠道菌群共生菌), 但戒酒对恢复肠道微生态平衡却是极为重要的。

3.2 益生菌 最近一项研究评估了VSL3治疗长期喂食酒精导致肠道微生态失衡的小鼠的疗效, 发现在喂食VSL3一段时间后, 小鼠的肠道渗透性有所改善, 同时肠道内细菌过多的现象也有所好转^[60,61]。在另一项研究中, 对长期喂食酒精的小鼠予以乳酸杆菌治疗后, 小鼠粪便pH值和血清内毒素水平均降低, 肝损害也有所改善, 这些都得益于乳酸杆菌能通过紧密连接蛋白改善肠黏膜

渗透性^[62]。乳酸杆菌还能改善肠道屏障功能, 使高脂饮食的小鼠免受非酒精性脂肪肝的损害^[63]。Cicenia等^[64]和Hartmann等^[65]的研究均发现, 有活性的益生菌能促进体内其他有益菌的生长。予以酗酒者口服乳酸杆菌和双歧杆菌一段时间后, 其肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌数量升高, 金黄色葡萄球菌及梭状芽胞杆菌数量减少, 同时转氨酶也有所下降^[24,25]。

3.3 抗生素 合理使用抗生素作为预防和干预措施, 能改善肠道菌群失调, 减轻其对肝脏的损害^[66,67]。研究证实, 广谱抗生素利福昔明能减少酒精性肝硬化患者肠腔内韦荣球菌属细菌, 改善肠道固有菌群的代谢, 减少肠道有害微生物产生的有毒代谢产物及降低体循环中的炎症因子, 改善胆汁酸肠肝循环, 使肠道内初级胆汁酸和次级胆汁酸增多^[68,69], 还能减低CDR比值, 提高“好”细菌的数量^[69]。

3.4 粪菌移植 粪便菌群(fecal microbiota transplantation, FMT)移植是一种将健康志愿者的粪便菌群移植给患者, 以重建正常肠道菌群的治疗方法^[70]。FMT最早可追溯到东晋时期, 葛洪在《肘后备急方》记载了用粪液治疗食物中毒及腹泻患者的方法^[71]。1950年, Eisman将粪便菌群移植疗法成功用于伪膜性肠炎的治疗^[72]。目前, 通过FMT已经成功治愈了多种与肠道菌群紊乱相关的疾病^[73], 尤其是对于艰难梭菌感染的治疗成功率可达90%^[74]。最近发表的一份研究共识阐述了FMT对于复发性梭状芽胞杆菌感染、炎症性肠病、肠易激综合征和代谢综合征的治疗, 尽管该共识对于FMT在肝病方面的领域尚未提及, 但FMT仍能在肠道菌群失调、有感染风险的肝病患者中应用^[75]。

3.5 合理膳食 长期饮酒的患者往往伴随着营养元素的缺乏, 因此合理膳食对ALD患者十分必要。已有研究证实长期饮酒会造成体内锌的缺乏, 且锌的缺乏会进一步加重肝损伤, 并使肠黏膜渗透性升高^[76]。饮食中缺锌会造成酒精导致的血清内毒素水平升高, 引起肝损害及肝脏炎性改变^[59]。一项小鼠ALD的动物模型的研究发现, 牛奶的一种组成成分-牛奶骨桥蛋白能减轻ALD所致的肝损伤, 降低血清内毒素水平^[77]。另有研究发现, 高脂、高糖饮食不利于健康, 高脂饮食组的小鼠与对照组小鼠相比, 体循环中脂多糖水平较高, 同时甘油三酯水平也高于对照组。饮食中摄入糖分过多抑制 β 脂肪酸的氧化, 导致肝细胞脂肪变, 通过TLR通道释放炎症因子激活炎症反应, 且高糖饮食降低胰岛素敏感性^[69,78]。

3.6 靶向治疗 未来治疗的靶点可致力于研究抗脂多糖抗体或TLR4抑制剂, 从而阻断肠源性炎症因子对肝脏的损害。另一个新的领域可能为miR155抑制剂, 有研究发现酒精致肠道渗透性升高、体内内毒素及炎症因子

水平升高的情况在miR155缺失的小鼠中有所缓解^[79]。

4 结论

长期摄入酒精导致肠道菌群失调, 引起肠黏膜屏障功能受损, 导致肠黏膜渗透性升高, 继而导致肠道微生物及其代谢产物随着门脉系统进入体循环, 诱导肝脏炎症反应, 引起肝损伤。近年来, 肠道微生态的研究逐渐形成热点, 越来越多的研究证实肠道微生态失衡与ALD的发生发展有着密切的联系, 益生菌或益生元的使用、粪菌移植、合理应用抗生素等均能在一定程度上改善ALD, 但目前以肠道微生态失调为治疗靶点的研究较少, 还需要更多研究工作进一步探索。

5 参考文献

- 1 Fung P, Pyrsopoulos N. Emerging concepts in alcoholic hepatitis. *World J Hepatol* 2017; 9: 567-585 [PMID: 28515843 DOI: 10.4254/wjh.v9.i12.567]
- 2 McLoughlin RM, Mills KH. Influence of gastrointestinal commensal bacteria on the immune responses that mediate allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1097-1097; quiz 1108-1109 [PMID: 21420159 DOI: 10.1016/j.jaci.2011.02.012]
- 3 Baraona E, Julkunen R, Tannenbaum L, Lieber CS. Role of intestinal bacterial overgrowth in ethanol production and metabolism in rats. *Gastroenterology* 1986; 90: 103-110 [PMID: 3940238 DOI: 10.1016/0016-5085(86)90081-8]
- 4 Bode JC, Bode C, Heidelberg R, Dürr HK, Martini GA. Jejunal microflora in patients with chronic alcohol abuse. *Hepatogastroenterology* 1984; 31: 30-34 [PMID: 6698486]
- 5 Casafont Morencos F, de las Heras Castaño G, Martín Ramos L, López Arias MJ, Ledesma F, Pons Romero F. Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 552-556 [PMID: 8617135 DOI: 10.1007/BF02282340]
- 6 Hartmann P, Chen P, Wang HJ, Wang L, McCole DF, Brandl K, Stärkel P, Belzer C, Hellerbrand C, Tsukamoto H, Ho SB, Schnabl B. Deficiency of intestinal mucin-2 ameliorates experimental alcoholic liver disease in mice. *Hepatology* 2013; 58: 108-119 [PMID: 23408358 DOI: 10.1002/hep.26321]
- 7 Yan AW, Fouts DE, Brandl J, Stärkel P, Torralba M, Schott E, Tsukamoto H, Nelson KE, Brenner DA, Schnabl B. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 96-105 [PMID: 21254165 DOI: 10.1002/hep.24018]
- 8 Bauer TM, Schwacha H, Steinbrückner B, Brinkmann FE, Ditzgen AK, Kist M, Blum HE. Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis of the liver: poor performance of the glucose breath hydrogen test. *J Hepatol* 2000; 33: 382-386 [PMID: 11019993 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80273-1]
- 9 Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut* 2006; 55: 297-303 [PMID: 16474100 DOI: 10.1136/gut.2005.075127]
- 10 Kerlin P, Wong L. Breath hydrogen testing in bacterial overgrowth of the small intestine. *Gastroenterology* 1988; 95: 982-988 [PMID: 3410238 DOI: 10.1016/0016-5085(88)90173-4]
- 11 Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *J Hepatol* 1997; 26: 1372-1378 [PMID: 9210626 DOI: 10.1016/S0168-8278(97)80474-6]
- 12 Sánchez E, Casafont F, Guerra A, de Benito I, Pons-Romero F.

Role of intestinal bacterial overgrowth and intestinal motility in bacterial translocation in experimental cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97: 805-814 [PMID: 16438624 DOI: 10.4321/S1130-01082005001100005]

- 13 Morencos FC, de las Heras Castaño G, Martín Ramos L, López Arias MJ, Ledesma F, Pons Romero F. Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1252-1256 [PMID: 7781442 DOI: 10.1007/BF02065533]
- 14 Gabbard SL, Lacy BE, Levine GM, Crowell MD. The impact of alcohol consumption and cholecystectomy on small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 638-644 [PMID: 24323179 DOI: 10.1007/s10620-013-2960-y]
- 15 Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014; 60: 940-947 [PMID: 24374295 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.019]
- 16 Bajaj JS, Ridlon JM, Hylemon PB, Thacker LR, Heuman DM, Smith S, Sikaroodi M, Gillevet PM. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G168-G175 [PMID: 21940902 DOI: 10.1152/ajpgi.00190.2011]
- 17 Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, Wang Y, Zhu B, Li L. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2011; 54: 562-572 [PMID: 21574172 DOI: 10.1002/hep.24423]
- 18 Kakiyama G, Pandak WM, Gillevet PM, Hylemon PB, Heuman DM, Daita K, Takei H, Muto A, Nittono H, Ridlon JM, White MB, Noble NA, Monteith P, Fuchs M, Thacker LR, Sikaroodi M, Bajaj JS. Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 949-955 [PMID: 23333527 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.003]
- 19 Kakiyama G, Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, Heuman DM, Kang DJ, Takei H, Nittono H, Ridlon JM, Fuchs M, Gurley EC, Wang Y, Liu R, Sanyal AJ, Gillevet PM, Bajaj JS. Colonic inflammation and secondary bile acids in alcoholic cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 306: G929-G937 [PMID: 24699327 DOI: 10.1152/ajpgi.00315.2013]
- 20 Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, Sikaroodi M, Naqvi A, Engen PA, Kwasny M, Lau CK, Keshavarzian A. Colonic microbiome is altered in alcoholism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G966-G978 [PMID: 22241860 DOI: 10.1152/ajpgi.00380.2011]
- 21 Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, Puri P, Sterling RK, Luketic V, Stravitz RT, Siddiqui MS, Fuchs M, Thacker LR, Wade JB, Daita K, Sistrun S, White MB, Noble NA, Thorpe C, Kakiyama G, Pandak WM, Sikaroodi M, Gillevet PM. Randomised clinical trial: Lactobacillus GG modulates gut microbiome, metabolome and endotoxemia in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1113-1125 [PMID: 24628464 DOI: 10.1111/apt.12695]
- 22 Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012]
- 23 Zhao HY, Wang HJ, Lu Z, Xu SZ. Intestinal microflora in patients with liver cirrhosis. *Chin J Dig Dis* 2004; 5: 64-67 [PMID: 15612659]
- 24 Liu Q, Duan ZP, Ha DK, Bengmark S, Kurtovic J, Riordan SM. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39:

- 1441-1449 [PMID: 15122774 DOI: 10.1002/hep.20194]
- 25 Kirpich IA, Solovieva NV, Leikhter SN, Shidakova NA, Lebedeva OV, Sidorov PI, Bazhukova TA, Soloviev AG, Barve SS, McClain CJ, Cave M. Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol-induced liver injury: a pilot study. *Alcohol* 2008; 42: 675-682 [PMID: 19038698 DOI: 10.1016/j.alcohol.2008.08.006]
- 26 Petrasek J, Mandrekar P, Szabo G. Toll-like receptors in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 710381 [PMID: 20827314 DOI: 10.1155/2010/710381]
- 27 Lieber CS. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol* 2004; 34: 9-19 [PMID: 15670660 DOI: 10.1016/j.alcohol.2004.07.008]
- 28 Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Arch Toxicol* 2009; 83: 519-548 [PMID: 19448996 DOI: 10.1007/s00204-009-0432-0]
- 29 Leung TM, Nieto N. CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2013; 58: 395-398 [PMID: 22940046 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.08.018]
- 30 Dolganiuc A, Thomes PG, Ding WX, Lemasters JJ, Donohue TM Jr. Autophagy in alcohol-induced liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 2012; 36: 1301-1308 [PMID: 22551004 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2012.01742.x]
- 31 Nassir F, Ibdah JA. Role of mitochondria in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2136-2142 [PMID: 24605012 DOI: 10.3748/wjg.v20.i9.2136]
- 32 Fernández-Checa JC, Kaplowitz N, García-Ruiz C, Colell A. Mitochondrial glutathione: importance and transport. *Semin Liver Dis* 1998; 18: 389-401 [PMID: 9875556]
- 33 Wheeler MD, Kono H, Yin M, Nakagami M, Uesugi T, Arteel GE, Gäbele E, Rusyn I, Yamashina S, Froh M, Adachi Y, Iimuro Y, Bradford BU, Smutney OM, Connor HD, Mason RP, Goyert SM, Peters JM, Gonzalez FJ, Samulski RJ, Thurman RG. The role of Kupffer cell oxidant production in early ethanol-induced liver disease. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1544-1549 [PMID: 11744328]
- 34 Enomoto N, Ikejima K, Bradford BU, Rivera CA, Kono H, Goto M, Yamashina S, Schemmer P, Kitamura T, Oide H, Takei Y, Hirose M, Shimizu H, Miyazaki A, Brenner DA, Sato N, Thurman RG. Role of Kupffer cells and gut-derived endotoxins in alcoholic liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15 Suppl: D20-D25 [PMID: 10759216]
- 35 Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology* 2014; 146: 1513-1524 [PMID: 24440671 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.020]
- 36 Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 50: 638-644 [PMID: 19575462 DOI: 10.1002/hep.23009]
- 37 Wood S, Pithadia R, Rehman T, Zhang L, Plichta J, Radek KA, Forsyth C, Keshavarzian A, Shafikhani SH. Chronic alcohol exposure renders epithelial cells vulnerable to bacterial infection. *PLoS One* 2013; 8: e54646 [PMID: 23358457 DOI: 10.1371/journal.pone.0054646]
- 38 O'Shea RS, Dasarthy S, McCullough AJ; Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 307-328 [PMID: 20034030 DOI: 10.1002/hep.23258]
- 39 Sato N, Lindros KO, Baraona E, Ikejima K, Mezey E, Järveläinen HA, Ramchandani VA. Sex difference in alcohol-related organ injury. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 40S-45S [PMID: 11391047]
- 40 Monzoni A, Masutti F, Saccoccio G, Bellentani S, Tiribelli C, Giacca M. Genetic determinants of ethanol-induced liver damage. *Mol Med* 2001; 7: 255-262 [PMID: 11471570]
- 41 Tian C, Stokowski RP, Kershenobich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010; 42: 21-23 [PMID: 19946271 DOI: 10.1038/ng.488]
- 42 Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, Beaumont M, Van Treuren W, Knight R, Bell JT, Spector TD, Clark AG, Ley RE. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 2014; 159: 789-799 [PMID: 25417156 DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.053]
- 43 Addolorato G, Montalto M, Capristo E, Certo M, Fedeli G, Gentiloni N, Stefanini GF, Gasbarrini G. Influence of alcohol on gastrointestinal motility: lactulose breath hydrogen testing in orocecal transit time in chronic alcoholics, social drinkers and teetotaler subjects. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 1076-1081 [PMID: 9261602]
- 44 Gupta A, Dhiman RK, Kumari S, Rana S, Agarwal R, Duseja A, Chawla Y. Role of small intestinal bacterial overgrowth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2010; 53: 849-855 [PMID: 20675008 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.017]
- 45 Madrid AM, Hurtado C, Venegas M, Cumsille F, Defilippi C. Long-Term treatment with cisapride and antibiotics in liver cirrhosis: effect on small intestinal motility, bacterial overgrowth, and liver function. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1251-1255 [PMID: 11316178 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03636.x]
- 46 Chari S, Teyssen S, Singer MV. Alcohol and gastric acid secretion in humans. *Gut* 1993; 34: 843-847 [PMID: 8314520]
- 47 Dinoso VP Jr, Chey WY, Braverman SP, Rosen AP, Ottenberg D, Lorber SH. Gastric secretion and gastric mucosal morphology in chronic alcoholics. *Arch Intern Med* 1972; 130: 715-719 [PMID: 5083414]
- 48 Shindo K, Machida M, Miyakawa K, Fukumura M. A syndrome of cirrhosis, achlorhydria, small intestinal bacterial overgrowth, and fat malabsorption. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 2084-2091 [PMID: 8249977]
- 49 Raedsch R, Stiehl A, Gundert-Remy U, Walker S, Sieg A, Czygan P, Kommerell B. Hepatic secretion of bilirubin and biliary lipids in patients with alcoholic cirrhosis of the liver. *Digestion* 1983; 26: 80-88 [PMID: 6840409 DOI: 10.1159/000198872]
- 50 Inagaki T, Moschetta A, Lee YK, Peng L, Zhao G, Downes M, Yu RT, Shelton JM, Richardson JA, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 3920-3925 [PMID: 16473946 DOI: 10.1073/pnas.0509592103]
- 51 Lorenzo-Zúñiga V, Bartolí R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V, Gassull MA. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 37: 551-557 [PMID: 12601352 DOI: 10.1053/jhep.2003.50116]
- 52 Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res* 2013; 69: 52-60 [PMID: 23147033 DOI: 10.1016/j.phrs.2012.10.020]
- 53 Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology* 2011; 141: 1572-1585 [PMID: 21920463 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.002]
- 54 Michelena J, Altamirano J, Abalde JG, Affò S, Morales-Ibanez O, Sancho-Bru P, Dominguez M, García-Pagán JC, Fernández J, Arroyo V, Ginès P, Louvet A, Mathurin P, Mehal WZ, Caballería J, Bataller R. Systemic inflammatory response and serum lipopolysaccharide levels predict multiple organ

- failure and death in alcoholic hepatitis. *Hepatology* 2015; 62: 762-772 [PMID: 25761863 DOI: 10.1002/hep.27779]
- 55 Bautista AP. Impact of alcohol on the ability of Kupffer cells to produce chemokines and its role in alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 349-356 [PMID: 10824877]
- 56 Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; 12: 231-242 [PMID: 25782093 DOI: 10.1038/nrgastro.2015.35]
- 57 Mandrekar P, Ambade A, Lim A, Szabo G, Catalano D. An essential role for monocyte chemoattractant protein-1 in alcoholic liver injury: regulation of proinflammatory cytokines and hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2011; 54: 2185-2197 [PMID: 21826694 DOI: 10.1002/hep.24599]
- 58 Zhong W, McClain CJ, Cave M, Kang YJ, Zhou Z. The role of zinc deficiency in alcohol-induced intestinal barrier dysfunction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G625-G633 [PMID: 20167873 DOI: 10.1152/ajpgi.00350.2009]
- 59 Zhong W, Zhao Y, Sun X, Song Z, McClain CJ, Zhou Z. Dietary zinc deficiency exaggerates ethanol-induced liver injury in mice: involvement of intrahepatic and extrahepatic factors. *PLoS One* 2013; 8: e76522 [PMID: 24155903 DOI: 10.1371/journal.pone.0076522]
- 60 Chang B, Sang L, Wang Y, Tong J, Zhang D, Wang B. The protective effect of VSL#3 on intestinal permeability in a rat model of alcoholic intestinal injury. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 151 [PMID: 24138544 DOI: 10.1186/1471-230X-13-151]
- 61 Lunia MK, Sharma BC, Sharma P, Sachdeva S, Srivastava S. Probiotics prevent hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1003-1008.e1 [PMID: 24246768 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.11.006]
- 62 Bull-Ottersson L, Feng W, Kirpich I, Wang Y, Qin X, Liu Y, Gobejishvili L, Joshi-Barve S, Ayvaz T, Petrosino J, Kong M, Barker D, McClain C, Barve S. Metagenomic analyses of alcohol induced pathogenic alterations in the intestinal microbiome and the effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG treatment. *PLoS One* 2013; 8: e53028 [PMID: 23326376 DOI: 10.1371/journal.pone.0053028]
- 63 Ritze Y, Bárdos G, Claus A, Ehrmann V, Bergheim I, Schwartz A, Bischoff SC. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects against non-alcoholic fatty liver disease in mice. *PLoS One* 2014; 9: e80169 [PMID: 24475018 DOI: 10.1371/journal.pone.0080169]
- 64 Cienia A, Scirocco A, Carabotti M, Pallotta L, Marignani M, Severi C. Postbiotic activities of lactobacilli-derived factors. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48 Suppl 1: S18-S22 [PMID: 25291118 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000231]
- 65 Hartmann P, Chen WC, Schnabl B. The intestinal microbiome and the leaky gut as therapeutic targets in alcoholic liver disease. *Front Physiol* 2012; 3: 402 [PMID: 23087650 DOI: 10.3389/fphys.2012.00402]
- 66 Adachi Y, Moore LE, Bradford BU, Gao W, Thurman RG. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Gastroenterology* 1995; 108: 218-224 [PMID: 7806045]
- 67 Chen P, Stärkel P, Turner JR, Ho SB, Schnabl B. Dysbiosis-induced intestinal inflammation activates tumor necrosis factor receptor I and mediates alcoholic liver disease in mice. *Hepatology* 2015; 61: 883-894 [PMID: 25251280 DOI: 10.1002/hep.27489]
- 68 Bajaj JS, Heuman DM, Sanyal AJ, Hylemon PB, Sterling RK, Stravitz RT, Fuchs M, Ridlon JM, Daita K, Monteith P, Noble NA, White MB, Fisher A, Sikaroodi M, Rangwala H, Gillevet PM. Modulation of the metabiome by rifaximin in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy. *PLoS One* 2013; 8: e60042 [PMID: 23565181 DOI: 10.1371/journal.pone.0060042]
- 69 Woodhouse CA, Patel VC, Singanayagam A, Shawcross DL. Review article: the gut microbiome as a therapeutic target in the pathogenesis and treatment of chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 192-202 [PMID: 29083037 DOI: 10.1111/apt.14397]
- 70 El Feghaly RE, Bangar H, Haslam DB. The molecular basis of *Clostridium difficile* disease and host response. *Curr Opin Gastroenterol* 2015; 31: 24-29 [PMID: 25394235 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000131]
- 71 Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755-1756 [PMID: 23160295 DOI: 10.1038/ajg.2012.251]
- 72 Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; 44: 854-859 [PMID: 13592638]
- 73 Armstrong MJ, Pathmakanthan S, Iqbal TH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *JAMA* 2015; 313: 725-726 [PMID: 25688787 DOI: 10.1001/jama.2014.18617]
- 74 van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; 368: 407-415 [PMID: 23323867 DOI: 10.1056/NEJMoa1205037]
- 75 König J, Siebenhaar A, Högenauer C, Arkkila P, Nieuwdorp M, Norén T, Ponsioen CY, Rosien U, Rossen NG, Satokari R, Stallmach A, de Vos W, Keller J, Brummer RJ. Consensus report: faecal microbiota transfer - clinical applications and procedures. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 222-239 [PMID: 27891639 DOI: 10.1111/apt.13868]
- 76 Zhong W, McClain CJ, Cave M, Kang YJ, Zhou Z. The role of zinc deficiency in alcohol-induced intestinal barrier dysfunction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G625-G633 [PMID: 20167873 DOI: 10.1152/ajpgi.00350.2009]
- 77 Ge X, Lu Y, Leung TM, Sørensen ES, Nieto N. Milk osteopontin, a nutritional approach to prevent alcohol-induced liver injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 304: G929-G939 [PMID: 23518682 DOI: 10.1152/ajpgi.00014.2013]
- 78 Alwahsh SM, Gebhardt R. Dietary fructose as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Arch Toxicol* 2017; 91: 1545-1563 [PMID: 27995280 DOI: 10.1007/s00204-016-1892-7]
- 79 Lippai D, Bala S, Catalano D, Kodys K, Szabo G. Micro-RNA-155 deficiency prevents alcohol-induced serum endotoxin increase and small bowel inflammation in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 2217-2224 [PMID: 25156614 DOI: 10.1111/acer.12483]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



肠道微生物与自身免疫性肝病研究进展与评价

池肇春

池肇春, 山东大学医学院附属医院青岛市市立医院消化内科 山东省青州市 266011

池肇春, 教授, 主任医师, 主要从事肝病的临床研究.

作者贡献分布: 本文由池肇春单独完成.

通讯作者: 池肇春, 教授, 主任医师, 266011, 山东省青州市胶州路1号, 青岛市市立医院消化内科. c.z.chow@163.com

收稿日期: 2018-10-10

修回日期: 2018-10-23

接受日期: 2018-11-15

在线出版日期: 2019-01-08

Intestinal microbiome and autoimmune liver disease

Zhao-Chun Chi

Zhao-Chun Chi, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, Affiliated Hospital of Shandong University Medical College, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Corresponding author: Zhao-Chun Chi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, 1 Jiaozhou Road, Qingdao 266011, Shandong Province, China. c.z.chow@163.com

Received: 2018-10-10

Revised: 2018-10-23

Accepted: 2018-11-15

Published online: 2019-01-08

Abstract

At present, it has been proved that intestinal microbial-related disorders are involved in the development and progression of multi-organ system diseases. Intestinal microflora is the accumulation of microbial antigens and activated immune cells. Changes in the composition of intestinal microflora (biological disorders) can destroy the systemic immune tolerance of intestinal and

symbiotic bacteria. Toll-like receptors in the intestine recognize microbial-related molecular patterns and T helper lymphocyte subpopulations that can cross-react with host antigens (molecular mimics). Activated enterogenous lymphocytes can migrate to lymph nodes, and enterogenous microbial antigens can migrate to extraintestinal sites. Inflammasomes can form in hepatocytes and hepatic stellate cells, which can drive inflammatory, immune-mediated and fibrotic responses. This article reviews and evaluates the role of intestinal microorganisms in the pathogenesis and treatment of autoimmune liver disease.

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

Key Words: Autoimmune hepatitis; Primary sclerosing cholangitis; Primary biliary cholangitis; Innate immunity; Intestinal ecological imbalance; Mucosal barrier; Probiotics

Chi ZC. Intestinal microbiome and autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 50-62

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/50.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.50>

摘要

目前, 已被证实与肠道微生物有关的疾病涉及人体的多个器官系统疾病的发生与发展. 肠道微生物群是微生物抗原和活化免疫细胞的蓄积体, 肠道菌群组成的改变(生物障碍)可以破坏肠道和共生菌的系统免疫耐受性. 肠内的Toll样受体可以识别微生物相关的分子模式和T辅助淋巴细胞的形状亚群, 这些亚群可以与宿主抗原(分子模拟)交叉反应. 活化的肠源性淋巴细胞可以迁移到淋巴结, 肠源性微生物抗原可以转移到肠外部位. 炎症小体可以在肝细胞和肝星状细胞中形成, 它们可以驱动促炎、免疫介导和纤维化反应. 本文就肠道微生物在自身免疫性肝病

发病机制和治疗上的作用的研究作一综述和评价。

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

关键词: 自身免疫性肝炎; 原发性硬化性胆管炎; 原发性胆汁性胆管炎; 先天免疫; 肠菌生态失衡; 黏膜屏障; 益生菌

核心提要: 肠道微生物是微生物抗原和活化免疫细胞的储存库, 这些细胞参与了多种全身免疫介导的疾病的发生机制。自身免疫性肝炎可能由肠道功能障碍、肠道通透性增加以及微生物和自身抗原之间的分子模拟引起或维持。多种药物、分子、饮食和益生菌干预可以改变肠道微生物群并减弱免疫应答。肠道微生物在自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)中的作用值得进行深入的研究, 并且将寻求新的治疗方法, 如抗生素、益生菌、粪便移植有望成为治疗的新靶点, 以改善AILD的预后。

池肇春. 肠道微生物与自身免疫性肝病研究进展与评价. 世界华人消化杂志 2019; 27(1): 50–62

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/50.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i1.50>

0 引言

近年来, 研究发现肠道微生物与许多疾病的发生发展有密切相关, 它被视为人体又一“隐藏的器官”, 携带着人体“第二基因”, 研究发现遗传、环境、饮食、肠道屏障功能的完整性等因素都会影响肠道微生物的结构, 进而引发疾病。

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)通常包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)、IgG4相关性胆管炎和重叠综合征, 是一组以免疫损伤为特征的慢性、进展性、免疫介导的自身免疫性炎症性肝疾病^[1,2]。近几年的研究证明, 肠道微生物在AILD发病机制中的多个环节均参与作用, 引起了学者们广泛的重视和关注, 成为最热门的研究课题。有关AILD的发病机制错综复杂, 尚未完全澄清。涉及免疫、炎症代谢异常、细胞因子、肠黏膜屏障破坏、和细菌生态失衡等众多机制相关, 目前认为肠道微生物起到关键性作用。在肠道炎症的情况下, 肠道屏障的损伤导致细菌易位, 从而刺激远处器官的免疫反应。或者, 免疫细胞异常失调, 如观察到的Th17极化。Th17细胞在肠道固有层最丰富, 它们分泌促炎细胞因子IL-17A、IL-17F和IL-22, 以增强肠道屏障的完整性和抵抗病原体的能力^[3-6]。

肠源性细菌和细菌产物从肠腔到肝脏、肠系膜淋

巴结和其他肠外部位的迁移可能通过易位发生^[7]。易位意味着肠道通透性增加, 可能是因为肠黏膜内的紧密连接被削弱或肠屏障被细菌过度生长所致。易位的细菌产物, 包括LPS和未甲基化的胞嘧啶-磷酸盐-鸟嘌呤(cytosine-phosphate-guanine, CpG), 然后可以通过门静脉输送到肝脏并激活TLRs和NLRs^[8-11]。

肠道微生物群可通过饮食调整^[11-13]、益生菌制剂^[14-16]、补充维生素A和维甲酸^[17,18]、抗生素^[19]、肠道再定植^[20-23]、降低肠道通透性的药物来控制^[24,25], 或通过阻断TLR信号和产生促炎细胞因子的分子干预, 刺激抗炎反应的分子干预(多糖A), 以及短链脂肪酸调节影响基因表达的信号通路, 应用保持屏障完整性的药物等治疗^[4]。

1 肠道微生物与肝自身免疫

由于70%的肝脏血液供应来自门静脉, 肝脏在生理上暴露于肠道来源的微生物成分和代谢物, 肠道微生物障碍不仅与肝脏疾病有关, 而且与炎症、纤维化或胆汁淤积状态有关^[26]。这种肠-肝轴也与AILD有关, 并且可用PSC和原发性胆管炎作为代表^[5]。

肠道微生物在肝脏自身免疫中的参与模式, 根据肠肝轴、细菌易位、肠道启动淋巴细胞向肝脏迁移、胆汁酸和核受体信号转导等参与了PBC和PSC的发病机制。

1.1 肝脏的细菌易位与免疫激活 肠道黏膜免疫系统, 特别是肠系膜淋巴结, 将共生微生物区隔开。除了系膜淋巴结外, 肝脏还充当第二道防线, 以消除来自肠道的细菌^[27]。值得注意的是, 这种功能在慢性肝病中似乎受到损害, 但是Kupffer细胞在肝病过程中如何不能清除肠道微生物其机制仍然是未知的。在这方面, 肝脏不仅是接受者, 而且是具有Kupffer细胞、肝窦内皮细胞和胆道上皮细胞(BEC)的肠源性药物的一个过滤器。

尽管微生物群与免疫疾病有多种联系, 但它们在自身免疫中的作用却鲜为人知。研究发现, 肠道致病菌, 鸡肠球菌, 转移到肝脏和其他系统组织, 易于导致自身免疫的遗传背景下触发自身免疫应答。在该模型中, 抗生素治疗可预防死亡, 抑制组织中鸡大肠杆菌的生长, 并消除致病性自身抗体和T细胞。肝细胞-鸡胆汁共培养诱导自身免疫促进因子。单克隆和自身免疫倾向小鼠的病原体易位诱导自身抗体并导致死亡, 这个现象可以通过针对病原体的肌肉内注射疫苗来预防。从自身免疫患者的肝活检中回收了鸡大肠杆菌特异性DNA, 并且与人肝细胞共培养复制了鼠的模型, 因此, 在易感的人中明显出现类似的过程。这些发现表明, 肠道病原菌可以在遗传易感宿主中易位和促进自身免疫发生^[28]。

模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR), 它们能

够检测微生物相关分子模式(MAMP), 例如细菌L, 肽聚糖, 鞭毛蛋白和细菌DNA, 以及其他配体. 这些MAMP引发的过度免疫应答被认为可导致肝损伤和纤维化发生. 最近的研究描述了控制微生物移位的肠血管屏障(GVB), 研究发现其在不明原因的腹腔疾病患者中受损. 出现血清转氨酶升高^[29]由于这些变化, 细菌易位可能导致肠外炎症, 其中肝细胞和胆管细胞是最脆弱的细胞类型, 容易受到炎症的攻击.

“漏肠”假说已经在NAFLD以及PBC和PSC中得到了证实. 例如, 由于门脉循环中的TLR4和TLR9激动剂, 当缺乏NLRP6和NLRP3炎症小体时可加重肝脏脂肪变性发生^[30]. 敲除小鼠CX3CR1会增加门脉血清中的内毒素, 并促进脂肪性肝炎发展. 在PBC患者中显示胆管受损, 在正常小鼠中慢性细菌暴露后可导致自身抗原产生和随后的类似于PBC的胆管炎发生^[31]. 此外, PSC患者中检测到的核周抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, p-ANCA)可能以 β -微管蛋白5同种型(Beta tubulin 5 isotype, TBB-5)为自身抗原. 它是基因一种进化的细菌蛋白, 而FtsZ(真核细胞骨架蛋白中的微管蛋白)可引起对肠道微生物的免疫交叉反应^[32]. 在人类中, 损害肠道微生物免疫应答的遗传多态性可能部分会导致肝脏疾病的发生. 事实上, 全基因组关联分析(GWASs)已经建立了PSC与IBD几个遗传易感位点, 包括募集结构域蛋白9(caspase recruitment domain-containing protein 9, CARD-9), 岩藻糖基转移酶2(fucosyl transferase FUT-2)和巨噬细胞刺激蛋白1(macrophage stimulating protein 1, MST-1), 这些基因所编码的蛋白质密切参与了先天免疫和适应性免疫^[33-36]如肠上皮细胞FUT-2的岩藻糖基化, 它还保持宿主-微生物群落共生. CARD9是一种配体蛋白, 它介导模式识别信号, 激活促炎和抗炎细胞因子, 调节炎症和细胞凋亡. PSC患者在胆汁和结肠微生物以不同的模式进行FUT-2变异, 更重要的是, 显示胆道感染和显性狭窄的发生率增加^[37]. CARD9是NOD2与TLR信号通路的一个重要的下游传递者, 与IL-22的产生和肠道完整性相关.

1.2 黏膜淋巴细胞向肝脏的迁移与“肠漏”假说平行的是, 已经提出了“肠淋巴细胞归巢”假说来解释与PSC和PBC相关的肠-肝轴. 黏膜淋巴细胞表达整合素 $\alpha 4\beta 7$ 和趋化因子受体CCR9, 分别与内皮细胞黏附分子MAdCAM-1(黏膜黏连细胞黏附分子-1)和趋化因子配体CCL25结合. 然而, 在炎症性肝病, 包括PSC, 肝窦内皮细胞中检测到MAdCAM-1和CCL25的异常表达^[38]导致肠道启动的T细胞被异常募集到肝脏, 并可能在识别时触发自身免疫反应^[39]实际上, 在卵白蛋白诱导的结肠炎小鼠模型中, 由卵白蛋白引发的GALT中的T细胞在识

别胆管细胞上的相同抗原, 即卵白蛋白时, 迁移到肝脏并引起胆管炎. 他明确了微生物群在IBD发病机制中的作用, 认为黏膜T细胞被共生微生物群异常激活, 进一步迁移到肝脏并与肝脏中存在的抗原发生交叉反应. 根据这一假设, 最近对TCR β 链的测序研究表明, PSC-IBD患者的肠浸润和肝浸润T细胞是克隆相关的, 并且可能识别相同的抗原^[40]. 由于在慢性肝病, 特别是PBC和PSC中经常观察到的血清IgA水平升高, 这一发现进一步突出了肠-肝轴在这些疾病中的潜在参与作用.

然而, 肝内皮细胞表达肠特异性分子的机制仍不清楚, 尽管有人推测肝血管黏附蛋白(VAP)-1在PSC中的上调是肝脏MAdCAM-1异常表达的原因^[41]. 来源于肠道细菌和饮食的半胱胺和其他胺类可以通过门静脉进入肝脏, 并作为VAP-1的底物, VAP-1是一种有效的氨基氧化酶, 导致产生分解代谢物, 在肝窦内皮细胞导致产生分解代谢物^[42].

1.3 肠道微生物、胆汁酸和核受体信号转导 除了与免疫系统直接相互作用外, 微生物与胆汁酸(BA)之间的关系也是肠-肝相互作用的代表^[43]. 胆汁酸主要由肝细胞产生, 然后由肠腔内的细菌代谢成次级胆汁酸. 早期的研究已经报道, GF小鼠的BA组成不同于常规饲养的(CON-R)对应物. Sayin等^[44]通过显示CONV-R小鼠表现出牛磺- β -鼠胆酸(T β MCA)比例降低以及BA池的显著缩小, 提供了对该领域的见解. 更重要的是, 氰尿酸三聚胺(cyanurate melamine, MCA)是强有力的法尼素X受体(farnesyl X receptor, FXR)拮抗剂, 肠道微生物可通过减轻回肠FXR抑制来调节肝脏中BA的合成. 具体地说, 肠内的FXR激活诱导成纤维细胞生长因子15(fibroblast growth factor 15, FGF15)表达, 然后到达肝脏并阻断7- α -羟化酶(7- α -hydroxylase, CYP7A1), 这是BA合成中的限速酶. 通过抗生素或抗氧化剂的微生物重组增加T β -MCA, 抑制肠FXR信号^[45,46]. 相反, BA通过直接激活或间接激活固有免疫系统, 进而通过FXR和G-PR(G蛋白受体偶联胆汁酸受体TGR5)进一步影响宿主生理^[48]. 确实, 宿主胆汁酸的动态导致肠道微生物群的变化^[49]. 应用FXR激动剂胆甾酸对肝硬化大鼠部分地阻止肠屏障功能障碍和减轻肠道炎症, 通过使用GF和FXR-/-小鼠, 减少了细菌易位. 最近的一项研究表明, 由微生物引起的饮食诱导的肥胖和肝脏脂肪变性取决于其对BA谱和FXR信号的调节^[50]. 总之, 证明肠道微生物群、胆汁酸和核受体信号传导通路的作用可影响宿主的代谢和肝脏疾病的发病机制.

2 肠道微生物群与AILD

一些测序研究报告了PSC和PBC中肠道微生物群落的

改变, 尽管特别是在属和种水平上存在差异, 但仍能说明肠道微生物在AILD上的作用. 有报告在UDCA使用之前对PBC群组的粪便微生物进行16s核糖体RNA(rRNA)测序, 以避免胆汁酸的混淆效应. 此外, 还对37例PBC患者在UDCA治疗6 mo前后进行了前瞻性研究^[51]. UDCA对PBC中的肠道微生物群与健康对照组相比, 结果显示体内微生物多样性显著降低, 提出可治疗肠道菌群失调. 这一发现与先前研究不一致, 这可能是由于UDCA治疗的影响有关^[52]. 由12个属定义的PBC的微生物特征可以用来准确区分验证队列中的PBC和对照(AUC为0.84-0.86). 肠杆菌科中增加的一个未知属显示出与PBC的关联最强, 其次是假单胞菌、微囊藻和梭菌, 而在PBC队列中振荡菌和沙特氏菌减少. 值得注意的是, 在这PBC相关细菌属中, 在UDCA治疗6 mo后, 细菌丰度被逆转^[51], 与治疗反应平行, 因此表明肠道微生物群可能是PBC治疗的潜在目标.

由于IBD在PSC病例中高达60%-80%, 肠-肝轴与PSC的发病机制有关. 已发表的样本大小从11到85名患者的研究证实了PSC中独特的微生物分布^[53]—一般来说, PSC中的肠道微生物群与健康对照有显著的偏离, 其特点在不同的研究中, 已经观察到了肠球菌、微囊藻等特异性细菌的丰度变化, 其中一些可以作为PSC的生物标志物. 其中4项研究分析了黏膜活检^[54-66], 而其他研究则集中在粪便微生物群上. Hov等^[53]人的研究是对粪便肠道微生物群在PSC中的评估, 结果在PSC中鉴定出差异较小的微生物群, *Veillonella*是PSC相关属. 然而, 根据Sabino等^[59]的研究, 当排除肝硬化患者时, PSC中*Veillonella*属的差异并不显著. 此外, Sabino等鉴定了PSC中富集的三个菌属, 即肠球菌属、梭菌属和乳杆菌属.

肠道微生物群对于肠道免疫应答的发展是必不可少的, 而肠道免疫应答又维持微生物群的耐受性^[60,61]. 与野生型小鼠相比, 无菌小鼠肠道固有层CD4⁺T淋巴细胞较少, 发育不良的Peyer's斑块较少, IgA产生较少^[62,63]. 通过引入脆杆菌, 纠正了这些免疫缺陷. 定植还可以诱导IL-10分泌的调节性T细胞的产生, 可能是由于细菌分泌多糖A和直接激活Foxp3⁺Treg上的TLR2^[64]. FOXP3(forkhead box P3), 也称为蛇毒精(scurfin), 是转录因子forkhead/winged-helix(叉头样/翼状螺旋)家族的成员. 是一种参与免疫系统应答的蛋白质. FOXP3主要表达在CD4⁺CD25⁺Tregs, 是CD4⁺CD25⁺Tregs发育和功能的决定因素, FOXP3是调节途径的主要调节因子, 可使免疫反应降低. 在自身免疫性疾病中, 调节性T细胞活性的缺乏可允许其他自身免疫细胞攻击身体自身组织^[9,10]. 尽管尚未建立精确的控制

机制, FOX是脊椎动物转录因子的总称, 推测在转录过程中通过类似的DNA结合作用发挥控制作用. 在调节性T细胞模型系统中, FOXP3转录因子占据调节性T细胞功能相关基因的启动子, 在T细胞受体的刺激下可抑制关键基因的转录. 梭菌属的引入也可引起类似的变化^[23]. 逆转录病毒介导转染鼠, FOXP3使传统的CD4⁺T细胞获得调节表型能够抑制体外和体内的免疫反应, 提示异位FOXP3表达使T细胞呈现调节表型, 可用于过继细胞免疫治疗^[65]. 证据表明, 肠道微生物可通过激活Toll样受体(TLR^[66,67])和促进肝脏内炎症小体的形成^[30,68]影响全身免疫应答. TLR受体为表达在巨噬细胞、树突状细胞和上皮细胞表面, 可识别多种类型的病原体相关分子模式(PAMPs)或损伤相关分子模式(DAMPs)的生物分子, 这类模式识别受体可与病原体PAMPs结合, 并启动细胞内信号传导, 导致效应分子表达和分泌的受体. TLR介导的信号传导可导致固有免疫细胞活化, 产生两方面效应, 其一, 表达和分泌多种称之为促固有免疫细胞(proinflammatory cytokine), 如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α), 白细胞介素(IL)-12, IL-6等. 这些细胞因子可诱导炎症发生, 促进抗原提呈, 促进T辅助细胞(T helper cell, Th)发生Th1或Th2的格局变化; 其二, 可诱导共刺激分子(co-stimulatory molecule)表达, 启动特异性免疫应答产生. 由抗生素、遗传因素或疾病(生物障碍)引起的肠道微生物组成的改变可通过克服或回避对共生细菌的正常耐受性反应来维持或增强先天和适应性免疫应答^[69,70]. 细菌成分可充当抗原, 刺激全身免疫应答^[66,67,71]或肠内原代免疫细胞, 随后进入外周淋巴组织^[72]. 微生物和宿主衍生的抗原之间的分子模拟以及抗原致敏的淋巴细胞靶向可能随后启动或加强遗传易感个体的自身反应^[73].

肠道微生物群与肝脏之间的相互作用是多方面的, 肠道微生物失调可以产生微生物相关的分子模式(MAMPs), 激活肠中的Toll样受体(Tlr). 活化的TLR可以刺激巨噬细胞中的转录因子, 核因子- κ B(NF- κ B), 并产生促炎性细胞因子. 它们还可以增加抗原呈递细胞(APC)上主要组织相容性复合物的表达, 并使CD4淋巴细胞对细菌配体敏感. 活化的淋巴细胞可以增殖为T辅助细胞Th1、Th2和Th17细胞. 这种异常微生物还可产生短链脂肪酸、内毒素、脂多糖(LPS)和可作为抗原配体的细菌成分. 肠黏膜内的紧密连接可能随着微生物障碍而减弱, 并允许淋巴细胞、细菌配体和内毒素的细胞旁易位. 这些肠源性元素可以进入门静脉并被输送到肝脏. 肝内的细菌配体可激活肝细胞、肝星状细胞、Kupffer细胞和窦状上皮细胞中的TLR, 并产生促炎性细胞因子和活性氧(ROS), 其可产生激活TLR的

损伤相关分子模式(DAMPs). 肝脏TLR也有助于CD4淋巴细胞对细菌配体和类似细菌配体的自身抗原(分子模拟)的增敏作用. 同时, 细菌配体和肠源性内毒素可激活肝细胞和肝星状细胞中炎性小体的非肥胖型糖尿病样受体(NLR). 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1的释放可产生白细胞介素(IL)1 β 和IL-18, 促进组织损伤和免疫应答. 净效应是增加肝脏炎症和肝损伤, 并引起自身免疫和肝纤维化^[4,73,74].

3 微生物来源的全身免疫应答的机制

3.1 TLRs的激活 如前所述TLRs是肠内识别微生物相关分子模式、病原体相关分子模式和损伤相关分子模式的关键受体^[67,74,75](表1). 它们有助于产生对病原体和细胞信号的先天免疫应答, 并且它们可以形成T辅助(Th)淋巴细胞的亚群, 这些T辅助(Th)淋巴细胞识别微生物成分并具有与宿主抗原交叉反应的潜力^[60,76,77]. 在人类中已经描述了10种TLR, 并且每种TLR优先对在没有感染的情况下可能是病毒和细菌蛋白或内源性配体的特定配体作出反应^[75]. 除了TLR3之外, 所有受刺激的TLR都激活依赖于髓系分化因子88(MyD88)的信号传导途径^[10,78,79]. 通过MyD88通路的信号转导又激活核因子- κ B(NF- κ B), 并促进促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)的转录^[10,79,80].

TLR也能影响适应性免疫应答^[60]. 树突状细胞和巨噬细胞表达的TLRs可上调MHC II类分子并增强CD4⁺辅助性T淋巴细胞的抗原呈递^[81](表1). TLR还可以增加抗原呈递细胞中共刺激分子CD80、CD86和CD40的表达, 从而有利于T淋巴细胞活化和分化^[60,81]. Kupffer细胞表达除TLR5外的所有TLR, 它们是肝内对TLR配体应答的原代细胞^[82]. 通过Kupffer细胞产生促炎性细胞因子、趋化因子和活性氧可促进肝脏炎症和先天性和适应性免疫应答^[60,83]. 肝细胞、胆管上皮细胞(Biliary epithelial cells, BEC)、肝星状细胞(HSC)和窦状上皮细胞也表达TLRs, 但只有HSCs通过TLR9表达TLR1^[67].

细胞因子谱形成构成免疫介导的应答的T淋巴细胞亚群, 并且它受到微环境中配体激活的特定TLR的影响(表1). TLR4和TLR9的激活促进IL-12的释放, 并有利于促炎症的1型细胞因子途径^[84]. TLR4还诱导IL-23的分泌, 促进促炎性Th17淋巴细胞的扩增和存活^[85]. 相反, TLR2的激活有利于IL-10和IL-13的产生, 从而促进抗炎2型细胞因子应答^[86].

革兰阴性细菌的LPS是激活TLR4的主要配体^[10,86]. 细菌和病毒基因组中未甲基化的CpG序列激活TLR9(表1). 革兰阴性细菌的LPS是激活TLR的主要配体^[79], TLR2、TLR5、TLR7和TLR8由CD4⁺T淋巴细胞表达, 激活这些

TLR的配体(病毒蛋白)、鞭毛蛋白和单链核糖核酸可以直接激活记忆淋巴细胞并刺激其增殖. 天然存在的Tregs表达TLR2、TLR5和TLR8, 它们也可以被病毒和细菌成分直接激活^[87]. TLRs还可以通过识别诱导IL-6分泌的微生物产物来阻断Tregs的抑制作用. 病原体特异性适应性免疫应答是有利的, 可以加强防御机制. 因此, 微生物元素可通过TLR调节先天免疫应答和适应性免疫应答, 并通过调节细胞因子谱或直接影响免疫细胞增殖间接的影响免疫稳态.

TLR4是HSCs增加细胞外基质的一个重要信号通路. HSCs中活化的TLR4介导趋化因子和黏附分子的产生, 炎症细胞和免疫细胞对肝脏的化学吸引刺激纤维化过程^[88]. TLR4信号通路还通过下调TGF- β 受体的内源性抑制剂的产生来促进转化生长因子 β (TGF- β)的激活. 此外, TLR4信号还可下调抑制胶原转录的microRNA分子^[89]. TLR4基因的多态性可能影响TLR4对LPS的应答. 因此, LPS诱导的激活NF- κ B的信号通路可能被破坏, 并且促炎细胞因子TNF- α 和干扰素- β 的产生可能减少^[90]. 以这种方式, 遗传变异可能影响TLR4对微生物配体的反应和进行性肝纤维化的倾向.

TLR4信号通路涉及MyD88和NF- κ B在肝病进展中的作用^[91,92]. 肠源性内毒素的浓度在肝纤维化动物模型以及在肝硬化患者的循环系统和门静脉中增加. TLR信号通路尚未在自身免疫性肝炎中得到评价.

3.2 炎性小体刺激 炎性小体是蛋白质复合物, 在多种细胞的胞浆内形成, 包括巨噬细胞、肝细胞和HSC, 以接受与细胞应激、损伤或感染有关的刺激^[68,93,94]. 通过释放促炎细胞因子IL-1 β 和IL-18, 它们驱动对组织损伤的炎症反应, 并影响细胞死亡、炎症活性和纤维化. TLR和炎症小体具有不同的激活途径^[95], 但是它们之间的合作对于促进肠道微生物群与全身免疫应答之间的交流至关重要. 增加炎性小体表达的因素, 如饱和脂肪酸和细菌内毒素, 可增加TLR4的活化, 促进肝纤维化^[96].

炎性小体由非肥胖性糖尿病(NOD)样受体(NLR)家族中的传感器蛋白、适配分子(凋亡相关斑点样CARD结构域包含蛋白)和caspase(半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶)1组成^[97]. 炎性小体可以感知微生物产物和代谢应激^[84], 激活caspase1, 触发炎性细胞因子的释放, 并形成先天的^[88]和适应性免疫应答. LPS刺激后肝细胞NLRP3(NOD样受体)表达上调, Kupffer细胞和上皮细胞也表达高水平的NLRP1和NLRP3^[95].

TLR和NLR共同为信号传导途径提供受体, 这些信号传导途径可响应包括微生物成分在内的各种内源性和外源性危险信号, 它们各自可产生促炎症反应, 维持和增强对肝脏的固有和适应性免疫反应^[98]. TLRs也可

表 1 肠微生物驱动全身免疫应答的机制

特征	机制
TLRs的激活	炎症前细胞因子增加 上调Ⅱ类MHC 增加共刺激分子 促进病原体特异性反应 LPS激活TLR4
炎症刺激	细菌激活TLR9序列HSCs TLR4促进肝纤维化 在肝细胞LPS上调 前caspase1激活 促进肝纤维化 固有和适应性免疫
生态失衡的出现	激活TLR, NLR遗传因素影响细菌组成
分子模拟	PANCA与细菌抗原反应 AMA交叉与大肠杆菌反应 靶向表位扩展的渐变同源物
效应物的混杂活性	

AMA: 抗线粒体抗体; BEC: 胆道上皮细胞; DAMPS: 损伤相关分子模式; HSC: 肝星状细胞; IL: 间质细胞; LPS: 脂多糖; MAMPs: 微生物相关分子模式; MHC: 主要组织相容性复合物; MyD88: 髓样分化因子88; NF- κ B: 核因子 κ B; NLR: 非肥胖性糖尿病样病变受体; ANCA: 非典型核周抗中性粒细胞胞浆抗体; TLR: Toll样受体; Tregs: 调节性T细胞。

能对炎性小体有反调节作用。LPS对TLRS的慢性刺激诱导IL-10的产生并降低NLRP3的激活^[99]。此外, 激活TLR2或TLR4可增加肝细胞的自噬、NLRP3的降解和抑制IL-1 β 的产生^[100]。

3.3 肠黏膜屏障作用的产生 生理情况下上皮细胞相互紧密连接形成一个生理屏障, 使细菌和系统循环很少接触。杯状细胞分泌糖蛋白形成黏液层复盖上皮^[101], 这个黏液层由内外两层组成^[101]外层是一个松黏液层, 含有大量细菌, 为共生菌提供一个理想的生存场所, 黏蛋白-2葡聚糖是重要的能量来源, 内层是一个无菌的坚固稠密的黏液层可防止细菌与上皮细胞直接接触^[102]。

共生菌对保持肠屏障完整性可能有益作用, 如艾克曼菌(*Akkermansia muciniphila*)^[103], 这些有益菌黏连至肠细胞, 可保持正常的屏障功能。嗜黏蛋白-艾克曼菌是一种从粪便中分离到的厌氧肠道菌, 可以利用肠道黏蛋白, 其主要功能与是调节肠道内黏液厚度和维持肠道完整性, 它与肥胖、糖尿病、炎症和代谢紊乱呈负相关^[104]。

抗菌分子包括防御素(dofensins)、抗菌肽溶酶体、C型凝集素等可阻止细菌与上皮细胞的相互作用^[105]。抗菌蛋白通过溶酶体或非酶抗菌分子如防御素、抗菌肽等把细菌杀死。

再生胰岛衍生蛋白3 γ (regenerating islet derived protein 3 gamma, REG3g) 是一种C-型凝集素, 在TLR-依存方式和TLR、TLR5配体引起REG3g表达^[106,107]。REG3g缺乏的小鼠肠上皮细胞, 特别是内黏液层的上皮细胞上有细菌定植增加, 揭示REG3g在上皮细胞和肠菌

隔离上的重要作用。

肠道屏障功能破坏后, 细菌和细菌产物从肠腔到达固有层, 其机制是许多细菌易位通过M-细胞(微褶细胞), 细菌蛋白与M-细胞特异的相互作用后经内化、跨细胞转运, 有些病原体可改变紧密连接分子, 因而改变细胞旁渗透性, 有些细菌激活MLCK(肌球蛋白轻链激酶), 引起紧密连接破坏^[108]。

肠道微环境与全身免疫应答之间肠黏膜屏障作用的产生意味着肠道域之间的自然屏障关系(表2)。有充分的证据证明这种假设是正确的, 但实际的机制目前尚不确定。

肠源性细菌和细菌产物从肠腔到肝脏、肠系膜淋巴结和其他肠外部位的迁移可能通过易位发生。易位意味着肠道通透性增加, 可能是因为肠黏膜内的紧密连接被削弱或肠屏障被细菌过度生长所致^[109,110]。易位的细菌产物, 包括LPS和未甲基化的CpG, 可以通过门静脉输送到肝脏并激活TLRS和NLRs^[79]。

细菌产生短链脂肪酸(乙酸、丁酸和丙酸), 这些脂肪酸可以影响肠黏膜内的紧密连接^[14,110](表2)。丁酸诱导肠黏膜中黏蛋白的合成, 加强紧密连接, 并减少细菌穿过应激上皮的传输^[104,111]丁酸还可通过促进外周Tregs的胸腺外分化^[112,113]和抑制NF- κ B和促炎细胞因子的转录而具有抗炎作用。其它短链脂肪酸(丙酸)和细菌副产物(琥珀酸和乙酸)不诱导黏蛋白的产生, 但可能会增加肠的通透性^[11]。

丁酸钠部分通过调节 β -连环蛋白依赖的Wnt信号通路在细胞内起作用。这一途径可影响细胞增殖和分化

表 2 肠道屏障的微生物机制

微生物作用	特征	机制
易位	肠道衍生物迁移	肠源性SCFA对紧密连接的影响
	紧密连接减弱	丁酸盐增强肠屏障
	小肠通透性增加	诱导黏蛋白合成
	细胞旁迁移结果	减少细菌易位增加外周Treg
	LPS和CpG递送到肝脏	抑制NF-κB和炎症
	活化的免疫细胞易位	乳酸强化肠屏障
	微生物抗原的易位激活外周免疫细胞	丁酸发酵
	Toll样受体和NLRs激活	产生低丁酸和乳酸产菌致屏障功能降低
	黏膜通透性增加	TLR影响分子介导
	封闭蛋白主要组成(成分)	信号通路破坏
主动运输	封闭带偶联到细胞骨架	解离紧密结合蛋白
	扣带蛋白接触细胞	细胞旁迁移途径形成
	肌动蛋白和肌球蛋白锚定细胞	大肠杆菌和艰难梭菌关键效应物
	中间丝结合细胞	
	信号通路密封结	
	蛋白激酶C调节闭塞蛋白	
主动运输	细菌抗原主动转运穿过肠屏障	具有主动转运能力的Payer结中的M细胞

CpG: 未甲基化的胞嘧啶磷酸鸟嘌呤寡核苷酸; LPS: 脂多糖; NF-κB: 核因子κB; NLR: 非肥胖糖尿病样受体; SCFA: 短链脂肪酸; TLR: Toll样受体; Tregs: 调节性T细胞.

的基因转录. 在结肠癌细胞系中, β-连环蛋白转录复合物在细胞内的水平可影响其对丁酸的生理反应. 高水平的转录复合物导致细胞凋亡. 丁酸调节细胞增殖和凋亡的能力可能反过来又影响细胞活力和功能, 这些作用可能有助于维持胃肠黏膜屏障的完整性^[114].

丁酸还可以通过促进细胞的凋亡或通过自噬来保存和调节细胞对内质网应激的反应^[115-117]丁酸可促进过氧化物酶体增殖物激活受体γ的表达和诱导大肠细胞凋亡的caspases(尤其是caspase3)的激活. 它也是一种短链脂肪酸, 包括丙酸酯, 可以诱导受损细胞的自噬, 并通过产生能量和阻滞凋亡的内在途径(线粒体)来保存它们的存活^[117,118]肠源性短链脂肪酸, 如丁酸和丙酸, 可能是肠黏膜细胞增殖和功能的重要调节因子, 它们可能有助于预防全身性自身免疫反应^[115]. 乳酸是碳水化合物发酵的细菌副产物, 也同时可降低肠道的通透性(表2). 乳酸菌主要通过肠道菌群发酵成丁酸酯起作用. 乙酰辅酶A途径是乳酸产生丁酸的主要途径, 肠道微生物区系在乳酸的消耗上具有相当大的变异性^[119,120].

肠上皮细胞与结构蛋白结合在一起^[120]结构蛋白被组织组成紧密连接、黏附连接和桥粒三部分组成连接复合物. 闭塞素是唯一已知的在细胞旁空间具有结构域的跨膜蛋白, 是紧密连接的主要成分. 闭塞带1和2和扣带蛋白是在细胞与细胞接触部位紧密连接处发现的非跨膜蛋白. 它们可能被封闭, 它们可能将细胞耦合到细胞骨架. 肌动蛋白和肌球蛋白丝通过钙依赖性黏附分子

(E-cadherins)在黏附连接处将细胞锚定在一起, 中间丝锚定到桥粒上, 并帮助细胞结合. 多种细胞信号通路影响连接点的组装和封闭, 并且它们是蛋白激酶C调节的闭塞蛋白和闭塞带1特异性的细胞类型^[4,5,121,122].

大肠杆菌和艰难梭菌通过打开细胞旁通路^[11,123], 可解离结合蛋白, 增加肠通透性(表2). 肠上皮细胞上的TLR可以调节肠屏障的完整性, 可能通过影响结合蛋白的结构或功能的分子介质的表达所致^[124]. TLR2的激活增加了蛋白激酶C亚型的磷酸化, 这种作用与增强闭塞带的表达和紧密连接的密封有关. 相反, TLR4的激活降低磷酸化闭塞蛋白的表达并增加细胞间的通透性^[124]. 来自不同微生物物种的细菌配体可能通过TLR信号来影响肠道通透性, 而微生物产物通过多孔肠屏障的转移可能有助于全身的自身反应的发生^[125].

微生物体影响全身免疫应答的另一个机制是通过细菌抗原在Peyer结内的M细胞穿过黏膜屏障的活性转运. 虽然免疫细胞可以在肠内被激活, 并通过易位迁移到肝脏或外周淋巴组织, 但它们也可以通过易位或主动运输的细菌成分在体内循环中被激活, 这些细菌成分由抗原呈递细胞呈递并识别, 用循环的CD4⁺T辅助淋巴细胞作为外源抗原^[20].

4 诊断AILD时对肠道菌群检测的评价

传统的粪便培养技术在评估肠道微生物群方面受到限制, 主要是因为厌氧微生物难以培养并且一些微生物种

群可能无法通过常规方法检测^[126,127]。研究肠道菌群多样性的常用方法是测序16S核糖体核糖核酸(rRNA)基因。16S rRNA基因存在于所有原核细胞中,具有高度可变的区域散布着高度保守的区域,其序列是原核生物的主要群组所特有的。这些序列可用于重建肠道微生物群的系统发育^[127]。

设计引物以补充可变区域两侧的普遍保守区域,并确定细菌种类及其在微生物群中的比例。通过聚合酶链反应(PCR)扩增可变区,并将PCR产物纯化后测序。测序结果与已建立的注释数据集进行比较^[127]。

用于重构人肠道微生物组分的技术的进一步进展包括微阵列技术、指纹技术,例如末端限制性片段长度多态性的测定和下一代测序(NGS)^[128,129]。脱氧核糖核酸的微阵列杂交提供了一个高通量平台,它由几千个探针组成,可以同时检测核酸序列^[130]。

人类肠道芯片有4441个探针,包括2442个针对已知微生物的探针,以及1919个针对未知微生物的探针^[130]具有重叠相似性的探针数量较少的微生物物种变得更加敏感,具有探索性设计的探针正与具有微生物特异性的探针耦合,以尽力识别具有非特异序列的微生物^[131]。

目前,肠道生态系统主要通过16S rRNA测序进行研究。该技术在鉴定构成肠道微生物群落的微生物种类、确定微生物群落的进化与变迁(系统发育)以及定量微生物多样性方面是有用的^[128]。

5 治疗策略

肠道微生物群可通过饮食调整、益生菌制剂、补充维生素A和维甲酸、抗生素、肠道再定植、降低肠道通透性的药物来控制 and 调节肠道屏障,阻断TLR信号和产生促炎细胞因子的分子干预等进行治疗,也可通过刺激抗炎反应的分子干预(如多糖A),以及调节短链脂肪酸信号通路来影响基因表达、肠屏障完整性和炎症反应^[129-131]。

含有双歧杆菌的益生菌补充剂促进了Tregs在细胞培养物中的扩展^[15]。鞣酸明胶已被用于小鼠急性结肠炎模型中,其作用是保护黏膜屏障,改变微生物组成,并降低炎症活性^[132]。在LPS刺激的细胞培养中也评价了鞣酸明胶,它抑制细胞间黏附分子-1的表达,并以剂量依赖的方式减少IL-8和TNF- α 的产生^[25]。新近报道益生菌可减轻NASH患者的脂肪变性,此需要进一步验证^[133]。

肠道微生物群的控制动物模型和肝病患者中也显示出了希望。在四氯化碳诱发的肝硬化大鼠中,抗生素治疗和益生菌补充剂可降低全身内毒素水平并改善了肝功能试验^[134]而在缺血/再灌注性肝损伤大鼠中,益生菌补充剂乳酸杆菌降低了前体内毒素的产生。炎症、

促纤维化细胞因子和肝功能试验也得到改善^[135]。一个小规模随机临床试验表明,万古霉素或甲硝唑治疗可提高血清碱性磷酸酶和降低胆红素水平,减少瘙痒^[130]。澄清肠道微生物在自身免疫性肝炎中的作用是必要的,以指导研究战略,将有助于制定辅助干预措施,以改善这种疾病的结局^[136]。

免疫抑制剂皮质类固醇、依那西普、他克莫司、环孢素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤和英夫利昔单抗用于治疗AIH和重叠综合征,但对PSC患者没有显示出临床效果^[137-139],因此不推荐使用。最近用布地奈德治疗AIH的效果尚不清楚。

肝移植是PSC患者在斯堪的纳维亚半岛一些国家肝移植的主要适应证。也是美国第五大肝移植最常见的适应症1年和5年生存率分别超过90%和80%,PSC患者是肝移植最成功的患者之一^[140]。

与其他慢性肝病患者相比,PSC患者更容易接受活体供者的肝移植,自从终末期肝病模型(Model for end-stage liver disease, MELD)评分开始使用以来,这一趋势有所增加。一项研究并未发现因胆管炎而导致死亡或临床恶化的风险增加^[141]。

6 结论

肠道共生微生物利用多种途径形成黏膜免疫,从而有助于导致遗传易感个体的系统自身免疫发生。由于肠道微生物随时在变化中,情况变得非常复杂,因此观察到的结果是疾病的原因还是结果目前仍不完全了解。从目前研究证据来看,肠道微生物引起自身免疫进一步导致疾病的发生已得到共识。今后应探索特定微生物的免疫和代谢功能,并寻求粪便微生物的辅助治疗。粪便移植或益生菌治疗可补充目前的免疫抑制方案,对于将来临床改善自身免疫性疾病及炎症性疾病有很大的前景。

阻断TLR信号传导或调节信号传导的分子干预可能会减少促炎细胞因子的产生,限制不利的基因表达,并增强肠屏障的完整性,致使减少疾病的发生。

7 参考文献

- 1 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 2 Czaja AJ. Transitioning from Idiopathic to Explainable Autoimmune Hepatitis. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2881-2900 [PMID: 25999246 DOI: 10.1007/s10620-015-3708-7]
- 3 Lin R, Zhou L, Zhang J, Wang B. Abnormal intestinal permeability and microbiota in patients with autoimmune hepatitis. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 5153-5160 [PMID: 26191211]
- 4 Legutko L. Blood serum iron and copper content depending on

- the degree of progression of acute leukemia in children. *Pediatr Pol* 1978; 53: 817-821 [PMID: 278954 DOI: 10.3748/wjg.v22.i42.9257]
- 5 Li B, Selmi C, Tang R, Gershwin ME, Ma X. The microbiome and autoimmunity: a paradigm from the gut-liver axis. *Cell Mol Immunol* 2018; 15: 595-609 [PMID: 29706647 DOI: 10.1038/cmi.2018.7]
 - 6 Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, Karin M, Loomba R, Schnabl B, Knight R. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15: 397-411 [PMID: 29748586 DOI: 10.1038/s41575-018-0011-z]
 - 7 Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 422-433 [PMID: 15723320 DOI: 10.1002/hep.20632]
 - 8 Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol* 2012; 590: 447-458 [PMID: 22124143 DOI: 10.1113/jphysiol.2011.219691]
 - 9 Son G, Kremer M, Hines IN. Contribution of gut bacteria to liver pathobiology. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010 [PMID: 20706692 DOI: 10.1155/2010/453563]
 - 10 Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140: 805-820 [PMID: 20303872 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.022]
 - 11 Mejía-León ME, Barca AM. Diet, Microbiota and Immune System in Type 1 Diabetes Development and Evolution. *Nutrients* 2015; 7: 9171-9184 [PMID: 26561831 DOI: 10.3390/nu7115461]
 - 12 Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334: 105-108 [PMID: 21885731 DOI: 10.1126/science.1208344]
 - 13 Vieira SM, Pagovich OE, Krieger MA. Diet, microbiota and autoimmune diseases. *Lupus* 2014; 23: 518-526 [PMID: 24763536 DOI: 10.1177/0961203313501401]
 - 14 Konturek PC, Haziri D, Brzozowski T, Hess T, Heyman S, Kwiecien S, Konturek SJ, Koziel J. Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *J Physiol Pharmacol* 2015; 66: 483-491 [PMID: 26348073]
 - 15 López P, González-Rodríguez I, Sánchez B, Ruas-Madiedo P, Suárez A, Margolles A, Gueimonde M. Interaction of *Bifidobacterium bifidum* LMG13195 with HT29 cells influences regulatory-T-cell-associated chemokine receptor expression. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 2850-2857 [PMID: 22344636 DOI: 10.1128/AEM.07581-11]
 - 16 Dolpady J, Sorini C, Di Pietro C, Cosorich I, Ferrarese R, Saita D, Clementi M, Canducci F, Falcone M. Oral Probiotic VSL#3 Prevents Autoimmune Diabetes by Modulating Microbiota and Promoting Indoleamine 2,3-Dioxygenase-Enriched Tolerogenic Intestinal Environment. *J Diabetes Res* 2016; 2016: 7569431 [PMID: 26779542 DOI: 10.1155/2016/7569431]
 - 17 Zhang H, Liao X, Sparks JB, Luo XM. Dynamics of gut microbiota in autoimmune lupus. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 7551-7560 [PMID: 25261516 DOI: 10.1128/AEM.02676-14]
 - 18 Hsieh CC, Lin BF. Dietary factors regulate cytokines in murine models of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2011; 11: 22-27 [PMID: 21763466 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.06.009]
 - 19 Francino MP. Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Front Microbiol* 2016; 6: 1543 [PMID: 26793178 DOI: 10.3389/fmicb.2015.01543]
 - 20 Sánchez B, Hevia A, González S, Margolles A. Interaction of Intestinal Microorganisms with the Human Host in the Framework of Autoimmune Diseases. *Front Immunol* 2015; 6: 594 [PMID: 26635808 DOI: 10.3389/fimmu.2015.00594]
 - 21 Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 12204-12209 [PMID: 20566854 DOI: 10.1073/pnas.0909122107]
 - 22 Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, Taniguchi T, Takeda K, Hori S, Ivanov II, Umesaki Y, Itoh K, Honda K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011; 331: 337-341 [PMID: 21205640 DOI: 10.1126/science.1198469]
 - 23 Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, Kim S, Fritz JV, Wilmes P, Ueha S, Matsushima K, Ohno H, Olle B, Sakaguchi S, Taniguchi T, Morita H, Hattori M, Honda K. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013; 500: 232-236 [PMID: 23842501 DOI: 10.1038/nature12331]
 - 24 Lopetuso LR, Scaldaferri F, Bruno G, Petito V, Franceschi F, Gasbarrini A. The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 1068-1076 [PMID: 25855934]
 - 25 Frasca G, Cardile V, Puglia C, Bonina C, Bonina F. Gelatin tannate reduces the proinflammatory effects of lipopolysaccharide in human intestinal epithelial cells. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 61-67 [PMID: 22629114 DOI: 10.2147/CEG.S28792]
 - 26 Wiest R, Albillos A, Trauner M, Bajaj JS, Jalan R. Corrigendum to "Targeting the gut-liver axis in liver disease" [J Hepatol 67 (2017) 1084-1103]. *J Hepatol* 2018; 68: 1336 [PMID: 29655855 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.001]
 - 27 Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, Nakanishi Y, Uetake C, Kato K, Kato T, Takahashi M, Fukuda NN, Murakami S, Miyauchi E, Hino S, Atarashi K, Onawa S, Fujimura Y, Lockett T, Clarke JM, Topping DL, Tomita M, Hori S, Ohara O, Morita T, Koseki H, Kikuchi J, Honda K, Hase K, Ohno H. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504: 446-450 [PMID: 24226770 DOI: 10.1038/nature12721]
 - 28 Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, Zegarra-Ruiz D, Dehner C, Khan N, Costa FRC, Tiniakou E, Greiling T, Ruff W, Barbieri A, Kriegel C, Mehta SS, Knight JR, Jain D, Goodman AL, Kriegel MA. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science* 2018; 359: 1156-1161 [PMID: 29590047 DOI: 10.1126/science.aar7201]
 - 29 Spadoni I, Zagato E, Bertocchi A, Paolinelli R, Hot E, Di Sabatino A, Caprioli F, Bottigliere L, Oldani A, Viale G, Penna G, Dejana E, Rescigno M. A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. *Science* 2015; 350: 830-834 [PMID: 26564856]
 - 30 Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM, Flavell RA. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012; 482: 179-185 [PMID: 22297845 DOI: 10.1038/nature10809]
 - 31 Haruta I, Kikuchi K, Hashimoto E, Nakamura M, Miyakawa H, Hirota K, Shibata N, Kato H, Arimura Y, Kato Y, Uchiyama T, Nagamune H, Kobayashi M, Miyake Y, Shiratori K, Yagi J. Long-term bacterial exposure can trigger nonsuppurative destructive cholangitis associated with multifocal epithelial inflammation. *Lab Invest* 2010; 90: 577-588 [PMID: 0142809 DOI: 10.1038/labinvest.2010.40]
 - 32 Terjung B, Söhne J, Lechtenberg B, Gottwein J, Muennich M, Herzog V, Mähler M, Sauerbruch T, Spengler U. p-ANCAs

- in autoimmune liver disorders recognise human beta-tubulin isotype 5 and cross-react with microbial protein FtsZ. *Gut* 2010; 59: 808-816 [PMID: 19951907 DOI: 10.1136/gut.2008.157818]
- 33 Melum E, Franke A, Schramm C, Weismüller TJ, Gotthardt DN, Offner FA, Juran BD, Laerdahl JK, Labi V, Björnsson E, Weersma RK, Henckaerts L, Teufel A, Rust C, Ellinghaus E, Balschun T, Boberg KM, Ellinghaus D, Bergquist A, Sauer P, Ryu E, Hov JR, Wedemeyer J, Lindkvist B, Wittig M, Porte RJ, Holm K, Gieger C, Wichmann HE, Stokkers P, Ponsioen CY, Runz H, Stiehl A, Wijmenga C, Sterneck M, Vermeire S, Beuers U, Vullunger A, Schrupf E, Lazaridis KN, Manns MP, Schreiber S, Karlsen TH. Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis identifies two non-HLA susceptibility loci. *Nat Genet* 2011; 43: 17-19 [PMID: 21151127 DOI: 10.1038/ng.728]
 - 34 Rupp C, Friedrich K, Folseraas T, Wannhoff A, Bode KA, Weiss KH, Schirmacher P, Sauer P, Stremmel W, Gotthardt DN. Fut2 genotype is a risk factor for dominant stenosis and biliary candida infections in primary sclerosing cholangitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 873-882 [PMID: 24612312 DOI: 10.1111/apt.12663]
 - 35 Janse M, Lamberts LE, Franke L, Raychaudhuri S, Ellinghaus E, Muri Boberg K, Melum E, Folseraas T, Schrupf E, Bergquist A, Björnsson E, Fu J, Jan Westra H, Groen HJ, Fehrmann RS, Smolonska J, van den Berg LH, Ophoff RA, Porte RJ, Weismüller TJ, Wedemeyer J, Schramm C, Sterneck M, Günther R, Braun F, Vermeire S, Henckaerts L, Wijmenga C, Ponsioen CY, Schreiber S, Karlsen TH, Franke A, Weersma RK. Three ulcerative colitis susceptibility loci are associated with primary sclerosing cholangitis and indicate a role for IL2, REL, and CARD9. *Hepatology* 2011; 53: 1977-1985 [PMID: 21425313 DOI: 10.1002/hep.24307]
 - 36 Li X, Shen J, Ran Z. Crosstalk between the gut and the liver via susceptibility loci: Novel advances in inflammatory bowel disease and autoimmune liver disease. *Clin Immunol* 2017; 175: 115-123 [PMID: 27777084 DOI: 10.1016/j.clim.2016.10.006]
 - 37 Wannhoff A, Rupp C, Friedrich K, Brune M, Knierim J, Flechtenmacher C, Sauer P, Stremmel W, Hov JR, Schirmacher P, Weiss KH, Gotthardt DN. Inflammation But Not Biliary Obstruction Is Associated With Carbohydrate Antigen 19-9 Levels in Patients With Primary Sclerosing Cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 2372-2379 [PMID: 26192140 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.07.014]
 - 38 Eksteen B, Grant AJ, Miles A, Curbishley SM, Lalor PF, Hübscher SG, Briskin M, Salmon M, Adams DH. Hepatic endothelial CCL25 mediates the recruitment of CCR9+ gut-homing lymphocytes to the liver in primary sclerosing cholangitis. *J Exp Med* 2004; 200: 1511-1517 [PMID: 15557349 DOI: 10.1084/jem.20041035]
 - 39 Trivedi PJ, Bruns T, Ward S, Mai M, Schmidt C, Hirschfield GM, Weston CJ, Adams DH. Intestinal CCL25 expression is increased in colitis and correlates with inflammatory activity. *J Autoimmun* 2016; 68: 98-104 [PMID: 26873648 DOI: 10.1016/j.jaut.2016.01.001]
 - 40 Moro-Sibilot L, Blanc P, Taillardet M, Bardel E, Couillaud C, Boschetti G, Traverse-Glehen A, Defrance T, Kaiserlian D, Dubois B. Mouse and Human Liver Contain Immunoglobulin A-Secreting Cells Originating From Peyer's Patches and Directed Against Intestinal Antigens. *Gastroenterology* 2016; 151: 311-323 [PMID: 27132185 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.04.014]
 - 41 Trivedi PJ, Adams DH. Mucosal immunity in liver autoimmunity: a comprehensive review. *J Autoimmun* 2013; 46: 97-111 [PMID: 23891169 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.013]
 - 42 Wiest R, Albillos A, Trauner M, Bajaj JS, Jalan R. Targeting the gut-liver axis in liver disease. *J Hepatol* 2017; 67: 1084-1103 [PMID: 28526488 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.05.007]
 - 43 Li Y, Tang R, Leung PSC, Gershwin ME, Ma X. Bile acids and intestinal microbiota in autoimmune cholestatic liver diseases. *Autoimmun Rev* 2017; 16: 885-896 [PMID: 28698093 DOI: 10.1016/j.autrev.2017.07.002]
 - 44 Sayin SI, Wahlström A, Felin J, Jäntti S, Marschall HU, Bamberg K, Angelin B, Hyötyläinen T, Orešič M, Bäckhed F. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab* 2013; 17: 225-235 [PMID: 23395169 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.01.003]
 - 45 Li F, Jiang C, Krausz KW, Li Y, Albert I, Hao H, Fabre KM, Mitchell JB, Patterson AD, Gonzalez FJ. Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. *Nat Commun* 2013; 4: 2384 [PMID: 24064762 DOI: 10.1038/ncomms3384]
 - 46 Jiang C, Xie C, Li F, Zhang L, Nichols RG, Krausz KW, Cai J, Qi Y, Fang ZZ, Takahashi S, Tanaka N, Desai D, Amin SG, Albert I, Patterson AD, Gonzalez FJ. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2015; 125: 386-402 [PMID: 25500885 DOI: 10.1172/JCI76738]
 - 47 Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab* 2016; 24: 41-50 [PMID: 27320064 DOI: 10.1016/j.cmet.2016.05.005]
 - 48 Islam KB, Fukiya S, Hagio M, Fujii N, Ishizuka S, Ooka T, Ogura Y, Hayashi T, Yokota A. Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* 2011; 141: 1773-1781 [PMID: 21839040 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.046]
 - 49 Úbeda M, Lario M, Muñoz L, Borrero MJ, Rodríguez-Serrano M, Sánchez-Díaz AM, Del Campo R, Lledó L, Pastor Ó, García-Bermejo L, Díaz D, Álvarez-Mon M, Albillos A. Obeticholic acid reduces bacterial translocation and inhibits intestinal inflammation in cirrhotic rats. *J Hepatol* 2016; 64: 1049-1057 [PMID: 26723896 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.12.010]
 - 50 Parséus A, Sommer N, Sommer F, Caesar R, Molinaro A, Ståhlman M, Greiner TU, Perkins R, Bäckhed F. Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor. *Gut* 2017; 66: 429-437 [PMID: 26740296 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310283]
 - 51 Tang R, Wei Y, Li Y, Chen W, Chen H, Wang Q, Yang F, Miao Q, Xiao X, Zhang H, Lian M, Jiang X, Zhang J, Cao Q, Fan Z, Wu M, Qiu D, Fang JY, Ansari A, Gershwin ME, Ma X. Gut microbial profile is altered in primary biliary cholangitis and partially restored after UDCA therapy. *Gut* 2018; 67: 534-541 [PMID: 28213609 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313332]
 - 52 Lv LX, Fang DQ, Shi D, Chen DY, Yan R, Zhu YX, Chen YF, Shao L, Guo FF, Wu WR, Li A, Shi HY, Jiang XW, Jiang HY, Xiao YH, Zheng SS, Li LJ. Alterations and correlations of the gut microbiome, metabolism and immunity in patients with primary biliary cirrhosis. *Environ Microbiol* 2016; 18: 2272-2286 [PMID: 27243236 DOI: 10.1111/1462-2920.13401]
 - 53 Hov JR, Kummen M. Intestinal microbiota in primary sclerosing cholangitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2017; 33: 85-92 [PMID: 28030369 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000334]
 - 54 Torres J, Bao X, Goel A, Colombel JF, Pekow J, Jabri B, Williams KM, Castillo A, Odin JA, Meckel K, Fasihuddin F, Peter I, Itzkowitz S, Hu J. The features of mucosa-associated microbiota in primary sclerosing cholangitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 790-801 [PMID: 26857969 DOI: 10.1111/apt.13552]
 - 55 Quraishi MN, Sergeant M, Kay G, Iqbal T, Chan J, Constantinidou C, Trivedi P, Ferguson J, Adams DH, Pallen M, Hirschfield GM. The gut-adherent microbiota of PSC-IBD is distinct to that of IBD. *Gut* 2017; 66: 386-388 [PMID: 27196590 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311915]
 - 56 Rossen NG, Fuentes S, Boonstra K, D'Haens GR, Heilig HG, Zoetendal EG, de Vos WM, Ponsioen CY. The mucosa-

- associated microbiota of PSC patients is characterized by low diversity and low abundance of uncultured Clostridiales II. *J Crohns Colitis* 2015; 9: 342-348 [PMID: 25547975 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jju023]
- 57 Kevans D, Tyler AD, Holm K, Jørgensen KK, Vatn MH, Karlsen TH, Kaplan GG, Eksteen B, Gevers D, Hov JR, Silverberg MS. Characterization of Intestinal Microbiota in Ulcerative Colitis Patients with and without Primary Sclerosing Cholangitis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 330-337 [PMID: 26526357 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv204]
 - 58 Rühlemann MC, Heinsen FA, Zenouzi R, Lieb W, Franke A, Schramm C. Faecal microbiota profiles as diagnostic biomarkers in primary sclerosing cholangitis. *Gut* 2017; 66: 753-754 [PMID: 27216937 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312180]
 - 59 Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K, Joossens M, Falony G, Ballet V, Ferrante M, Van Assche G, Van der Merwe S, Vermeire S, Raes J. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD. *Gut* 2016; 65: 1681-1689 [PMID: 27207975 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311004]
 - 60 Rogier R, Koenders MI, Abdollahi-Roodsaz S. Toll-like receptor mediated modulation of T cell response by commensal intestinal microbiota as a trigger for autoimmune arthritis. *J Immunol Res* 2015; 2015: 527696 [PMID: 25802876 DOI: 10.1155/2015/527696]
 - 61 Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JL. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med* 2009; 1: 6ra14 [PMID: 20368178 DOI: 10.1126/scitranslmed.3000322]
 - 62 Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 478-485 [PMID: 15173836 DOI: 10.1038/nri1373]
 - 63 Macpherson AJ, Geuking MB, McCoy KD. Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology* 2005; 115: 153-162 [PMID: 15885120 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02159.x]
 - 64 Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, Mazmanian SK. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science* 2011; 332: 974-977 [PMID: 21512004 DOI: 10.1126/science.1206095]
 - 65 程昉, 徐沪济. 转录因子FOXP3的研究进展. *中国免疫学杂志* 2008; 24: 86-89
 - 66 Ignacio A, Morales CI, Câmara NO, Almeida RR. Innate Sensing of the Gut Microbiota: Modulation of Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Front Immunol* 2016; 7: 54 [PMID: 26925061 DOI: 10.3389/fimmu.2016.00054]
 - 67 Miyake Y, Yamamoto K. Role of gut microbiota in liver diseases. *Hepatol Res* 2013; 43: 139-146 [PMID: 22970713 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.01088.x]
 - 68 Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, Flavell R. Inflammasomes in health and disease. *Nature* 2012; 481: 278-286 [PMID: 22258606 DOI: 10.1038/nature10759]
 - 69 Van Praet JT, Donovan E, Vanassche I, Drennan MB, Windels F, Dendooven A, Allais L, Cuvelier CA, van de Loo F, Norris PS, Kruglov AA, Nedospasov SA, Rabot S, Tito R, Raes J, Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N, Van de Wiele T, Eberl G, Ware CF, Elewaut D. Commensal microbiota influence systemic autoimmune responses. *EMBO J* 2015; 34: 466-474 [PMID: 25599993 DOI: 10.15252/embj.201489966]
 - 70 Singh R, Bullard J, Kalra M, Assefa S, Kaul AK, Vonfeldt K, Strom SC, Conrad RS, Sharp HL, Kaul R. Status of bacterial colonization, Toll-like receptor expression and nuclear factor-kappa B activation in normal and diseased human livers. *Clin Immunol* 2011; 138: 41-49 [PMID: 20940109 DOI: 10.1016/j.clim.2010.09.006]
 - 71 Wu HJ, Ivanov II, Darce J, Hattori K, Shima T, Umesaki Y, Littman DR, Benoist C, Mathis D. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity* 2010; 32: 815-827 [PMID: 20620945 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.06.001]
 - 72 Mattner J. Impact of Microbes on the Pathogenesis of Primary Biliary Cirrhosis (PBC) and Primary Sclerosing Cholangitis (PSC). *Int J Mol Sci* 2016; 17 [PMID: 27834858 DOI: 10.3390/ijms17111864]
 - 73 Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, Johnson EF. LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. *J Clin Invest* 1991; 88: 1370-1378 [PMID: 1717511 DOI: 10.1172/JCI115443]
 - 74 Aitbaev KA, Murkamilo V, Fomin VV. Liver diseases: The pathogenetic role of the gut microbiome and the potential of treatment for its modulation. *Ter Arkh* 2017; 89: 120-128 [PMID: 28914862 DOI: 10.17116/terarkh2017898120-128]
 - 75 Yu L, Wang L, Chen S. Endogenous toll-like receptor ligands and their biological significance. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 2592-2603 [PMID: 20629986 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01127.x]
 - 76 Kuhn KA, Pedraza I, Demoruelle MK. Mucosal immune responses to microbiota in the development of autoimmune disease. *Rheum Dis Clin North Am* 2014; 40: 711-725 [PMID: 25437287 DOI: 10.1016/j.rdc.2014.07.013]
 - 77 Frosali S, Pagliari D, Gambassi G, Landolfi R, Pandolfi F, Cianci R. How the Intricate Interaction among Toll-Like Receptors, Microbiota, and Intestinal Immunity Can Influence Gastrointestinal Pathology. *J Immunol Res* 2015; 2015: 489821 [PMID: 26090491 DOI: 10.1155/2015/489821]
 - 78 Bonnert TP, Garka KE, Parnet P, Sonoda G, Testa JR, Sims JE. The cloning and characterization of human MyD88: a member of an IL-1 receptor related family. *FEBS Lett* 1997; 402: 81-84 [PMID: 9013863]
 - 79 Yamamoto M, Takeda K. Current views of toll-like receptor signaling pathways. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 240365 [PMID: 21197425 DOI: 10.1155/2010/240365]
 - 80 Tseng PH, Matsuzawa A, Zhang W, Mino T, Vignali DA, Karin M. Different modes of ubiquitination of the adaptor TRAF3 selectively activate the expression of type I interferons and proinflammatory cytokines. *Nat Immunol* 2010; 11: 70-75 [PMID: 19898473 DOI: 10.1038/ni.1819]
 - 81 Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors and acquired immunity. *Semin Immunol* 2004; 16: 23-26 [PMID: 14751760]
 - 82 Seki E, Tsutsui H, Nakano H, Tsuji N, Hoshino K, Adachi O, Adachi K, Futatsugi S, Kuida K, Takeuchi O, Okamura H, Fujimoto J, Akira S, Nakanishi K. Lipopolysaccharide-induced IL-18 secretion from murine Kupffer cells independently of myeloid differentiation factor 88 that is critically involved in induction of production of IL-12 and IL-1beta. *J Immunol* 2001; 166: 2651-2657 [PMID: 11160328]
 - 83 Wu J, Meng Z, Jiang M, Zhang E, Trippler M, Broering R, Bucchi A, Krux F, Dittmer U, Yang D, Roggendorf M, Gerken G, Lu M, Schlaak JF. Toll-like receptor-induced innate immune responses in non-parenchymal liver cells are cell type-specific. *Immunology* 2010; 129: 363-374 [PMID: 19922426 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03179.x]
 - 84 Tan TG, Sefik E, Geva-Zatorsky N, Kua L, Naskar D, Teng F, Pasman L, Ortiz-Lopez A, Jupp R, Wu HJ, Kasper DL, Benoist C, Mathis D. Identifying species of symbiont bacteria from the human gut that, alone, can induce intestinal Th17 cells in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: E8141-E8150 [PMID: 27911839 DOI: 10.1073/pnas.1617460113]
 - 85 Dillon S, Agrawal A, Van Dyke T, Landreth G, McCauley L, Koh A, Maliszewski C, Akira S, Pulendran B. A Toll-

- like receptor 2 ligand stimulates Th2 responses in vivo, via induction of extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase and c-Fos in dendritic cells. *J Immunol* 2004; 172: 4733-4743 [PMID: 15067049]
- 86 Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Gusovsky F. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem* 1999; 274: 10689-10692 [PMID: 10196138]
 - 87 Kabelitz D. Expression and function of Toll-like receptors in T lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 39-45 [PMID: 17129718 DOI: 10.1016/j.coi.2006.11.007]
 - 88 Seki E, De Minicis S, Gwak GY, Kluwe J, Inokuchi S, Bursill CA, Llovet JM, Brenner DA, Schwabe RF. CCR1 and CCR5 promote hepatic fibrosis in mice. *J Clin Invest* 2009; 119: 1858-1870 [PMID: 19603542]
 - 89 Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, Vucur M, Zimmermann H, Schmidt S, Janssen J, Koppe C, Knolle P, Castoldi M, Tacke F, Trautwein C, Luedde T. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. *Hepatology* 2011; 53: 209-218 [PMID: 20890893 DOI: 10.1002/hep.23922]
 - 90 Figueroa L, Xiong Y, Song C, Piao W, Vogel SN, Medvedev AE. The Asp299Gly polymorphism alters TLR4 signaling by interfering with recruitment of MyD88 and TRIF. *J Immunol* 2012; 188: 4506-4515 [PMID: 22474023 DOI: 10.4049/jimmunol.1200202]
 - 91 Mueller T, Beutler C, Picó AH, Shibolet O, Pratt DS, Pascher A, Neuhaus P, Wiedenmann B, Berg T, Podolsky DK. Enhanced innate immune responsiveness and intolerance to intestinal endotoxins in human biliary epithelial cells contributes to chronic cholangitis. *Liver Int* 2011; 31: 1574-1588 [PMID: 22093333 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02635.x]
 - 92 Gao B, Seki E, Brenner DA, Friedman S, Cohen JL, Nagy L, Szabo G, Zakhari S. Innate immunity in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G516-G525 [PMID: 21252049 DOI: 10.1152/ajpgi.00537.2010]
 - 93 Schröder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010; 140: 821-832 [PMID: 20303873 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040]
 - 94 Davis BK, Wen H, Ting JP. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 707-735 [PMID: 21219188 DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101405]
 - 95 Boaru SG, Borkham-Kamphorst E, Tihaa L, Haas U, Weiskirchen R. Expression analysis of inflammasomes in experimental models of inflammatory and fibrotic liver disease. *J Inflamm (Lond)* 2012; 9: 49 [PMID: 23192004 DOI: 10.1186/1476-9255-9-49]
 - 96 Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology* 2011; 54: 133-144 [PMID: 21488066 DOI: 10.1002/hep.24341]
 - 97 Henao-Mejia J, Elinav E, Strowig T, Flavell RA. Inflammasomes: far beyond inflammation. *Nat Immunol* 2012; 13: 321-324 [PMID: 22430784 DOI: 10.1038/ni.2257]
 - 98 Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The inflammasomes: guardians of the body. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 229-265 [PMID: 19302040]
 - 99 Gurung P, Li B, Subbarao Malireddi RK, Lamkanfi M, Geiger TL, Kanneganti TD. Chronic TLR Stimulation Controls NLRP3 Inflammasome Activation through IL-10 Mediated Regulation of NLRP3 Expression and Caspase-8 Activation. *Sci Rep* 2015; 5: 14488 [PMID: 26412089]
 - 100 Chuang SY, Yang CH, Chou CC, Chiang YP, Chuang TH, Hsu LC. TLR-induced PAI-2 expression suppresses IL-1 β processing via increasing autophagy and NLRP3 degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 16079-16084 [PMID: 24043792 DOI: 10.1073/pnas.1306556110]
 - 101 Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JL. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915-1920 [PMID: 15790844 DOI: 10.1126/science.1104816]
 - 102 Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 15064-15069 [PMID: 18806221 DOI: 10.1073/pnas.0803124105]
 - 103 Reunanen J, Kainulainen V, Huuskonen L, Ottman N, Belzer C, Huhtinen H, de Vos WM, Satokari R. Akkermansia muciniphila Adheres to Enterocytes and Strengthens the Integrity of the Epithelial Cell Layer. *Appl Environ Microbiol* 2015; 81: 3655-3662 [PMID: 25795669 DOI: 10.1128/AEM.04050-14]
 - 104 赵凡, 李春保. 肠道菌Akkermansia muciniphila的特性及其与机体健康的关系. *微生物学通报* 2017; 6: 1458-1463 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.160740]
 - 105 Mukherjee S, Hooper LV. Antimicrobial defense of the intestine. *Immunity* 2015; 42: 28-39 [PMID: 25607457 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.12.028]
 - 106 Kinnebrew MA, Ubeda C, Zenewicz LA, Smith N, Flavell RA, Pamer EG. Bacterial flagellin stimulates Toll-like receptor 5-dependent defense against vancomycin-resistant Enterococcus infection. *J Infect Dis* 2010; 201: 534-543 [PMID: 20064069 DOI: 10.1086/650203]
 - 107 Vaishnava S, Yamamoto M, Severson KM, Ruhn KA, Yu X, Koren O, Ley R, Wakeland EK, Hooper LV. The antibacterial lectin RegIIIgamma promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. *Science* 2011; 334: 255-258 [PMID: 21998396 DOI: 10.1126/science.1209791]
 - 108 Barreau F, Hugot JP. Intestinal barrier dysfunction triggered by invasive bacteria. *Curr Opin Microbiol* 2014; 17: 91-98 [PMID: 24440560 DOI: 10.1016/j.mib.2013.12.003]
 - 109 Epstein M, Wright JM. Severe multisystem disease caused by trimethoprim-sulfamethoxazole: possible role of an in vitro lymphocyte assay. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 416-417 [PMID: 2212414 DOI: 10.1113/jphysiol.2011.219691]
 - 110 Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol* 2014; 121: 91-119 [PMID: 24388214 DOI: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9]
 - 111 Lewis K, Lutgendorff F, Phan V, Söderholm JD, Sherman PM, McKay DM. Enhanced translocation of bacteria across metabolically stressed epithelia is reduced by butyrate. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1138-1148 [PMID: 20024905 DOI: 10.1002/ibd.21177]
 - 112 Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veeken J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudensky AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 2013; 504: 451-455 [PMID: 24226773 DOI: 10.1038/nature12726]
 - 113 Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padiar R, Shi H, Thangaraju M, Prasad PD, Manicassamy S, Munn DH, Lee JR, Offermanns S, Ganapathy V. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity* 2014; 40: 128-139 [PMID: 24412617 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.12.007]
 - 114 Bordonaro M, Lazarova DL, Augenlicht LH, Sartorelli AC. Cell type- and promoter-dependent modulation of the Wnt signaling pathway by sodium butyrate. *Int J Cancer* 2002; 97: 42-51 [PMID: 11774242]
 - 115 Zhang J, Yi M, Zha L, Chen S, Li Z, Li C, Gong M, Deng H, Chu X, Chen J, Zhang Z, Mao L, Sun S. Sodium Butyrate Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy

- in Colorectal Cells: Implications for Apoptosis. *PLoS One* 2016; 11: e0147218 [PMID: 26784903 DOI: 10.1371/journal.pone.0147218]
- 116 Madrigal-Matute J, Cuervo AM. Regulation of Liver Metabolism by Autophagy. *Gastroenterology* 2016; 150: 328-339 [PMID: 26453774 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.09.042]
 - 117 Tang Y, Chen Y, Jiang H, Nie D. Short-chain fatty acids induced autophagy serves as an adaptive strategy for retarding mitochondria-mediated apoptotic cell death. *Cell Death Differ* 2011; 18: 602-618 [PMID: 20930850 DOI: 10.1038/cdd.2010.117]
 - 118 Czaja AJ. Targeting apoptosis in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 2890-2904 [PMID: 25038736 DOI: 10.1007/s10620-014-3284-2]
 - 119 Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 5810-5817 [PMID: 15466518 DOI: 10.1128/AEM.70.10.5810-5817.2004]
 - 120 Vaarala O, Atkinson MA, Neu J. The “perfect storm” for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 2008; 57: 2555-2562 [PMID: 18820210 DOI: 10.2337/db08-0331]
 - 121 Bourriaud C, Robins RJ, Martin L, Kozlowski F, Tenailleau E, Cherbut C, Michel C. Lactate is mainly fermented to butyrate by human intestinal microfloras but inter-individual variation is evident. *J Appl Microbiol* 2005; 99: 201-212 [PMID: 15960680 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02605.x]
 - 122 Hov JR, Karlsen TH. The Microbiome in Primary Sclerosing Cholangitis: Current Evidence and Potential Concepts. *Semin Liver Dis* 2017; 37: 314-331 [PMID: 29272894 DOI: 10.1055/s-0037-1608801]
 - 123 Korkach VI, Prudnikov VM. Effect of corticotropin and hydrocortisone on the contractility and heat production of skeletal muscles. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 1977; 63: 1553-1557 [PMID: 201509 DOI: 10.1155/2010/305879]
 - 124 Li X, Wang C, Nie J, Lv D, Wang T, Xu Y. Toll-like receptor 4 increases intestinal permeability through up-regulation of membrane PKC activity in alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* 2013; 47: 459-465 [PMID: 23871536 DOI: 10.1016/j.alcohol.2013.05.004]
 - 125 Fasano A. Leaky gut and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 71-78 [PMID: 22109896 DOI: 10.1007/s12016-011-8291-x]
 - 126 Chan ER, Hester J, Kalady M, Xiao H, Li X, Serre D. A novel method for determining microflora composition using dynamic phylogenetic analysis of 16S ribosomal RNA deep sequencing data. *Genomics* 2011; 98: 253-259 [PMID: 21515358 DOI: 10.1016/j.ygeno.2011.04.002]
 - 127 Mandal RS, Saha S, Das S. Metagenomic surveys of gut microbiota. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13: 148-158 [PMID: 26184859 DOI: 10.1016/j.gpb.2015.02.005]
 - 128 Ma Y, Shi N, Li M, Chen F, Niu H. Applications of Next-generation Sequencing in Systemic Autoimmune Diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13: 242-249 [PMID: 26432094 DOI: 10.1016/j.gpb.2015.09.004]
 - 129 Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 312-322 [PMID: 22450307 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.44]
 - 130 Tottey W, Denonfoux J, Jaziri F, Parisot N, Missaoui M, Hill D, Borrel G, Peyretailade E, Alric M, Harris HM, Jeffery IB, Claesson MJ, O'Toole PW, Peyret P, Brugère JF. The human gut chip “HuGChip”, an explorative phylogenetic microarray for determining gut microbiome diversity at family level. *PLoS One* 2013; 8: e62544 [PMID: 23690942 DOI: 10.1371/journal.pone.0062544]
 - 131 Eisen JA. Environmental shotgun sequencing: its potential and challenges for studying the hidden world of microbes. *PLoS Biol* 2007; 5: e82 [PMID: 17355177 DOI: 10.1371/journal.pbio.0050082]
 - 132 Scaldaferrri F, Lopetuso LR, Petito V, Cufino V, Bilotta M, Arena V, Stigliano E, Maulucci G, Papi M, Emiliana CM, Poscia A, Franceschi F, Delogu G, Sanguinetti M, Spirito MD, Sgambato A, Gasbarrini A. Gelatin tannate ameliorates acute colitis in mice by reinforcing mucus layer and modulating gut microbiota composition: Emerging role for ‘gut barrier protectors’ in IBD? *United European Gastroenterol J* 2014; 2: 113-122 [PMID: 24918016 DOI: 10.1177/2050640614520867]
 - 133 Bomhof MR, Parnell JA, Ramay HR, Crotty P, Rioux KP, Probert CS, Jayakumar S, Raman M, Reimer RA. Histological improvement of non-alcoholic steatohepatitis with a prebiotic: a pilot clinical trial. *Eur J Nutr* 2018 [PMID: 29779170 DOI: 10.1007/s00394-018-1721-2]
 - 134 Zhang W, Gu Y, Chen Y, Deng H, Chen L, Chen S, Zhang G, Gao Z. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function in rats with experimental cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1481-1486 [PMID: 20739895 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833eb8b0]
 - 135 Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, Rocco A, Barone M, Napoli A, Lapi D, Iovene MR, Colantuoni A. Protective effects of Lactobacillus paracasei F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G669-G676 [PMID: 20576921 DOI: 10.1152/ajpgi.00188.2010]
 - 136 Tabibian JH, Weeding E, Jorgensen RA, Petz JL, Keach JC, Talwalkar JA, Lindor KD. Randomised clinical trial: vancomycin or metronidazole in patients with primary sclerosing cholangitis - a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 604-612 [PMID: 23384404 DOI: 10.1111/apt.12232]
 - 137 Hommes DW, Erkelens W, Ponsioen C, Stokkers P, Rauws E, van der Spek M, ten Kate F, van Deventer SJ. A double-blind, placebo-controlled, randomized study of infliximab in primary sclerosing cholangitis. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 522-526 [PMID: 18344886 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181662426]
 - 138 Cullen SN, Chapman RW. Review article: current management of primary sclerosing cholangitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 933-948 [PMID: 15813829 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02407.x]
 - 139 Chapman R, Fevery J, Kalloo A, Nagorney DM, Boberg KM, Shneider B, Gores GJ; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 2010; 51: 660-678 [PMID: 20101749 DOI: 10.1002/hep.23294]
 - 140 Bjørø K, Brandsaeter B, Foss A, Schrumpf E. Liver transplantation in primary sclerosing cholangitis. *Semin Liver Dis* 2006; 26: 69-79 [PMID: 16496235 DOI: 10.1055/s-2006-933565]
 - 141 Eaton JE, Talwalkar JA, Lazaridis KN, Gores GJ, Lindor KD. Pathogenesis of primary sclerosing cholangitis and advances in diagnosis and management. *Gastroenterology* 2013; 145: 521-536 [PMID: 23827861 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.06.052]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



CEUS和增强CT对原发性肝癌TACE术后疗效的评估价值比较

张心荣, 欧阳骏, 黄敬垣

张心荣, 欧阳骏, 浙江省德清县人民医院B超室 浙江省湖州市 313200

黄敬垣, 树兰(杭州市)医院超声科 浙江省杭州市 310022

张心荣, 主治医师, 主要从事腹部超声诊断工作.

作者贡献分布: 此课题由张心荣设计; 研究过程由张心荣、欧阳骏及黄敬垣共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由黄敬垣提供; 数据分析及论文写作由张心荣完成.

通讯作者: 张心荣, 主治医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇英溪南路120号, 浙江省德清县人民医院B超室.
zhangxinrong2018@163.com
电话: 0572-8067530

收稿日期: 2018-11-08

修回日期: 2018-12-08

接受日期: 2018-12-25

在线出版日期: 2019-01-08

Comparison of CEUS and enhanced CT in evaluating efficacy of TACE for hepatocellular carcinoma

Xin-Rong Zhang, Jun Ouyang, Jing-Yuan Huang

Xin-Rong Zhang, Jun Ouyang, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Jing-Yuan Huang, Department of Ultrasonography, Shulan (Hangzhou) Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xin-Rong Zhang, Chief Physician, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, 120 Yingxi South Road, Wukang Town, Deqing County, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. zhangxinrong2018@163.com

Received: 2018-11-08

Revised: 2018-12-08

Accepted: 2018-12-25

Published online: 2019-01-08

Abstract

AIM

To evaluate the value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and enhanced computed tomography (CT) in evaluating the efficacy of transcatheter artery chemoembolization (TACE) for hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS

A total of 96 patients with HCC who underwent TACE at Zhejiang Tumor Hospital were selected as research subjects (a total of 128 lesions). Digital subtraction angiography (DSA), CEUS, and enhanced CT were performed one month after operation, and the results of DSA were used as the "gold standard" to compare the clinical value of CEUS and enhanced CT in evaluating the efficacy of TACE.

RESULTS

The sensitivity (95.18%) and accuracy (95.31%) of CEUS in the diagnosis of residual lesions were higher than those (84.34% and 88.28%, respectively) of enhanced CT ($P < 0.05$). The specificities of CEUS and enhanced CT in the diagnosis of residual lesions were both 95.56%, and there was no significant difference between them ($P > 0.05$).

CONCLUSION

CEUS can accurately evaluate the residual lesions of HCC after TACE and has appreciated clinical value, thus providing a reliable imaging method for evaluating the efficacy of TACE.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Contrast-enhanced ultrasound; Computed tomography; Transcatheter arterial chemoembolization

Zhang XR, Ouyang J, Huang JY. Comparison of CEUS and enhanced CT in evaluating efficacy of TACE for hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 63-67
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/63.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.63>

摘要

目的

探讨超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)和增强CT对原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter artery chemoembolization, TACE)治疗后的疗效评估价值。

方法

选取在我院接受TACE术治疗的96例HCC患者作为研究对象, 共计128个病灶。均于术后1 mo接受数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)、CEUS和增强CT检查, 并以DSA结果作为“金标准”, 比较CEUS和增强CT在评估TACE术后疗效的临床价值。

结果

CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度(95.18%)、准确度(95.31%)分别为高于增强CT的灵敏度(84.34%)、准确度(88.28%), 差异有统计学意义($P < 0.05$); CEUS和增强CT诊断HCC肿瘤残留的特异度均为95.56%, 两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

结论

运用CEUS能准确地评估HCC经TACE术后的肿瘤残留状态, 具有较高的临床价值, 能为TACE术后疗效评估提供一种可靠的影像学方法。

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

关键词: 原发性肝癌; 超声造影; 计算机断层扫描; 经导管肝动脉化疗栓塞术

核心提要: 超声造影能实时反映肿瘤组织的微循环血流灌注状态, 从而准确评估原发性肝癌经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter artery chemo-embolization, TACE)术治疗后的残留情况, 可为TACE术后疗效评估提供一种可靠的影像学方法。

张心荣, 欧阳骏, 黄敬垣. CEUS和增强CT对原发性肝癌TACE术后疗效的评估价值比较. *世界华人消化杂志* 2019; 27(1): 63-67
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/63.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.63>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种较为常见的肝脏恶性肿瘤, 手术切除是其首选治疗方法, 但因其发病隐匿、进展快速、早期转移等特点, 多数患者经临床确诊时已处于中晚期, 错过手术时机^[1-3]。经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter artery chemoembolization, TACE)是一种有效的非手术治疗中晚期HCC的重要方法, 因此准确有效地评估TACE术后疗效有着重要的临床意义。超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)通过实时动态观察超声微泡对比剂在器官组织中的增强过程, 准确反映器官组织微循环灌注的血流动力学状态^[4-6]。本研究运用CEUS评估HCC经TACE术后的疗效, 并与增强CT进行比较, 探讨其应用价值, 以期为临床治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2016-03/2018-09期间, 在浙江省肿瘤医院接受TACE术治疗的96例HCC患者作为研究对象, 共计128个病灶。年龄31-68岁, 平均年龄49.23岁±8.23岁, 其中男62例, 女34例。纳入标准: (1)均符合2009年HCC诊断标准^[7]; (2)Child-Pugh分级为A-B级; (3)均接受TACE术治疗; (4)术后1 mo均接受DSA、CEUS以及增强CT检查; (5)具有完整的相关资料。排除标准: (1)肝肾功能衰竭; (2)凝血功能障碍; (3)合并严重感染及其它恶性肿瘤; (4)影像学图像不清晰者。

1.2 方法

1.2.1 TACE治疗: 患者取平卧位, 对右侧股动脉拟穿刺部位行常规消毒铺巾, 采用5 mL 2%利多卡因行局部浸润麻醉后穿刺, 置入动脉鞘, 将肝导管置于腹腔干、肝总动脉、肝右动脉以及肝左动脉, 造影条件下明确肿瘤位置, 将导管伸至肿瘤供血动脉进行肝动脉灌注化疗以及肿瘤血管栓塞。上述操作完成后拔出导管、动脉鞘, 并对穿刺部位进行加压包扎。TACE术后1 mo, 行DSA、CEUS以及增强CT检查。

1.2.2 检查方法: 首先行CEUS。采用西门子S2000超声诊断仪, 配有频率为3-5 MHz低频探头。首先行常规超声检查, 仔细观察记录TACE术后肿瘤部位、形态、大小、回声、边界以及血流等情况。然后固定探头于肿瘤图像能清晰显影位置。启动CEUS模式, 采用磷脂微囊六氟化硫(SF₆)超声造影剂, 经左肘部浅静脉团注, 剂量为2.4 mL, 并同步计时。观察并记录肿瘤分别在动脉相(0-30 s)、门脉相(31-120 s)以及延迟相(121-360 s)的超声造影特征。CEUS后7 d内行DSA以及增强CT检查(西门子Sensation64排螺旋CT)。

1.2.3 诊断标准: CEUS: 动脉相、门脉相肿瘤有造影剂

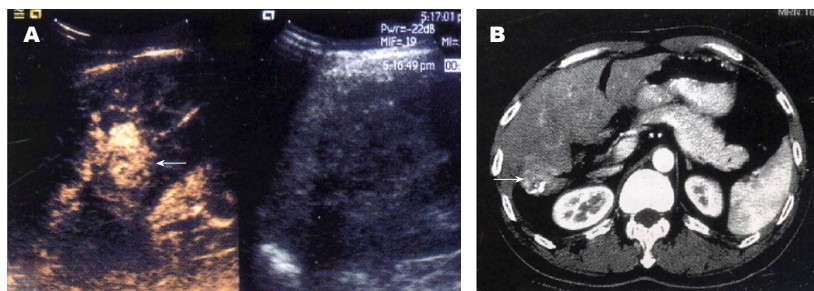


图1 超声造影和增强CT诊断肿瘤残留。A: 超声造影显示: 导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter artery chemo-embolization, TACE)术后肿瘤于动脉期呈现团块状不均匀高增强, 提示肿瘤残留; B: 增强CT显示: TACE术后肿瘤内碘油沉积, 部分组织于动脉期呈现不均匀增强, 提示肿瘤残留。

填充, 而延迟相消退, 呈低增强或等增强, 定义为“阳性”(肿瘤残留); 动脉相、门脉相以及延迟相肿瘤内均无造影剂填充, 呈“黑洞征”, 定义为“阴性”(肿瘤彻底灭活)。增强CT: 肿瘤碘油斑片状沉积、稀少, 动脉期肿瘤有可辨增强区, 定义为“阳性”; 反之定义为“阴性”。

统计学处理 采用SPSS 20.0统计软件进行数据处理。计数资料以(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DSA诊断情况 TACE术后1 mo, 经DSA诊断HCC肿瘤残留情况: 83个肿瘤呈阳性, 45个肿瘤呈阴性(图1)。

2.2 CEUS诊断情况 TACE术后1 mo, 经CEUS诊断HCC残留情况: 81个肿瘤呈阳性, 表现为不同程度形状各异的增强, 其中52个肿瘤表现为动脉相高增强, 门脉相低增强, 延迟相低增强; 16个肿瘤表现为动脉相等增强, 门脉相低增强, 延迟相低增强; 13个肿瘤表现为动脉相等增强, 门脉相等增强, 延迟相等增强; 47个肿瘤呈阴性, 表现为造影全程肿瘤均无造影剂填充, 肿瘤与其周围肝组织边界清晰, 呈“黑洞征”。CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度 = 95.18%, 特异度 = 95.56%, 准确度 = 95.31%。见表1。

2.3 增强CT诊断情况 TACE术后1 mo, 增强CT诊断HCC肿瘤残留情况: 72个肿瘤呈阳性, 表现为肿瘤内部碘油沉积稀少、分布呈斑片状, 动脉期肿瘤存在不同程度强化; 56个肿瘤呈阴性, 表现为肿瘤内部碘油沉积分布均匀, 动脉期肿瘤无强化。增强CT诊断HCC肿瘤残留的灵敏度 = 84.34%, 特异度 = 95.56%, 准确度 = 88.28%。见表2。

2.4 CEUS与增强CT临床价值比较 CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度、准确度明显高于增强CT, 差异有统计学意义($\chi^2 = 5.308, 4.202$; $P = 0.021, 0.040$); CEUS和增强CT诊断HCC肿瘤残留的特异度与增强CT比较, 差异无

明显统计学意义($\chi^2 = 0.000, P = 1.000$)。

3 讨论

TACE术是以肿瘤以及正常肝组织的供血途径作为依据, 向靶血管内灌注化疗药物, 并栓塞肿瘤供血动脉, 以实现杀灭肿瘤细胞的目的^[8,9]。TACE术具有创伤小、疗效明确、起效快等优点, 已成为不能手术切除HCC治疗的重要手段, 但TACE术仍属于姑息性治疗手段, 难以一次性彻底清除肿瘤组织, 常常需重复多次治疗, 治疗过程中往往以前一次治疗作为后一次治疗的参考^[10,11]。因此, 准确有效地评估TACE术后疗效, 对制定治疗方案, 指导治疗有着重要意义。

本研究以DSA作为TACE术后疗效评估的“金标准”, DSA可通过消除原有碘油沉积影响, 准确反映肿瘤动脉血供状态, 从而清晰显示TACE术后肿瘤残留情况, 具有极高诊断价值^[12]。因其属于有创性操作, 且费用较高, 使其在临床上应用受限。目前临床常常采用增强CT扫描肿瘤是否存在强化来判定肿瘤残留状态, 其扫描速度较常规CT快, 且能清晰显示肿瘤内碘油沉积分布情况, 有助于判断TACE术后肿瘤残留情况^[13]。曾春等^[14]学者的研究结果显示增强CT在判定TACE术后肿瘤残留时, 具有较高的敏感度、特异度以及准确度分别为84.40%, 88.90%以及85.30%。本研究结果与之相一致。而在实际应用中, 碘油沉积可遮挡肿瘤血管, 从而影响增强CT诊断结果的准确性。

CEUS是一种敏感度极高的血流检测技术, 具有无创、无辐射、实时、便捷、短时间内可重复等优点, 目前被广泛应用于临床。其原理是: 机体组织和微泡对比剂声学阻抗差异较大, 经微泡对比剂灌注后, 含微泡对比剂组织和无微泡对比剂组织间声学阻抗差异增大, 从而使观察目标的超声图像反差明显增大, 并可同时清楚显示含微泡对比剂的微小血管信号^[15-17]。在肝肿瘤的诊疗应用中, CEUS通过增加肝肿瘤和周围组织的超声图像对比度, 动态观察造影剂在肿瘤组织中的灌

表 1 CEUS诊断HCC肿瘤残留情况(n)

CEUS	DSA		总计
	阳性	阴性	
阳性	79	2	81
阴性	4	43	47
总计	83	45	128

CEUS: 超声造影; DSA: 数字减影血管造影; HCC: 原发性肝癌.

表 2 增强CT诊断HCC肿瘤残留情况(n)

CEUS	DSA		总计
	阳性	阴性	
阳性	70	2	72
阴性	13	43	56
总计	83	45	128

CEUS: 超声造影; DSA: 数字减影血管造影; HCC: 原发性肝癌.

注全程, 分析其增强特点及增强参数变化, 能显著提高超声对微小病灶及微小血管的检出率. 本研究结果中, CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度 = 95.18%, 特异度 = 95.56%, 准确度 = 95.31%, 提示CEUS诊断TACE术后肿瘤残留的能力不亚于增强CT, 能有效监测TACE术后疗效, 具有较高的临床应用价值. 本研究结果中, CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度、准确度分别高于增强CT灵敏度、准确度($P<0.05$), 提示CEUS在诊断TACE术后疗效方面优于增强CT. 原因可能是: CEUS采用能进入血液循环的微泡对比剂作为血管示踪剂, 不受碘油沉积干扰, 能准确反映肿瘤组织的微循环血流灌注变化以及血管分布情况^[4]; HCC内部新生微小血管密集, 其血供较为丰富, 该病理特点有利于CEUS诊断, 且表现出特定的造影增强模式, 呈“快进快出”特征^[18,19]; CEUS具有实时性, 超声科医生能通过多切面, 多角度扫查, 实时动态观察分析肿瘤的整个造影过程, 能有效避免误诊漏诊情况的发生, 而增强CT无法进行实时动态观察.

总之, CEUS能准确有效地评估HCC经TACE术后的肿瘤残留状态, 具有较高的临床价值, 能为TACE术后疗效评估提供一种可靠的影像学方法.

文章亮点

实验背景

导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter artery chemo-embolization, TACE)作为一种有效的非手术治疗原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)重要手段, 准确

评估其疗效有利于指导临床制定治疗方案, 有着重要临床意义.

实验动机

本研究运用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)评估TACE术对HCC的疗效, 以期TACE术后疗效评估提供一种有效的全新方法, 从而指导临床治疗.

实验目标

本篇论文研究的主要目标是运用CEUS评估HCC经TACE术治疗后的肿瘤残留状态, 结果表明CEUS诊断TACE术后肿瘤残留的能力不亚于增强CT, 能有效监测TACE术后疗效, 具有较高临床价值.

实验方法

本篇论文采用CEUS进行TACE术后疗效评估. CEUS是一种敏感度极高的血流检测技术, 能实时动态反映器官组织的微循环血流灌注状态.

实验结果

本篇论文研究达到了实验目标, 研究结果显示CEUS诊断HCC肿瘤残留的灵敏度 = 95.18%, 特异度 = 95.56%, 准确度 = 95.31%, 且灵敏度、准确度均高于增强CT. 本研究结果说明CEUS能有效监测TACE术后疗效, 临床应用价值较高.

实验结论

本研究发现CEUS能有效监测TACE术对HCC的疗效.

CEUS能为TACE术后疗效评估提供一种可靠有效的影像学方法, 为临床治疗提供参考。

展望前景

TACE术后肿瘤周围炎性充血带的出现可导致误诊。本研究未来研究的方向是运用CEUS定量分析TACE术后肿瘤组织的血流灌注动力学变化。本研究未来研究的最佳方法是CEUS联合肿瘤指标评估TACE术后肿瘤组织的残留状态。

4 参考文献

- Ozakyol A. Global Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma (HCC Epidemiology). *J Gastrointest Cancer* 2017 [PMID: 28626852 DOI: 10.1007/s12029-017-9959-0]
- Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47 Suppl: S2-S6 [PMID: 23632345 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182872f29]
- Merchante N, Merino E, López-Aldeguez J, Jover F, Delgado-Fernández M, Galindo MJ, Ortega E, Rivero A, Mínguez C, Romero-Palacios A, Padilla S, Márquez-Solero M, Amador C, Ríos-Villegas MJ, Téllez F, Portilla J, Pineda JA. Increasing incidence of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients in Spain. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 143-150 [PMID: 22955438 DOI: 10.1093/cid/cis777]
- Pregler B, Beyer LP, Wiesinger I, Nießen C, Jung EM, Stroszczyński C, Wiggermann P. Microwave ablation of large HCC lesions: Added value of CEUS examinations for ablation success control. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016; 64: 483-490 [PMID: 27935548 DOI: 10.3233/CH-168113]
- Medhat E, Abdel Aziz A, Nabeel M, Elbaz T, Zakaria Z, Shousha H, Amer A, Fouad Fathalah W, Maher R, Musa S. Value of microwave ablation in treatment of large lesions of hepatocellular carcinoma. *J Dig Dis* 2015; 16: 456-463 [PMID: 25958973 DOI: 10.1111/1751-2980.12259]
- Vogl TJ, Farshid P, Naguib NN, Zangos S, Bodelle B, Paul J, Mbalisike EC, Beeres M, Nour-Eldin NE. Ablation therapy of hepatocellular carcinoma: a comparative study between radiofrequency and microwave ablation. *Abdom Imaging* 2015; 40: 1829-1837 [PMID: 25601438 DOI: 10.1007/s00261-015-0355-6]
- 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌规范化诊治的专家共识. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 295-304 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2009.06.002]
- Luz JH, Luz PM, Martin HS, Gouveia HR, Levigard RB, Nogueira FD, Rodrigues BC, de Miranda TN, Mamede MH. DEB TACE for Intermediate and advanced HCC - Initial Experience in a Brazilian Cancer Center. *Cancer Imaging* 2017; 17: 5 [PMID: 28166821 DOI: 10.1186/s40644-017-0108-6]
- Lencioni R, Llovet JM, Han G, Tak WY, Yang J, Guglielmi A, Paik SW, Reig M, Kim DY, Chau GY, Luca A, Del Arbol LR, Leberre MA, Niu W, Nicholson K, Meinhardt G, Bruix J. Sorafenib or placebo plus TACE with doxorubicin-eluting beads for intermediate stage HCC: The SPACE trial. *J Hepatol* 2016; 64: 1090-1098 [PMID: 26809111 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.01.012]
- Sciarra A, Ronot M, Di Tommaso L, Raschioni C, Castera L, Belghiti J, Bedossa P, Vilgrain V, Roncalli M, Paradis V. TRIP: a pathological score for transarterial chemoembolization resistance individualized prediction in hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2015; 35: 2466-2473 [PMID: 25865109 DOI: 10.1158/1538-7445.AM2017-544]
- Casadaban LC, Minocha J, Bui JT, Knuttinen MG, Ray CE Jr, Gaba RC. Conventional Ethiodized Oil Transarterial Chemoembolization for Treatment of Hepatocellular Carcinoma: Contemporary Single-Center Review of Clinical Outcomes. *AJR Am J Roentgenol* 2016; 206: 645-654 [PMID: 26901023 DOI: 10.2214/AJR.15.14758]
- 万绪明, 许祖闪, 侯红军. 磁共振表观弥散系数变化率对肝细胞肝癌患者单次TACE术后疗效评价的应用价值. *国际放射医学核医学杂志* 2015; 39: 129-135 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2015.02.006]
- 黄卫民, 徐辉, 汪继辉. CT增强扫描和DSA检测原发性肝癌TACE术后肿瘤残留及新发病灶. *中国CT和MRI杂志* 2016; 14: 77-79 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.09.025]
- 曾春. DWI联合CT增强扫描在评估TACE治疗肝癌患者的临床价值. *中国CT和MRI杂志* 2016; 14: 80-83 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2016.04.025]
- Sidhu PS, Cantisani V, Deganello A, Dietrich CF, Duran C, Franke D, Harkanyi Z, Kosiak W, Miele V, Ntoulia A, Piskunowicz M, Sellars ME, Gilja OH. Role of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Paediatric Practice: An EFSUMB Position Statement. *Ultraschall Med* 2017; 38: 33-43 [PMID: 27414980 DOI: 10.1055/s-0042-110394]
- Darge K, Papadopoulou F, Ntoulia A, Bulas DI, Coley BD, Fordham LA, Paltiel HJ, McCarville B, Volberg FM, Cosgrove DO, Goldberg BB, Wilson SR, Feinstein SB. Safety of contrast-enhanced ultrasound in children for non-cardiac applications: a review by the Society for Pediatric Radiology (SPR) and the International Contrast Ultrasound Society (ICUS). *Pediatr Radiol* 2013; 43: 1063-1073 [PMID: 23843130 DOI: 10.1007/s00247-013-2746-6]
- Cantisani V, Rubini A, Miniagio G. CEUS and strain elastography in gastric carcinoma. *J Ultrasound* 2013; 16: 123-125 [PMID: 24432162 DOI: 10.1007/s40477-013-0024-y]
- Schellhaas B, Wildner D, Pfeifer L, Goertz RS, Hagel A, Neurath MF, Strobel D. LI-RADS-CEUS - Proposal for a Contrast-Enhanced Ultrasound Algorithm for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in High-Risk Populations. *Ultraschall Med* 2016; 37: 627-634 [PMID: 27486793 DOI: 10.1007/s11901-016-0324-8]
- 时静祥, 王毅军, 经翔, 王凤梅, 丁建民, 张翔, 张勤. 超声造影与增强螺旋CT诊断肝细胞癌的对比研究. *天津医药* 2017; 45: 643-647 [DOI: 10.11958/20170410]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



溃疡性结肠炎患者粪菌移植后胃肠道功能及肠道菌群的影响分析

章科清, 江 琴, 张海兵

章科清, 江琴, 杭州市老年病医院检验科 浙江省杭州市 310000

张海兵, 杭州市第一人民医院消化内科 浙江省杭州市 310000

章科清, 检验技师, 主要从事微生物研究.

作者贡献分布: 本课题由章科清、江琴与张海兵共同设计, 贡献均等; 临床病例的管理及数据收集由江琴和张海兵共同完成; 数据分析、论文撰写由章科清完成.

通讯作者: 章科清, 主治医师, 310000, 浙江省杭州市拱墅区沈半路469号, 杭州市老年病医院检验科. shu44844@163.com

收稿日期: 2018-11-09

修回日期: 2018-12-16

接受日期: 2018-12-25

在线出版日期: 2019-01-08

Effect of fecal microbiota transplantation on gastrointestinal function and intestinal flora in patients with ulcerative colitis

Ke-Qing Zhang, Qin Jiang, Hai-Bing Zhang

Ke-Qing Zhang, Qin Jiang, Department of Clinical Laboratory, Hangzhou Geriatrics Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Hai-Bing Zhang, Department of Gastroenterology, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Ke-Qing Zhang, Attending Physician, Department of Clinical Laboratory, Hangzhou Geriatrics Hospital, 469 Shenban Road, Gongshu District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. shu44844@163.com

Received: 2018-11-09

Revised: 2018-12-16

Accepted: 2018-12-25

Published online: 2019-01-08

Abstract

AIM

To analyze the gastrointestinal function and intestinal flora in patients with ulcerative colitis (UC) after fecal microbiota transplantation.

METHODS

From April 2016 to May 2018, 100 patients with UC were randomly divided into either a control group or an observation group, with 50 cases in each group. The control group was given sulfasalazine tablets orally according to the condition of the disease, while the observation group underwent fecal microbiota transplantation. The therapeutic effects of the two groups were compared, and the related inflammatory factors [C reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α)] were measured before and after treatment. The gastrointestinal function and intestinal bacteria of the two groups were compared by Sutherland index score, intestinal flora score, and enteroscopic score.

RESULTS

The total effective rate in the observation group was significantly higher than that in the control group (96.00% vs 70.00%, $P < 0.05$). The levels of TNF- α , IL-6, and CRP in the two groups were significantly decreased after treatment ($P < 0.05$). The intestinal flora, enteroscopic score, and Sutherland index in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). There were significant differences in intestinal flora, colonoscopic score, and Sutherland index between the two groups after treatment.

CONCLUSION

Fecal microbiota transplantation can significantly

improve gastrointestinal function and intestinal flora score in patients with UC.

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

Key Words: Ulcerative colitis; Fecal microbiota transplantation; Gastrointestinal function; Intestinal flora

Zhang KQ, Jiang Q, Zhang HB. Effect of fecal microbiota transplantation on gastrointestinal function and intestinal flora in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(1): 68-72
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/68.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.68>

摘要

目的

分析溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)后胃肠道功能及肠道菌群的影响。

方法

选取从2016-04/2018-05在杭州市老年病医院就诊的UC的患者共100例,按入组顺序随机均分为两组,每组50例。对照组依病情口服柳氮磺吡啶片;观察组在此基础上加以FMT进行治疗。比较两组疗效,分别于治疗前后测定两组患者相关炎症因子[C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)]。采用Sutherland指数评分、肠道菌群评分和肠镜评分对两组患者的胃肠道功能及肠道菌进行比较。

结果

观察组总有效率96.00%显著高于对照组的70.00% ($P<0.05$),两组经治疗后TNF- α 、IL-6、CRP水平明显降低($P<0.05$),观察组明显低于对照组($P<0.05$)。观察组肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数治疗后明显降低($P<0.05$);明显低于对照组水平($P<0.05$)。两组治疗后肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数有显著差异。

结论

采用FMT治疗UC患者,能明显改善患者胃肠道功能及肠道菌群评分。

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

关键词: 溃疡性结肠炎; 粪菌移植; 胃肠道功能; 肠道菌群

核心提要: 粪菌移植是通过提取健康人的粪便,对功能菌群进行分离,并移植到患者肠道、重组正常肠道菌群的

治疗方法。粪菌移植方式为患者提供了肠道内丢失的有益菌,能够帮助重建肠道黏膜屏障。

章科清, 江琴, 张海兵. 溃疡性结肠炎患者粪菌移植后胃肠道功能及肠道菌群的影响分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(1): 68-72

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i1/68.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i1.68>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)在临床流行病学中有较高的发病率,可在各年龄段人群中发病。临床表现为一系列的消化道症状,具有病程缠绵、反复发作等特点。目前临床对于UC的发病原因尚未明确。针对UC的治疗主要为药物治疗粪菌移植是通过提取健康人的粪便,对功能菌群进行分离,并移植到患者肠道、重组正常肠道菌群的治疗方法。

UC发生于乙状结肠和直肠的黏膜或黏膜下层部位,属于一种炎症病变。该病在临床流行病学中有较高的发病率,可在各年龄段人群中发病^[1]。该病临床表现为一系列的消化道症状,如恶心、呕吐、腹痛、腹泻、便血及体重减轻等,具有病程缠绵、反复发作等特点,极大的影响了患者的生活质量^[2,3]。目前临床对于UC的发病原因尚未明确,该病的发生可能与环境、遗传、免疫功能异常、肠道菌群失调等因素相关^[4]。目前临床针对UC的治疗主要为药物治疗,包括抗菌药、糖皮质激素、免疫抑制剂等。但是药物治疗后患者症状虽然明显缓解,但仍有部分患者难以获得较好的疗效。粪菌移植是通过提取健康人的粪便,对功能菌群进行分离,并移植到患者肠道、重组正常肠道菌群的治疗方法^[5]。本文分析UC患者粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)后胃肠道功能及肠道菌群的影响,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取从2016-04/2018-05在杭州市老年病医院就诊的UC的患者共100例,按入组顺序随机均分为两组,每组50例。对照组年龄27-66岁,平均年龄37.78岁 \pm 5.62岁;观察组年龄25-65岁,平均年龄37.69岁 \pm 5.56岁。两组患者的一般资料经分析无显著差异,具有可比性。纳入标准: (1)符合全国炎症性肠病学术研讨会拟定的炎症性肠病诊断治疗规范进行的诊断确诊^[6]; (2)有腹泻腹痛、黏液脓血便等临床症状; (3)结肠镜检查,可见黏膜血管纹理模糊紊乱、充血水肿、出血及脓性分泌物附着,病理检查可见固有膜内有炎症细胞浸润; (4)参与本研究前未进行其他治疗; (5)自愿签署知情同意书。排除

标准: (1)细菌性、感染性、缺血性及放射性结肠炎; (2)结肠癌、直肠癌等并发其他肠道疾病的患者; (3)对本研究所使用药物过敏者; (4)合并其他系统严重病变。

1.2 方法 对照组依病情口服柳氮磺吡啶片(上海福达制药有限公司, 批准文号: 国药准字H31020840, 产品编号: B14200002793, 0.25 g/12 s/5板), 5片/次, 4次/d。观察组在此基础上加以FMT进行治疗: 选择患者家属中的一位健康者作为FMT供体, 要求近期无相关疾病、感染史、胃肠道慢性病史、抗生素使用史。分离供体粪便中的粪菌, 制成细菌悬液。患者取左侧卧位4-6 h, 将细菌悬液输入患者盲肠内, 1次/2 wk。

比较两组疗效, 分别于治疗前后测定两组患者相关炎症因子[C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)], 疗效判定标准参照中华医学会消化分会《炎症病诊断治疗规范的建议》进行判定^[7]。显效: 临床症状基本消失, 结肠镜检查显示黏膜基本正常, 粪便检查显示患者结肠炎症消失; 有效: 临床症状有所消失, 结肠镜复查见黏膜充血水肿等现象减轻; 无效: 临床症状、结肠镜及病理检查无改善。临床总有效率 = 显效率 + 有效率。并于清晨抽取两组患者5 mL静脉血, 离心取血清, 采用ELISA试剂盒(芬兰SBA公司)进行细胞因子水平测定。采用Sutherland指数(疾病活动性指数)评分对两组患者治疗前后的肠黏膜状态、直肠出血及腹泻频率等疾病活动情况进行评分, 该评分总分12分, 分值越高, 患者症状越严重。采用肠道菌群评分对两组患者治疗前后的肠道菌群状态进行评分比较, 总分5分, 得分越高, 患者的菌群失调越严重。采用肠镜评分对两组患者的肠黏膜状态进行评分比较, 总分4分, 得分越高, 肠黏膜症状越严重。并于治疗前后检测两组患者的炎症因子指标水平, 采集患者空腹静脉血3 mL, 离心分离血清后, 采用酶联免疫吸附试验检测患者的CRP、IL-6、TNF- α 水平, 试剂盒购置于南京建成生物科技工程有限公司, 检测过程严格按照说明书操作规程进行。

统计学处理 选择SPSS 18.0进行数据统计, 数据采用mean \pm SD来表示, 计量资料的比较采用 t 检验, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 等级资料的比较采用秩和检验进行, 当 $P < 0.05$ 时, 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗效果比较 观察组总有效率96.00%显著高于对照组的70.00%($P < 0.05$), 见表1。

2.2 两组患者治疗前后炎症因子水平比较 两组经治疗后TNF- α 、IL-6、CRP水平明显降低($P < 0.05$), 观察组明显低于对照组($P < 0.05$), 见表2。

2.3 两组治疗前后肠道菌群、肠镜评分及Sutherland

指数比较 观察组肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数治疗后明显降低($P < 0.05$); 明显低于对照组水平($P < 0.05$)。两组治疗后肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数有显著差异, 见表3。

2.4 不良反应观察 观察组50例患者均顺利完成FMT治疗, 无严重不良反应发生。其中5例出现恶心、4例出现发热, 未作处理, 经严密观察后, 患者症状逐渐消失。

3 讨论

UC发生在结肠黏膜层的非特异性炎症病变, 其发病与遗传、感染、免疫等多种因素有关^[8]。UC的病因尚未完全清楚, 以溃疡性糜烂为主, 临床表现为腹痛腹泻、脓血便等。目前多认为该病病因为感染、环境及免疫因素相互作用激活了黏膜免疫活性细胞, 促进炎症细胞因子和炎症介质的产生, 进而导致肠黏膜组织发生炎性病变^[3,4]。UC作为一种慢性炎症, 尚未确定的发病机制^[9]。临床上患者严重的腹泻症状, 且伴有腹痛、发热、心率加快等症状会严重影响患者的生活质量。加之UC治疗过程漫长, 病情缠绵反复, 过往临床医生多使用西药灌肠治疗法, 但只能控制患者急性期的症状, 具有较高的复发率和副作用^[10]。因此临床上合理有效的溃疡性结肠炎治疗方案一直是临床医生关注的重点。UC患者多以慢性复发型和持续型为主, 且年龄相对较大或者较小的患者病情往往预后较差。对于部分患者来说, 长期使用美沙拉嗪治疗, 具有疗程长, 费用高的问题。且重度、激素依赖或耐药患者使用美沙拉嗪的治疗效果欠佳。因此临床新的治疗方法, 用以缩短UC的疗程, 提高疗效是很有必要的。

流行病学研究显示, 人类肠道中存在的1000多种细菌, 这些菌群形成的庞大的基因团体具有包括消化复杂碳水化合物、免疫功能、保护机体免受病原体的入侵、储存能量等多种功能^[11]。肠道菌群能够起到保护供体、防止病菌入侵作用, 这种作用通过竞争营养的过程, 对肠道益生菌产生的抗菌素和免疫调节分子起到了强化作用^[12]。有研究表明, UC发病过程中, 肠道菌群起着重要的作用, 而肠道菌群的紊乱可能与抗生素的滥用等因素相关^[13,14]。UC患者的肠道菌群紊乱, 具体表现为肠杆菌科增加; 硬壁菌门和拟杆菌门数量减少, 而类分节丝状杆菌能够诱导肠道T细胞的分化, 从而影响免疫反应促进UC的发生^[15]。

FMT通过重建患者肠道菌群来达到治疗疾病的作用^[16]。具体操作为, 将经过处理的健康人的粪便液灌入患者肠道^[17]。肠道菌群的种类、数量及比例可受多方面的影响, 而当肠道内病原菌超过一定数量时, 就会打破菌群平衡, 引起疾病^[18]。有研究证实结肠炎患者肠道内拟杆菌门及厚壁菌门组成减少, 而变形杆菌、放线菌等

表 1 两组治疗效果比较($n = 50, n (\%)$)

分组	显效	有效	无效	有效率
观察组	29 (58.00)	19 (38.00)	2 (4.00)	48 (96.00)
对照组	15 (30.00)	27 (54.00)	8 (16.00)	35 (70.00)
χ^2		3.0440		11.9773
P		0.0023		0.0005

表 2 两组患者治疗前后炎症因子水平比较($n = 50, \text{mean} \pm \text{SD}$)

分组	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)		IL-6 (ng/L)		CRP (mg/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	3.82 \pm 0.87	2.85 \pm 0.60 ^a	311.42 \pm 32.38	190.51 \pm 20.17 ^a	15.03 \pm 4.51	5.67 \pm 1.25 ^a
对照组	3.83 \pm 0.85	3.39 \pm 0.66 ^a	311.48 \pm 31.45	267.83 \pm 25.21 ^a	14.84 \pm 4.42	8.28 \pm 2.14 ^a
t	0.0581	4.2809	0.0094	16.9342	0.2128	7.4468
P	0.9538	0.0000	0.9925	0.0000	0.8320	0.0000

^a $P < 0.05$, 与治疗前对比。TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; CRP: C 反应蛋白; IL-6: 白介素-6。

表 3 两组患者治疗前后肠道菌群肠镜评分及Surtherland指数比较($n = 50, \text{mean} \pm \text{SD}$, 分)

分组	肠道菌群评分		肠镜评分		Surtherland指数	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	3.22 \pm 0.37	1.75 \pm 0.40 ^a	3.12 \pm 0.61	1.21 \pm 0.37 ^a	8.03 \pm 1.81	3.37 \pm 0.45 ^a
对照组	3.15 \pm 0.39	2.49 \pm 0.56 ^a	3.18 \pm 0.55	1.83 \pm 0.41 ^a	7.94 \pm 1.72	4.48 \pm 0.64 ^a
t	0.9207	7.7960	0.5166	7.9383	0.2549	10.0322
P	0.3595	0.0000	0.6066	0.0000	0.7994	0.0000

^a $P < 0.05$, 与治疗前对比。

有所增加^[19]。上述肠道菌群的失调, 使肠道免疫平衡打乱, 会损伤肠道清除细菌的功能, 导致致病菌的侵袭力加强, 局部炎症反应加剧^[20]。研究表明FMT能够对患者的肠道环境进行一个快速的改变, 改善肠道过度免疫的状态, 使得患者脓血、腹泻、腹痛等临床症状迅速得到缓解^[21]。FMT治疗对于初治及新诊断的UC患者、激素依赖性UC患者及对生物或免疫抑制治疗无效的UC患者均有显著的治疗效果, 且临床未见严重不良反应^[22]。粪菌移植是增加患者肠道有益菌、改变紊乱的肠道菌群结构、重建肠道内环境最直接的方式。粪菌移植方式可增加UC患者肠道菌群的多样性, 提供了患者肠道内丢失的有益菌, 重建肠道黏膜屏障^[23-25]。但粪菌移植的来源确定, 给药途径和用量, 如何根据患者实际情况调整肠道菌的比例和数量等问题仍需临床进一步探讨研究。

文章亮点

实验背景

临床上患者严重的症状会严重影响患者的生活质量, 且溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)具有治疗过程漫长, 病情缠绵反复等特点。以往临床医生多使用西药灌肠治疗法, 但只能控制患者急性期的症状, 具有较高的复发率和副作用。因此临床上合理有效的溃疡结肠炎治疗方案一直是临床医生关注的重点。

实验动机

粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)治疗对于初治及新诊断的UC患者、激素依赖性UC患者及对生物或免疫抑制治疗无效的UC患者均有显著的治疗效果, 且临床未见严重不良反应。临床新的治疗方法, 用以缩

短UC的疗程, 提高疗效是很有必要的。

实验目标

本文分析UC患者FMT后胃肠道功能及肠道菌群的影响。

实验方法

分别于治疗前后测定两组患者相关炎症因子(TNF- α 、IL-6、CRP)。采用Sutherland 指数评分、肠道菌群评分和肠镜评分对两组患者的胃肠道功能及肠道菌进行比较。选择spss 18.0进行数据统计, 数据采用mean \pm SD来表示, 计量资料的比较采用t检验, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 等级资料的比较采用秩和检验进行。

实验结果

观察组总有效率96.00%显著高于对照组的70.00% ($P<0.05$), 两组经治疗后TNF- α 、IL-6、CRP水平明显降低($P<0.05$), 观察组明显低于对照组($P<0.05$)。观察组肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数治疗后明显降低($P<0.05$); 明显低于对照组水平($P<0.05$)。两组治疗后肠道菌群、肠镜评分及Sutherland指数有显著差异。

实验结论

采用FMT治疗UC患者, 能明显改善患者胃肠道功能及肠道菌群评分。粪群移植方式为患者提供了肠道内丢失的有益菌, 能够帮助重建肠道黏膜屏障。

展望前景

但在今后的研究中, 还需要具体确定粪群移植的来源、给药途径和用量, 并根据患者实际情况调整肠道菌的比例和数量, 因此对上述问题仍需临床进一步探讨研究。

4 参考文献

- 李静, 陈卫刚. 肠道菌群治疗溃疡性结肠炎的研究进展. 实用医学杂志 2017; 33: 4189-4192 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.24.043]
- 张德平, 蒋彩华. 美沙拉嗪联合双歧杆菌三联活菌治疗溃疡性结肠炎患者的疗效分析. 临床医药文献电子杂志 2017; 4: 7284; 7286 [DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.37.118]
- 张玲, 李昌平, 姜政, 张秉强, 罗玲. 双歧杆菌三联活菌联合英夫利昔单抗治疗中重度溃疡性结肠炎的临床观察. 中国药房 2017; 28: 629-632 [DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.05.14]
- 银东智, 沈世强, 袁又能, 左燕妮, 左健, 张险峰, 汪燕舞, 王珍. 溃疡性结肠炎相关结直肠癌的诊断与治疗. 中华消化外科杂志 2018; 17: 637-639 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.06.018]
- 欧阳满照, 唐立, 姚学清, 陆岩, 伍锦浩, 张伟杰, 廖天佑, 罗振涛. Twist1蛋白在溃疡性结肠炎及其相关性结直肠癌的表达及意义. 暨南大学学报(自然科学与医学版) 2018; 39: 256-261 [DOI: 10.11778/j.jdx.2018.03.011]
- 罗丹, 仝战旗. 中医药治疗溃疡性结肠炎的临床研究进展. 医学

- 综述 2017; 23: 336-339; 343 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.02.029]
- 刘鑫, 闵敏, 刘岩, 沈伟. 粪菌移植治疗溃疡性结肠炎的临床进展. 中国医刊 2017; 52: 23-26 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1070.2017.01.009]
- 骆洋, 俞旻皓, 陈建军, 秦骏, 黄轶洲, 钟鸣. 腹腔镜与开腹全结肠切除回肠储袋肛管吻合术治疗溃疡性结肠炎的临床疗效分析. 中华消化外科杂志 2018; 17: 929-934 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.09.011]
- 施煜燕, 周建波. 老年溃疡性结肠炎患者炎症细胞因子、T淋巴细胞亚群和凝血功能变化. 中国老年学杂志 2018; 38: 382-384 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.02.054]
- 张腾辉, 朱维铭. 重症溃疡性结肠炎的手术时机. 中华消化外科杂志 2018; 17: 901-904 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.09.005]
- 陈浩, 徐速, 颜帅, 陈丙学, 张波, 卢岑, 孙晖, 周星鑫, 曾莉. 基于IL-6/STAT3信号通路研究甘草泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制. 南京中医药大学学报 2017; 33: 627-632 [DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2017.0627]
- 杨先礼, 徐明婧, 雷公藤多苷对溃疡性结肠炎大鼠炎症因子及结肠组织丝裂原p38活化蛋白激酶和核因子- κ Bp65蛋白表达的影响. 中国临床药理学杂志 2018; 34: 975-978 [DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2018.08.017]
- 苗鲁杰, 严淑, 王扬, 庄耘, 陈建平. 溃疡性结肠炎合并血液系统病变7例临床分析并文献复习. 中国现代医学杂志 2017; 27: 135-138 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.04.028]
- 毛堂友, 史瑞, 谢添弘, 郭一, 陈晨, 石磊, 贾博宜, 刘佳丽, 谭祥, 韩亚飞, 丁龙华, 李军祥. 清肠温中方对溃疡性结肠炎大鼠干扰素 γ 诱导蛋白10的影响. 世界科学技术-中医药现代化 2017; 19: 1836-1840 [DOI: 10.11842/wst.2017.11.012]
- 吕飞, 田书芳, 卢光新. 溃疡性结肠炎患者中神经肽Y的检测意义分析. 中国实验诊断学 2017; 21: 967-970
- 倪杰明. 肠黏膜屏障损伤在溃疡性结肠炎的作用研究进展. 安徽医科大学学报 2018; 53: 815-818 [DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.034]
- 王龙, 胡翠, 王晶, 丁少杭, 许建明, 梅俏. 溃疡性结肠炎患者尿sCD14水平的检测及临床分析. 安徽医科大学学报 2017; 52: 1258-1260 [DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.08.036]
- 张卿, 魏引廷, 陈允旺. 清溃愈疡方保留灌肠治疗大肠湿热型溃疡性结肠炎的临床疗效研究. 中国中西医结合急救杂志 2018; 25: 511-514 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.05.015]
- 王梅英, 邓丽华. 溃疡性结肠炎相关性结直肠癌危险因素分析及延伸网络护理效果评价. 现代消化及介入诊疗 2017; 22: 68-70 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2017.01.024]
- 张祺嘉钰, 张恩户, 朱星枚, 孙毅, 黄芪多糖与苦参碱不同配比对溃疡性结肠炎模型大鼠的治疗作用及机制研究. 中国药科大学学报 2018; 49: 632-636 [DOI: 10.11665/j.issn.1000-5048.20180517]
- 薛丹, 蔡敬宙, 韩棉梅, 张丽华, 李立平. 俞募配穴温针灸法在治疗溃疡性结肠炎中的应用. 广东医学 2018; 39: 2377-2380
- 王慧, 毛晶磊, 吴艳敏, 王琪, 罗晓庆, 官杰. 真人养脏汤对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜屏障功能的保护作用. 中国病理生理杂志 2017; 33: 2053-2059 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2017.11.021]
- 张汉超, 王朋川, 刘衡, 耿福能, 马秀英, 何苗, 张成桂, 李玥. 康复新液缓解三硝基苯磺酸致大鼠溃疡性结肠炎及其机制研究. 中国药理学通报 2018; 34: 496-501 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2018.04.012]
- 文艺, 翁湘涛, 胡月, 陈新林, 刘凤斌. 参苓白术散方联合西药治疗溃疡性结肠炎的系统评价和Meta分析. 广州中医药大学学报 2017; 34: 274-281 [DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2017.02.030]
- 殷银霞, 刘永华, 刘香玉, 李海龙, 藿兴遥, 程小丽, 梁建庆, 吴玉泓. 久泻灵颗粒对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎大鼠IL-2、IL-4、IL-10表达的影响. 中国老年学杂志 2017; 37: 5766-5768 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.23.009]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



1 投稿总则

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

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

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

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

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

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: yj.ma@wjgnet.com

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应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5

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

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

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

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

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

3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法

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

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献

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

4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

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

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

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

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

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

5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

