

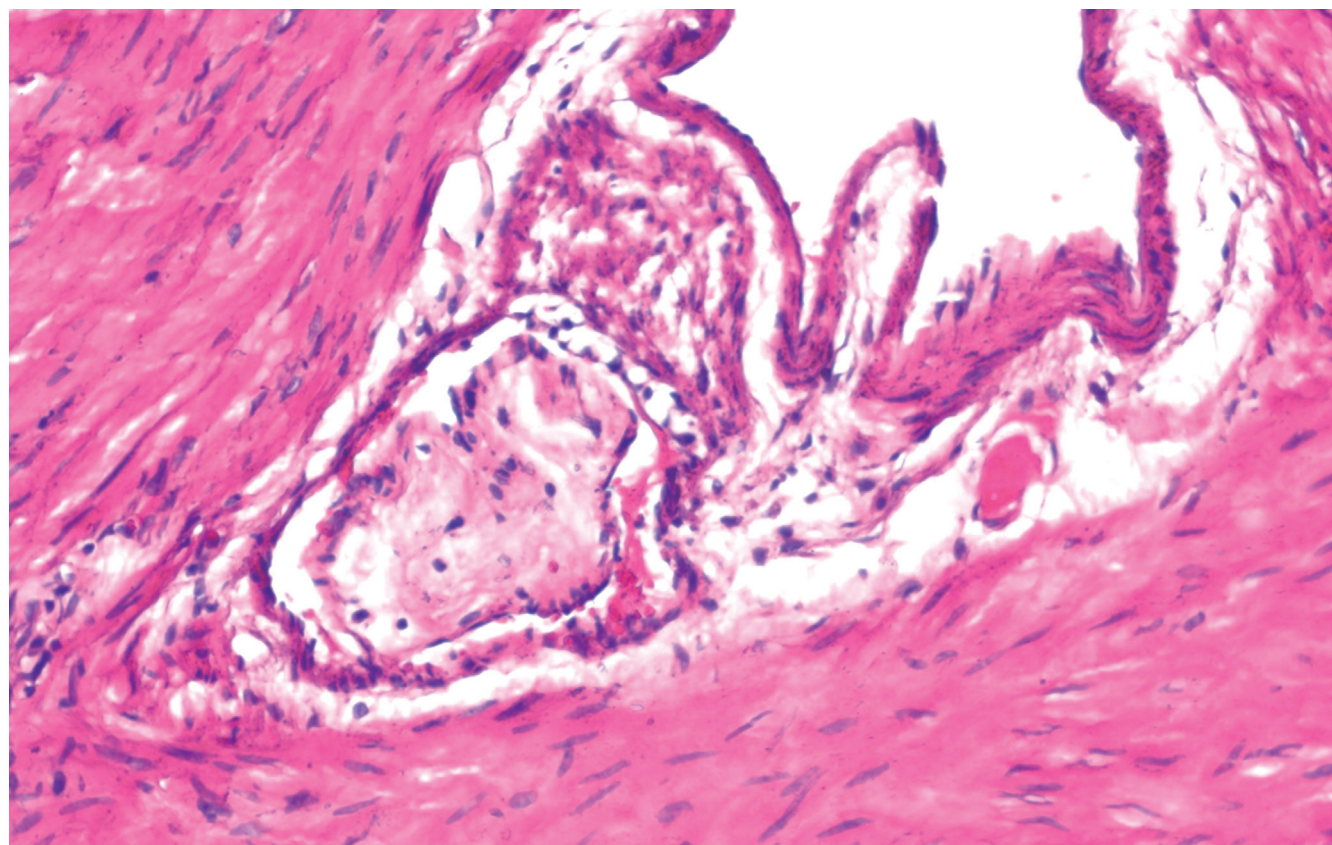
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2011 年 8 月 8 日 第 19 卷 第 22 期 (Volume 19 Number 22)**



**22/2011**

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《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。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

### 总顾问

陈可冀教授  
黄象谦教授  
黄志强教授  
王宝恩教授  
危北海研究员  
吴孟超教授  
杨春波教授  
周殿元教授

### 名誉总编辑

潘伯荣教授

### 社长/总编辑

马连生教授

### 副总编辑

纪小龙教授  
姜洪池教授  
王苑本教授  
吴云林教授  
徐克成教授  
杨思凤教授  
姚希贤教授  
岳茂兴教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 常务编委

程英升教授  
范学工教授  
高毅主任医师  
江学良主任医师  
李岩教授  
刘连新教授  
吕宾教授  
罗和生教授  
聂青和教授  
王小众教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
苒新明教授  
陈国忠副主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授

邓长生教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊晓明主任医师  
房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
高峰副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
何松教授  
洪天配教授  
侯晓华教授  
胡伏莲教授  
胡和平主任医师  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
霍丽娟教授  
季国忠教授  
江米足主任医师  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李定国教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
李玉明教授  
廖家智副主任医师  
林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘铁夫教授  
刘莹副主任医师  
刘占举教授  
陆伦根教授  
吕志武教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛高平教授

孟庆华教授  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
朴云峰教授  
秦成勇教授  
任粉玉副教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈守荣教授  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
宋于刚教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
宛新建副教授  
王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王俊平教授  
王晓艳副教授  
闻勤生教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐可树教授  
许乐主任医师  
杨建民教授  
姚树坤教授  
叶红军主任医师  
张春清教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张小晋主任医师  
张晓岚教授  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永副教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
周国雄主任医师  
周晓东副教授  
周宇教授  
朱春兰主任医师  
邹晓平主任医师  
诸琦教授  
于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪巍副主任医师

蔡开琳副教授  
蔡三军主任医师  
曹杰主任医师  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈力教授  
陈立波教授  
陈凇教授  
陈强谱教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程爱群主任医师  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
董明教授  
杜成友教授  
杜顺达副主任医师  
房林副教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅志仁主任医师  
高成新教授  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
蒋龙元副教授  
金山副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李杰教授  
李奇林教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔主任医师  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超副教授  
刘建教授  
刘颖斌主任医师  
卢实春教授  
陆才德教授  
陆云飞教授  
禄韶英副主任医师  
吕明德教授  
吕云福教授  
彭吉润主任医师  
彭心宇教授  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民副主任医师  
邱宝安主任医师  
邱双健副教授  
邱伟华副主任医师  
仇毓东副教授  
裘正军教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
沈世强教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君副研究员  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙学英教授  
孙延平副主任医师  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤恢焕教授  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
田晓峰教授  
汪波副主任医师

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

汪根树副教授  
王春友教授  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王广义教授  
王健生教授  
王鲁副教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴河水教授  
吴健雄教授  
吴金术教授  
吴泰璜教授  
吴志勇教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
谢晓华副教授  
邢光明教授  
徐大华主任医师  
徐迅迪教授  
徐洪副教授  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
严律南教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨维良教授  
杨银学教授  
杨尹默教授  
伊力亚尔·夏合丁教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
于则利教授  
禹正杨副教授  
郁宝铭教授  
元云飞教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张群华教授  
张水军教授  
张宗明教授  
赵刚副教授

智绪亭教授  
周伟平教授  
邹小明教授

### 消化感染病学

陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈仕珠主任医师  
陈志辉副主任医师  
党双锁教授  
丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
高润平教授  
高泽立副教授  
高志良主任医师  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郝春秋副教授  
何生松教授  
胡国信副主任医师  
靳雪源副主任医师  
林菊生教授  
刘正稳教授  
宁琴教授  
牛俊奇教授

钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
唐霓副研究员  
唐晓鹏教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
魏来教授  
吴建国教授  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
杨林副研究员  
姚鹏副教授  
张继明教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵连三教授  
赵秀英副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师  
  
消化中医药学  
蔡淦教授

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘平教授  
刘绍能主任医师  
龙致贤教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
沈洪教授  
司富春教授  
唐志鹏研究员  
王富春教授  
王新月教授  
邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲副教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
陈公琰主任医师  
陈克能教授  
代智副研究员  
华海清教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘彬彬副研究员  
刘云鹏教授  
秦叔逵教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
谢丹教授  
熊斌教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
陈克敏教授  
官泳松教授  
韩新巍教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师

倪才方教授  
施海彬教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐爱民副教授  
徐辉雄教授  
徐克教授  
严惟力副教授  
杨业发教授  
杨建勇教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授  
郝俊鸣副主任医师  
茅爱武教授  
潘林娜教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴硕东教授  
袁友红副教授

### 消化中西医结合学

唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
张春虎副教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
曹师承教授  
陈敬贤教授  
陈秋生教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
樊红教授  
高春芳研究员  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
李东辉教授  
李刚教授  
李杰副教授  
李君文研究员  
李永哲副研究员  
李增山副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授

梅林教授  
钱其军研究员  
钱睿哲教授  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
田文静副教授  
田颖刚副研究员  
汪思应教授  
王钦红教授  
魏继福副研究员  
吴道澄教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
姚登福教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
张青云研究员  
张学教授  
赵平副教授  
周南进研究员  
周士胜教授  
周素芳教授  
周晓东研究员  
周晓武副主任医师  
朱进霞教授

### 消化病理学

杜祥教授  
李菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
吕宁主任医师  
马大烈教授  
门秀丽教授  
潘兴华副主任医师  
孙伟副研究员  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
赵景民教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2011 年 8 月 8 日 第 19 卷 第 22 期 (总第354期)

## 述 评

2311 超声技术在胃间质瘤诊断和治疗中的应用

张晓丽, 钱林学

## 基 础 研 究

2316 大蒜新素、双黄连对小鼠MHV-3性暴发型肝炎模型的作用

易文龙, 方峰, 宁琴, 舒赛男, 李革

2322 中药清肠栓对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin的影响

卢璐, 谢建群, 郭春荣

## 临 床 研 究

2328 食管鳞癌组织及周围正常食管黏膜组织差异表达基因的筛选

赵路, 杨娟, 于婧, 张红, 高冬玲, 陈奎生

## 文 献 综 述

2334 STAT3信号通路在胃肠道肿瘤发生发展中的作用

蔡琴伟, 黄缘

2340 胆汁酸与肝再生

梁科伟, 袁晟光

2346 体质性高胆红素血症及其分子诊断

周艳, 揭盛华

2353 胰腺导管内乳头状黏液瘤的研究进展

郭子皓, 张杰, 郝建宇

## 研 究 快 报

2358 siRNA抑制NF- $\kappa$ B p65对Bcl-2及肝癌细胞凋亡的影响

赵心恺, 宁巧明, 孙晓宁, 田德安

2363 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 JAK-STAT信号通路STAT3的影响

郭昱, 霍瑞静, 姚金锋

2368 微波消融联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠结肠癌移植瘤的治疗

林海, 王云海

## 临 床 经 验

2372 丙型肝炎患者IL28B基因型和HCV基因型对抗病毒治疗的影响

陶剑, 刘俊, 雷华, 普冬

2376 经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水14例

傅念, 阳学风, 胡杨, 吴清, 彭飞

2381 逆行胆胰管造影对急性胰腺炎的疗效和转归的影响

张俊旺, 李素平, 师水生, 毓珊, 齐莹

2386 血清胰蛋白酶原-2对胰腺癌的诊断价值

崔婷婷, 郭汉斌, 李浩然, 马丽, 李冰, 杜因鹏, 曹建彪

2391 腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病26例

殷骏, 毛忠琦, 周晓俊, 徐露, 朱政, 陈昕

2395 序贯疗法和四联疗法对幽门螺杆菌初治失败患者的疗效评价

张春红, 魏金文, 程兆明, 吴莺, 黄红梅

2399 针灸治疗消化性溃疡的Meta分析

陈程, 崔海福, 严兴科, 王富春

## 病 例 报 告

2405 胃肌纤维瘤1例

张洪生, 王丽, 余英豪, 黄培生, 魏小杰, 高爱明

	<p>2408 自身免疫性胆管炎合并隐匿性乙型肝炎1例 曾经章, 杨京, 张权, 李伟</p> <p>2411 儿童十二指肠肠壁血肿3例 刘菁华, 李婷婷, 韩燕乔</p>
附 录	<p>2414 《世界华人消化杂志》投稿须知</p> <p>2419 2011年国内国际会议预告</p>
志 谢	2420 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	<p>2321 《世界华人消化杂志》外文字符标准</p> <p>2327 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》</p> <p>2339 《世界华人消化杂志》出版流程</p> <p>2345 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.625</p> <p>2352 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录</p> <p>2362 招聘生物医学编辑部主任</p> <p>2371 《世界华人消化杂志》参考文献要求</p> <p>2375 WJG总被引频次排名位于第174名</p> <p>2380 《世界华人消化杂志》修回稿须知</p> <p>2385 WJG成功通过评审被PMC收录</p> <p>2390 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》</p> <p>2398 《世界华人消化杂志》正文要求</p> <p>2404 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标</p> <p>2413 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费</p>
封面故事	<p>张洪生, 王丽, 余英豪, 黄培生, 魏小杰, 高爱明. 胃肌纤维瘤1例.</p> <p>世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2405-2407</p> <p><a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2405.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2405.asp</a></p>
本期责任人	<p>编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李薇; 审核编辑 李军亮;</p> <p>形式规范 马连生</p>

<p><b>世界华人消化杂志</b></p> <p><b>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</b></p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2011-08-08 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮 期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p><b>编辑</b> 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>出版</b> 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>印刷</b> 北京科信印刷厂</p> <p><b>发行</b> 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p><b>订购</b> 全国各地邮电局</p> <p><b>邮购</b> 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p>	<p>世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《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.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<a href="http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx">http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx</a>), 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、编者之间的信息反馈交流.</p> <p><b>特别声明</b> 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.</p> <p>2011年版权归世界华人消化杂志所有</p>
---	---	---

# World Chinese Journal of Digestology

## August 2011 Contents in Brief Volume 19 Number 22

<b>EDITORIAL</b>	2311 Application of ultrasonography in the diagnosis and treatment of gastric stromal tumors <i>Zhang XL, Qian LX</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	2316 Preventive and therapeutic effects of Shuanghuanglian and allitride against experimental murine hepatitis virus type 3 infection <i>in vivo</i> <i>Yi WL, Fang F, Ning Q, Shu SN, Li G</i> 2322 Qingchang Suppository up-regulates the expression of tight junction proteins ZO-1 and occludin in experimental ulcerative colitis in rats <i>Lu L, Xie JQ, Guo CR</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	2328 Screening of genes differentially expressed between human esophageal squamous cell carcinoma and tumor-adjacent normal tissue using gene chip technology <i>Zhao L, Yang J, Yu J, Zhang H, Gao DL, Chen KS</i>
<b>REVIEW</b>	2334 Role of STAT3 in the development and progression of gastroenteric tumors <i>Cai QW, Huang Y</i> 2340 Bile acids and liver regeneration <i>Liang KW, Yuan SG</i> 2346 Hereditary hyperbilirubinemia and its molecular diagnosis <i>Zhou Y, Jie SH</i> 2353 Progress in research of intraductal papillary mucinous neoplasms <i>Guo ZH, Zhang J, Hao JY</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	2358 SiRNA-mediated inhibition of NF- $\kappa$ B p65 down-regulations Bcl-2 expression and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines <i>Zhao XK, Ning QM, Sun XN, Tian DA</i> 2363 Effect of baicalin on the JAK-STAT3 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 <i>Guo Y, Huo RJ, Yao JF</i> 2368 Therapeutic effect of microwave ablation combined with injection of 5-fluorouracil in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts <i>Lin H, Wang YH</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	2372 Association of IL28B SNP and HCV genotypes with response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C <i>Tao J, Liu J, Lei H, Pu D</i> 2376 Efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation via the hepatic artery in combination with octreotide in the management of refractory ascites in patients with hepatic cirrhosis <i>Fu N, Yang XF, Hu Y, Wu Q, Peng F</i> 2381 Efficacy of ERCP in the management of acute pancreatitis <i>Zhang JW, Li SP, Shi SS, Yu S, Qi Y</i> 2386 Diagnostic value of serum trypsinogen-2 in patients with pancreatic cancer <i>Cui TT, Guo HB, Li HR, Ma L, Li B, Du QP, Cao JB</i> 2391 Treatment of type 2 diabetes mellitus by laparoscopic gastric bypass: an analysis of 26 cases <i>Yin J, Mao ZQ, Zhou XJ, Xu L, Zhu Z, Chen X</i> 2395 Sequential therapy versus quadruple therapy in the management of <i>Helicobacter pylori</i> infection after initial treatment failure <i>Zhang CH, Wei JW, Cheng ZM, Wu Y, Huang HM</i>

	2399 A meta-analysis of randomized controlled trials assessing efficacy and safety of acupuncture and moxibustion in the treatment of peptic ulcer <i>Chen C, Cui HF, Yan XK, Wang FC</i>
<b>CASE REPORT</b>	2405 Myofibroma of the stomach: a case report <i>Zhang HS, Wang L, Yu YH, Huang PS, Wei XJ, Gao AM</i> 2408 Concomitant autoimmune cholangitis and occult hepatitis B virus infection: a case report <i>Zeng JZ, Yang J, Zhang Q, Li W</i> 2411 A report of three cases of duodenal wall hematoma in children <i>Liu JH, Li TT, Han YQ</i>
<b>APPENDIX</b>	2414 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 2419 Meeting events calendar in 2011
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	2420 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
<b>COVER</b>	<i>Zhang HS, Wang L, Yu YH, Huang PS, Wei XJ, Gao AM.</i> Myofibroma of the stomach: a case report. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2011; 19(22): 2405-2407 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2405.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2405.asp</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Wei Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** August 8, 2011

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology  
of Shanxi Province

### SPONSOR

Taiyuan Research and Treatment Center  
for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie,  
Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

### EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
Telephone: +86-351-4078656  
E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

### PRINTING

Beijing Kexin Printing House

### PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
Telephone: +86-351-4078656  
E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

### OVERSEAS DISTRIBUTOR

Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)  
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

### HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

### EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

### SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

### SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue  
RMB 2016 Yuan for one year

### CSSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

### COPYRIGHT

© 2011 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

Copyright © 2011 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

# 超声技术在胃间质瘤诊断和治疗中的应用

张晓丽, 钱林学

张晓丽, 钱林学, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科 北京市 100050

作者贡献分布: 本文由张晓丽撰写; 由钱林学教授审校.

通讯作者: 钱林学, 教授, 主任医师, 100050, 北京市, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科. qianlinxue2002@yahoo.com.cn  
电话: 010-63139826

收稿日期: 2011-06-01 修回日期: 2011-07-20

接受日期: 2011-07-22 在线出版日期: 2011-08-08

## Application of ultrasonography in the diagnosis and treatment of gastric stromal tumors

Xiao-Li Zhang, Lin-Xue Qian

Xiao-Li Zhang, Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Correspondence to: Professor Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China. qianlinxue2002@yahoo.com.cn

Received: 2011-06-01 Revised: 2011-07-20

Accepted: 2011-07-22 Published online: 2011-08-08

### Abstract

Gastric stromal tumors are common mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract. Common clinical manifestations include abdominal pain, bowel obstruction, gastrointestinal bleeding, and abdominal mass. Gastric stromal tumors show a histological feature of spontaneous differentiation. Ultrasound examination plays an important role in the diagnosis and treatment of gastric stromal tumors. Here we review the application of ultrasonography in the diagnosis and treatment of gastric stromal tumors.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Endoscopic ultrasonography; Gastric stromal tumors

Zhang XL, Qian LX. Application of ultrasonography in the diagnosis and treatment of gastric stromal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2311-2315

### 摘要

胃间质瘤是消化系统常见的间叶组织肿瘤, 临床表现包括腹痛、肠梗阻、消化道出血、腹部包块等, 组织学上具有非定向分化特性, 超

声技术在其诊断和治疗中起着重要的作用, 本文就其应用现状作一综述.

关键词: 超声造影; 超声内镜; 胃间质瘤

张晓丽, 钱林学. 超声技术在胃间质瘤诊断和治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2011; 19(22): 2311-2315

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2311.asp>

### 0 引言

胃肠道间质瘤的概念由Mazur和Clark<sup>[1]</sup>于1983年提出, 是消化系常见的间叶组织肿瘤. 各国学者报道的发病率不尽相同, 但总体上, 发病率不超过2/10万<sup>[2-4]</sup>. 间质瘤可发生于胃肠道的各个部位, 还包括网膜、肠系膜、腹膜后、膀胱以及子宫等少见部位<sup>[5-7]</sup>, 其中胃间质瘤(gastric stromal tumor, GST)约占60%-70%<sup>[8]</sup>, 好发于中老年, 无种族及性别差异. GST临床表现无特异性, 与肿瘤的大小、部位、是否引起梗阻以及侵袭危险程度等相关, 包括腹痛、肠梗阻、消化道出血、腹部包块等. 目前观点认为, GST具有潜在恶性, 早期诊断和治疗是提高患者生存率的主要途径, 超声技术在其诊治中起着重要作用, 本文将就其应用作一综述.

### 1 GST发病机制与病理学特点

GST主要发病机制为*c-kit*基因突变, 导致c-Kit蛋白(即CD117)活化, 进而引发细胞增殖失控和凋亡抑制<sup>[9,10]</sup>, 他在细胞质及细胞膜的阳性表达率可达90%以上<sup>[11]</sup>. GST另外一个重要免疫标志物为CD34, 其阳性表达率约70%<sup>[12]</sup>. 组织病理学可分为梭形细胞型、上皮样细胞型及混合型<sup>[8,13]</sup>. 生长方式包括: 腔内型、腔外型、壁内型、混合型, 以腔外型多见, 占86%<sup>[14]</sup>.

### 2 GST的生物学行为

GST良恶性的诊断标准尚不统一, 是一直以来困扰病理和临床医师的难题. 国外有学者根据肿瘤的大小及核分裂相将GST分为良性、恶性及

### ■背景资料

GST是常见的间叶组织肿瘤, 及时发现、及早确诊是取得好的治疗效果、提高患者生存率的重要途径, 随着超声技术的不断发展, 在GST诊治中起着越来越重要的作用.

### ■同行评议者

白彬, 主任医师, 哈尔滨医科大学附属第二医院放射线科; 胡红杰, 主任医师, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院放射科; 徐辉雄, 教授, 同济大学附属第十人民医院超声科

## ■研发前沿

如何在早期及时发现GST, 并对其良、恶进行判断, 是治疗的重要依据, 也是超声技术在该领域应用的重点。如何利用多种超声技术为临床提供准确的诊断依据和有效的治疗手段是亟待研究的问题。

表 1 确定局限性GST危险程度的Fletcher分级方案(2002年)

Fletcher分级	肿瘤大小(cm)	核分裂(/50HPF)
极低	<2	<5
低	2-5	<5
中	<5	6-10
	5-10	<5
高	>5	>5
	>10	任意
	任何	>10

表 2 GST其他影像学检查方法对比

	优点	缺点
X线钡餐造影	易于显示腔内病变和黏膜结构	小病变、腔外病变易漏诊
CT	分辨率高; 可协助定位; 判断有无转移	微小病变易漏诊; 部分病变定性困难
胃镜	直观, 易于发现病变	不能显示腔外病变; 活检难度大, 阳性率低
血管造影	可协助良恶性诊断	操作复杂

交界性<sup>[15,16]</sup>, 但后来研究发现体积很小的GST也会发生复发或转移, 随着病例的积累, 人们对他的认识不断更新, 目前观点认为所有GST均具有恶性潜能, 只是侵袭危险程度不同, 即肿瘤复发转移的可能性有所区别。按照Fletcher等<sup>[17]</sup>2002年提出的标准, 可综合肿瘤大小和核分裂两方面因素将GST侵袭危险度分为极低、低、中、高4级(表1), 这种分级评定方法更为全面合理。恶性GST常见转移部位是肝脏和腹腔, 可为血行及种植转移, 淋巴结转移不常见。

## 3 GST的影像学诊断方法

影像学检查是GST术前诊断的主要手段, 包括X线钡餐造影、CT、胃镜以及超声等<sup>[18-20]</sup>(表2)。与前几种影像学检查相比, 超声以实时动态、多角度、可反复进行等优点在GST的诊断和治疗中起着重要作用, 包括常规彩色多普勒超声, 超声造影, 超声内镜等, 在临床得到广泛应用。

## 4 常规彩色多普勒超声

常规彩色多普勒超声采用饮水、加压、改变体位等方法, 减少胃内气体干扰, 可以发现胃内较大的肿瘤。GST的声像图特征为: (1)好发于胃底和胃体<sup>[21]</sup>; (2)大小不一, 且瘤体越大恶性程度越高, 国内学者报道瘤体直径 $\geq 5$  cm者为高侵袭危险性<sup>[21,22]</sup>。国外文献报道, 瘤体直径 $\geq 5.5$  cm是潜在恶性的诊断依据之一<sup>[17]</sup>; (3)形态多为类圆形、椭圆形, 亦可为不规则形或分叶状<sup>[23]</sup>; (4)肿块多呈低回声, 可伴有液化坏死及囊变, 有报道, 液化坏死可作为GST一个独立预后因素<sup>[24,25]</sup>; 少数病例内可见点片状钙化; (5)肿瘤血供丰富程度不一, 频谱无特异性; (6)恶性程度高者可伴有肝内或腹腔转移, 应常规腹部多脏器、多切面扫描, 避免漏诊。常规彩色多普勒超声检查方便, 患者易于接受, 但对较大肿瘤较难进行精确定位。

## 5 超声造影

5.1 经口服超声造影剂法 经口服超声造影剂法是指口服胃超声造影剂充盈胃腔, 有利于超声束穿过, 使胃结构及其病变显示的更加清晰。口服胃超声造影剂一般分为无回声型和有回声型: 无回声型多为水溶性, 在胃内停留时间较短, 一般15 min, 胃内停留量<50%; 有回声型有一定的黏稠度, 进入胃腔呈均质有回声状, 在胃内停留时间较长, 可长达30-60 min, 能为超声探查提供足够时间, 并能有效清除胃前后壁的声学伪像, 易于显示胃壁低回声及无回声病变。有报道<sup>[26]</sup>应用“胃窗85”对GST患者行超声造影检查, 可清晰显示胃壁的5层结构, 明确了GST以腔外生长型为主, 良、恶性肿瘤的大小、形态、边界、回声分布及动脉阻力指数方面的差异与常规彩色多普勒超声所见大致相同。口服超声造影剂法主要优势在于能更显著的减少胃内气体及黏液的干扰, 提高图像分辨率及质量, 进而提高超声诊断GST阳性率。

5.2 经外周静脉注射造影剂法 经外周静脉注射造影剂法是指利用造影剂使背向散射回声增强, 提高图像分辨力, 进而提高超声诊断的敏感性和特异性。目前将这项技术应用于GST诊断的文献较少。王光霞等<sup>[27]</sup>报道经肘静脉团注造影剂SonoVue后, 不同病理类型的恶性胃肠道肿瘤, 均表现出“快速显影”的特点, 其中恶性GST表现出“快进慢出”的时相特征。经静脉超声造影法在评价肿瘤血流灌注方面有优势, 与常规彩色多普勒超声相比, 能更好地显示体积小、位置深或血流相对不丰富的肿瘤内血流, 特别是受组织运动或呼吸影响时<sup>[28]</sup>。并且能更清楚地发现合并溃疡及液化坏死病例, 在GST良恶性鉴别诊断方面有一定发展前景。

5.3 超声双重造影法 超声双重造影法<sup>[29]</sup>是在口服胃超声造影剂充盈胃腔的基础上进行经静脉超声造影, 既可有效减少胃内气体干扰, 又能清

## ■相关报道

Ando等报道, 单纯超声内镜诊断恶性GST的准确率为78%, 应用EUS-FNA联合免疫组织化学检查诊断准确率可提升至91%。

晰显示病变的形态及血流灌注. 超声双重造影下, 正常胃壁显像呈动态过程, 可分为动脉期、门脉期、实质期. 动脉期和实质期胃壁呈3层结构, 内层轻增强, 中层低增强, 外层明显增强, 门脉期胃壁呈单层结构, 等增强, 这与增强CT下胃壁表现及解剖层次定位基本一致<sup>[30]</sup>. 俞耀军等<sup>[31]</sup>将超声双重造影法应用于胃癌术前评价, 进行TNM分期有较高的准确率, 具有较好的临床应用价值. 目前尚未查到其应用于GST诊断的报道, 可作为今后研究的方向.

### 6 三维超声

三维超声可根据诊断需要进行旋转和移位, 对图像进行重建, 使图像更清晰, 立体感强, 有助于了解病变范围、浸润程度及表面情况<sup>[32]</sup>, 但尚未查到其应用于GST诊断的文献报道.

### 7 超声弹性成像

超声弹性成像<sup>[33]</sup>是对组织施加一个内部或外部的激励, 组织的位移、应变、速度分布等产生一定的差异, 结合数字处理系统提供组织内部的情况, 能更清楚的显示、定位病变及鉴别病变性质, 其在体积较大的GST诊断和鉴别中可能有一定帮助.

### 8 超声内镜

**8.1 超声内镜检查** 常规内镜下, GST具有黏膜下肿瘤的共同特点, 呈半球状隆起, 表面光滑, 可有黏膜桥形皱襞等, 但特异性差. 超声内镜结合内镜和超声的双重优势, 利用高频超声能够精确探查肿瘤的起源层次、大小、边界、回声方式及周围淋巴结等. 超声内镜可清晰显示胃壁的5层结构, 从内向外依次为黏膜界面和黏膜浅层(高回声)→黏膜肌层(低回声)→黏膜下层(高回声)→固有肌层(低回声)→浆膜层(高回声). 不同病变的起源层次和回声特点不同, 如脂肪瘤(黏膜下层, 强回声)、静脉瘤(黏膜下层, 无回声), 异位胰腺(黏膜下层, 低回声间有点状强回声). GST有较典型的超声内镜图像特征: 多起源于胃壁固有肌层, 少数起源于黏膜肌层<sup>[34]</sup>, 呈低回声, 肿瘤较大时内部回声不均匀, 可有点片状高回声、强回声、不规则回声或无回声区. Chak等<sup>[35]</sup>报道肿瘤直径大于4 cm、边界不规则、内部伴强回声点及囊性变是恶性GST的表现, 后三者中同时具备两个以上, 诊断恶性GST的敏感性为80%-100%. Palazzo等<sup>[36]</sup>认为, 肿瘤

直径小于3 cm、边界规则、内部回声均匀是良性GST表现; 肿瘤边界不规则、囊性变<sup>[37]</sup>、淋巴结具有恶性特征是恶性GST最重要的特征, 且至少具备上述一项时, 诊断敏感性、特异性分别为91%、88%. Okai等<sup>[38]</sup>发现, 恶性GST的倍增时间为9.3 mo, 良性GST的倍增时间则可达18.7 mo, 认为较短的倍增时间是恶性GST的特征. 金震东等<sup>[39]</sup>发现超声图像纹理分析参数的测定也有助于判断GST性质. 超声内镜是诊断黏膜下肿瘤最准确的影像学方法, 对GST的诊断有着不可替代的优势.

**8.2 超声内镜引导下穿刺活检** 虽然GST有较典型的超声内镜图像特征, 但其较难与胃平滑肌瘤、神经纤维瘤等鉴别. GST的最终临床诊断和生物学行为的判断仍有赖于病理, 因此必须获得足够的病理标本联合免疫组织化学检查以指导治疗. 因GST质地较硬, 其表面黏膜容易滑动, 普通内镜取活检的阳性率较低. 常见的超声内镜引导下Trucut活检(endoscopic ultrasound-guided trucut biopsy, EUS-TCB)<sup>[40]</sup>及超声内镜引导下细针穿刺活检术(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy, EUS-FNA)是两种常用的活检方法, 后者始于20世纪90年代, 有学者认为其优于前者<sup>[41]</sup>, 国内已经有很多医院开展, 技术相对成熟. EUS-FNA多采用纵轴超声内镜, 操作前先做标准超声内镜检查, 了解病灶位置及与周围组织结构关系, 观察穿刺目标内部或周围的血流情况, 选择最佳穿刺路径. Ando等<sup>[42]</sup>报道, 单纯超声内镜诊断恶性GST的准确率为78%, 应用EUS-FNA联合免疫组织化学检查诊断准确率可提升至91%. Vander Noot等<sup>[43]</sup>报道, EUS-FNA对胃肠道肿瘤诊断的敏感性、特异性、准确性分别为89%、88%和89%, 且出血、感染、穿孔等并发症的总发生率在1%以下<sup>[44,45]</sup>. 因此, EUS-FNA是目前GST明确诊断及良恶性鉴别更有效、更安全的方法<sup>[46]</sup>.

**8.3 超声内镜指导下治疗** GST的治疗方法主要包括外科手术、腹腔镜、消化内镜等. 一般认为, 起源于消化系1-3层的微小病变可进行内镜下治疗. 目前国内外研究较多的包括内镜下套扎治疗<sup>[47-49]</sup>、内镜下黏膜切除术(endoscopic membrane resection, EMR)<sup>[50]</sup>及内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection with ligation, ESD-L)<sup>[51]</sup>等. 在超声内镜检查指导下对GST定性、定位、定体积, 进行上述微创治疗, 能取得较满意的治疗疗效, 但需严格选择病变

#### ■创新盘点

本文就目前国内外超声技术应用于GST诊断、治疗的现状进行了较为全面的综述, 并对GST的早期确诊, 以及良、恶性的判断方面进行了归纳总结, 阐述了超声技术在这一领域的临床应用方法.

## ■应用要点

本文对超声技术在GST的早期确诊、良恶性的判断和治疗方面的研究,为超声技术在该领域的临床应用提供参考。

大小,并长期随访。

## 9 结论

随着超声技术的不断发展,其在GST的诊治上起着越来越重要的作用,在临床工作中,仍应注意结合临床、运用多种影像学方法全面分析,为临床提供更丰富的诊断信息,确诊需病理联合免疫组织化学检查。

## 10 参考文献

- Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983; 7: 507-519
- Perez EA, Livingstone AS, Franceschi D, Rocha-Lima C, Lee DJ, Hodgson N, Jorda M, Koniaris LG. Current incidence and outcomes of gastrointestinal mesenchymal tumors including gastrointestinal stromal tumors. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 623-629
- Chan KH, Chan CW, Chow WH, Kwan WK, Kong CK, Mak KF, Leung MY, Lau LK. Gastrointestinal stromal tumors in a cohort of Chinese patients in Hong Kong. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2223-2228
- Rubió J, Marcos-Gragera R, Ortiz MR, Miró J, Vilardell L, Gironès J, Hernandez-Yagüe X, Codina-Cazador A, Bernadó L, Izquierdo A, Colomer R. Population-based incidence and survival of gastrointestinal stromal tumours (GIST) in Girona, Spain. *Eur J Cancer* 2007; 43: 144-148
- Terada T. Gastrointestinal stromal tumor of the uterus: a case report with genetic analyses of c-kit and PDGFRA genes. *Int J Gynecol Pathol* 2009; 28: 29-34
- Reith JD, Goldblum JR, Lyles RH, Weiss SW. Extragastric stromal (soft tissue) stromal tumors: an analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome. *Mod Pathol* 2000; 13: 577-585
- Miettinen M, Monihan JM, Sarlomo-Rikala M, Kovatich AJ, Carr NJ, Emory TS, Sobin LH. Gastrointestinal stromal tumors/smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omentum and mesentery: clinicopathologic and immunohistochemical study of 26 cases. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 1109-1118
- Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 52-68
- Adani GL, Marcello D, Sanna A, Mazzetti J, Anania G, Donini A. Gastrointestinal stromal tumours: evaluation of biological and clinical current opinions. *Chir Ital* 2002; 54: 127-131
- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Muhammad Tunio G, Matsuzawa Y, Kanakura Y, Shinomura Y, Kitamura Y. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279: 577-580
- Bauer S, Corless CL, Heinrich MC, Dirsch O, Antoch G, Kanja J, Seeber S, Schütte J. Response to imatinib mesylate of a gastrointestinal stromal tumor with very low expression of KIT. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51: 261-265
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors--definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 2001; 438: 1-12
- Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 1998; 152: 1259-1269
- Levy AD, Remotti HE, Thompson WM, Sobin LH, Miettinen M. Gastrointestinal stromal tumors: radiologic features with pathologic correlation. *Radiographics* 2003; 23: 283-304, 456; quiz 532
- Miettinen M, Furlong M, Sarlomo-Rikala M, Burke A, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the rectum and anus: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 1121-1133
- Franquemont DW. Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 41-47
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, Miettinen M, O'Leary TJ, Remotti H, Rubin BP, Shmookler B, Sobin LH, Weiss SW. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Int J Surg Pathol* 2002; 10: 81-89
- Ghanem N, Altehoefer C, Furtwängler A, Winterer J, Schäfer O, Springer O, Kotter E, Langer M. Computed tomography in gastrointestinal stromal tumors. *Eur Radiol* 2003; 13: 1669-1678
- Hong X, Choi H, Loyer EM, Benjamin RS, Trent JC, Charnsangavej C. Gastrointestinal stromal tumor: role of CT in diagnosis and in response evaluation and surveillance after treatment with imatinib. *Radiographics* 2006; 26: 481-495
- 方松华, 孟磊, 董旦君, 章士正, 金梅. 胃肠道间质瘤的血管造影诊断. *中华肿瘤杂志* 2005; 27: 496-498
- 杨力, 段洪涛, 宋奕宁, 王功伟, 李建国. 彩色超声在胃肠道间质瘤诊断中的应用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3568-3571
- 都旭东, 吴松, 谢珉. 超声技术在胃肠道间质瘤诊断中的应用价值. *中华医学超声杂志(电子版)* 2010; 7: 432-437
- 李凤华, 夏建国, 李红丽, 方华. 彩超在胃间质瘤诊断中的价值. *中国医学影像学杂志* 2004; 12: 410-413
- Wong NA, Young R, Malcomson RD, Nayar AG, Jamieson LA, Save VE, Carey FA, Brewster DH, Han C, Al-Nafussi A. Prognostic indicators for gastrointestinal stromal tumours: a clinicopathological and immunohistochemical study of 108 resected cases of the stomach. *Histopathology* 2003; 43: 118-126
- Kontogianni K, Demonakou M, Kavantzias N, Lazaris ACh, Lariou K, Vourlakou C, Davaris P. Prognostic predictors of gastrointestinal stromal tumors: a multi-institutional analysis of 102 patients with definition of a prognostic index. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 548-556
- 王书初, 肖莹, 黄铁汉. 经口服超声造影彩色多普勒超声对胃间质瘤的诊断分析. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 289-291
- 王光霞, 徐松, 王伟, 李佟, 罗彦英. 超声造影在胃间质瘤良恶性鉴别诊断中的初步临床应用. *中华医学超声杂志(电子版)* 2007; 4: 35-37
- Ding H, Kudo M, Onda H, Suetomi Y, Minami Y, Maekawa K. Hepatocellular carcinoma: depiction of tumor parenchymal flow with intermittent harmonic power Doppler US during the early arterial

- phase in dual-display mode. *Radiology* 2001; 220: 349-356
- 29 李艳萍, 黄品同, 赵雅萍, 黄福光, 杨勇明, 郑志强, 程建敏, 郭心璋. 正常胃壁的超声双重造影与增强CT的对比研究. *温州医学院学报* 2008; 38: 64-66
- 30 Kadowaki K, Murakami T, Yoshioka H, Kim T, Takahashi S, Tomoda K, Narumi Y, Nakamura H. Helical CT imaging of gastric cancer: normal wall appearance and the potential for staging. *Radiat Med* 2000; 18: 47-54
- 31 俞耀军, 卢明东, 孙维建, 王飞海, 张毅, 陈建时, 郑志强, 王亮, 林李淼, 黄品同, 薛战雄, 程建敏, 白光辉, 张海燕. 超声内镜、超声双重造影及螺旋CT胃癌术前分期对比研究. 2008年浙江省外科学术年会论文汇编 2008: 62-65
- 32 滕淑琴, 刘志聪, 李运秀, 蔡洁. 三维超声在胃疾病诊断中的应用. *中国超声医学杂志* 1999; 15: 617-619
- 33 Ophir J, Alam SK, Garra B, Kallel F, Konofagou E, Krouskop T, Varghese T. Elastography: ultrasonic estimation and imaging of the elastic properties of tissues. *Proc Inst Mech Eng H* 1999; 213: 203-233
- 34 Cheng B, Zhong L, Ding F, Xie HP, Wang Y, Yang YZ, Liu M, Wan J. [A comparative study of the diagnostic value of endoscopic ultrasonography with pathological features of upper gastrointestinal mesenchymal tumors]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2009; 48: 724-728
- 35 Chak A, Canto MI, Rösch T, Dittler HJ, Hawes RH, Tio TL, Lightdale CJ, Boyce HW, Scheiman J, Carpenter SL, Van Dam J, Kochman ML, Sivak MV. Endosonographic differentiation of benign and malignant stromal cell tumors. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 468-473
- 36 Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut* 2000; 46: 88-92
- 37 Tsai TL, Changchien CS, Hu TH, Hsiaw CM, Hsieh KC. Differentiation of benign and malignant gastric stromal tumors using endoscopic ultrasonography. *Chang Gung Med J* 2001; 24: 167-173
- 38 Okai T, Minamoto T, Ohtsubo K, Minato H, Kurumaya H, Oda Y, Mai M, Sawabu N. Endosonographic evaluation of c-kit-positive gastrointestinal stromal tumor. *Abdom Imaging* 2003; 28: 301-307
- 39 金震东, 许国铭, 李平, 邹多武, 周康源. 胃粘膜下肿瘤超声内镜声像图的纹理分析价值. *中国医学影像技术* 1998; 14: 483-485
- 40 Chu YY, Lien JM, Ng SC, Chen TC, Chen PC, Chiu CT. Endoscopic ultrasound-guided tru-cut biopsy for diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 1157-1160
- 41 Fernández-Esparrach G, Sendino O, Solé M, Pellisé M, Colomo L, Pardo A, Martínez-Pallí G, Argüello L, Bordas JM, Llach J, Ginès A. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration and trucut biopsy in the diagnosis of gastric stromal tumors: a randomized crossover study. *Endoscopy* 2010; 42: 292-299
- 42 Ando N, Goto H, Niwa Y, Hirooka Y, Ohmiya N, Nagasaka T, Hayakawa T. The diagnosis of GI stromal tumors with EUS-guided fine needle aspiration with immunohistochemical analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 37-43
- 43 Vander Noot MR, Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun I, Jhala D, Jhala N, Syed S, Chhieng DC. Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Cancer* 2004; 102: 157-163
- 44 Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, Chang KJ, Wiersema LM. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology* 1997; 112: 1087-1095
- 45 Akahoshi K, Sumida Y, Matsui N, Oya M, Akinaga R, Kubokawa M, Motomura Y, Honda K, Watanabe M, Nagaie T. Preoperative diagnosis of gastrointestinal stromal tumor by endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2077-2082
- 46 Mekky MA, Yamao K, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Nafeh MA, Osman AM, Koshikawa T, Yatabe Y, Bhatia V. Diagnostic utility of EUS-guided FNA in patients with gastric submucosal tumors. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 913-919
- 47 Sun S, Ge N, Wang C, Wang M, Lü Q. Endoscopic band ligation of small gastric stromal tumors and follow-up by endoscopic ultrasonography. *Surg Endosc* 2007; 21: 574-578
- 48 Chang KJ, Yoshinaka R, Nguyen P. Endoscopic ultrasound-assisted band ligation: a new technique for resection of submucosal tumors. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 720-722
- 49 钟慧闽, 宋健, 董文珠, 杨杰, 王群英, 姚萍. 纵轴超声内镜指导胃黏膜下间质瘤套扎126例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3144-3146
- 50 Waxman I, Saitoh Y, Raju GS, Watari J, Yokota K, Reeves AL, Kohgo Y. High-frequency probe EUS-assisted endoscopic mucosal resection: a therapeutic strategy for submucosal tumors of the GI tract. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 44-49
- 51 余福兵, 何夕昆, 郝玲, 盛娟, 左赞. 应用结扎技术进行内镜黏膜下剥离术治疗胃固有肌层小肿瘤. *中国内镜杂志* 2009; 15: 12-14

#### 同行评价

本文综述全面, 具有一定的科学性, 为临床医师提供了一些新的诊疗手段。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

# 大蒜新素、双黄连对小鼠MHV-3性暴发型肝炎模型的作用

易文龙, 方峰, 宁琴, 舒赛男, 李革

## ■背景资料

MHV-3病毒感染不同种系近亲繁殖小鼠后产生类似人类各种不同临床类型的肝炎模型。BALB/c小鼠感染MHV-3后发生暴发型病毒性肝炎。

易文龙, 方峰, 舒赛男, 李革, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科临床病毒研究室 湖北省武汉市 430064

易文龙, 武汉科技大学附属天佑医院 湖北省武汉市 430064

宁琴, 华中科技大学同济医学院附属同济医院感染免疫研究室 湖北省武汉市 430064

易文龙, 副教授, 博士, 现工作于武汉科技大学临床学院儿科, 主要从事儿科感染性疾病方面的研究。

国家科技部973 SARS防治基础研究专项基金资助项目, No. 2003CB514112

作者贡献分布: 此课题由易文龙与方峰参与设计; 实验具体操作由易文龙、舒赛男及李革完成; 数据整理由易文龙总结完成。

通讯作者: 方峰, 主任医师, 博士生导师, 430064, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科病毒研究室。

ffang@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2011-01-23 修回日期: 2011-07-26

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Preventive and therapeutic effects of Shuanghuanglian and allitride against experimental murine hepatitis virus type 3 infection *in vivo*

Wen-Long Yi, Feng Fang, Qin Ning, Sai-Nan Shu, Ge Li

Wen-Long Yi, Feng Fang, Sai-Nan Shu, Ge Li, Department of Pediatric Clinical Virology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Wen-Long Yi, Tianyou Hospital, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Qin Ning, Department of Infection and Immunity, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: the Special Foundation for Prophylaxis and Treatment of SARS, the Ministry of Science and Technology of China, No. 2003CB514112

Correspondence to: Feng Fang, Department of Pediatric Clinical Virology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ffang@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2011-01-23 Revised: 2011-07-26

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To study the preventive and therapeutic effects of Shuanghuanglian and allitride against hepatitis virus strain 3 (MHV-3) infection in a murine model.

**METHODS:** BALB/c mice were divided into eight groups: Shuanghuanglian pretreatment

group, allitride pretreatment group, Shuanghuanglian treatment group, allitride treatment group, Shuanghuanglian pretreatment and treatment group, allitride pretreatment and treatment group, model control group, and normal control group. Mice were injected intraperitoneally with MHV-3 (100 PFU/mouse) to induce MHV-3 infection. The survival time of tested mice and plasma ALT levels were recorded. Viral titers in liver tissue specimens were measured by plaque formation assay, and pathological changes were assessed by the Rezkalla method.

**RESULTS:** Both drugs showed inhibitory activities against MHV-3 infection by significantly decreasing the viral load within liver tissue. The anti-MHV-3 effect of Shuanghuanglian was more significant *in vivo*. Pretreatment with the two drugs could improve the outcome of mice with fulminant hepatitis (4.20 PFU/mg  $\pm$  0.60 PFU/mg, 3.63 PFU/mg  $\pm$  0.15 PFU/mg *vs* 6.07 PFU/mg  $\pm$  0.25 PFU/mg; 3.70 PFU/mg  $\pm$  0.44 PFU/mg *vs* 4.53 PFU/mg  $\pm$  0.55 PFU/mg; 2.67 PFU/mg  $\pm$  0.59 PFU/mg *vs* 3.77 PFU/mg  $\pm$  0.31 PFU/mg, all *P* < 0.05).

**CONCLUSION:** Shuanghuanglian and allitride might be candidate preventive agents for community control during the epidemic period of SARS.

**Key Words:** Shuanghuanglian; Allitride; Murine hepatitis virus type 3; Murine coronavirus; Mouse fulminant hepatitis model

Yi WL, Fang F, Ning Q, Shu SN, Li G. Preventive and therapeutic effects of Shuanghuanglian and allitride against murine hepatitis virus type 3 infection *in vivo*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2316-2321

## 摘要

**目的:** 探讨大蒜新素、双黄连在整体水平抗鼠肝炎病毒3型(MHV-3)感染效应。

**方法:** 将小鼠分为: 大蒜新素、双黄连治疗组, 大蒜新素、双黄连预防组, 大蒜新素、双黄连预防+治疗组, 感染模型对照组, 每组18只, 及正常对照组, 6只。建立MHV-3诱导的小鼠暴

## ■同行评议者

赵桂鸣, 主任医师, 天津市肝病研究所天津市传染病医院慢性肝炎科; 范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

发型病毒性肝炎模型, 通过观察模型小鼠存活时间、血浆ALT水平、肝脏病理改变和肝组织MHV-3病毒滴度变化, 综合评估两种中药制剂的预防和治疗效应。

**结果:** 各组存活时间、血浆ALT水平、肝脏病理改变和肝组织MHV-3病毒滴度差异明显。大蒜新素预防组、双黄连预防组较模型组的病毒滴度(PFU/mg)明显减少( $4.20 \pm 0.60$ ,  $3.63 \pm 0.15$  vs  $6.07 \pm 0.25$ , 均 $P < 0.05$ ); 预防+治疗组较治疗组的病毒滴度(PFU/mg)也明显减少( $3.70 \pm 0.44$  vs  $4.53 \pm 0.55$ ,  $P < 0.05$ ); 预防+治疗组较治疗组的病毒滴度(PFU/mg)明显减少( $2.67 \pm 0.59$  vs  $3.77 \pm 0.31$ ,  $P < 0.05$ ), 预防组与预防+治疗组之间比较无明显差异。

**结论:** 大蒜新素、双黄连预防效应优于其治疗作用, 可能作为冠状病毒流行期间人群预防的候选药物。

**关键词:** 大蒜新素; 双黄连; 小鼠肝炎病毒3型; 鼠冠状病毒; 小鼠暴发型肝炎模型

易文龙, 方峰, 宁琴, 舒赛男, 李革. 大蒜新素、双黄连对小鼠MHV-3性暴发型肝炎模型的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2316-2321

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2316.asp>

## 0 引言

小鼠肝炎病毒3型(murine hepatitis virus type 3, MHV-3)属冠状病毒科, 是一组单股正链RNA病毒, 基因组长为32 kb<sup>[1]</sup>, 与SARS-Cov的同源性较高<sup>[2]</sup>。MHV-3病毒感染不同种系近亲繁殖小鼠后产生类似人类各种不同临床类型的肝炎模型<sup>[3]</sup>。BALB/c小鼠感染MHV-3后发生暴发型病毒性肝炎。本实验旨在进一步探讨这几种中药在体内预防和治疗冠状病毒的效应。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** MHV-3由华中科技大学同济医学院附属同济医院感染免疫研究室提供。双黄连粉针剂由哈尔滨医药股份有限公司中药二厂生产, 卫药准字Z-73号。大蒜新素注射液由上海禾丰制药有限公司生产, 沪卫药准字第010005号。甲基纤维素(Sigma公司TC501)。健康纯系BALB/c小鼠, ♀, 8周龄, 体质量18-20 g, 购于湖北省纯种动物实验室, 饲养在同济医院感染免疫研究室隔离封闭式动物饲养柜内。

### 1.2 方法

**1.2.1 MHV-3毒性的测定:** 应用培养的L2细胞进

行病毒滴定, 采用蚀斑形成实验测定MHV-3毒力。

**1.2.2 MHV-3性暴发型肝炎模型的建立:** 健康纯系BALB/c小鼠腹腔接种MHV-3病毒悬液, 100 PFU/只( $0.1 \text{ mL}$ )<sup>[4]</sup>; 于腹腔接种后48 h, 用眼球摘除法处死; 分离小鼠肝脏, 将肝脏组织剪成 $2 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 大小的组织块, 置40 g/L甲醛溶液内固定; 肝组织进行组织病理学检查, 以确定造模是否成功。

**1.2.3 动物用药剂量的计算:** 根据Meeh-Rubner公式进行计算小鼠给药剂量<sup>[5,6]</sup>。根据人体用药的中效剂量计算出小鼠的用药量分别为: 大蒜新素75 mg/kg、双黄连750 mg/kg。

**1.2.4 实验分组和用药方案:** (1)治疗组: 取36只BALB/c小鼠, 腹腔接种0.1 mL MHV-3病毒悬液, 100 PFU/只。随机分成2组: 大蒜新素治疗组(18只)、双黄连治疗组(18只)。30 min后每组18只小鼠分别注射已配制好浓度的大蒜新素、双黄连0.1 mL, 大蒜新素75 mg/kg, 双黄连750 mg/kg。1次/日, 疗程最长1 wk。72 h后每组分别随机处死6只活鼠, 取血液约1 mL, 抗凝处理, 离心后留取血浆, 及时送检测定ALT; 用上述方法留取肝组织, 用于组织病理学检查和病毒滴度测定。其余小鼠继续药物治疗, 观察存活时间; (2)预防组: 36只BALB/c小鼠随机分成2组, 各18只, 分别作为大蒜新素、双黄连预防组。每组小鼠分别注射0.1 mL大蒜新素、双黄连, 剂量同上, 1次/d, 共3 d。然后腹腔接种0.1 mL MHV-3病毒悬液, 100 PFU/只, 此后不再给药。自接种病毒时间算起至72 h, 每组分别随机处死6只活鼠, 按上述方法留取血浆和肝组织样本, 其余小鼠继续观察存活时间; (3)预防+治疗组: 36只BALB/c小鼠随机分成2组, 各18只, 分别作为大蒜新素、双黄连预防+治疗组。每组小鼠按预防组方案预防性用药3 d后腹腔接种0.1 mL MHV-3病毒, 100 PFU/只, 其后继续相同剂量给药, 1次/d, 疗程最长1 wk。自接种病毒时间算起至72 h, 每组分别随机处死6只活鼠, 按上述方法留取血浆和肝组织样本, 其余小鼠继续观察存活时间; (4)感染模型对照组: 18只BALB/c小鼠按上述方法造模, 感染后72 h随机处死6只活鼠按上述方法留取血浆和肝组织样本, 其余小鼠继续观察存活时间; (5)正常对照组: 6只BALB/c小鼠腹腔注射0.1 mL生理盐水, 上述方法留取血浆和肝组织样本, 用于肝组织病理指数评估(Rezkalla半定量分析法)。

**1.2.5 观察指标及检测方法:** (1)小鼠生存情况: 每天观察, 记录各组小鼠存活数和死亡数; (2)肝组

## ■相关报道

大蒜新素、双黄连注射液体外抗MHV-3作用本课题已有研究, 对MHV-3病毒致细胞病变有明显的抑制作用。

## ■应用要点

大蒜新素、双黄连预防效应优于其治疗作用,可能作为冠状病毒流行期间人群预防的候选药物。

表 1 大蒜新素处理对模型小鼠存活时间的影响 ( $n = 12$ )

分组	剂量 (mg/kg)	每天死亡数( $n/d$ )							中位生存 时间(d)
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	
治疗组	75	0	0	3	6	3	0	0	4.50
预防组	75	0	0	0	2	3	3	4	6.33 <sup>a</sup>
预防+治疗组	75	0	0	0	1	2	5	4	6.60 <sup>a</sup>
模型组	0	0	0	4	6	2	0	0	4.33

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组和治疗组。

表 2 双黄连处理对模型小鼠存活时间的影响 ( $n = 12$ )

分组	剂量 (mg/kg)	每天死亡数( $n/d$ )							中位生存 时间(d)
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	
治疗组	750	0	0	3	3	5	4	0	5.60 <sup>a</sup>
预防组	750	0	0	0	2	3	4	3	6.25 <sup>ac</sup>
预防+治疗组	750	0	0	0	1	3	3	5	6.67 <sup>ac</sup>
模型组	0	0	0	4	6	2	0	0	4.33

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组和治疗组。

织MHV-3病毒定量测定(蚀斑形成实验): 在病毒感染后72 h取活鼠肝组织0.1 g, 离心, 取上清; 检测小鼠肝组织MHV-3病毒量; (3)肝组织病理学检查: 采用Rezkalla半定量分析法<sup>[7]</sup>计量肝脏炎症和坏死面积, 即每张切片取5个视野, 计算每个视野中炎性细胞浸润及坏死区域面积与整个视野的面积之比, 无病变计0分, <25%计1分, 25%-50%计2分, 50%-75%计3分, >75%计4分; (4)血浆ALT浓度检测: 病毒感染后72 h取活鼠外周血, 标本抗凝处理, 2 000 r/min, 离心10 min, 留取血浆, 送同济医院检验科经AU100自动生化分析仪测定ALT值, 另取6只正常小鼠血浆作为正常对照。

**统计学处理** 采用SPSS12.0软件包进行生存分析, 绘制累计生存率曲线, 分析比较各处理组之间生存率曲线分布的差异,  $P < 0.05$ 认为有统计学差异。各组血浆ALT、肝组织病理评分和病毒蚀斑数的比较采用方差分析和 $t$ 检验。

## 2 结果

**2.1 MHV-3感染量测定** 计算测得MHV-3感染性病毒量为 $5.4 \times 10^9$  PFU/L。

**2.2 小鼠生存分析** 在无药物干预情况下, 本模型小鼠在感染后5 d内全部死亡。

**2.2.1 大蒜新素处理对MHV-3性爆发型肝炎模**

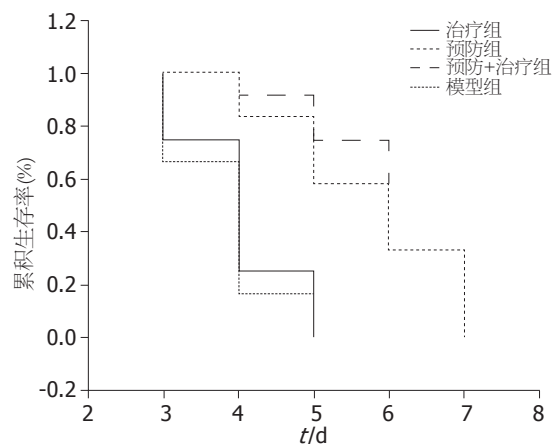


图 1 大蒜新素处理的累积生存率曲线。

型鼠存活时间的影响: 治疗组12只小鼠均在5 d内死亡; 预防组和预防+治疗组小鼠5 d内死亡数分别为5只和3只。经统计学生存分析, 治疗组与模型对照组无明显差异( $P > 0.05$ ), 预防组和预防+治疗组与模型组和治疗组比较差异明显( $P < 0.05$ ), 预防组与预防+治疗组之间比较无明显差异( $P > 0.05$ , 表1, 图1)。

**2.2.2 双黄连处理对MHV-3性爆发型肝炎模型鼠存活时间的影响:** 双黄连治疗组、预防组和预防+治疗组5 d内死亡数分别为8只、5只和4只, 3组与模型组比较均有明显差异( $P < 0.05$ ); 预防+治疗组与预防组比较无明显差异( $P > 0.05$ ), 但与

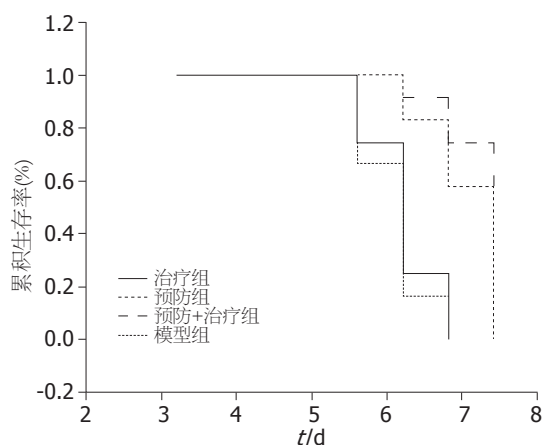


图2 双黄连处理的累积生存率曲线。

表3 肝组织MHV-3病毒滴度测定 (PFU/mg)

分组	大蒜新素	双黄连
治疗组	4.53 ± 0.55 <sup>a</sup>	3.77 ± 0.31 <sup>ac</sup>
预防组	4.20 ± 0.60 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.15 <sup>ac</sup>
预防+治疗组	3.70 ± 0.44 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.59 <sup>a</sup>
模型组	6.07 ± 0.25	6.07 ± 0.25

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 预防+治疗组和模型组。

治疗组比较差异明显( $P < 0.05$ , 表2, 图2)。

2.3 小鼠肝组织MHV-3滴度测定 两种药物治疗组、预防组和预防+治疗组小鼠的肝组织病毒滴度均较模型组明显减少; 双黄连预防组和治疗组的病毒滴度与预防+治疗组比较有明显差异( $P < 0.05$ , 表3)。

2.4 肝组织病理学检查 模型鼠肉眼可见肝脏体积明显肿大, 呈酱紫色; 光镜下肝结构严重破坏, 大片肝细胞破坏, 肝小叶结构紊乱, 肝索消失, 肝窦内可见出血并有血栓形成, 在肝细胞坏死区可见单核细胞和中性粒细胞浸润。药物处理组中以大蒜新素治疗组病变最为严重, 其他各组肝脏体积较模型对照组小, 色泽呈暗红, 光镜下肝细胞坏死面积较模型组小, 肝小叶结构无明显紊乱, 但仍然可见大量肝细胞坏死, 呈点片状, 肝窦内未见血栓形成, 炎性细胞浸润较模型组轻。双黄连的治疗组和预防+治疗组的肝病变指数明显低于模型对照组, 其余各组肝病变指数虽有所下降, 但与模型鼠比较无统计学差异(表4)。

2.5 小鼠血浆ALT检测 大蒜新素处理对MHV-3性暴发型肝炎模型鼠肝功能的影响。MHV-3感染后引起血浆ALT显著升高, 但各处理组ALT明

表4 肝组织病理指数评估(Rezkalla半定量分析法)

分组	大蒜新素	双黄连
治疗组	3.08 ± 0.42	2.61 ± 0.14 <sup>a</sup>
预防组	2.81 ± 0.32	2.68 ± 0.12
预防+治疗组	2.80 ± 0.56	2.55 ± 0.06 <sup>a</sup>
模型组	3.30 ± 0.64	3.30 ± 0.64

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 模型组。表5 大蒜新素、双黄连、处理后小鼠血浆ALT变化 ( $n = 6$ )

分组	ALT变化(U/L)	
	大蒜新素	双黄连
治疗组	4 453.12 ± 402.66 <sup>b</sup>	4 041.63 ± 217.35 <sup>b</sup>
预防组	3 528.58 ± 319.68 <sup>bd</sup>	3 031.03 ± 341.57 <sup>bd</sup>
预防+治疗组	2 716.21 ± 520.01 <sup>bd</sup>	2 883.32 ± 353.21 <sup>bd</sup>
模型组对照组	5 573.79 ± 320.52	5 573.79 ± 320.52
正常对照组	36.12 ± 13.12	36.12 ± 13.12

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 治疗组。

显低于模型组( $P < 0.01$ ), 且预防组和预防+治疗组的ALT还明显低于治疗组( $P < 0.01$ , 表5)。

### 3 讨论

我国重症肝炎发病率高, 临床治疗方法有限, 其致病机制极其复杂<sup>[8,9]</sup>, BALB/c小鼠感染MHV-3后发生暴发型病毒性肝炎, 其临床特征和肝脏病理特征与人类急性重症型病毒性肝炎极其相似<sup>[10]</sup>, 本实验表明, 在没有治疗或预防措施干预时, 造模后3-5 d内全部死亡, 结果与以前文献提供的证据符合<sup>[11]</sup>。

大蒜新素、双黄连注射液体外抗MHV-3作用本课题已有研究, 对MHV-3病毒致细胞病变有明显的抑制作用<sup>[12,13]</sup>。本次实验是进一步研究在整体水平研究是否对MHV感染小鼠的存活时间、血浆ALT水平、肝脏病理改变和肝组织MHV-3病毒滴度变化有否影响, 综合评估两种中药制剂的预防和治疗效应。

结果显示, (1)两种中药制剂的3种处理方案都能使模型鼠肝脏病毒滴度明显减少, 除双黄连的预防组和预防+治疗组比治疗组的肝脏病毒载量明显减少外, 大蒜新素各处理方案组之间无明显差别; (2)各用药组血浆ALT变化比较一致, 均明显低于模型组; 3种用药方案之间进行比较, 可见预防组和预防+治疗组的ALT水

■同行评价  
本文选题新颖, 设计合理, 有较好的应用前景。

平明显低于治疗组; (3)存活时间的观察结果: 治疗组中, 大蒜新素治疗组小鼠感染后5 d内死亡12只(100%), 与模型组比较无明显差异. 但双黄连治疗组仅死亡8只(66.6%), 与模型组间有明显差异. 而两种药物的预防组和预防+治疗组5 d内死亡率(每组死亡3-5只, 25.0%-41.7%)均明显低于模型组; (4)肝组织病理改变: 模型鼠发生暴发型病毒性肝炎的典型肝脏病理改变. 各药物处理组中以大蒜新素治疗组肝病变更为严重, 但其他各组肝脏病变较模型鼠轻. Rezkalla半定量分析结果显示只有双黄连预防组和预防+治疗组的肝病变更指数明显低于模型组, 其余各组虽肝病变更指数有所降低, 但与模型鼠相比无统计学差异.

综合分析上述结果, 我们可以看出, 两种中药在不同程度上都能延长模型鼠的生命, 模型鼠在感染后3-5 d内全部死亡, 用药后部分小鼠的生命可延长到7 d, 但未能提高存活率. 两种用药方案之间比较发现, 预防性用药和预防+治疗用药能够有意义地提高5 d以上存活率, 而单纯在造模后治疗性用药却不能, 预防组与预防+治疗组之间也无明显区别, 提示预防性用药是提高5 d以上存活率的主要因素, 本研究中造模用的MHV-3的N蛋白具有促进前凝血质活性提高、诱导mfgl2凝血酶原酶基因转录活性的机制<sup>[3,10]</sup>, 通过预防和预防+治疗的方式使用抗MHV-3的药物可以减少MHV-3对肝细胞的损害作用, 从而起到抑制或者阻碍病毒激发相关的免疫损害机制, 保护肝细胞. 而病毒诱导的暴发型肝炎一旦发生, 再予以药物治疗则已乏回天之力. 药物处理后肝脏病变半定量分析结果与小鼠存活时间的改变基本一致, 虽然从肉眼观察到光镜检查均见到肝病变更模型鼠轻, 但病变仍然严重, 难以存活.

进一步分析肝组织病毒载量变化, 两种药物各处理组肝组织病毒含量都较模型鼠有明显降低, 提示在本组MHV-3暴发型肝炎模型上, 大蒜新素、双黄连都有明显整体抗病毒效应. 这与我们在细胞模型上所观察到的结果基本符合<sup>[12,13]</sup>. 比较两种用药方案, 可见预防+治疗组的肝病毒载量最低, 预防组其次, 治疗组最高的变化特点, 但只有双黄连的预防+治疗组肝病毒载量的降低有统计学意义, 提示药物在整体水平也能抑制细胞内病毒增殖过程或能阻止病毒的细胞间扩散和蔓延; 并进一步说明药物对MHV-3感染的预防效应优于其治疗作用. 由于

整体实验采用人体中效剂量换算小鼠用药剂量, 除细胞模型研究中所选用药物剂量上的差异, 故在整体水平证实, 双黄连的抗MHV-3作用确实强于大蒜新素.

肝细胞功能ALT的变化结果显示, 3种用药模式都能明显降低感染鼠ALT水平, 但其水平仍然平均高达2 716-4 453 U/L, 提示肝细胞功能损害严重, 难逃死亡的命运, 与感染鼠严重的肝脏组织学病变和最终结局相一致, 这与我们所选用的暴发型肝炎模型有直接关系. 比较而言, 药物预防组和预防+治疗组的ALT水平都明显低于治疗组, 与5 d存活率的变化一致, 进一步说明整体水平预防性用药可减轻MHV-3暴发型肝炎模型鼠的肝损害.

累及全球20多个国家和地区的SARS相关冠状病毒经测序核实其序列与包括MHV在内的II型冠状病毒基因序列同源性最大<sup>[14-16]</sup>, 在MHV-3暴发型肝炎模型上, 双黄连、大蒜新素都具有明显直接抗MHV-3效应, 双黄连的整体抗MHV-3作用最强; 大蒜新素、双黄连预防性用药可明显改善模型鼠的预后, 有意义地延长模型鼠生存时间和减轻肝功能损害, 提示这些药物的预防效应优于其治疗作用, 可能作为冠状病毒流行期间人群预防的候选药物; 同时提示, 这些药物可能还可通过调节机体免疫功能、抑制免疫炎症反应或其他途径如抑制病毒诱导的凋亡而发挥整体保护性效应, 其机制有待进一步深入研究.

#### 4 参考文献

- 1 Wieland SF, Vega RG, Müller R, Evans CF, Hilbush B, Guidotti LG, Sutcliffe JG, Schultz PG, Chisari FV. Searching for interferon-induced genes that inhibit hepatitis B virus replication in transgenic mouse hepatocytes. *J Virol* 2003; 77: 1227-1236
- 2 陆韵, 陈应华. SARS相关病毒与鼠肝炎病毒S蛋白的同源暗示一个潜在受体结合区的存在. *科学通报* 2003; 48: 1197-1199
- 3 宁琴, 罗小平, 汪之沐, 韩梅芳, 严伟明, 刘铭峰, Gary Levy. mfgl2凝血酶原酶/纤维介素基因转录调控元件肝细胞核因子的研究. *中华医学杂志* 2003; 83: 678-683
- 4 宁琴, 罗小平, 雷延昌. 鼠病毒性肝炎信号转录传导激活因子的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2002; 22: 666-669
- 5 Spiers DE, Candas V. Relationship of skin surface area to body mass in the immature rat: a reexamination. *J Appl Physiol* 1984; 56: 240-243
- 6 重庆医科大学实验动物中心. 实验动物实用手册. 2004: 17-19
- 7 Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, Khatib R. Beneficial effects of captopril in acute coxsackievirus B3 murine myocarditis. *Circulation* 1990; 81: 1039-1046
- 8 冯志华, 聂青和, 白宪光, 白雪帆, 周永兴, 贾战生, 郝春秋. 膜式血浆置换治疗慢性重症肝炎肝功能衰竭疗

- 效. 世界华人消化杂志 2002; 10: 638-641
- 9 李冠群, 李今怡, 霍宏慎, 王兆荃, 姜卫国. 斑状肝细胞坏死在亚急性重症肝炎病理诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2000; 8: 69
- 10 宁琴, 严伟明, 汪之沐, 习东, 刘铭锋, Gary Levy, 罗小平. 鼠肝炎病毒3型N蛋白 I 区激活mfg12凝血酶原酶基因. 世界华人消化杂志 2004; 12: 594-599
- 11 Spaan W, Cavanagh D, Horzinek C. The Basis for Serodiagnosis and Vaccines. In: Van Regenmortel MV, Neurath AR, Eds. Immunochimistry of Viruses II. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands, 1990: 358-379
- 12 易文龙, 方峰, 宁琴, 严伟明, 甄宏, 周玉峰, 李革. 大蒜新素注射液抗鼠肝炎病毒3型的体外实验研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2006; 26: 400-406
- 13 易文龙, 方峰, 宁琴, 严伟明, 甄宏, 舒赛男, 周玉峰, 李革. 双黄连、鱼腥草注射液抗鼠肝炎病毒3型的体外实验研究. 东南大学学报(医学版) 2006; 25: 228-231
- 14 Poutanen SM, Low DE, Henry B, Finkelstein S, Rose D, Green K, Tellier R, Draker R, Adachi D, Ayers M, Chan AK, Skowronski DM, Salit I, Simor AE, Slutsky AS, Doyle PW, Krajden M, Petric M, Brunham RC, McGeer AJ. Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *N Engl J Med* 2003; 348: 1995-2005
- 15 Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S, Urbani C, Comer JA, Lim W, Rollin PE, Dowell SF, Ling AE, Humphrey CD, Shieh WJ, Guarner J, Paddock CD, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang JY, Cox N, Hughes JM, LeDuc JW, Bellini WJ, Anderson LJ. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348: 1953-1966
- 16 Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RA, Berger A, Burguière AM, Cinatl J, Eickmann M, Escriou N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra JC, Müller S, Rickerts V, Stürmer M, Vieth S, Klenk HD, Osterhaus AD, Schmitz H, Doerr HW. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348: 1967-1976

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃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P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成t<sub>1/2</sub>或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能V<sub>max</sub>, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如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*检验和概率*P*, 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*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酞苯胺), *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), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

# 中药清肠栓对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin的影响

卢璐, 谢建群, 郭春荣

## ■背景资料

目前普遍认为, 肠黏膜上皮屏障功能异常是UC发病的分子基础. 紧密连接是构成上皮屏障的重要结构, 包括ZO-1、occludin等. 研究其在UC发病时的结构和蛋白变化对于防治此病具有十分重要的意义.

卢璐, 上海中医药大学附属龙华医院 上海市 200032  
谢建群, 郭春荣, 上海中医药大学 上海市 201203  
卢璐, 博士研究生, 主要从事中医脾胃病的临床及科研工作.  
国家自然科学基金资助项目, No. 30772801  
通讯作者: 谢建群, 教授, 博士生导师, 201203, 上海市, 上海中医药大学. xjq2326@126.com  
收稿日期: 2011-02-11 修回日期: 2011-07-27  
接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Qingchang Suppository up-regulates the expression of tight junction proteins ZO-1 and occludin in experimental ulcerative colitis in rats

Lu Lu, Jian-Qun Xie, Chun-Rong Guo

Lu Lu, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China  
Jian-Qun Xie, Chun-Rong Guo, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30772801

Correspondence to: Professor Jian-Qun Xie, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China. xjq2326@126.com  
Received: 2011-02-11 Revised: 2011-07-27  
Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of Qingchang Suppository (QS) on the expression of tight junction proteins zonula occluden-1 (ZO-1) and occludin in the colon of rats with trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Thirty-six SD rats were randomly and equally divided into six groups: normal control group, model group, SASP group, high-, medium- and low-dose QS groups. UC was induced in rats with TNBS. The expression of tight junction proteins ZO-1 and occludin in the colon was examined by immunofluorescence.

**RESULTS:** The immunofluorescence signals of ZO-1 and occludin were irregularly distributed and appeared disrupted in rats with UC. The average optical density of ZO-1 and occludin

immunofluorescence, as calculated using image analysis software, were decreased obviously in UC rats compared to normal controls ( $1.802 \pm 1.304$  vs  $3.145 \pm 0.110$ ;  $0.568 \pm 0.063$  vs  $1.538 \pm 0.220$ , both  $P < 0.01$ ). Treatment with QS up-regulated the expression of ZO-1 and occludin in rats with UC (both  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** QS exerts a beneficial effect against TNBS-induced UC in rats possibly by modulating intestinal mucosal barrier and decreasing increased intestinal permeability.

**Key Words:** Qingchang Suppository; Ulcerative colitis; Zonula occluden-1; Occludin

Lu L, Xie JQ, Guo CR. Qingchang suppository up-regulates the expression of tight junction proteins ZO-1 and occludin in experimental ulcerative colitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2322-2327

## 摘要

**目的:** 探讨复方中药清肠栓对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的UC大鼠结肠黏膜上皮紧密连接相关蛋白-1(ZO-1)、闭锁蛋白(occludin)的修复作用.

**方法:** 清洁级♂SD大鼠36只, 随机分为正常组、模型组、SASP组、清肠栓高、中、低剂量组, 每组6只. 选用TNBS诱导的UC大鼠模型. 采用免疫荧光的方法观察各组大鼠结肠黏膜上皮ZO-1、occludin和F-actin的表达, 并运用图像分析软件进行平均光密度测定, 考察了中药清肠栓对UC大鼠结肠黏膜上皮屏障的修复作用.

**结果:** UC发病会对结肠紧密连接和细胞骨架系统造成严重的损害, 模型组大鼠结肠黏膜上皮ZO-1、occludin几乎完全被破坏, 不规则的分散在细胞外围, 荧光染色暗淡. 图像分析测其平均光密度较正常组明显降低( $1.802 \pm 1.304$  vs  $3.145 \pm 0.110$ ;  $0.568 \pm 0.063$  vs  $1.538 \pm 0.220$ , 均 $P < 0.01$ ). 清肠栓能不同程度减轻UC对紧密连接的破坏, 使上述两种蛋白表达

## ■同行评议者

杨钦河, 教授, 暨南大学医学院中医系

升高( $P<0.01$ ), 从而保护肠道屏障功能, 抑制结肠通透性的增加。

**结论:** 清肠栓能有效地调节肠黏膜屏障功能, 有效抑制UC大鼠结肠通透性的升高, 改善肠黏膜屏障功能, 促进溃疡愈合。

**关键词:** 清肠栓; 溃疡性结肠炎; 紧密连接相关蛋白-1; 闭锁蛋白

卢璐, 谢建群, 郭春荣. 中药清肠栓对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2322-2327

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2322.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以腹痛、腹泻、黏液脓血便以及里急后重为主要症状, 以结肠黏膜慢性炎症和溃疡形成为主要病理特点的临床常见的肠道疾病。好发于直肠、乙状结肠。因治疗难度大, 疗程长, 而且治愈后常易复发, 已被WHO确认为现代难治病。目前普遍认为, UC作为肠黏膜损伤性疾病, 其发病与肠上皮屏障功能减弱, 肠道通透性增加相关。肠上皮细胞间的连接主要有紧密连接(tight junction, TJ)蛋白和细胞骨架系统组成。本实验旨在探讨复方中药清肠栓对三硝基苯磺酸(trinitrobenzene-sulfonic acid, TNBS)/乙醇诱导的UC大鼠结肠黏膜上皮TJ蛋白ZO-1、occludin的修复作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级♂SD大鼠36只, 体质量( $250\pm 20$ ) g, 由上海中医药大学动物实验中心提供。戊巴比妥钠(西唐生物), 5% TNBS原液(Sigma), 甲醛(上海生工), 乙醇(上海生工), 二甲苯(上海生工), 丙酮(上海生工), 清肠栓(由马齿苋、青黛、参三七、五倍子等组成, 上海秀龙中药厂生产, 20090112), 柳氮磺胺吡啶(SASP, 山西三九同达药业有限公司生产, 20090201), PBS(Genmed Scientifics), BSA(牛血清白蛋白)(明睿生物), 兔抗ZO-1抗体(明睿生物, 2009, 0221), 小鼠抗occludin抗体(明睿生物, 2009, 0221), FITC标记抗小鼠二抗(明睿生物, 2009, 0221), FRITC标记抗兔二抗(明睿生物, 2009, 0221)。水平摇床(WD-9405B, 沃德生物医学仪器公司), 荧光显微镜(OLYMPUS IX71, 日本), 荧光激发器(OLYMPUS U-RFL-T, 日本), DELL电脑。

## 1.2 方法

**1.2.1 造模:** (1)造模前准备将36只大鼠, 随机分为正常组、模型组、SASP组、清肠栓高、中、低剂量组, 共6组, 每组6只。造模前全部大鼠均放在铁笼中喂养, 禁食不禁水24 h。除正常对照组6只大鼠以外, 其余30只均予造模; (2)造模方法: 除正常组外, 其余30只SD大鼠先给予戊巴比妥钠麻醉, 按45 mg/kg腹腔麻醉。再参照文献[1]报道TNBS造模最佳剂量100 mg/kg计算, 用1 mL注射器抽吸TNBS原液(2 mL/kg SD大鼠), 继续抽吸0.25 mL的500 mL/L乙醇混合后, 用改良后的直灌胃针插入肛门上段8 cm后注入混合试剂。然后用金属夹夹大鼠肛门30 min, 同时释放大鼠归笼, 让动物保持平躺自然清醒后自由饮食。3 d内, 动物出现腹泻、黏液脓血便后, 随机抽样检查, 经解剖及光镜证实结肠溃疡率100%。清肠栓用量按人用药量的50、25、12.5倍给药, SASP用药量, 按照人和动物间体表面积折算的等效剂量比值表<sup>[2]</sup>计算。

**1.2.2 免疫荧光法检测ZO-1, occludin蛋白的表达:** 结肠组织石蜡切片60 ℃烤片2 h, 室温下恢复常温, 梯度酒精脱水, 二甲苯脱蜡3次, PBS冲洗3次, 抗原修复, PBS冲洗3次, 1% BSA室温下封闭20 min, 切片在1:50稀释的一抗ZO-1和occludin抗体中37 ℃孵育1.5 h, PBS冲洗5次, 随后在1:50稀释的二抗生物素抗体中37 ℃孵育30 min, PBS冲洗3次, 通过荧光显微镜观察ZO-1, occludin的表达。采用医学图像定量分析软件进行荧光阳性灶平均光密度的分析比较。上述过程均须在暗室中进行。

**统计学处理** 应用Graphpad Prism 5.0进行统计学分析。实验结果以mean±SD表示。两组数据间比较用Student's *t*-检验, 多组数据间比较用One-way ANOVA检验,  $P<0.05$ 表示具有显著性差异。

## 2 结果

**2.1 结肠TJ蛋白ZO-1, occludin免疫荧光** 通过对TJ蛋白ZO-1, occludin进行免疫荧光标记, 可以观察出UC时大鼠结肠TJ的损害。正常组结肠上皮细胞外围的TJ蛋白呈现出连续而紧密的环状结构。而模型组ZO-1, occludin几乎完全被破坏, 不规则的分散在细胞外围, 荧光染色暗淡。与模型组相比较, 清肠栓高、中剂量和SASP给药组ZO-1, occludin蛋白仅被局部破坏, 损伤程度较模型组有明显的减轻(图1, 2)。运用医学图像定

### ■创新盘点

本实验采用免疫荧光法进行蛋白测定, 并运用图像分析软件进行半定量分析, 较为客观可信, 实验相关结果与国外文献有一致性, 且更为具体详实。

# 应用要点

清肠栓能有效地调节肠黏膜屏障功能,有效抑制UC大鼠结肠通透性的升高,改善肠黏膜屏障功能,促进溃疡愈合。

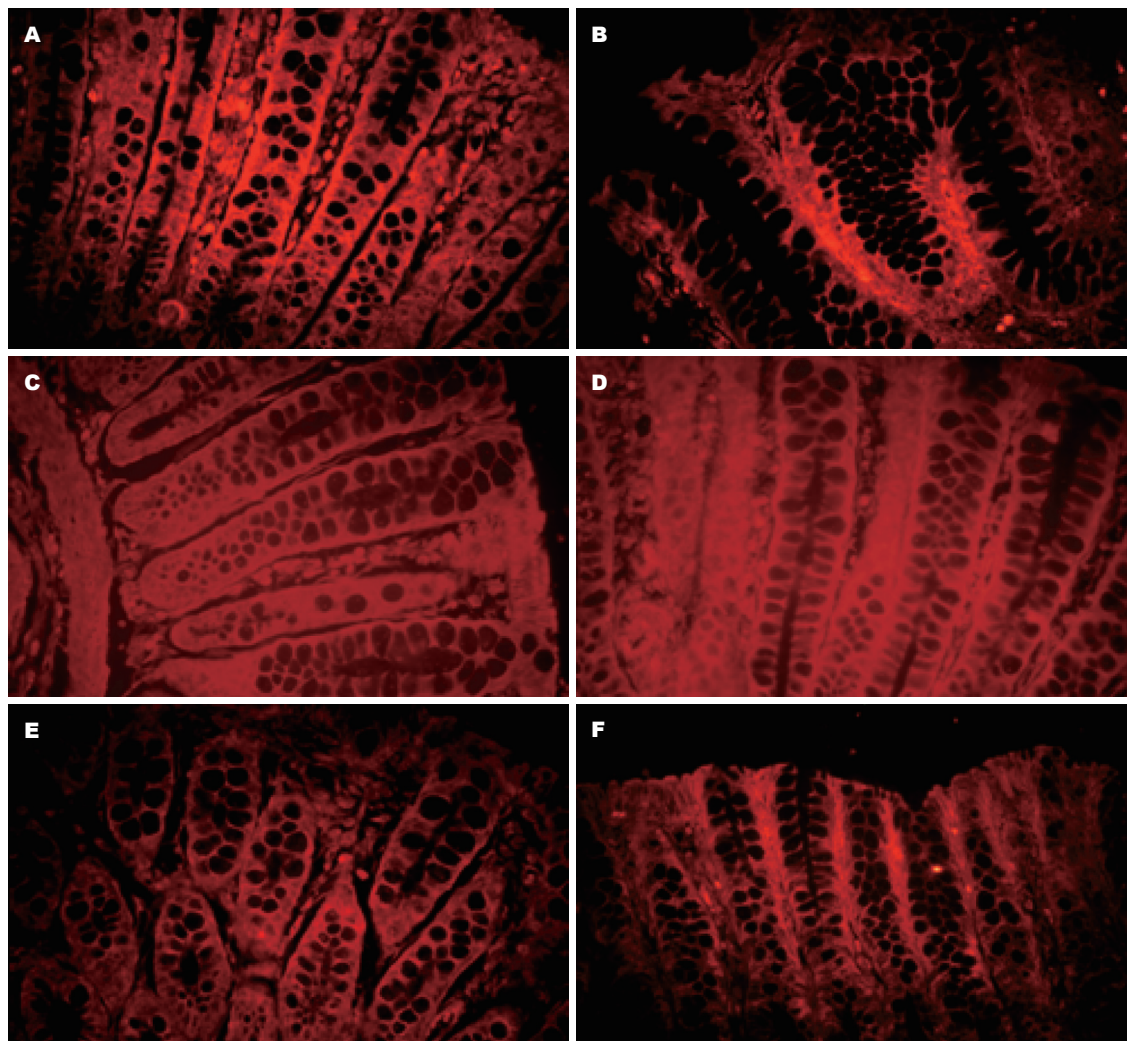


图1 结肠TJ蛋白ZO-1免疫荧光结果(FITC染色 $\times 400$ )。A: 正常组; B: 模型组; C: SASP组; D: 清肠栓高剂量组; E: 清肠栓中剂量组; F: 清肠栓低剂量组。

表1 各组结肠TJ蛋白ZO-1表达的比较 (mean  $\pm$  SD,  $n = 6$ )

分组	阳性灶平均吸光度
正常组	3.145 $\pm$ 0.110
模型组	1.802 $\pm$ 0.192 <sup>b</sup>
SASP组	2.913 $\pm$ 0.090 <sup>d</sup>
清肠栓高剂量组	2.432 $\pm$ 0.268 <sup>f</sup>
清肠栓中剂量组	3.035 $\pm$ 0.098 <sup>d</sup>
清肠栓低剂量组	1.708 $\pm$ 0.101

<sup>b</sup> $P < 0.0001$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.0001$  vs 模型组; <sup>f</sup> $P = 0.0019$  vs SASP组。

表2 各组结肠TJ蛋白occludin表达的比较 (mean  $\pm$  SD,  $n = 6$ )

分组	阳性灶平均吸光度
正常组	1.538 $\pm$ 0.220
模型组	0.568 $\pm$ 0.154 <sup>b</sup>
SASP组	1.170 $\pm$ 0.078 <sup>d</sup>
清肠栓高剂量组	0.947 $\pm$ 0.077 <sup>f</sup>
清肠栓中剂量组	1.210 $\pm$ 0.076 <sup>d</sup>
清肠栓低剂量组	0.565 $\pm$ 0.050

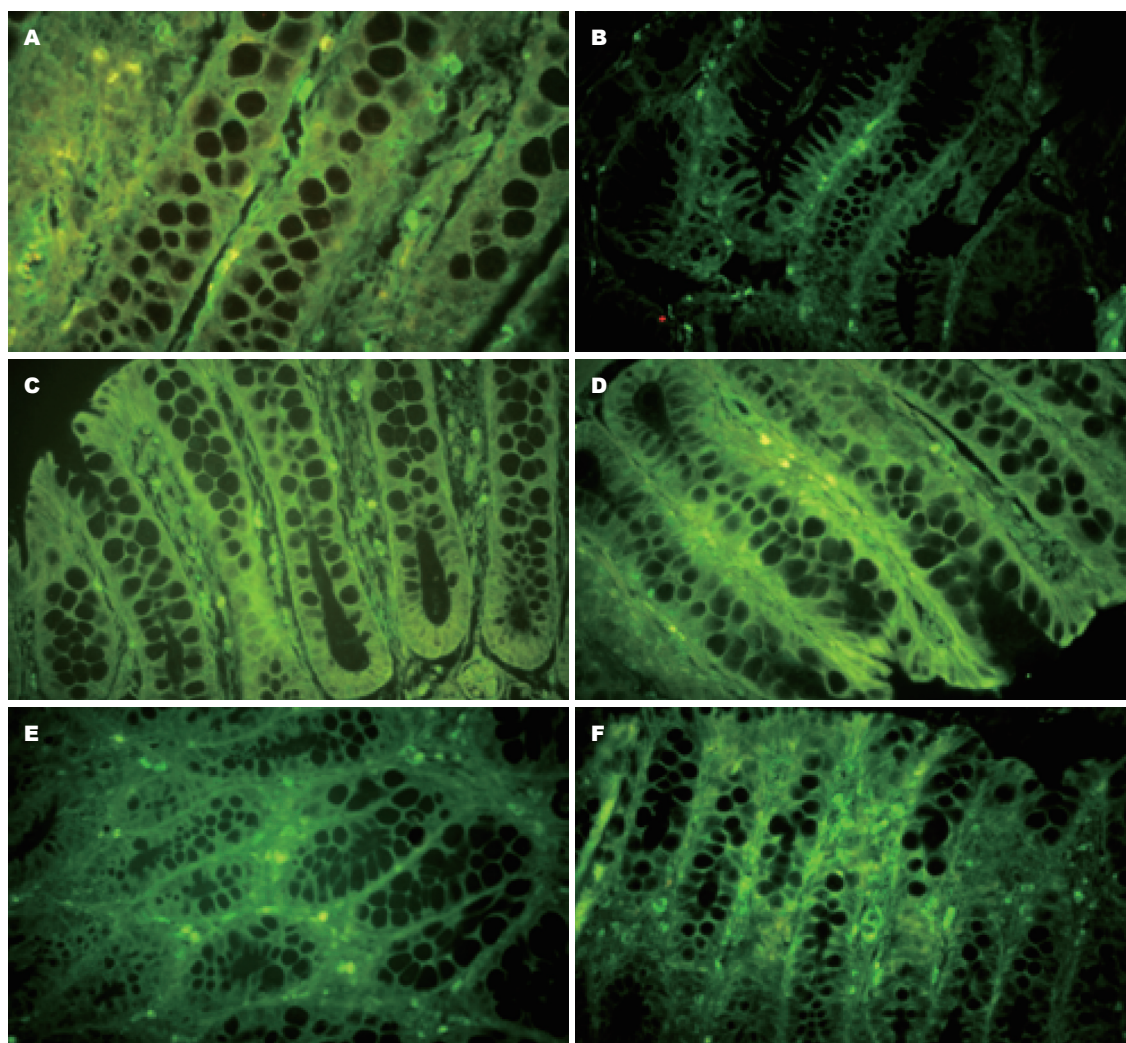
<sup>b</sup> $P < 0.0001$  vs 正常组; <sup>d</sup> $P < 0.0001$  vs 模型组; <sup>f</sup> $P = 0.0006$  vs SASP组。

量分析软件进行荧光阳性灶平均光密度的分析比较可见,正常组ZO-1的平均光密度为3.145  $\pm$  0.110,而模型组仅为1.802  $\pm$  0.192。正常组occludin的平均光密度为1.538  $\pm$  0.220,而模型组仅为0.568  $\pm$  0.154。清肠栓高、中剂量及SASP给药后

能不同程度使结肠组织TJ蛋白含量升高(表1, 2)。

## 3 讨论

UC发病时,肠黏膜会产生大量炎症细胞因子、炎症介质等均会对肠上皮细胞造成损伤,诱导



■同行评价  
本文创新性较好, 方法科学, 结果可靠, 具有重要的研究价值.

图2 结肠TJ蛋白occludin免疫荧光结果(FRITC染色 $\times 400$ ). A: 正常组; B: 模型组; C: SASP组; D: 清肠栓高剂量组; E: 清肠栓中剂量组; F: 清肠栓低剂量组.

上皮细胞凋亡, 影响上皮细胞TJ蛋白的表达及分布, 破坏上皮细胞间TJ, 抑制黏蛋白的产生, 破坏上皮细胞表面的黏液层, 造成肠黏膜屏障障碍.

肠道屏障是指肠道上皮具有分隔肠腔内物质, 防止致病性抗原侵入的功能. 肠黏膜屏障包括机械性屏障、免疫性屏障和菌群屏障. 其中以机械屏障最为重要. 机械屏障主要由肠黏膜基底膜、上皮细胞层、及其表面的黏液层所构成. 肠黏膜上皮细胞相互连接, 形成一个完整的生物屏障. 肠上皮细胞间的连接从顶端到基膜一次为TJ, 黏附连接, 桥粒, 缝隙连接, 其中以TJ最为重要. 所谓的TJ位于相邻上皮细胞之间, 是肠黏膜上皮细胞间的主要连接方式, 起着封闭细胞间隙的作用, 可防止肠腔内物质自由经过细胞间隙, 穿过上皮细胞层, 对调节肠道屏障的通透性发挥着重要的作用. 其作用主要包括<sup>[3-5]</sup>:

(1) TJ在细胞间隙的顶端形成渗透屏障, 调节水和电解质的极向运动, 防止大分子物质经肠腔漏到周围组织中; (2) TJ对其所围绕的细胞造成膜质的区域性差异, 使这些区域可进行转移的功能活动, 阻止膜中脂类和蛋白质的侧向扩散; (3) TJ蛋白在上皮细胞分化中起重要作用. TJ由一系列相互作用的蛋白所构成<sup>[6]</sup>, 主要有闭锁蛋白occludin和claudin、连接相关分子等跨膜蛋白、胞质附着蛋白ZO家族及与其相连的丝状肌动蛋白等30多种胞内蛋白组成. 其中又以ZO-1和occludin最为重要. 跨膜蛋白occludin相对分子质量为60 000 Da, 包括两个细胞外环和4个跨膜区域, 氨基端和羧基端均位于胞质内, 其中第一个细胞外环和羧基端在不同种属间有高度同源性. Occludin直接参与TJ的构成. ZO-1分子量为220 000-225 000 Da, 位于多种上皮细胞和内皮细胞间的闭锁小带中, 在胞质内有多个结合位

点. Occludin的羧基端含有一个coiled-coil结构域, 该结构域是occludin与ZO-1相互作用的位点. Occludin与ZO-1相互作用后, 将跨膜蛋白和细胞骨架连接在一起, 并调节细胞内外信号转导途径, 改变肌动蛋白收缩性, 影响细胞间TJ装配与功能, 调节其通透性. TJ的破坏可导致结肠内对有害物质通透性的增加, 引起肠黏膜损害和炎症<sup>[7]</sup>. 同时各种炎症因子及内毒素等可通过影响各种TJ蛋白的表达, 是连接复合体遭到破坏, 使肠黏膜通透性增加<sup>[8-10]</sup>. 此外, TJ通过密集斑片状方式与细胞骨架相联系, 使细胞内骨架与胞外连接蛋白实现信号沟通, 同时也起到支撑的作用. 细胞骨架由微管、微丝以及中间丝组成, 在维持细胞形态、物质运输、信号传导、能量转换等多个过程中发挥着重要的作用<sup>[11,12]</sup>. 细胞骨架的损伤, 会导致细胞内骨架支撑力不足, 细胞塌陷, 使细胞间隙增大, 导致TJ的结构和蛋白表达功能障碍<sup>[13,14]</sup>.

UC发病致使肠黏膜TJ及细胞骨架损害的机制目前尚不明确, 可能与如下因素有关: (1)UC时大量肠上皮细胞凋亡或收缩性改变, 使其与凋亡细胞相邻的上皮细胞不能有效地封闭凋亡细胞所留下的空间, 导致肠黏膜通透性增高<sup>[15-17]</sup>; (2)UC时炎症细胞因子等炎症介质容易诱导TJ蛋白表达及分布异常<sup>[18,19]</sup>, 从而破坏肠道屏障功能; (3)UC肠黏膜杯状细胞的数量明显减少, 导致黏蛋白的表达降低, 黏液层的厚度较正常人薄. 这种黏液屏障的改变, 导致黏蛋白功能下降, 不能有效地清除肠黏膜表面所黏附的细菌, 黏液层中细菌含量增多, 易诱导、加剧肠黏膜炎症反应<sup>[20,21]</sup>; (4)肌球蛋白轻链的磷酸化<sup>[22-27]</sup>. 其磷酸化引起的细胞TJ蛋白改变在炎症介质或内毒素所致的肠上皮屏障功能紊乱中起着重要的作用.

本病应属于祖国医学“肠癖”、“大瘕泄”、“痢疾”等疾病范畴, “湿”、“热”、“瘀”、“毒”为其主要病机. 清肠栓由青黛、参三七、马齿苋、五倍子等药物组成, 功效清热解毒, 化瘀止血, 敛疮愈疡. 其中马齿苋性寒, 味酸, 功能清热, 解毒, 止痢. 现代药理学研究表明马齿苋具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗过敏、调节平滑肌运动和增强免疫力的作用<sup>[28]</sup>. 青黛性寒清热、凉血解毒、消痈治痢, 其有效成分靛玉红能降低毛细血管的通透性, 调节机体免疫功能, 并具有类皮质激素样作用. 此外还有较强的抗肿瘤、抗病毒和抗菌功效<sup>[29]</sup>, 此二药共为君药; 参三七味苦微甘, 性平, 善化

瘀血, 又善止血妄行, 故而用其为臣药, 其所含皂甙类和黄酮类, 在血液、免疫、心脑血管、神经系统、物质代谢及抗肿瘤、抗衰老等方面有较好的活性<sup>[30]</sup>. 五倍子味酸, 性平, 敛肺, 涩肠, 止血, 解毒, 所含鞣酸能与生物体蛋白质、核酸、多糖及生物碱结合起到收敛作用<sup>[31]</sup>, 助上药以促使溃疡愈合, 复入少许冰片, 芳香散透, 引药深入, 共为佐使. 所以诸药合用充分发挥了中药的整体调节优势.

本研究通过对ZO-1、occludin蛋白进行免疫荧光标记, 发现UC发病会对结肠TJ和细胞骨架系统造成严重的损害, 使上述3种蛋白几乎完全被破坏. 清肠栓能不同程度减轻UC对TJ和细胞骨架的破坏, 保护肠道屏障功能, 从而抑制结肠通透性的增加.

#### 4 参考文献

- 1 王皓, 欧阳钦, 胡仁伟. 三硝基苯磺酸结肠炎动物模型的建立. 胃肠病学 2001; 6: 7-10
- 2 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1860-1861
- 3 Madara JL. Loosening tight junctions. Lessons from the intestine. *J Clin Invest* 1989; 83: 1089-1094
- 4 Ivanov AI, Nusrat A, Parkos CA. Endocytosis of the apical junctional complex: mechanisms and possible roles in regulation of epithelial barriers. *Bioessays* 2005; 27: 356-365
- 5 Usami Y, Chiba H, Nakayama F, Ueda J, Matsuda Y, Sawada N, Komori T, Ito A, Yokozaki H. Reduced expression of claudin-7 correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Hum Pathol* 2006; 37: 569-577
- 6 Anderson JM, Van Itallie CM. Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. *Am J Physiol* 1995; 269: G467-G475
- 7 Hollander D. Crohn's disease—a permeability disorder of the tight junction? *Gut* 1988; 29: 1621-1624
- 8 何新颖, 唐志鹏, 张亚利. 肠上皮屏障与炎症性肠病研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3316-3320
- 9 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434
- 10 秦环龙, 高志光. 肠上皮细胞紧密连接在肠屏障中的作用研究进展. 世界华人消化杂志 2004; 13: 443
- 11 Bausen M, Fuhrmann JC, Betz H, O'sullivan GA. The state of the actin cytoskeleton determines its association with gephyrin: role of ena/VASP family members. *Mol Cell Neurosci* 2006; 31: 376-386
- 12 刘继红, 蔡学泳, 何其华. 细胞骨架的激光共焦研究技术. 中国医学装备 2005; 2: 49-51
- 13 Clarke H, Soler AP, Mullin JM. Protein kinase C activation leads to dephosphorylation of occludin and tight junction permeability increase in LLC-PK1 epithelial cell sheets. *J Cell Sci* 2000; 113 (Pt 18): 3187-3196
- 14 杨俊, 张中伟, 秦环龙. 乳酸菌对肠上皮细胞侵袭性大肠杆菌损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3394-3399
- 15 Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Luinetti O, Ricevuti L, Morera R, Cifone MG, Solcia E, Corazza GR.

- Increased enterocyte apoptosis in inflamed areas of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1498-1507
- 16 Hagiwara C, Tanaka M, Kudo H. Increase in colorectal epithelial apoptotic cells in patients with ulcerative colitis ultimately requiring surgery. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 758-764
- 17 Moriez R, Salvador-Cartier C, Theodorou V, Fioramonti J, Eutamene H, Bueno L. Myosin light chain kinase is involved in lipopolysaccharide-induced disruption of colonic epithelial barrier and bacterial translocation in rats. *Am J Pathol* 2005; 167: 1071-1079
- 18 Gassler N, Rohr C, Schneider A, Kartenbeck J, Bach A, Obermüller N, Otto HF, Autschbach F. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G216-G228
- 19 Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011; 91: 151-175
- 20 Shaoul R, Okada Y, Cutz E, Marcon MA. Colonic expression of MUC2, MUC5AC, and TFF1 in inflammatory bowel disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 488-493
- 21 Van Klinken BJ, Van der Wal JW, Einerhand AW, Büller HA, Dekker J. Sulphation and secretion of the predominant secretory human colonic mucin MUC2 in ulcerative colitis. *Gut* 1999; 44: 387-393
- 22 Zolotarevsky Y, Hecht G, Koutsouris A, Gonzalez DE, Quan C, Tom J, Mrsny RJ, Turner JR. A membrane-permeant peptide that inhibits MLC kinase restores barrier function in in vitro models of intestinal disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 163-172
- 23 Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol* 2005; 166: 409-419
- 24 Turner JR. Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol* 2006; 169: 1901-1909
- 25 Wang F, Schwarz BT, Graham WV, Wang Y, Su L, Clayburgh DR, Abraham C, Turner JR. IFN-gamma-induced TNFR2 expression is required for TNF-dependent intestinal epithelial barrier dysfunction. *Gastroenterology* 2006; 131: 1153-1163
- 26 Schwarz BT, Wang F, Shen L, Clayburgh DR, Su L, Wang Y, Fu YX, Turner JR. LIGHT signals directly to intestinal epithelia to cause barrier dysfunction via cytoskeletal and endocytic mechanisms. *Gastroenterology* 2007; 132: 2383-2394
- 27 刘依凌, 王凤君, 陈传莉, 王裴. Rho激酶在大鼠严重烧伤后肠黏膜通透性改变中的作用及机制研究. 第三军医大学学报 2008; 30: 817-819
- 28 丁怀伟, 姚佳琪, 宋少江. 马齿苋的化学成分和药理活性研究进展. 沈阳药科大学学报 2008; 25: 831-837
- 29 邹莉波, 刘悦, 吴琦, 先宇飞, 周宏宇, 杜立阳. 青黛散抗溃疡性结肠炎的作用研究. 中国医科大学学报 2006; 35: 15-17
- 30 蒋敏明. 中药三七的药理药效研究进展. 中国中医药咨讯 2009; 1: 39
- 31 蒲春霞. 五倍子药理研究与临床应用进展. 现代临床医学 2005; 31: 119-121

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆  
2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种。本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

# 食管鳞癌组织及周围正常食管黏膜组织差异表达基因的筛选

赵路, 杨娟, 于婧, 张红, 高冬玲, 陈奎生

## ■背景资料

人类基因组计划的实施使肿瘤分子遗传学迅速发展, 但近几年应用基因芯片来研究寻找在食管鳞癌及癌旁组织中的差异表达基因, 进一步丰富食管鳞癌的基因表达谱信息及尽可能对食管鳞癌作出早期诊断鲜有报道。

赵路, 杨娟, 于婧, 张红, 高冬玲, 陈奎生, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省郑州市 450052

赵路, 在读硕士, 主要从事肿瘤病理的研究。

郑州市科技创新团队基金资助项目, No. 096SYJH33097

作者贡献分布: 赵路与杨娟对此文所作贡献均等; 此课题由陈奎生与赵路设计; 研究过程由赵路、杨娟、于婧、张红、高冬玲及陈奎生操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈奎生提供; 数据分析由赵路与杨娟完成; 本论文写作由赵路与杨娟完成。

通讯作者: 陈奎生, 教授, 450052, 河南省郑州市, 郑州大学第一附属医院病理科. chenks2002@yahoo.com.cn

电话: 0371-66658175

收稿日期: 2011-04-29 修回日期: 2011-07-18

接受日期: 2011-07-22 在线出版日期: 2011-08-08

## Screening of genes differentially expressed between human esophageal squamous cell carcinoma and tumor-adjacent normal tissue using gene chip technology

Lu Zhao, Juan Yang, Jing Yu, Hong Zhang, Dong-Ling Gao, Kui-Sheng Chen

Lu Zhao, Juan Yang, Jing Yu, Hong Zhang, Dong-Ling Gao, Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the Science and Technology Innovation Team Foundation of Zhengzhou City, No. 096SYJH33097

Correspondence to: Professor Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. chenks2002@yahoo.com.cn

Received: 2011-04-29 Revised: 2011-07-18

Accepted: 2011-07-22 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To screen differentially expressed genes between human esophageal squamous cell carcinoma and tumor-adjacent normal tissue to lay a theoretical basis for finding molecular markers specific for esophageal squamous cell carcinoma.

**METHODS:** Total RNA was extracted from human esophageal squamous cell carcinoma and tumor adjacent normal tissue specimens and cDNA was synthesized by reverse transcription. Probes were prepared by labeling the

synthesized cDNA with Cy3-dUTP and hybridized with gene chips to screen differentially expressed genes. Bioinformatic tools were used for characterization of differentially expressed genes obtained.

**RESULTS:** According to the expression ratio of  $>4.0$  or  $<0.25$ , a total of 1 113 differentially expressed genes were identified, including 464 up-regulated and 649 down-regulated ones. Bioinformatic analysis identified a variety of known functional genes. RT-PCR analysis confirmed that three genes were differentially expressed between human esophageal squamous cell carcinoma and tumor adjacent normal tissue.

**CONCLUSION:** Gene chip technology is highly efficient and reliable in screening genes differentially expressed in esophageal squamous cell carcinoma. The occurrence and development of esophageal squamous cell carcinoma is the result of expression of many cancer-related genes.

**Key Words:** Gene chip; Esophageal squamous cell carcinoma; Differentially expressed genes

Zhao L, Yang J, Yu J, Zhang H, Gao DL, Chen KS. Screening of genes differentially expressed between human esophageal squamous cell carcinoma and tumor-adjacent normal tissue using gene chip technology. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2328-2333

## 摘要

**目的:** 研究食管鳞癌组织及周围正常食管黏膜组织的差异表达基因, 为寻找食管鳞癌早期诊断高敏感性、高特异性的分子指标提供理论依据。

**方法:** 分别抽提人食管鳞癌组织及周围正常食管黏膜组织总mRNA, 逆转录成cDNA, 用单标法以Cy3-dUTP为标记制成探针, 与基因芯片进行杂交, 筛选出差异常表达的基因, 并用生物信息学方法做进一步分析。

**结果:** 在45 051个人类全基因组芯片中依Ratio

## ■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室

实验组(癌组织)/对照组(正常食管组织) $>4.0$ 或 $<0.25$ 的数据项, 共发现1 113条差异表达基因, 其中464条上调, 649条下调。经生物信息学分析, 表明包含多种功能基因。RT-PCR验证其中3条基因, 表达方向与芯片检测结果一致, 符合预期结果。

**结论:** 在食管鳞癌的发生、发展中存在着大量异常表达基因; 基因芯片是一高效筛选食管癌相关基因的方法。

**关键词:** 基因芯片; 食管鳞癌; 差异表达基因

赵路, 杨娟, 于婧, 张红, 高冬玲, 陈奎生. 食管鳞癌组织及周围正常食管黏膜组织差异表达基因的筛选. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2328-2333  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2328.asp>

## 0 引言

河南省是我国食管癌高发区之一, 且其中绝大多数为鳞癌。因此从分子生物学水平来研究揭示食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的发病机制具有重要价值。人类基因组计划的实施使肿瘤分子遗传学迅速发展, 但近几年应用基因芯片来研究寻找在ESCC及癌旁组织中的差异表达基因, 进一步丰富ESCC的基因表达谱信息及尽可能对ESCC作出早期诊断鲜有报道<sup>[1-5]</sup>。本实验通过基因芯片技术对ESCC的基因表达情况进行分析, 通过与正常食管组织对比, 寻找表达异常的基因, 以寻找与ESCC发生、发展有关的基因, 为ESCC的临床诊断、预防和治疗提供分子标记和靶基因。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-03/07河南省肿瘤医院手术切除的食管癌标本35例(注: 其中5例用于芯片扫描, 另外30例用于RT-PCR验证芯片扫描结果)患者男20例, 女15例, 平均年龄56.6岁, 符合ESCC诊断标准, 临床病理资料完整。术前未接受任何放、化疗。手术切除后立即取食管癌组织及相应远端正常食管黏膜组织在20-30 min内快速冷冻在液氮罐中, 于-80℃的冰箱中保存。术后病理证实均为中、高分化鳞状细胞癌, 均无淋巴结转移。基因芯片采用Agilent公司的人全基因组表达谱芯片, 每张芯片包括45 015个寡核苷酸, 其中有43 376个人基因探针和1 639个实验控制探针。主要仪器: PCR仪(MJ, PTC-100)、杂交炉(Agilent, G2545A)、扫描仪(Agilent,

G2565BA)、分光光度计(Nanodrop, ND1000)。主要试剂: 荧光染料Cy3 NHS ester(GE Healthcare, PA13105)、aaUTP(Ambion, AM8436)、Low RNA Input Linear Amplification kit(Agilent, 5184-3523)、杂交试剂盒(Agilent, 5188-5242)、Gene Expression Wash Buffer Kit (including wash buffer 1 & 2)(Agilent, 5188-5327)、Stabilization and Drying Solution(Agilent, 5185-5979)、Gasket slide(Agilent, G2534-60003)、杂交仪, (Agilent, G2534A)、RNeasy Mini kit(QIAGEN, 74106)。

### 1.2 方法

**1.2.1 样品准备:** 经活检证实为ESCC的5例标本, 手术切除离体后, 立即切取癌组织及其3 cm以上远端切缘(对照, 经病理证实为食管黏膜正常组织)投入液氮中。

**1.2.2 总RNA抽提:** 将样品从液氮中取出放入研钵中, 边加液氮边研磨, 按照mirVana™ miRNA试剂说明书进行, 抽提总RNA, 测 $A_{260/280}$ 值, 进行琼脂糖电泳。每份组织样品总RNA的 $A$ 值均在1.8-2.1, 总RNA经1%琼脂糖电泳, 可见18S和28S两条清晰的条带, 证实已经获得高纯度完整的总RNA。确认RNA质量合乎实验要求。

**1.2.3 逆转录和标记:** 用Low RNA Input Linear Amplification Kit将mRNA逆转录成cDNA, 同时用Cy3分别标记实验组(癌组织)和对照组(正常食管组织)。

**1.2.4 杂交:** 按芯片使用说明书的步骤进行, 温度在65℃, 经17 h 10 r/min滚动杂交, 37℃洗片。

**1.2.5 数据处理:** 杂交后芯片用Agilent扫描仪扫描, 分辨率为5 μm, 扫描仪自动以100%和10%PMT各扫描1次, 2次结果Agilent软件自动合并。扫描图像数据采用Feature Extraction进行处理分析, 得到的原始数据应用Bioconductor程序包进行后续数据处理。最后Ratio值为实验组(癌组织)/对照组(正常食管组织)。差异基因筛选标准: ratio $\geq 4$ 为上调基因,  $\leq 0.25$ 为下调基因。

**1.2.6 RT-PCR验证结果:** 为了验证芯片结果的有效性, 我们另取30例ESCC组织及其周围正常组织为研究对象, 进行RT-PCR试验, 验证3条基因产物。

## 2 结果

**2.1 芯片杂交** 芯片上每个基因克隆双点检验同一阵列的重复性。杂交后扫描图像阳性对照点信号强, 阴性对照点与空白对照点信号弱或无。图像信号清晰, 背景信噪低, 证实该实验可靠。

**■研发前沿**  
目前采用基因芯片筛选食管鳞癌差异表达基因是一个研究热点。

## ■相关报道

姜玉章等使用双标法(cy5.cy3)在含有14 000点的基因芯片上,依Ratio(cy5/cy3)>2.0或<0.5的数据项筛选出有差异表达的基因共1 855个。

表 1 筛选结果下调的部分差异表达基因

基因名称	下调基因功能	染色体定位
ACTA1	actin, alpha 1, skeletal muscle	1q42.13-q42.2
MYH7	myosin, heavy chain 1, cardiac muscle, beta	14q12
CKM	creatine kinase, muscle	19q13.2-q13.3
TNNC1	troponin C type 1 (slow)	3p21.3-p14.3
MB	myoglobin	22q13.1
MYH2	myosin, heavy chain 2, skeletal muscle, adult	17p13.1
TFF1	trefoil factor 1 (breast cancer, estrogen-inducible sequence expressed in)	21q22.3
OGN	osteoglycin (osteoinductive factor, mimecan)	9q22

表 2 筛选结果上调的部分差异表达基因

基因名称	上调基因功能	染色体定位
MMP-3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11q22.3
COL11A1	collagen, type XI, alpha 1	1p21
SPANXD	SPANX family, member D	Xq27.1
CALB1	calbindin 1, 28 kDa	8q21.3-q22.1
SPANXA1	sperm protein associated with the nucleus, X-linked, family member A1	Xq27.1
SPRR2G	small proline-rich protein 2G	1q21-q22
MAGEA2B	melanoma antigen family A, 2B	Xq28
MMP-1	matrix metalloproteinase 1 (interstitial collagenase)	11q22.3

用实验组(癌组织)与对照组(正常组织)的荧光信号作散点图,大部分聚集在一个以45度对角线为中心的区域里,表示信号差异在0.25-4.00(图1, 2).

2.2 生物信息分析 依荧光素实验组/对照组比值(Ratio)>4.0或<0.25的数据项差异表达,在45 015个基因中共筛选出1 113个差异表达基因,其中464条上调,649条下调,占总数的2.47%(1 113/45 015).在异常表达的基因中,表达序列标签(EST)329个,其中上调基因167个,下调基因162个.在784个已知功能的基因中,上调基因297个,下调基因487个.根据GO(gene ontology)分析分类,将差异表达的基因按分子功能(molecular function)进行分类,发现在这些异常的基因中,与细胞分化、成熟,分子定位、连接,信号传导,酶活性调节,以及基因转录、翻译有关的基因最多(表1, 2).

2.3 芯片结果反证 为了验证芯片结果的有效性,我们另取30例ESCC组织及其周围正常组织为研究对象,进行RT-PCR试验,验证3条基因产物.(1)MMP-1上游引物TCAACCAGGCCAGGTATTG;下游引物TGGCCGAGTTCATGAGCTG;产物长度111 bp;(2)MYH7上游引物CGCATCATCACGCGTATCC;下游引物

GCCCGAATGTTCCACTGGA;产物长度113 bp;(3)SPANXA1上游引物GCCTGCCACTGACATTGAAGA;下游引物CGTTGGCCTCGTTGGAATC;产物长度101 bp. PCR两步法,反应条件为:95℃预变性30 s;95℃ 5 s;60℃ 30 s;25个循环.采用Smart View分析软件或Gel-Pro analyzer software Versino 3.1对电泳所得条带进行密度定量分析符合预期结果(图3).

### 3 讨论

癌的发生是一系列分子变化的结果,是许多肿瘤相关基因表达失常所致.ESCC与其他肿瘤一样,有多个癌基因,抑癌基因参与了其形成过程.通过基因芯片检测和确定在ESCC样本中差异表达的基因,可以从分子水平寻找病因,探索发病机制,为ESCC的早期诊断、基因治疗和预后判断提供思路 and 依据.

本次实验采用基因芯片技术筛选食管癌中异常表达的基因,共发现1 113条,其中784个已知功能的基因,上调297个,下调487个.在这些差异表达基因中基质金属蛋白酶MMPs是一类具有Zn<sup>2+</sup>依赖性的内源性蛋白水解酶,他们通过蛋白水解的作用降解重塑细胞外基质,包括基底膜降解,是肿瘤浸润和在远处克隆生长的基本步

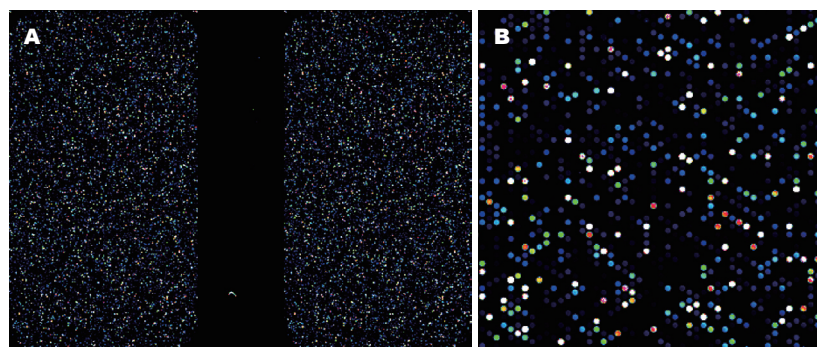


图 1 基因芯片扫描图. A: 芯片扫描全图; B: 芯片扫描局部放大图.

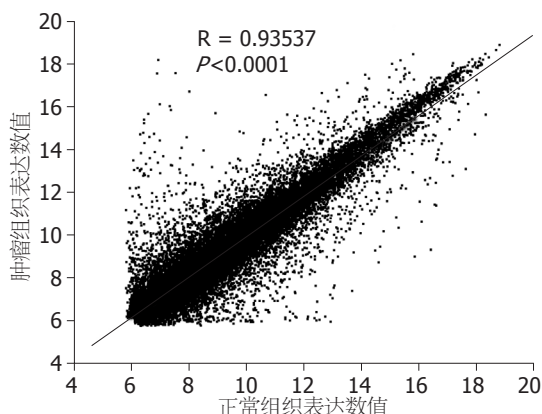


图 2 基因芯片杂交信号散点图.

骤<sup>[6]</sup>. 他们既可以通过重塑ECM, 又可以通过刺激肿瘤生长和运动来帮助肿瘤细胞转移<sup>[7]</sup>. 基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)是上调最明显的一个, 其差异表达倍数有135倍之多. 研究证实, 在胃癌、肺癌、宫颈癌、口腔鳞癌中都发现了MMP-1基因具有多态性<sup>[8-10]</sup>, 并且伴随着MMP-1 mRNA及蛋白的表达上升, 肿瘤恶性转化和演进的能力提高. Brmmer等<sup>[11]</sup>发现在宫颈癌组织中MMP-1的表达增多, 并且随着肿瘤分级和分期的增加而增加. Schütz等<sup>[12]</sup>发现在肺鳞癌中MMP-1的表达较正常的肺组织增多, 认为其可能参与了肺鳞癌的侵袭和转移. 头颈部、阴部鳞癌、乳腺癌、膀胱癌、软组织瘤黑色素瘤等恶性肿瘤中MMP-13都有较高的表达, 且主要表达于肿瘤侵袭的边缘<sup>[13-15]</sup>. 其他MMP家族成员表达普遍升高, MMP-3, 9, 10, 11, 12均在20倍以上. 可见MMPs对ESCC的发生、发展有着极大的影响. 黑色素瘤抗原基因(melanoma antigen, MAGE)家族, 该家族共12个成员均位于X染色体长臂末端Xq28上<sup>[16,17]</sup>. Inoue等<sup>[18]</sup>曾用RT-PCR方法分析了42例食管癌手术切除的新鲜标本, 发现MAGE-1, 2, 3表达率分别为62%、43%和57%, 而癌旁正常组织均不表达. 79%患者的肿瘤细胞至少表达其中一

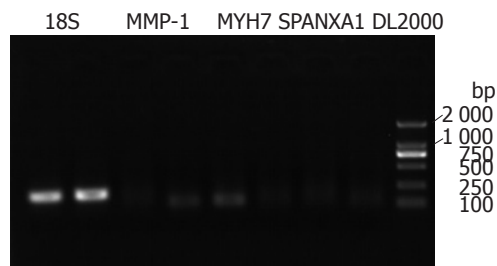


图 3 芯片结果RT-PCR验证图. 18S为参照, 采用Smart View分析软件对电泳所得条带进行密度定量分析可得MMP-1明显上调, SPANXA1稍有上调, MYH7明显下调.

种基因, 29%表达全部3种基因. Zambon等<sup>[19]</sup>分析报道了24例ESCC和24例食管腺癌中MAGE基因的表达及其与预后因素的关系. 结果发现, 67%鳞癌和37.5%腺癌至少表达一种MAGE基因, Liang等<sup>[20]</sup>通过RT-PCR技术检测发现, 在食管癌中, MAGEA3在肿瘤组织中高表达(62.9%), 正常组织中不表达. 三叶因子1(trefoil factor 1, TFF1)又称雌激素调节蛋白pS2, 他与TFF2(解痉多肽SP)和TFF3(肠三叶因子ITF)构成TFFs家族. 目前, TFF1在胃肠道肿瘤中的作用以胃癌研究相对较多, 他的功能不全与胃黏膜的瘤性转化密切相关. TFF1在胃肠道肿瘤细胞中抑制细胞分化增殖, 另一方面抑制凋亡, 提示其双重活性. 故有学者认为其在胃中的抗癌作用可能是抑癌-促癌潜能的综合结果<sup>[21]</sup>. TFF1参与细胞增殖、分化和凋亡, 理论上能通过任一过程参与肿瘤形成<sup>[22]</sup>. 国内学者<sup>[23]</sup>在食管癌及癌旁组织中未检测到TFF1的阳性表达, 但Labouvie等<sup>[24]</sup>用免疫组织化学的方法研究了40例ESCC和21例BE化生上皮的标本, 发现其中10%鳞状细胞癌和100% BE化生上皮TFF1高表达. 梁志海等<sup>[25]</sup>采用免疫组织化学法检测33例ESCC及癌旁组织的TFF1、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和微血管密度(microvessel density, MVD)的表达提出TFF1可能通过上调VEGF表达促进ESCC新生血管的形

#### ■创新盘点

本文为克服双标法荧光竞争, 背景难于扣除, 两种荧光的标记效率不同等缺点采用单标法(cy3)在45 051个人类全基因组芯片中依Ratio实验组(癌组织)/对照组(正常食管组织)>4.0或<0.25的数据项, 共发现1 113条差异表达基因, 经生物信息学分析, 表明包含多种功能基因. 并且用RT-PCR技术对芯片结果进行了反证.

### ■应用要点

本文通过与正常食管黏膜组织对比,在食管鳞癌中筛选出大量差异表达基因为寻找食管鳞癌早期诊断高敏感性、高特异性的分子指标提供理论依据,并且证明了基因芯片是一高效筛选差异表达基因的方法。

成。而本研究结果提示,TFF1在食管癌中低表达,表明TFF1在食管癌发生、发展中也可能是抑癌-促癌潜能的综合结果。骨诱导因子(osteoglycin, OGN)基因定位于人染色体的9q22,属于小亮氨酸富集蛋白家族。该蛋白广泛分布于角膜、心室、小肠、骨、皮肤等正常组织中,具有调节I型胶原纤维生成的功能<sup>[26]</sup>,可能是血管外基质成分之一,还可能具有调节细胞生长和分化的功能<sup>[27]</sup>。OGN第一个内含子区含有p53基因的结合位点,而且研究证实P53能增强OGN基因的转录活性,并且在P53突变的肿瘤和癌细胞系中OGN表达下降或缺失<sup>[28,29]</sup>。Wang等<sup>[30]</sup>研究发现骨诱导因子蛋白在正常肠黏膜中高表达,而在直肠癌组织中表达缺失,Lee等<sup>[31]</sup>发现OGN在胃癌组织中的表达比癌旁正常组织明显下调,提示OGN可能与直肠癌和胃癌的发生相关。潘秀华等<sup>[32]</sup>OGN mRNA在乳腺癌旁正常组织、良性肿瘤、原发癌和转移癌的高表达率分别为76.7%、83.3%、44.4%和6.7%,其中在非癌的良性肿瘤与正常组织间无差异,提示OGN mRNA低水平状态与乳腺癌的发生和转移相关,有望作为乳腺癌诊断和监测肿瘤进展的分子标志物。但国内外还没有对OGN与食管癌之间的关系有所研究、报道。本实验利用基因芯片筛选到的食管癌差异表达基因中OGN也是低水平表达,且差异表达倍数有19.4倍之多。提示OGN有望成为食管癌诊断的分子标志物。S100基因染色体定位于1q21。该蛋白家族是一类由21个成员组成的、低分子量的、酸性钙离子结合蛋白。研究证实,这类蛋白的表达具有高度的组织和细胞类型特异性,已发现其中数个S100成员在多种肿瘤中表达异常,与肿瘤的浸润、转移有关,因此S100家族与肿瘤的发生发展关系密切,该家族成员与肿瘤生物学特性之间的相关性研究已成为临床医学和基础研究关注的焦点。S100A12或CAAF1同属S100家族,Hitomi等<sup>[33]</sup>证实S100A12与食管上皮细胞终末分化密切相关;而S100P涉及食管上皮细胞早期分化过程。S100A2作为一个候选抑癌基因,Kyriazanos等<sup>[34]</sup>认为评价其表达情况对于ESCC的治疗和预后具有重要意义。孔建平<sup>[35]</sup>研究结果表明S100A8和S100A9在食管癌变不同时期均有下调,其表达随癌变进程逐渐减低(中、低分化细胞比高分化细胞表达水平低)表达水平与病理分级呈显著相关。

基因芯片高通量的特点,可以同时分析上万

个基因的表达结果。因此通过对基因芯片结果的整理和分析,我们不难发现,在食管癌中存在大量异常表达的基因,这些基因中有许多已经证明和癌的发生、发展有关,也发现许多新的异常表达基因,这些异常表达的基因参与许多分子生物学过程,他们之间相互影响有着极其复杂的关系,在不同阶段发挥作用,影响细胞的增殖、分化、成熟及凋亡等,还跟分子定位、连接,信号传导,酶活性调节,以及基因转录、翻译调节有关,这也证明了食管癌的发生、发展是一个多因素、多阶段的过程;虽然有许多基因涉及,但其中相当一部分可能是继发性改变,因此只有进一步筛选出关键性的基因/通路,才可能对疾病的诊断和治疗提供有效的指导;而从基因到蛋白质需要经过转录,翻译以及加工修饰才有活性,细胞中的mRNA与蛋白质丰度存在不相关,而且很多蛋白质调节其功能不主要是依赖其是否表达或表达量高低,而是依赖蛋白质磷酸化-去磷酸化等方式,因此还需将基因分析与蛋白质分析相结合,才能更准确地揭示肿瘤的发生、发展过程。

总之,基因芯片是一种高通量,快速的检测基因表达量的手段。随着生物信息学、计算机生物学的发展,基于基因芯片数据的生物统计分析方法不断完善。基因芯片在肿瘤发生机制、早期诊断、肿瘤亚型分类、指导治疗、评估预后已显示出广阔的临床应用前景。

### 4 参考文献

- 1 姜玉章,熊化生,郭伟,胡传贤,金云,钱强,潘汉胤.食管鳞癌家族史患者癌及癌旁组织基因表达谱的初步研究.放射免疫杂志 2007; 20: 282-284
- 2 姜玉章,熊化生,郭伟,孙苏安.基因芯片筛选食管鳞癌患者癌及癌旁组织差异表达基因.肿瘤防治研究 2009; 36: 17-20
- 3 张挺,陶仪声.基因芯片在筛选食管鳞癌相关基因中的应用.中华全科医学 2009; 7: 1028-1029
- 4 任宏,邓智平.基因芯片对中段食管癌基因表达谱的研究.现代肿瘤医学 2006; 14: 816-819
- 5 李沛,凌志强,杨洪艳,黄幼田,赵继敏,郑智敏,董子明.实时荧光定量RT-PCR和cDNA基因芯片方法分析食管癌组织中基因的表达.郑州大学学报(医学版) 2006; 41: 841-843
- 6 Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 161-174
- 7 Chang C, Werb Z. The many faces of metalloproteinases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S37-S43
- 8 Matsumura S, Oue N, Kitadai Y, Chayama K, Yoshida K, Yamaguchi Y, Toge T, Imai K, Nakachi K, Yasui W. A single nucleotide polymorphism in the MMP-1 promoter is correlated with histological differentiation of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*

- 2004; 130: 259-265
- 9 Nishioka Y, Sagae S, Nishikawa A, Ishioka S, Kudo R. A relationship between Matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter polymorphism and cervical cancer progression. *Cancer Lett* 2003; 200: 49-55
- 10 Lin SC, Chung MY, Huang JW, Shieh TM, Liu CJ, Chang KW. Correlation between functional genotypes in the matrix metalloproteinases-1 promoter and risk of oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 323-326
- 11 Brummer O, Böhmer G, Hollwitz B, Flemming P, Petry KU, Kühnle H. MMP-1 and MMP-2 in the cervix uteri in different steps of malignant transformation--an immunohistochemical study. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 222-227
- 12 Schütz A, Schneidenbach D, Aust G, Tannapfel A, Steinert M, Wittekind C. Differential expression and activity status of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in tumor and stromal cells of squamous cell carcinomas of the lung. *Tumour Biol* 2002; 23: 179-184
- 13 Zhang B, Cao X, Liu Y, Cao W, Zhang F, Zhang S, Li H, Ning L, Fu L, Niu Y, Niu R, Sun B, Hao X. Tumor-derived matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) correlates with poor prognoses of invasive breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 83
- 14 Corte MD, Gonzalez LO, Corte MG, Quintela I, Pidal I, Bongera M, Vizoso F. Collagenase-3 (MMP-13) expression in cutaneous malignant melanoma. *Int J Biol Markers* 2005; 20: 242-248
- 15 Aaltonen V, Boström PJ, Söderström KO, Hirvonen O, Tuukkanen J, Nurmi M, Laato M, Peltonen J. Urinary bladder transitional cell carcinogenesis is associated with down-regulation of NF1 tumor suppressor gene in vivo and in vitro. *Am J Pathol* 1999; 154: 755-765
- 16 Oaks MK, Hanson JP, O'Malley DP. Molecular cytogenetic mapping of the human melanoma antigen (MAGE) gene family to chromosome region Xq27-qter: implications for MAGE immunotherapy. *Cancer Res* 1994; 54: 1627-1629
- 17 De Plaen E, Arden K, Traversari C, Gaforio JJ, Szikora JP, De Smet C, Brasseur F, van der Bruggen P, Lethé B, Lurquin C. Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 1994; 40: 360-369
- 18 Inoue H, Mori M, Li J, Mimori K, Honda M, Nakashima H, Mafune K, Tanaka Y, Akiyoshi T. Human esophageal carcinomas frequently express the tumor-rejection antigens of MAGE genes. *Int J Cancer* 1995; 63: 523-526
- 19 Zambon A, Mandruzzato S, Parenti A, Macino B, Dalerba P, Ruol A, Merigliano S, Zaninotto G, Zanovello P. MAGE, BAGE, and GAGE gene expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the gastric cardia. *Cancer* 2001; 91: 1882-1888
- 20 Liang Z, Sun ZY, Yuan YH, Han Y, Wang Y, Gu J, Zhang LJ. [The expression of 11 cancer/testis (CT) antigen genes in esophageal carcinoma]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2005; 27: 534-537
- 21 Yio X, Diamond M, Zhang JY, Weinstein H, Wang LH, Werther L, Itzkowitz S. Trefoil factor family-1 mutations enhance gastric cancer cell invasion through distinct signaling pathways. *Gastroenterology* 2006; 130: 1696-1706
- 22 周林静, 赵长宏. TFF1在胃肠道肿瘤中的研究. *实用肿瘤学杂志* 2006; 20: 548-550
- 23 任建林, 罗金燕, 卢雅丕, 王琳, 陈建民, 施华秀, 潘金水. 三叶因子1表达与胃黏膜损伤及胃癌的关系. *第一军医大学学报* 2005; 25: 1178-1180
- 24 Labouvie C, Machado JC, Carneiro F, Sarbia M, Vieth M, Porschen R, Seitz G, Blin N. Differential expression of mucins and trefoil peptides in native epithelium, Barrett's metaplasia and squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999; 125: 71-76
- 25 梁志海, 唐国都, 赖铭裕. 三叶因子1与食管鳞癌新生血管形成的关系. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 2459-2462
- 26 Ge G, Seo NS, Liang X, Hopkins DR, Höök M, Greenspan DS. Bone morphogenetic protein-1/toll-related metalloproteinases process osteoglycin and enhance its ability to regulate collagen fibrillogenesis. *J Biol Chem* 2004; 279: 41626-41633
- 27 Tasheva ES, Ke A, Deng Y, Jun C, Takemoto LJ, Koester A, Conrad GW. Differentially expressed genes in the lens of mimecan-null mice. *Mol Vis* 2004; 10: 403-416
- 28 Tasheva ES, Maki CG, Conrad AH, Conrad GW. Transcriptional activation of bovine mimecan by p53 through an intronic DNA-binding site. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1517: 333-338
- 29 Tasheva ES, Conrad GW. The UV responsive elements in the human mimecan promoter: a functional characterization. *Mol Vis* 2003; 9: 1-9
- 30 Wang Y, Ma Y, Lü B, Xu E, Huang Q, Lai M. Differential expression of mimecan and thioredoxin domain-containing protein 5 in colorectal adenoma and cancer: a proteomic study. *Exp Biol Med* (Maywood) 2007; 232: 1152-1159
- 31 Lee JY, Eom EM, Kim DS, Ha-Lee YM, Lee DH. Analysis of gene expression profiles of gastric normal and cancer tissues by SAGE. *Genomics* 2003; 82: 78-85
- 32 潘秀华, 陈晓慧, 李晓青, 冯玉梅. 骨诱导因子mRNA表达与乳腺癌发生和转移的关系. *天津医科大学学报* 2008; 14: 203-206
- 33 Hitomi J, Kimura T, Kusumi E, Nakagawa S, Kuwabara S, Hatakeyama K, Yamaguchi K. Novel S100 proteins in human esophageal epithelial cells: CAAF1 expression is associated with cell growth arrest. *Arch Histol Cytol* 1998; 61: 163-178
- 34 Kyriazanos ID, Tachibana M, Dhar DK, Shibakita M, Ono T, Kohno H, Nagasue N. Expression and prognostic significance of S100A2 protein in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Oncol Rep* 2002; 9: 503-510
- 35 孔建平. 食管癌基因表达谱的分析及S100A8/S100A9在食管癌变中的作用研究. 北京: 中国协和医科大学, 2004: 1-142

■同行评价  
本文选题较好, 具有较高的科学价值和应用价值。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

# STAT3信号通路在胃肠道肿瘤发生发展中的作用

蔡琴伟, 黄缘

## ■背景资料

STAT3在胃癌及结肠直肠癌中的表达异常增高, 而且与肿瘤的分化程度、临床分期、淋巴结与器官转移、远期存活率等密切相关。STAT3在胃肠道肿瘤中的作用机制值得探讨。

蔡琴伟, 黄缘, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

作者贡献分布: 此课题由黄缘设计; 文献收集与论文写作由蔡琴伟完成; 黄缘审校。

通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市, 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: 0791-6292163

收稿日期: 2011-06-09 修回日期: 2011-07-28

接受日期: 2011-08-05 在线出版日期: 2011-08-08

## Role of STAT3 in the development and progression of gastroenteric tumors

Qin-Wei Cai, Yuan Huang

Qin-Wei Cai, Yuan Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Professor Yuan Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. huang9815@yahoo.com

Received: 2011-06-09 Revised: 2011-07-28

Accepted: 2011-08-05 Published online: 2011-08-08

## Abstract

STAT3 is a member of the signal transducers and activators of transcription (STATs) family of proteins. Cytoplasmic STAT3 is phosphorylated by JAK to form STAT3-STAT3 dimers. After dimerization, the dimers translocate to the nucleus, where they bind to specific DNA response elements in the promoters of target genes to regulate the transcription of these genes. Recently it has been found that STAT3 plays a significant role in gastroenteric tumorigenesis, especially gastric cancer and colorectal carcinoma. STAT3 regulates the expression of genes that mediate survival & anti-apoptosis (Bcl-2, survivin, cyclin D1), invasion & metastasis (matrix metalloproteinases), and angiogenesis (vascular endothelial growth factor). Multiple mechanisms are involved in regulating the STAT3 signaling pathway. Two major groups of direct negative modulators of STAT3 signaling are the suppressors of cytokine signaling (SOCS) and the protein inhibitors of activated STATs (PIAS). STAT3 inhibitors are promising agents for the therapy

of gastroenteric tumors.

**Key Words:** Signal transducer and activator of transcription 3; Gastroenteric tumors; Invasion; Metastasis; Angiogenesis

Cai QW, Huang Y. Role of STAT3 in the development and progression of gastroenteric tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2334-2339

## 摘要

STAT3是转录因子STAT家族中的一员, 经JAK磷酸化, 成为其活性形式-pSTAT3(Tyr705), 并形成二聚体从细胞质转移至细胞核, 与目的基因的启动子结合, 促进目的基因的表达。近年来STAT3在胃肠道恶性肿瘤的作用越来越受到关注, STAT3通过调控Bcl-2、survivin、MMP、VEGF等蛋白的过度表达, 在细胞增殖与抗凋亡、肿瘤浸润与转移、肿瘤血管生成等方面促进胃肠道肿瘤的发生和发展。STAT3同样受到负反馈的调节, 如SOCS、PIAS等, STAT3活性的抑制剂在治疗胃肠道肿瘤方面发挥越来越重要的作用。

**关键字:** 信号传导与转录活化因子3; 胃肠道肿瘤; 浸润; 转移; 血管生成

蔡琴伟, 黄缘. STAT3信号通路在胃肠道肿瘤发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19(22): 2334-2339

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2334.asp>

## 0 引言

胃癌、结肠直肠癌均是人类常见的恶性肿瘤, 其中, 胃癌居全球癌症死亡率的第2位。大量实验发现在胃肠道肿瘤中存在信号传导与转录活化因子的异常活化。信号传导与转录活化因子(signal transducers and activators transcription, STAT)家族是存在于真核生物细胞质中的转录因子家族中的一员, 迄今由7个成员组成, 分别为STAT-1, -2, -3, -4, -5A, -5B, -6<sup>[1]</sup>。

## 1 结构及分类

1.1 STAT的结构 7种STAT蛋白均具有保守的

## ■同行评议者

王振宇, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科; 宋军, 副教授, 武汉协和医院消化科

区域: DNA结合区、Src同源区2(Src homology region 2, SH2)以及关键的酪氨酸残基位点, 每个区域使STAT具有相应的特异性功能<sup>[2]</sup>. 当一些细胞因子、生长因子、激素等与细胞膜的相应受体结合后, 磷酸化Janus酪氨酸激酶(Janus kinase, JAK), STAT在活化的JAK作用下酪氨酸残基发生磷酸化并与另一个STAT单体的SH2区域可逆性结合, 形成二聚体移位至细胞核, 在核内其DNA结合区与特异的DNA结合, 促进特异基因的表达, 进而发挥调控细胞分化、增殖等生物学作用<sup>[1]</sup>.

参与STAT的活化的上游信号分子除了上述JAK外, 还有一些具有内生性酪氨酸激酶活性的细胞因子膜受体, 如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和血小板生长因子受体(platelet growth factor receptor, PGFR), 当这些膜受体与相应的细胞因子结合后直接活化STAT; 以及细胞质内的激酶(如Src和Abl), 可直接磷酸化STAT的酪氨酸残基<sup>[3]</sup>.

在正常细胞中, STAT的活化仅维持数分钟至数小时, 是一个非常短暂的过程; 但在肿瘤细胞内, 因生长因子、细胞因子的失调, STAT的酪氨酸残基持续磷酸化, 使活化的STAT处于异常升高的水平<sup>[4]</sup>.

**2.2 Stat的分类** STAT蛋白(即Stat)可分为2大类: 一类是Stat2、Stat4和Stat6, 可被一小部分细胞因子活化, 仅在T淋巴细胞发育和干扰素(interferon, IFN) $\gamma$ 信号途径中发挥部分作用; 另一类是Stat1、Stat3和Stat5, 可通过一系列的受体在不同组织中活化, 分别参与IFN信号途径、乳腺发育、生长激素应答以及胚胎生成等过程. STAT蛋白的结构性活化存在于广泛的人类细胞系和原发性肿瘤中, 包括血液系统恶性肿瘤(如白血病、淋巴瘤、骨髓瘤)和实体瘤(如乳腺癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌等). 其中Stat3和Stat5与肿瘤生成的关系最密切<sup>[5]</sup>.

## 2 STAT3的结构及活性形式

**2.1 STAT3的结构** 人类编码STAT3的基因位于染色体17q21, 全长7.52 kb, 转录的mRNA由4 978 bp组成, 编码包含770个氨基酸序列的开放读码框, 其中酪氨酸残基位于第705位, 此外, 在725位尚有丝氨酸残基位点. STAT3最早以“DNA连接因子”被称为“急性期反应蛋白(acute-phase response factor, APRF)”, 是因由白介素-6

(interleukin-6, IL-6)刺激下的肝细胞中, 发现该“DNA连接因子”选择性结合“急性期基因”启动子中的IL-6敏感元件, 从而促进急性期基因的表达, 故将其命名为APRF<sup>[6]</sup>. 后来发现在表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等的刺激下, 这种DNA连接因子的作用同样会出现, 因此这类将细胞外信号传导至细胞核内、具有转录基因的活化并且信号通路中有第二信使参与的因子称为信号传导与转录活化因子<sup>[7]</sup>, 上述的DNA连接因子即归类为STAT3.

**2.2 STAT3的活性形式** 多种致癌物、放射线、病毒、生长因子、原癌基因、细胞因子等与细胞膜表面的相应受体结合后, 活化细胞内的JAK, 促使STAT3第705位酪氨酸发生磷酸化, 即pSTAT3(Tyr705), 磷酸化的酪氨酸与另一单体STAT3的SH2区域可逆性结合形成STAT3同源二聚体, 获得移位至细胞核的能力, 在细胞核内作为转录因子与促进的基因转录, 调控肿瘤的细胞周期进展(cyclin D1, c-Myc)、抑制细胞凋亡[B细胞淋巴细胞性白血病原癌基因(B-cell lymphocytic-leukaemia pro-oncogene, Bcl)、Bcl-xL、mcl-1、survivin]、降解细胞外基质[基质金属酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族]、血管生成[血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)]等<sup>[8-10]</sup>. pSTAT3(Tyr705)虽然为STAT3的活性形式, 但也有文献认为非磷酸化STAT3(UP-STAT3)蛋白在浸润性结直肠癌中的表达与pSTAT3的表达均显著增加, 且与Bcl-xL、survivin的高水平表达及淋巴结转移状况等显著相关<sup>[10]</sup>. UP-STAT3发挥作用的机制, 可能与UP-STAT3也可以形成二聚体进入细胞核参与目的基因转录过程, 或者UP-STAT3能够通过与其他转录因子(如核因子NF- $\kappa$ B)结合的形式进入细胞核促进目的基因转录等原因有关<sup>[11-13]</sup>.

## 3 STAT3的促进肿瘤生成与发展的作用

**3.1 STAT3与胃肠道肿瘤细胞的增殖和抗凋亡** 肿瘤细胞的生长和增殖与细胞内凋亡-抗凋亡系统的失衡和细胞周期的异常调控密切相关. 细胞的程序性死亡主要依赖于线粒体途径(mitochondrial pathway), 即应激信号导致线粒体膜的渗透性发生改变, 细胞色素C从线粒体膜间隙释放, 继而活化半胱天冬酶caspase的蛋白水解级联反应, 细胞降解, 即凋亡<sup>[14]</sup>. B细胞淋巴细胞性白血病原癌基因(B-cell lymphocytic-leukaemia

### ■研究前沿

研究JAK/STAT3信号通路的抑制剂是目前的研究热点, CYT387、6B10为JAK抑制剂, SOCS、PIAS为STAT3抑制剂, 分别对肿瘤的生长、增殖及浸润发挥抑制作用.

### ■相关报道

Deng等的实验认为STAT3通过促进Bcl-2、survivin的异常表达,影响胃癌的淋巴结转移、不良预后等因素。

pro-oncogene, Bcl)<sup>[15]</sup>-2家族(包括Bcl-xL)的前凋亡蛋白和抗凋亡蛋白之间的动态变化在线粒体途径中发挥中心性的作用。Bcl-xL是线粒体的膜蛋白,在不同刺激下调控线粒体的电压与渗透性的内环境稳定,维持线粒体外膜的完整,从而促进细胞的存活(cell survival);其过量表达导致存活的细胞显著增加<sup>[16,17]</sup>。STAT3一方面通过诱导Bcl-2和Bcl-xL的表达直接抑制肿瘤细胞凋亡,另一方面通过IL-6、IL-10等细胞因子的作用间接诱导Bcl-xL的表达阻断肿瘤细胞凋亡<sup>[4,18,19]</sup>。存活素(survivin)是一种兼具拮抗细胞凋亡和促进细胞有丝分裂功能的物质<sup>[20]</sup>,STAT3可通过IL-11促使survivin的表达上调<sup>[21]</sup>。

细胞周期的精确控制依赖于特异的细胞周期蛋白(cyclin)/细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)复合物在细胞周期特定点的形成与活化,已经发现大量的恶性肿瘤中调控细胞周期的蛋白存在表达水平的改变<sup>[22]</sup>。G<sub>1</sub>期至S期细胞周期控制蛋白cyclin D1的过度表达,与STAT3促进cyclin D1启动子的转录密切相关<sup>[23]</sup>。

在结直肠癌中STAT3与survivin、Bcl-xL及cyclin D1在mRNA和蛋白表达水平呈显著性正相关,两者与浸润性结直肠癌的淋巴结转移状况也显著相关<sup>[10]</sup>。在胃癌组织中同样观察到STAT3(或pSTAT3)与Bcl-2、survivin的高水平表达存在显著性意义,且与淋巴结状况、不良预后显著相关<sup>[24]</sup>。

**3.2 STAT3与胃肠道肿瘤的浸润和转移** 肿瘤的浸润和转移很大程度上依赖于基底膜(base membrane, BM)和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的蛋白水解作用,MMP即是一群具有蛋白裂解酶活性的家族,参与降解ECM和BM,导致肿瘤细胞播散,创造合适的周围环境从而启动和维持肿瘤细胞的生长<sup>[25]</sup>。

MMP家族目前有24位成员组成,具有保守的基因结构和酶结构,因其活性位点需要与Zn<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>等金属离子而得名<sup>[26,27]</sup>。MMP按作用底物的特异性及在细胞内的位置进行分类<sup>[28]</sup>:(1)胶原蛋白酶(collagenase),如MMP-1、MMP-8、MMP-13、MMP-18;(2)明胶酶(gelatinase),如MMP-2、MMP-9;(3)间充质溶解素(stromelysin),如MMP-3、MMP-10、MMP-11;(4)基质溶解因子(matrilysin),如MMP-7、MMP-26;(5)膜型MMP(membrane-type MMP, MT-MMP),如MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-24、

MMP-17、MMP-25;其他类型,如MMP-12、MMP-19、MMP-20、MMP-21、MMP-23、MMP-27、MMP-28。

MMP通过激活无活性前体的方式精确发挥蛋白水解作用,并由内源性抑制剂阻断其活性,主要为金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)。TIMP目前有4种:TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、TIMP-4<sup>[28]</sup>。4种TIMP对不同MMP的亲和力存在差异性,不同的TIMP对MMP有重叠作用<sup>[29,30]</sup>。

MMP在正常细胞内可低表达,调控正常的生理功能,由细胞内释放至胞外或与细胞膜结合水解ECM<sup>[31]</sup>。在结肠直肠癌中,主要是MMP-1、-2、-3、-7及-9的表达水平明显增加,其表达水平与远处器官转移、低分化、Dukes分期及不良预后密切相关<sup>[27,32,33]</sup>。此外CRCs细胞中pSTAT3在另一种转录因子-活化剂蛋白-1(the activator protein-1, AP-1)的共同作用下STAT3对MMP-1启动子的基因转录明显增加<sup>[4,34]</sup>。MMP-2与MMP-9在胃癌中因在分解蛋白、溶解细胞周围的趋化因子等方面发挥作用表达明显增加,从而可作为胃癌预后的指标<sup>[35]</sup>。MMP-7在胃癌中高表达,主要与STAT3通过促进MMP-7启动子的表达、调控MMP-7的转录水平有关<sup>[36-38]</sup>。胃癌组织及胃癌细胞中均可观察STAT3与下游分子MMP-9、MMP-10的表达水平增高<sup>[39]</sup>。

**3.3 STAT3与胃肠道肿瘤的血管生成** 血管生成(angiogenesis)即预成(pre-existing)血管发育为新生血管,是肿瘤生长和转移的基本过程,包括内皮细胞增殖、选择性降解基底膜和ECM及内皮细胞移植等<sup>[40,41]</sup>。在已经明确的血管生成的因素中,VEGF是最突出的内皮细胞有丝分裂原之一,VEGF数量的增加与瘤内微血管密度及恶性肿瘤的不良预后相关联<sup>[42]</sup>。VEGF在肿瘤血管生成中是最具潜质和特殊性的因子<sup>[43]</sup>。已证实STAT3与VEGF启动子的转录有关,也明确了VEGF是STAT3直接的目的基因<sup>[40]</sup>。VEGF在STAT3的介导下诱导内皮细胞的Bcl-2的产生,使内皮细胞的凋亡受到抑制<sup>[44]</sup>。胃癌和结肠癌中pSTAT3与VEGF均高水平表达<sup>[43,45]</sup>。Zhu等<sup>[46]</sup>发现胃癌细胞中经STAT3途径VEGF表达明显上调。也有研究认为植物类固醇木苦甾酮(guggulsterone)通过阻断STAT3和VEGF的表达抑制血管生成和肿瘤浸润,从而对结肠癌有一定的治疗作用<sup>[47]</sup>。

**3.4 STAT3的调控** STAT3在促进肿瘤发生发展

的同时, 仍然接受很多负反馈机制的调控, 其中细胞因子信号抑制物-1(suppressor of cytokine signaling-1, SOCS-1)是STAT3促进表达的基因之一, 包含SH2区域可与JAK结合从而阻断STAT的活化<sup>[24,48]</sup>, 因此成为直接调控JAK/STAT信号通路中的众多机制中的主要机制之一, 另一种主要的信号通路分子是活化STAT的蛋白抑制剂(the protein inhibitors of activated STATs, PIAS)<sup>[49]</sup>. PIAS-1可与STAT3二聚体结合, 阻断该二聚体与DNA连接的活性<sup>[50]</sup>. 也有报道认为PIAS-3能与STAT3结合并阻断STAT3与DNA的连接活性, 具有抑制其转录目的基因的功能<sup>[51]</sup>. 这些阻断STAT3活性(尤其阻断STAT3二聚体形成)的抑制剂, 将在治疗胃肠道肿瘤方面发挥重要作用.

#### 4 结论

STAT经细胞因子信号途径, 调控相应蛋白的基因表达, 操纵细胞生长、分化、存活、发育, 但在大量肿瘤中发现了STAT的异常活化, 尤其是STAT3的异常活化现象. 在胃肠道肿瘤中异常升高的STAT3与Bcl-2家族、survivin、cyclin D1、MMP家族、VEGF等显著增加的表达水平密切相关, 参与肿瘤细胞的细胞周期进展、凋亡抑制、ECM的降解、瘤内血管生成等方面的调控, 促进胃肠道肿瘤的生长、增殖、浸润及转移. 而STAT3活性抑制剂可直接阻断STAT3与目的基因DNA连接的活性, 为胃肠道肿瘤的治疗提供新的思路.

#### 5 参考文献

- Darnell JE. STATs and gene regulation. *Science* 1997; 277: 1630-1635
- Takeda K, Akira S. STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11: 199-207
- Lin Q, Lai R, Chirieac LR, Li C, Thomazy VA, Grammatikakis I, Rassidakis GZ, Zhang W, Fujio Y, Kunisada K, Hamilton SR, Amin HM. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells. *Am J Pathol* 2005; 167: 969-980
- Bromberg J, Darnell JE. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene* 2000; 19: 2468-2473
- Calò V, Migliavacca M, Bazan V, Macaluso M, Buscemi M, Gebbia N, Russo A. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2003; 197: 157-168
- Akira S, Nishio Y, Inoue M, Wang XJ, Wei S, Matsusaka T, Yoshida K, Sudo T, Naruto M, Kishimoto T. Molecular cloning of APRF, a novel IFN-stimulated gene factor 3 p91-related transcription factor involved in the gp130-mediated signaling pathway. *Cell* 1994; 77: 63-71
- Lim CP, Cao X. Structure, function, and regulation of STAT proteins. *Mol Biosyst* 2006; 2: 536-550
- Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, Dey S, Sung B. Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship?. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171: 59-76
- Tsareva SA, Wagner S, Müller A, Corvinus F, Friedrich K. Cell-cell contacts induce STAT3 activity in colon carcinoma cells through an autocrine stimulation loop. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 857-863
- Lassmann S, Schuster I, Walch A, Göbel H, Jütting U, Makowiec F, Hopt U, Werner M. STAT3 mRNA and protein expression in colorectal cancer: effects on STAT3-inducible targets linked to cell survival and proliferation. *J Clin Pathol* 2007; 60: 173-179
- Braunstein J, Brutsaert S, Olson R, Schindler C. STATs dimerize in the absence of phosphorylation. *J Biol Chem* 2003; 278: 34133-34140
- Yang J, Liao X, Agarwal MK, Barnes L, Auron PE, Stark GR. Unphosphorylated STAT3 accumulates in response to IL-6 and activates transcription by binding to NFkappaB. *Genes Dev* 2007; 21: 1396-1408
- Yang J, Stark GR. Roles of unphosphorylated STATs in signaling. *Cell Res* 2008; 18: 443-451
- Spierings D, McStay G, Saleh M, Bender C, Chipuk J, Maurer U, Green DR. Connected to death: the (unexpurgated) mitochondrial pathway of apoptosis. *Science* 2005; 310: 66-67
- Krishna S, Low IC, Pervaiz S. Regulation of mitochondrial metabolism: yet another facet in the biology of the oncoprotein Bcl-2. *Biochem J* 2011; 435: 545-551
- Llambi F, Green DR. Apoptosis and oncogenesis: give and take in the BCL-2 family. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21: 12-20
- Zhang YL, Pang LQ, Wu Y, Wang XY, Wang CQ, Fan Y. Significance of Bcl-xL in human colon carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3069-3073
- Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, Turkson J, Levitzki A, Savino R, Ciliberto G, Moscinski L, Fernández-Luna JL, Nuñez G, Dalton WS, Jove R. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999; 10: 105-115
- Chapman RS, Lourenco PC, Tonner E, Flint DJ, Selbert S, Takeda K, Akira S, Clarke AR, Watson CJ. Suppression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in mice with a conditional knockout of Stat3. *Genes Dev* 1999; 13: 2604-2616
- Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001; 7: 542-547
- Mahboubi K, Li F, Plescia J, Kirkiles-Smith NC, Mesri M, Du Y, Carroll JM, Elias JA, Altieri DC, Pober JS. Interleukin-11 up-regulates survivin expression in endothelial cells through a signal transducer and activator of transcription-3 pathway. *Lab Invest*

#### ■应用要点

STAT3对胃肠道肿瘤的增殖、浸润和转移等生物学行为具有重要作用, 因此, 直接抑制STAT3活性的物质(如SOCS、PIAS)对胃肠道肿瘤的治疗将提供新的方向.

## ■同行评价

本文综述了STAT3信号通路在胃肠肿瘤发生发展中的作用及意义,对机制阐述详尽,内容条理清楚,重点突出,简明易懂,丰富了该领域的知识,对消化科医师深入开展这方面的研究有重要指导作用。

- 2001; 81: 327-334
- 22 Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000; 19: 2474-2488
- 23 Masuda M, Suzui M, Yasumatu R, Nakashima T, Kuratomi Y, Azuma K, Tomita K, Komiyama S, Weinstein IB. Constitutive activation of signal transducers and activators of transcription 3 correlates with cyclin D1 overexpression and may provide a novel prognostic marker in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 3351-3355
- 24 Deng JY, Sun D, Liu XY, Pan Y, Liang H. STAT-3 correlates with lymph node metastasis and cell survival in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5380-5387
- 25 Tsareva SA, Moriggl R, Corvinus FM, Wiederanders B, Schütz A, Kovacic B, Friedrich K. Signal transducer and activator of transcription 3 activation promotes invasive growth of colon carcinomas through matrix metalloproteinase induction. *Neoplasia* 2007; 9: 279-291
- 26 Murphy G, Nagase H. Localizing matrix metalloproteinase activities in the pericellular environment. *FEBS J* 2011; 278: 2-15
- 27 Surlin V, Ioana M, Pleșea IE. Genetic patterns of metalloproteinases and their tissular inhibitors - clinicopathologic and prognostic significance in colorectal cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 231-236
- 28 Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491-21494
- 29 Bourbonliou D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin Cancer Biol* 2010; 20: 161-168
- 30 Brew K, Dinakarpandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477: 267-283
- 31 Hadler-Olsen E, Fadnes B, Sylte I, Uhlin-Hansen L, Winberg JO. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. *FEBS J* 2011; 278: 28-45
- 32 Lyall MS, Dundas SR, Curran S, Murray GI. Profiling markers of prognosis in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1184-1191
- 33 Amălinei C, Căruntu ID, Giuscă SE, Bălan RA. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Rom J Morphol Embryol* 2010; 51: 215-228
- 34 Zugowski C, Lieder F, Müller A, Gasch J, Corvinus FM, Moriggl R, Friedrich K. STAT3 controls matrix metalloproteinase-1 expression in colon carcinoma cells by both direct and AP-1-mediated interaction with the MMP-1 promoter. *Biol Chem* 2011; 392: 449-459
- 35 Sampieri CL, de la Peña S, Ochoa-Lara M, Zenteno-Cuevas R, León-Córdoba K. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human gastric cancer and superficial gastritis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1500-1505
- 36 Honda M, Mori M, Ueo H, Sugimachi K, Akiyoshi T. Matrix metalloproteinase-7 expression in gastric carcinoma. *Gut* 1996; 39: 444-448
- 37 Koskensalo S, Mrena J, Wiksten JP, Nordling S, Kakkola A, Hagström J, Haglund C. MMP-7 overexpression is an independent prognostic marker in gastric cancer. *Tumour Biol* 2010; 31: 149-155
- 38 Shi M, Liu D, Duan H, Han C, Wei B, Qian L, Chen C, Guo L, Hu M, Yu M, Song L, Shen B, Guo N. Catecholamine up-regulates MMP-7 expression by activating AP-1 and STAT3 in gastric cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 269
- 39 Lee J, Kang WK, Park JO, Park SH, Park YS, Lim HY, Kim J, Kong J, Choi MG, Sohn TS, Noh JH, Bae JM, Kim S, Lim do H, Kim KM, Park CK. Expression of activated signal transducer and activator of transcription 3 predicts poor clinical outcome in gastric adenocarcinoma. *APMIS* 2009; 117: 598-606
- 40 Chen Z, Han ZC. STAT3: a critical transcription activator in angiogenesis. *Med Res Rev* 2008; 28: 185-200
- 41 Vidal O, Soriano-Izquierdo A, Pera M, Elizalde JL, Palacín A, Castells A, Piqué JM, Volant A, Metges JP. Positive VEGF immunostaining independently predicts poor prognosis in curatively resected gastric cancer patients: results of a study assessing a panel of angiogenic markers. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1005-1014
- 42 Masuda M, Ruan HY, Ito A, Nakashima T, Toh S, Wakasaki T, Yasumatsu R, Kuratomi Y, Komune S, Weinstein IB. Signal transducers and activators of transcription 3 up-regulates vascular endothelial growth factor production and tumor angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2007; 43: 785-790
- 43 Choi JH, Ahn MJ, Park CK, Han HX, Kwon SJ, Lee YY, Kim IS. Phospho-Stat3 expression and correlation with VEGF, p53, and Bcl-2 in gastric carcinoma using tissue microarray. *APMIS* 2006; 114: 619-625
- 44 Chen SH, Murphy DA, Lassoued W, Thurston G, Feldman MD, Lee WM. Activated STAT3 is a mediator and biomarker of VEGF endothelial activation. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 1994-2003
- 45 Morikawa T, Baba Y, Yamauchi M, Kuchiba A, Nosho K, Shima K, Tanaka N, Huttenhower C, Frank DA, Fuchs CS, Ogino S. STAT3 expression, molecular features, inflammation patterns, and prognosis in a database of 724 colorectal cancers. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1452-1462
- 46 Zhu BH, Chen HY, Zhan WH, Wang CY, Cai SR, Wang Z, Zhang CH, He YL. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits VEGF expression induced by IL-6 via Stat3 in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2315-2325
- 47 Kim ES, Hong SY, Lee HK, Kim SW, An MJ, Kim TI, Lee KR, Kim WH, Cheon JH. Guggulsterone inhibits angiogenesis by blocking STAT3 and VEGF expression in colon cancer cells. *Oncol Rep* 2008; 20: 1321-1327
- 48 Ramadoss P, Unger-Smith NE, Lam FS, Hollenberg AN. STAT3 targets the regulatory regions of glucocorticoid genes in vivo. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 827-837
- 49 Piessevaux J, Lavens D, Peelman F, Tavernier J. The many faces of the SOCS box. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 371-381

- 50 Coppola D, Parikh V, Boulware D, Blanck G. Substantially reduced expression of PIAS1 is associated with colon cancer development. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1287-1291
- 51 Liu LM, Yan MG, Yang DH, Sun WW, Zhang JX. PIAS3 expression in human gastric carcinoma and its adjacent non-tumor tissues. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 393-398

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

**第一步 作者提交稿件:** 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章16 wk内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

# 胆汁酸与肝再生

梁科伟, 袁晨光

## ■背景资料

胆汁酸是一类胆烷酸的总称,以胆固醇为原料于肝脏合成,具有多种重要的生理功能,不仅在脂肪和脂溶性物质的消化吸收中发挥重要作用,还可作为信号分子在胆汁酸代谢、糖脂代谢以及能量代谢等方面发挥着重要作用,近来研究发现,胆汁酸作为信号分子通过激活其相关受体在肝再生中也发挥着重要的调节作用。

梁科伟, 袁晨光, 桂林医学院附属医院肝胆外科 广西壮族自  
治区桂林市 541001

广西医疗卫生重点科研项目, No. 重200983

作者贡献分布: 本文综述由梁科伟完成; 袁晨光审校。

通讯作者: 袁晨光, 副教授, 541001, 广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院附属医院肝胆外科. ysg518@qq.com

电话: 0773-2860285

收稿日期: 2011-05-25 修回日期: 2011-07-18

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Bile acids and liver regeneration

Ke-Wei Liang, Sheng-Guang Yuan

Ke-Wei Liang, Sheng-Guang Yuan, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Major Medical and Public Health Research Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Z200983

Correspondence to: Associate Professor Sheng-Guang Yuan, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ysg518@qq.com

Received: 2011-05-25 Revised: 2011-07-18

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

Bile acids possess many important physiological functions. They have been shown to play pivotal roles in the absorption of dietary lipids and fat soluble vitamins as well as in regulating bile acid homeostasis, lipoprotein and glucose metabolism. Recent evidence suggests that bile acid signaling pathway plays an important role in normal liver regeneration. This review aims to elucidate the potential role of the bile acid signaling pathway in liver regeneration and to highlight possible mechanisms involved.

Key Words: Bile acids; CYP7A1; FXR; Foxm1b; Liver regeneration

Liang KW, Yuan SG. Bile acids and liver regeneration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2340-2345

## 摘要

胆汁酸具有多种重要的生理功能,不仅在脂类和脂溶性物质的消化吸收中发挥重要作用,还

可作为信号分子在胆汁酸代谢、糖脂代谢以及能量代谢等方面发挥着重要作用。近来研究发现,其在肝再生的调节中也发挥着重要作用,本文就胆汁酸的合成代谢及其在肝脏再生中的调节作用及机制的研究进展作一综述。

关键词: 胆汁酸; CYP7A1; FXR; Foxm1b; 肝再生

梁科伟, 袁晨光. 胆汁酸与肝再生. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2340-2345

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2340.asp>

## 0 引言

肝脏具有强大的再生能力,其机制非常复杂,多种信号通路参与其中。近年来研究发现,胆汁酸作为信号分子通过激活其相关受体在肝再生中发挥着重要的调节作用,对其的研究受到了越来越广泛的关注。

## 1 胆汁酸的合成代谢及转运

胆汁酸是胆汁中一类胆烷酸的总称,以胆固醇为原料于肝脏合成,胆固醇7 $\alpha$ 羟化酶(cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase, CYP7A1)和甾醇27 $\alpha$ 羟化酶(sterol 27 $\alpha$ -hydroxylase, CYP27A1)为其主要限速酶。胆汁酸在肝脏合成后由胆盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)、多药耐药性相关蛋白2(multidrug resistance associated protein 2, MRP2)和多药耐药蛋白3(multidrug resistance protein 3, MDR3)泵入胆小管,随胆汁进入小肠。游离胆汁酸在肠道通过扩散作用被动重吸收,结合胆汁酸在回肠通过小肠刷状缘的钠盐依赖的胆汁酸转运体(apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT)被主动重吸收,并与回肠胆汁酸结合蛋白(ileum bile acid binding protein, IBABP)结合向基底面转运,后经基底面的MRP3和有机溶质转运体(organic solute transporter  $\alpha/\beta$ , OST $\alpha$ /OST $\beta$ )重吸收入门静脉,然后胆汁酸在牛磺胆酸钠共转运体(Na<sup>+</sup>/taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)和有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptides, OATP)介

## ■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

导下被肝细胞摄取, 构成胆汁酸的肠肝循环<sup>[1-3]</sup>. 重吸收的胆汁酸抑制肝细胞CYP7A1的活性, 对胆盐的分泌形成负反馈调节, 使人体胆汁酸量维持在一个较为稳定的水平.

## 2 胆汁酸与肝再生

肝脏具有强大的再生能力, 再生过程包括3个关键性阶段: (1)启动阶段, 肝细胞在细胞因子、转录因子、生长因子及其受体等的调控下由G<sub>0</sub>进入G<sub>1</sub>期; (2)进展阶段, 主要在细胞周期素-细胞周期素依赖酶(Cyclin-CDKs)系统调控下, 肝细胞由G<sub>1</sub>期进入S期继而增殖; (3)终止阶段, 细胞生长停止<sup>[4-6]</sup>. 肝再生机制复杂, 多种信号通路参与其中, 如HGF/c-met信号通路、IL-6/STAT3信号通路、PI3-K/PDK1/Akt信号通路、Notch途径、Wnt信号通路等<sup>[7,8]</sup>.

近来研究发现, 胆汁酸可作为一种信号分子通过激活相关的信号通路在肝再生中发挥着重要的调节作用. 一般认为超负荷的胆汁酸具有细胞毒性, 可诱导肝细胞凋亡或坏死<sup>[9-11]</sup>. 然而, 研究发现适当升高胆汁酸水平可促进肝再生, 而阻断胆汁酸的肠肝循环则抑制肝再生<sup>[12,13]</sup>. Huang等<sup>[14]</sup>发现在给予部分肝切除(partial hepatectomy, PH)的小鼠0.2%胆酸(cholic acid, CA)饲料后, 肝再生明显优于普通饲料组, 而给予2%消胆胺饲料后肝再生明显受抑制, 这说明改变胆汁酸池的大小可影响肝细胞增殖, 维持机体正常的胆汁酸含量对保证正常的肝细胞再生是必需的. 胆汁酸作为信号分子主要参与3条信号通路: 激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)途径, 激活G蛋白耦联的受体(G-protein-coupled receptor, TGR5), 激活法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR).

**2.1 胆汁酸-MAPK与肝再生** 研究发现胆汁酸可激活MAPKs途径<sup>[15,16]</sup>, MAPKs是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可调节细胞增殖、凋亡等反应. MAPKs主要包括ERK、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase, JNK)和p38MAPK通路. 其中JNK和p38MAPK被称为应激活化蛋白激酶, 研究发现这两个途径参与肝再生的调节且作用相反, MKK7/JNK途径提高细胞增殖而抑制细胞老化, 而激活MKK3/6-P38MAPK途径可拮抗MKK7/JNK途径的功能<sup>[17]</sup>. JNK途径失活可导致肝再生缺陷, 而抑制p38MAPK途径可使受损的肝再生恢复. 有研究显示, 低浓度胆酸可使肝细胞JNK蛋白显著上调, 而高浓度的胆酸

则使p38MAPK蛋白表达显著上调, 提示不同浓度的胆汁酸对肝再生的不同作用可能是通过调节JNK和p38MAPK途径实现的<sup>[18]</sup>. JNK被激活后, 使核内的转录因子c-Jun氨基末端磷酸化, 进而激活c-Jun. c-Jun对肝细胞的存活和增殖发挥着重要作用, c-Jun<sup>-/-</sup>小鼠在PH后4 d内死亡率为50%<sup>[19]</sup>. CyclinD1是JNK/c-Jun途径重要的靶基因, CyclinD1的启动子包含转录因子转录激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)结合位点, c-Jun可形成同源二聚体或与转录因子fos家族形成异源二聚体, 即形成AP-1, c-Jun表达可通过AP-1途径诱导CyclinD1的表达, CyclinD1与CDK结合(主要为CDK4、6), 形成复合体对肝细胞G<sub>1</sub>/S期进行有效调节. JNK以及c-Jun还可通过AP-1途径对CYP7A1进行负反馈调节, 是肝再生早期胆汁酸对CYP7A1进行负反馈调节的重要机制<sup>[15,20]</sup>.

**2.2 胆汁酸-FXR与肝再生** FXR是一种胆汁酸核受体, 在肝脏、回肠中广泛表达. FXR可以抑制胆汁酸的生成、加速胆汁酸的排泄和解毒、调节其转运, 使肝细胞避免因胆汁酸超负荷而引发组织损伤<sup>[21]</sup>. FXR可以调节胆汁酸的合成, 通过诱导肝胰岛素诱导基因2(insulin-induced gene 2, insig2)从而抑制胆固醇合成限速酶HMG-CoA还原酶的表达, 而抑制胆固醇的合成, 减少胆汁酸合成原料<sup>[22]</sup>. FXR还可通过与视黄醇受体(retinoid X receptor, RXR)形成异源二聚体, 介导小分子异源二聚体伴侣(short heterodimer partner, SHP)的表达, 活化的SHP结合肝受体同源物-1(liver receptor homolog 1, LRH-1)并使之失活, LRH-1是CYP7A1的强烈激活剂, 被抑制后可阻断CYP7A1转录<sup>[23,24]</sup>, SHP还可以跟肝细胞核因子4(hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , HNF-4 $\alpha$ )作用从而抑制CYP7A1和CYP8B1转录活化. 激活的FXR还可增加成纤维细胞生长因子15/19(Fibroblast growth factor 15/19, FGF15/19)的转录和分泌, FGF15/19与位于肝细胞的成纤维细胞生长因子受体4(fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4)结合, 激活JNK途径并抑制CYP7A1和CYP8B1<sup>[25-27]</sup>. 有研究表明, FXR激动剂GW4064可以明显抑制肝脏FXR缺乏大鼠肝组织中CYP7A1表达, 而在肠道FXR缺乏大鼠中无此作用, 说明对CYP7A1抑制是通过肠道FXR起作用的, 而对CYP8B1的抑制则更多是通过肝脏FXR起作用的<sup>[28]</sup>. FXR还参与胆汁酸的灭活和解毒, 疏水性胆酸具有潜在的毒性, FXR通过上调胆汁酸辅酶A合成酶(bile acid coenzyme A

## ■研究前沿

进一步深入对胆汁酸合成代谢及其相关信号通路的研究, 明确其在肝再生中的调节作用及相关机制, 对一些相关的临床问题如伴有梗阻性黄疸患者术前减黄方式的选择、肝移植和部分肝切除术后残余肝再生及肝功能恢复等都具有重要的指导意义, 将成为今后研究的热点.

### ■相关报道

Huang等研究发现,多种机制参与负反馈抑制CYP7A1的表达,肝再生早期非FXR依赖途径参与胆酸介导的CYP7A1表达抑制,而后期CYP7A1的表达则依赖FXR调节。

synthetase, BACS)和氨基酸N-乙酰转移酶(bile acid-CoA amino acid N-acetyltransferase, BAT),使游离胆汁酸与甘氨酸或牛磺酸结合转变成结合胆汁酸<sup>[29]</sup>。FXR还可上调脱氢表雄酮-硫转移酶(SULT2A1),尿苷葡萄糖苷酸(基)转移酶2B4(UGT2B4)和细胞色素P450A4(cytochrome P450A4, CYP3A4)的表达,通过SULT2A1催化的硫酸化作用,UGT2B4催化的葡萄糖苷酸化作用以及CYP3A4催化的氧化作用来实现胆汁酸的解毒<sup>[30]</sup>。

FXR还可调节胆汁酸的转运,BSEP启动子上含有FXR的反应元件(IR-1),FXR可以直接与BSEP结合上调其表达。IBABP基因启动子亦含有IR-1,被激活的FXR诱导IBABP基因表达上调,从而抑制胆汁酸在肠道再吸收。FXR还可以上调MRP2、MDR3的表达。FXR也可以诱导小鼠ASBT基因的表达,但不影响人类ASBT基因。通过FXR-SHP-LRH-1-OST $\alpha$ /OST $\beta$ 途径,FXR可以上调OST $\alpha$ /OST $\beta$ 的表达<sup>[31,32]</sup>,FXR诱导OST $\alpha$ /OST $\beta$ 表达可能是肝细胞淤积胆汁酸排泄的一种代偿性反应。FXR还可通过诱导SHP的表达而引起NTCP下调,通过抑制HNF-4 $\alpha$ 转录激活来减少OATP的表达,FXR对NTCP和OATP的下调可减少肝细胞对胆汁酸再摄取,是避免肝细胞淤胆的一种重要机制。

研究证实,70% PH的FXR-/-小鼠肝再生在1-3 d被显著抑制,肝细胞DNA的合成减少近70%,表现出肝脏再生缺陷,手术死亡率高达30%<sup>[14]</sup>,其调控的转录因子Foxm1b(forkhead box m1b)及其下游靶基因cdc-25B的表达亦下降。表明FXR在调节肝再生中发挥重要作用,而这种作用可能是通过调节Foxm1b的表达来完成的。Foxm1b是一种上调细胞增殖的转录因子,最近研究证明其作为FXR的靶基因与肝再生密切相关<sup>[33,34]</sup>,Foxm1b在肝细胞再生G<sub>1</sub>/S相表达显著增强,Foxm1b对细胞增殖的影响主要通过调控Skp2和Cks1编码Skp-Cullin1-F-box(SCF)泛素连接酶复合物的亚基,靶向作用于CDK抑制蛋白P21CIP1/WAF1、p27Kip在G<sub>1</sub>/S相转换中降解,进而影响某些Cyclin或Cdk活化剂Cdc25a、Cdc25b磷酸酶的活性,同时他又能激活JNK1,共同调控G<sub>1</sub>/S的转变。研究证明,激活FXR可以上调Foxm1b表达,而明显改善老龄小鼠肝细胞再生能力<sup>[34]</sup>。另外,上调老龄小鼠Foxm1b表达,会引起肝再生过程中CyclinB1、CyclinB2、Cdc25b、p55CDC等mRNA水平上升,诱导

Cdc25b在胞核定位<sup>[35]</sup>。Brezillon等<sup>[36]</sup>从细胞水平进一步证实,上调老化肝细胞Foxm1b的表达可改善肝细胞分裂能力。另外,Foxm1b还参与生长激素(growth hormone, GH)介导的细胞增殖。研究发现,老化细胞增殖被抑制与GH分泌减少和Foxm1b表达降低有关。GH干预老龄小鼠后,Foxm1b表达和肝细胞增殖均显著提高,且这种肝细胞增殖与Cdc25a、Cdc25b、cyclinB1的表达增强和p27Kip1的降低有关,如果用GH干预Foxm1b-/-幼鼠,则不会出现上述现象。说明Foxm1b对GH刺激肝细胞增殖是必要的,Foxm1b参与介导GH刺激细胞增殖的过程<sup>[37]</sup>。

**2.3 胆汁酸-TGR5与肝再生** TGR5是G-蛋白耦联受体家族成员,是胆汁酸特异性表面受体,可于Kupffer细胞表面表达,活化后可诱导细胞内胞内环磷腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)升高,可通过激活TGR5-cAMP途径改善Kupffer细胞免疫功能,抑制其产生过量的炎症细胞因子而影响肝再生。Keitel等<sup>[38]</sup>用内毒素刺激Kupffer细胞,发现其相关细胞因子的表达增加,但在内毒素之前给予TGR5激动剂牛黄胆酸后发现各种细胞因子的表达量明显减少,提示TGR5的表达对Kupffer细胞的免疫功能及肝再生有直接影响。TGR5-cAMP还可激活细胞内II型脱碘酶D2向外周四碘甲腺原氨酸T4转化为生物活性较强的三碘甲腺原氨酸T3的过程,提高机体能量代谢,为肝再生提供足够的能量<sup>[39]</sup>。另外激活TGR5可使CD95受体磷酸化,而下调肝细胞CD95介导的细胞凋亡。

### 3 胆汁酸肠肝循环与肝再生

先前的研究发现梗阻性黄疸患者PH后的肝再生较正常肝脏明显受抑<sup>[40]</sup>,胆汁酸肠肝循环的破坏及肠源性内毒素血症的形成可能是其原因之一。动物实验发现术前外引流减黄对梗黄大鼠PH后的残肝再生有抑制,而内引流则无抑制<sup>[41]</sup>,进一步证实了维持胆汁酸肠肝循环对肝再生的重要性。胆汁酸肠肝循环的破坏,使肠道内胆盐缺乏,失去抑制肠菌生长和对内毒素的降解作用,以致肠道菌群失调、肠黏膜屏障功能障碍、细菌移位、大量内毒素进入门静脉。内毒素对肝脏有直接的毒性作用,也可通过激活多种肝脏细胞主要是Kupffer细胞释放多种细胞因子,对肝脏发生继发性损伤而影响肝再生。因此维持正常的胆汁酸肠肝循环对肝再生是必需的。胆汁酸对细菌有直接的抑制作用外,还可通过BAS-

FXR途径来减轻内毒素对肝脏的损害而影响肝再生。Inagaki等<sup>[42]</sup>研究发现给予大鼠GW4064上调FXR后, 其相关靶基因血管生成素1、一氧化氮合成酶和IL-18等表达均上调, 肠道细菌繁殖抑制, 肠黏膜损伤减轻, 但在FXR-/-大鼠中, 其相关靶基因明显受抑, 回肠细菌含量升高, 肠黏膜屏障受损, 提示胆汁酸在回肠中的抗菌效果是由FXR参与调控的。另有研究表明上调FXR可以抑制内毒素介导的炎性介质的表达<sup>[33]</sup>。胆汁酸还可通过BAs-TGR5-cAMP途径调节Kupffer细胞吞噬功能及释放的内毒素相关细胞因子的水平, 而改善肠源性内毒素血症所导致的肝脏损伤, 而影响肝再生<sup>[38]</sup>。

#### 4 肝再生时胆汁酸代谢变化

目前对肝再生的研究多采用70% PH动物模型, 手术简单易行, 且能很好的诱导肝细胞再生。PH后可刺激并增加胆汁酸的流量, 从而刺激肝细胞再生。研究表明, 大鼠70% PH后, 肝细胞很快进入再生状态, 残留每单位重量肝组织的胆汁流和胆盐分泌也明显增加, 血清胆汁盐浓度明显升高, 但残余肝组织却没有淤胆。一般认为PH后相对多的胆汁酸通过肠肝循环回流入肝脏从而对CYP7A1进行负反馈调节, 以保护肝细胞免受过高浓度胆汁酸的毒性损害<sup>[14]</sup>, 然而另有报道, 2/3 PH后CYP7A1活性在1-3 d明显下降, 而5-7 d后明显上升, 并持续至2 wk<sup>[43,44]</sup>, 提示在肝再生后期CYP7A1的相对较高表达及所维持的较高的胆汁酸水平为肝再生所需。Huang等<sup>[14]</sup>研究发现, 肝再生早期非FXR依赖途径参与胆酸介导的CYP7A1表达抑制, 而后期CYP7A1的表达则依赖FXR调节。许多证据表明胆酸通过多种机制来反馈抑制CYP7A1的表达, Chiang<sup>[45]</sup>将这些机制归类为依赖FXR-SHP和非依赖FXR-SHP两种。肝再生过程早期CYP7A1表达受抑, 并不依赖FXR-SHP途径, JNK1和HGF/c-met通路可能参与其中, 因为用c-met抑制剂Su11274干预后可明显减轻肝再生早期CYP7A1表达受抑, 而后期CYP7A1表达却依赖FXR-SHP途径调控, 提示肝再生的不同时期CYP7A1表达调控的机制是不同的<sup>[20,46-48]</sup>。大鼠70% PH后, 胆汁酸转运蛋白也会产生变化, NTCP、OATP的蛋白表达明显下调, 而BSEP、MRP2蛋白水平没有明显变化<sup>[49,50]</sup>, NTCP、OATP蛋白表达的下调, 可减少肝细胞对胆汁酸的摄入, 避免胆酸过多堆积而引起的肝细胞损伤, 是PH后早期血清胆汁酸升高, 而残

肝无淤胆的重要保护机制。

#### 5 结论

进一步深入对胆汁酸合成代谢及其相关信号通路的研究, 明确其在肝再生中的调节作用及相关机制, 对一些相关的临床问题如伴有梗阻性黄疸患者术前减黄方式的选择、肝移植和部分肝切除术后的残肝再生及肝功能恢复等都具有重要的指导意义, 将成为今后研究的热点。

#### 6 参考文献

- 1 Sievänen E. Exploitation of bile acid transport systems in prodrug design. *Molecules* 2007; 12: 1859-1889
- 2 Wagner M, Zollner G, Trauner M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis. *J Hepatol* 2009; 51: 565-580
- 3 Dawson PA, Lan T, Rao A. Bile acid transporters. *J Lipid Res* 2009; 50: 2340-2357
- 4 Jia C. Advances in the regulation of liver regeneration. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 105-121
- 5 Zimmermann A. Regulation of liver regeneration. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 Suppl 4: iv6-iv10
- 6 Fausto N, Riehle KJ. Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 181-189
- 7 Fujiyoshi M, Ozaki M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2011; 18: 13-22
- 8 Ohtsuka T, Sakamoto M, Guillemot F, Kageyama R. Roles of the basic helix-loop-helix genes Hes1 and Hes5 in expansion of neural stem cells of the developing brain. *J Biol Chem* 2001; 276: 30467-30474
- 9 Payne CM, Crowley-Weber CL, Dvorak K, Bernstein C, Bernstein H, Holubec H, Crowley C, Garewal H. Mitochondrial perturbation attenuates bile acid-induced cytotoxicity. *Cell Biol Toxicol* 2005; 21: 215-231
- 10 Aboutwerat A, Pemberton PW, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Jain SK, Warnes TW. Oxidant stress is a significant feature of primary biliary cirrhosis. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1637: 142-150
- 11 Gerbino A, Ranieri M, Lupo S, Caroppo R, Debellis L, Maiellaro I, Caratozzolo MF, Lopez F, Colella M. Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> efflux regulates deoxycholate-induced apoptosis of BHK-21 and Caco-2 cells. *Gastroenterology* 2009; 137: 955-964, 964.e1-e2
- 12 Drudi Metalli V, Mancino MG, Mancino A, Torrice A, Gatto M, Attili AF, Alpini G, Alvaro D. Bile salts regulate proliferation and apoptosis of liver cells by modulating the IGF1 system. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 654-662
- 13 Fracchia M, Galatola G, Sarotto I, Guraldo V, Perona M, Pera A, Risio M. Serum bile acids, programmed cell death and cell proliferation in the mucosa of patients with colorectal adenomas. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 509-514
- 14 Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, Dong B, Huang X, Moore DD. Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science* 2006; 312: 233-236
- 15 Gupta S, Stravitz RT, Dent P, Hylemon PB. Down-

#### ■创新盘点

本文总结了胆汁酸合成、代谢和转运, 及其作为信号分子通过激活相关受体在肝再生中发挥的重要调节作用, 并阐明了可能的相关机制, 打破了对胆汁酸的传统认识, 拓展了对肝再生机制的研究。

## ■应用要点

本文明确了胆汁酸在肝再生中的调节作用及相关机制, 对一些相关的临床问题如伴有梗阻性黄疸患者术前减黄方式的选择、肝移植和部分肝切除术后的残肝再生及肝功能恢复等都具有着重要的指导意义.

- regulation of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A1) gene expression by bile acids in primary rat hepatocytes is mediated by the c-Jun N-terminal kinase pathway. *J Biol Chem* 2001; 276: 15816-15822
- 16 Qiao L, Han SL, Fang Y, Park JS, Gupta S, Gilford D, Amorino G, Valerie K, Sealy L, Engelhardt JF, Grant S, Hylemon PB, Dent P. Bile acid regulation of C/EBP $\beta$ , CREB, and c-Jun function, via the extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH $_2$ -terminal kinase pathways, modulates the apoptotic response of hepatocytes. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 3052-3066
- 17 Wada T, Stepniak E, Hui L, Leibbrandt A, Katada T, Nishina H, Wagner EF, Penninger JM. Antagonistic control of cell fates by JNK and p38-MAPK signaling. *Cell Death Differ* 2008; 15: 89-93
- 18 Dong X, Zhao H, Ma X, Wang S. Reduction in bile acid pool causes delayed liver regeneration accompanied by down-regulated expression of FXR and c-Jun mRNA in rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2010; 30: 55-60
- 19 Holmes CH, Simpson KL, Wainwright SD, Tate CG, Houlihan JM, Sawyer IH, Rogers IP, Spring FA, Anstee DJ, Tanner MJ. Preferential expression of the complement regulatory protein decay accelerating factor at the fetomaternal interface during human pregnancy. *J Immunol* 1990; 144: 3099-3105
- 20 Zhang L, Huang X, Meng Z, Dong B, Shiah S, Moore DD, Huang W. Significance and mechanism of CYP7a1 gene regulation during the acute phase of liver regeneration. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 137-145
- 21 Liu Y, Binz J, Numerick MJ, Dennis S, Luo G, Desai B, MacKenzie KI, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist GW4064 in rat models of intra- and extrahepatic cholestasis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1678-1687
- 22 Hubbert ML, Zhang Y, Lee FY, Edwards PA. Regulation of hepatic Insig-2 by the farnesoid X receptor. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1359-1369
- 23 Kerr TA, Saeki S, Schneider M, Schaefer K, Berdy S, Redder T, Shan B, Russell DW, Schwarz M. Loss of nuclear receptor SHP impairs but does not eliminate negative feedback regulation of bile acid synthesis. *Dev Cell* 2002; 2: 713-720
- 24 Matak C, Magnier BC, Houten SM, Annicotte JS, Argmann C, Thomas C, Overmars H, Kulik W, Metzger D, Auwerx J, Schoonjans K. Compromised intestinal lipid absorption in mice with a liver-specific deficiency of liver receptor homolog 1. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 8330-8339
- 25 Shin DJ, Osborne TF. FGF15/FGFR4 integrates growth factor signaling with hepatic bile acid metabolism and insulin action. *J Biol Chem* 2009; 284: 11110-11120
- 26 Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, Luo G, Jones SA, Goodwin B, Richardson JA, Gerard RD, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2005; 2: 217-225
- 27 Song KH, Li T, Owsley E, Strom S, Chiang JY. Bile acids activate fibroblast growth factor 19 signaling in human hepatocytes to inhibit cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene expression. *Hepatology* 2009; 49: 297-305
- 28 Kim I, Ahn SH, Inagaki T, Choi M, Ito S, Guo GL, Kliewer SA, Gonzalez FJ. Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine. *J Lipid Res* 2007; 48: 2664-2672
- 29 Pircher PC, Kito JL, Petrowski ML, Tangirala RK, Bischoff ED, Schulman IG, Westin SK. Farnesoid X receptor regulates bile acid-amino acid conjugation. *J Biol Chem* 2003; 278: 27703-27711
- 30 Zollner G, Wagner M, Fickert P, Silbert D, Gumhold J, Zatloukal K, Denk H, Trauner M. Expression of bile acid synthesis and detoxification enzymes and the alternative bile acid efflux pump MRP4 in patients with primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2007; 27: 920-929
- 31 Frankenberg T, Rao A, Chen F, Haywood J, Schneider BL, Dawson PA. Regulation of the mouse organic solute transporter alpha-beta, OSTalpha-OSTbeta, by bile acids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G912-G922
- 32 Soroka CJ, Ballatori N, Boyer JL. Organic solute transporter, OSTalpha-OSTbeta: its role in bile acid transport and cholestasis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 178-185
- 33 Wang YD, Chen WD, Wang M, Yu D, Forman BM, Huang W. Farnesoid X receptor antagonizes nuclear factor kappaB in hepatic inflammatory response. *Hepatology* 2008; 48: 1632-1643
- 34 Chen WD, Wang YD, Zhang L, Shiah S, Wang M, Yang F, Yu D, Forman BM, Huang W. Farnesoid X receptor alleviates age-related proliferation defects in regenerating mouse livers by activating forkhead box m1b transcription. *Hepatology* 2010; 51: 953-962
- 35 Tang SY, Jiao Y, Li LQ. [Significance of Forkhead Box m1b (Foxm1b) gene in cell proliferation and carcinogenesis]. *Ai Zheng* 2008; 27: 894-896
- 36 Brezillon N, Lambert-Blot M, Morosan S, Couton D, Mitchell C, Kremsdorf D, Costa RH, Gilgenkrantz H, Guidotti JE. Transplanted hepatocytes over-expressing FoxM1B efficiently repopulate chronically injured mouse liver independent of donor age. *Mol Ther* 2007; 15: 1710-1715
- 37 Krupczak-Hollis K, Wang X, Dennewitz MB, Costa RH. Growth hormone stimulates proliferation of old-aged regenerating liver through forkhead box m1b. *Hepatology* 2003; 38: 1552-1562
- 38 Keitel V, Donner M, Winandy S, Kubitz R, Häussinger D. Expression and function of the bile acid receptor TGR5 in Kupffer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372: 78-84
- 39 Watanabe M, Houten SM, Matak C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, Messaddeq N, Harney JW, Ezaki O, Kodama T, Schoonjans K, Bianco AC, Auwerx J. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 2006; 439: 484-489
- 40 Makino H, Shimizu H, Ito H, Kimura F, Ambiru S, Togawa A, Ohtsuka M, Yoshidome H, Kato A, Yoshitomi H, Sawada S, Miyazaki M. Changes in growth factor and cytokine expression in biliary obstructed rat liver and their relationship with delayed liver regeneration after partial hepatectomy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2053-2059
- 41 Mizuta A, Chijiwa K, Saiki S, Kuroki S, Nakamura K, Tanaka M. Differences in biliary lipid excretion after major hepatectomy in obstructive jaundiced rats with preoperative internal, external, or no biliary drainage. *Eur Surg Res* 2002; 34: 291-299

- 42 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 U S A* 2006; 103: 3920-3925
- 43 Maeda Y, Nagatomo H, Kuroki N, Nagatomo J, Uchiyama F, Shimozono K, Kohno Y, Chijiwa K. Bile acid biosynthesis during liver regeneration: enzyme activities of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase and 3 $\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -C27-steroid dehydrogenase in rats. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35: 323-328
- 44 Monte MJ, Fernandez-Tagarro M, Marin JJ. Transient changes in the expression pattern of key enzymes for bile acid synthesis during rat liver regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1734: 127-135
- 45 Chiang JY. Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J Hepatol* 2004; 40: 539-551
- 46 Borowiak M, Garratt AN, Wüstefeld T, Strehle M, Trautwein C, Birchmeier C. Met provides essential signals for liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10608-10613
- 47 Song KH, Ellis E, Strom S, Chiang JY. Hepatocyte growth factor signaling pathway inhibits cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase and bile acid synthesis in human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 1993-2002
- 48 Kakizaki S, Yamazaki Y, Kosone T, Horiguchi N, Sohara N, Sato K, Takagi H, Yoshinari K, Mori M. Gene expression profiles of drug-metabolizing enzymes and transporters with an overexpression of hepatocyte growth factor. *Liver Int* 2007; 27: 109-119
- 49 Gerloff T, Geier A, Stieger B, Hagenbuch B, Meier PJ, Matern S, Gartung C. Differential expression of basolateral and canalicular organic anion transporters during regeneration of rat liver. *Gastroenterology* 1999; 117: 1408-1415
- 50 Dransfeld O, Gehrmann T, Köhrer K, Kircheis G, Holneicher C, Häussinger D, Wettstein M. Oligonucleotide microarray analysis of differential transporter regulation in the regenerating rat liver. *Liver Int* 2005; 25: 1243-1258

## ■同行评价

本文总结了胆汁酸及其代谢对肝再生影响的新近进展, 选题较新颖, 具有较好的可读性。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。(编辑部主任: 李军亮 2010-11-28)

# 体质性高胆红素血症及其分子诊断

周艳, 揭盛华

## ■背景资料

目前缺乏对这几类先天性高胆红素血症基因特点方面的总结与概括, 虽然基因诊断对这类疾病有明确的意义, 但是由于检测方法的急需改进和试剂的局限性, 导致疾病诊断有一定的困难。

周艳, 揭盛华, 华中科技大学附属协和医院感染科 湖北省武汉市 430022

作者贡献分布: 本文综述由周艳与揭盛华共同完成; 揭盛华审校。  
通讯作者: 揭盛华, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号358信箱, 华中科技大学附属协和医院感染科。

abeycd@126.com

电话: 027-85726135 传真: 027-85729267

收稿日期: 2011-04-27 修回日期: 2011-06-21

接受日期: 2011-06-28 在线出版日期: 2011-08-08

## Hereditary hyperbilirubinemia and its molecular diagnosis

Yan Zhou, Sheng-Hua Jie

Yan Zhou, Sheng-Hua Jie, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Sheng-Hua Jie, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, 358 Mailbox, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. abeycd@126.com

Received: 2011-04-27 Revised: 2011-06-21

Accepted: 2011-06-28 Published online: 2011-08-08

## Abstract

Hereditary hyperbilirubinemia is caused by genetic defects in the enzymes that control bilirubin metabolism. It includes Gilbert syndrome (GS), Crigler-Najjar syndrome (CNS), Lucey-Driscoll syndrome (LDS), Dubin-Johnson syndrome (DJS), Rotor syndrome (RS) and progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC). This literature review covers the molecular basis of and laboratory detection methods for hereditary hyperbilirubinemia.

Key words: Hereditary hyperbilirubinemia; Molecular basis; Molecular diagnosis

Zhou Y, Jie SH. Hereditary hyperbilirubinemia and its molecular diagnosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2346-2352

## 摘要

体质性高胆红素血症是由常染色体遗传变异引起某些酶代谢缺陷所致的胆红素代谢异常, 包括Gilbert综合征(gilbert syndrome, GS)、Crigler-Najjar综合征(crigler-Najjar

syndrome, CNS)、Lucey-driscoll综合征(lucey-driscoll syndrome, LDS)、Dubin-Johnson综合征(dubin-johnson syndrome, DJS)、Rotor综合征(rotor syndrome, RS)及进行性家族性肝内胆胆汁淤积症(progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC)等。本文就几种体质性高胆红素血症的分子基础及检测方法作一综述。

关键词: 体质性高胆红素血症; 分子基础; 分子诊断

周艳, 揭盛华. 体质性高胆红素血症及其分子诊断. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2346-2352

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2346.asp>

## 0 引言

体质性高胆红素血症(又称体质性黄疸)指由常染色体显性或隐性遗传变异, 引起某些酶代谢缺陷所致的胆红素代谢异常, 多数属于先天性高胆红素血症<sup>[1]</sup>。按升高的胆红素类型可分为非结合性和结合性两类。其中, 非结合胆红素(unconjugated bilirubin, UCB)增高型有Gilbert综合征(gilbert syndrome, GS)、Crigler-Najjar综合征(crigler-najjar syndrome, CN)、Lucey-Driscoll综合征(lucey-driscoll syndrome, LDS)<sup>[2]</sup>及进行性家族性肝内胆胆汁淤积症(progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC), 以GS最为常见; 结合性胆红素(conjugated bilirubin, CB)增高型包括Dubin-Johnson综合征(dubin-johnson syndrome, DJS)及Rotor综合征(rotor syndrome, RS)等。

## 1 几种体质性高胆红素血症

1.1 Gilbert综合征 由Gilbert和Lereboullet在1901年首次报道<sup>[3,4]</sup>, 又称为体质性肝功能不良性黄疸, 主要表现为肝脏无器质性病变的非溶血性、间歇性UCB增高<sup>[5]</sup>。发病年龄以18-30岁多见, 男女之比约为10:1<sup>[6]</sup>, 人群发病率为3%-10%<sup>[7]</sup>。大多数GS患者肝脏胆红素尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(bilirubin UDP-glucuronosyl transferase, B-UGT)活性明显降低, 少数患者血浆核素标记胆红素清除率降低, 提示肝脏对胆红素的摄取

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院微创胆道外科

或细胞内转运机制有缺陷;而部分患者兼有这两种异常情况.血浆UCB水平一般低于5倍正常上限值,饥饿、手术、发热、感染、劳累或饮酒等可加重黄疸的程度<sup>[4]</sup>.

UCB在血浆中以白蛋白为载体输送入肝,在肝内与谷胱甘肽S转移酶结合,经UGT催化转变为葡萄糖醛酸糖苷,即水溶性的CB<sup>[8]</sup>.肝脏对血清内UCB的摄取和结合能力低下是本病的主要特征,其对胆红素清除值平均仅为正常人的1/3左右,肝组织内B-UGT活力仅为正常人的20%<sup>[9]</sup>.另外,胆汁内胆红素二葡萄糖醛酸酯比例下降,而单葡萄糖醛酸酯的比例上升.此病的发病机制为肝细胞Y、Z两种载体蛋白相对缺乏,以致肝细胞UGT缺乏,导致肝细胞处理UCB的能力下降,使血清UCB升高而致黄疸<sup>[8]</sup>.苯巴比妥可诱导UGT的活性,增加肝细胞与UCB的结合,促使CB排泄和增加胆汁流量,导致血浆胆红素浓度下降,黄疸减轻或消退,因此苯巴比妥可作为治疗的措施之一<sup>[10]</sup>.

DNA分析发现肝细胞编码UGT1的外显子在上游启动子区的TATAA元件异常<sup>[11]</sup>.除对UCB外,部分患者对磺溴酞钠、吲哚氰绿和熊去氧胆酸等的摄取也有缺陷<sup>[6]</sup>.GS的诊断可采用多克隆UGT1A抗体的肝组织免疫组织化学检查,测定肝内UGT的活性程度,或者通过分子生物学技术检测相关UGT1A基因启动子区TATAA序列的遗传学多态性<sup>[12,13]</sup>.迄今为止,有30种人类UGT基因被确认,并按其序列的相似性被分成UGT1和UGT2亚家族<sup>[14]</sup>.目前已证实UGT基因均可在其编码或非编码区呈现多态性,如UGT1A1、UGT1A6、UGT1A7、UGT2B4、UGT2B7和UGT2B15等<sup>[15]</sup>.UGT基因缺陷有两种形式:(1)基因突变型:UGT1A1基因的多态性可表现在编码区.最常见为核苷酸211位G→A点突变(G71R),使相应编码的甘氨酸变成精氨酸.该位点突变在亚洲人中最常见.其他错义突变有UGT1A1的Pro229Gln、第4外显子的Arg367Gly和第5外显子的Tyr486Asp突变等<sup>[16-18]</sup>.此外,位于TATA上游3 kb区域-3483/-3194的gtPBREM可表现出T-3279G突变型,此突变与基因转录活性下降导致的胆红素水平升高显著相关<sup>[7,19,20]</sup>;(2)TATAA盒TA插入型:表现为二核苷酸(TA)插入到启动子上游约25-35 bp处的TATAA盒中,形成(TA)<sub>7</sub>TAA(UGT1A1\*28),还有部分患者表现为(TA)<sub>5</sub>或(TA)<sub>8</sub>等多态性,导致UGT1A1基因表达减少约30%,从而致使肝内胆红素葡萄糖醛酸化

的活性度显著下降<sup>[18,21,22]</sup>.人群中有0.5%-19%存有此变异的纯合子,是导致GS的主要原因.此种TATAA启动子变异在西方白人中多见,而亚洲人群则罕见<sup>[17,21,23]</sup>.

1.2 Crigler-Najjar综合征 由于肝细胞先天性缺乏葡萄糖苷酸转移酶所致,根据该酶缺乏的程度,分为I型和II型<sup>[24,25]</sup>.CNS I型(CN1)由Crigler-Najjar于1952年报道,系常染色体隐性遗传,父母多为近亲婚配.由于UGT1基因位移突变,引起羧基端氨基酸缺失致使UGT活性完全丧失,不能形成CB,血中UCB明显增高.过高的脂溶性UCB经尚未发育成熟的血-脑脊液屏障,扩散入脑脊液及脑实质内,引发胆红素脑病.临床表现为显著、持续的重度黄疸,患儿可在2 wk内出现痉挛、角弓反张等症状,并在短期内死亡.此型患者胆汁中无胆红素葡萄糖醛酸化合物,苯巴比妥等酶诱导剂治疗无效<sup>[26]</sup>.CN-II型(CN2)由Arias于1962年发现,故又称Arias综合征.一般认为系常染色体显性遗传,伴不完全外显.父母罕有近亲婚配.患儿肝细胞内葡萄糖醛酰转移酶部分缺乏,致使胆红素结合障碍,引起UCB增高.由于可产生少量CB,故较少发生胆红素脑病.此型患者胆汁中有部分残留胆红素葡萄糖醛酸化合物,多见于年轻患者(包括儿童和婴儿),常有家族史.临床上多表现为中度黄疸,除少数可引起核黄疸外,症状多缺如或轻微,无需治疗,预后良好.苯巴比妥、苯乙哌酮能降低血清中胆红素浓度<sup>[27]</sup>,这有助于与I型相鉴别.肝活检法测定残留胆红素葡萄糖醛酸活性或胆汁成分分析法是可靠的方法,但都属侵袭性检查.

CNS是因UGT1A1基因在编码区发生突变,引起该基因指导合成的UGT活性完全(I型)或部分(II型)丧失所致<sup>[8]</sup>.基因突变可发生在UGT1A1基因5个外显子中的任意一个,引起翻译提前终止或移码突变,导致氨基酸序列改变或缺失,酶活性丧失.目前报道的UGT1A1外显子突变有70余种<sup>[28]</sup>.除了外显子变异导致酶活性丧失之外,内含子及剪切位点的基因发生变异也可致移码突变,引起酶活性丧失<sup>[29,30]</sup>.

1.3 Lucey-Driscoll综合征 又称暂时性新生儿家族性高胆红素血症或哺乳性黄疸,是一种罕见的先天性非溶血性黄疸<sup>[31]</sup>.婴儿多在出生后48 h内出现黄疸,血中UCB可达340 μmol/L以上.目前认为黄疸发生的机制与患儿母亲在妊娠末3 wk血浆中出现抑制葡萄糖醛酸转移酶的物质有关,可能是一种促孕性激素,引起肝细胞摄取和

#### ■相关报道

目前已证实UGT基因均可在其编码或非编码区呈现多态性,如UGT1A1、UGT1A6、UGT1A7、UGT2B4、UGT2B7和UGT2B15等.

## ■应用要点

本文主要就几种常见的体质性高胆红素血症作简单介绍并探讨其基因学特点及分子诊断,较全面的总结了此类疾病的特点及诊断,为更好的早期诊断及治疗此类疾病奠定了一定的基础,为研究者提供了一些最新思路。

CB障碍。他通过胎盘进入胎儿体内,分娩后不久即从母亲和患儿血清中迅速消失。母亲血中均能检测到此种抑制物质,其浓度比正常母亲血中水平高3-5倍,但抑制物浓度与黄疸深浅未见明确关系<sup>[8]</sup>。该病进展凶险,患儿常在短期内死于核黄疸。经换血治疗的幸存者血清胆红素常在1 mo内恢复正常。本病需和哺乳性黄疸鉴别,后者系由于母乳中含有孕烷-3-20-二醇,能干扰或抑制葡萄糖苷酸转移酶而使UCB潴留血中;也有人认为母乳中含某些未饱和脂肪酸和过量的脂蛋白脂酶,具有类似的抑制转移酶作用。若停止母乳哺育,黄疸即可消退<sup>[32]</sup>。

1.4 Dubin-Johnson综合征 又称慢性特发性黄疸、先天性非溶血性黄疸CB增高I型,是一种轻型慢性间歇性高胆红素血症,属于常染色体隐性遗传<sup>[33]</sup>。主要表现为CB增高,但肝功能其他指标正常;尿中粪卟啉I增高,而粪卟啉III比例减少;小叶中心肝细胞黑色素沉积以及磺溴酞钠滞留时间延长。发病原理为肝细胞中依赖ATP提供能量并借助膜上特异性载体转运的主动排泄过程受阻,引起先天性胆红素排泄障碍,对非水溶性有机阴离子的排泄也有缺陷,但对胆盐的排泄正常<sup>[34]</sup>。基因分析表明编码毛细胆管输送阴离子上皮细胞的多特异性cDNA1066密码子发生了点突变<sup>[35,36]</sup>。一家中可有多人患病。本病虽在患者出生后即已存在,但常在青少年检查其他疾病时被发现,或长期被误诊为肝病或胆囊疾病。男性发病较多。患者虽有高胆红素血症,但多无症状,或仅有轻度乏力、恶心或食欲减退,有时可出现右上腹痛。一般情况良好。肝脏可轻度肿大,或伴有压痛,脾不肿大。血清胆红素轻度升高,其中CB占50%以上<sup>[37]</sup>。肝功能检查可见胆红素、BSP潴留试验、吲哚菁绿(ICG)排泄试验和二碘曙红等排出障碍,但胆酸盐排出正常。由于血中胆酸盐不高,故无皮肤瘙痒。BSP潴留试验45 min时轻度潴留,但120 min时呈第2次上升现象。口服或静脉碘造影胆囊或胆道常不显影或显影甚淡<sup>[38]</sup>。腹腔镜检查可见肝脏外观呈黑褐色<sup>[39]</sup>。肝活组织检查发现肝细胞内有特殊的色素颗粒沉着,被认为是脂褐质或黑色素。患者尿中粪卟啉排泄总量正常(正常24 h排泄总量为200 mg),但异构体测定显示异构体I型占80%,III型占20%,与正常人刚好相反<sup>[40]</sup>。

从分子生物学角度看,DJS是由复合耐药相关蛋白2(MRP2)/ABCC2突变所致<sup>[41]</sup>。ABCC2位

于10q24.2编码MRP2,含有17个跨膜螺旋构成的3个跨膜区域,为微管-多特异组织阴离子转运体。ABCC2主要在肝细胞的胆管侧和近端小肠上皮细胞以及近端肾小管细胞膜顶端表达,介导多种有机阴离子从肝细胞分泌进入胆汁,包括CB、胆酸硫酸盐等二价胆盐。除了阴离子化合物外,MRP2也介导转运肿瘤化疗药物、利尿剂、抗生素、白三烯、谷胱甘肽、毒素及重金属等,参与调节许多药物的药代动力学。ABCC2突变时肝细胞膜上MRP2蛋白缺失,二葡萄糖苷酸胆红素转运异常,从而导致DSJ<sup>[42-45]</sup>。

1.5 Rotor综合征 又名先天性非溶血性黄疸CB增高II型,于1948年由Rotor首先报告。起初认为是DJS的亚型,但通过有机阴离子清除试验和尿中粪卟啉异构体分析,证实其为一种独立的疾病<sup>[1]</sup>。RS是由于肝细胞摄取UCB和排泄CB先天性缺陷所致,亦属于常染色体隐性遗传<sup>[35]</sup>。在临床上,多于20岁以下发病,男女无差别,其表现与DJS相似,但较少见。主要表现为黄疸,一般无其他征象,偶有疲倦感、食欲欠佳及腹痛等。肝脏大小正常或轻度增大。血清胆红素平均102.6(68.4-342)  $\mu\text{mol/L}$ ,其中CB占50%以上,可有胆红素尿,但尿胆原排出正常,其他肝功能均正常,口服胆囊造影多无异常。RS偶有皮肤瘙痒现象,可因感染、怀孕、口服避孕药、喝酒(酒精)等而诱发黄疸<sup>[46]</sup>。有报道发现RS患者肝谷胱甘肽S转移酶水平降低,并推测HGSTA1-1基因突变可能与其发病有关<sup>[47]</sup>。带有隐性致病基因的父母结合后,其胎儿约有25%的几率从父母双方各自获得致病基因而患病,另有50%的几率仅携带隐性致病基因,只有25%的机会完全正常<sup>[48]</sup>。

RS与DJS的主要不同在于:前者口服胆囊造影显影良好,而后者常不显影或显影甚淡<sup>[49]</sup>;前者肝活检无异常,没有色素沉着肝细胞中,而后者肝细胞内有明显的色素颗粒沉着;前者BSP潴留试验45 min时多明显升高,常达20%-40%,但无第2次上升现象<sup>[50]</sup>,而后者BSP潴留试验45 min时轻度潴留,且于120 min时呈现第2次上升<sup>[51]</sup>;前者24 h尿粪卟啉总排泄量升高,但粪卟啉异构体的比例与正常人基本相同<sup>[52]</sup>。该病为良性病变,可通过肝活检及<sup>99m</sup>Tc-HIDA胆道显像确诊,预后良好<sup>[48,53]</sup>。

1.6 PFIC PFIC是一种常染色体隐性遗传病,主要是由于特异性肝细胞转运体基因突变而造成肝细胞与胆管上皮细胞膜上各功能蛋白的生成、修饰、调控缺陷,导致肝细胞性胆汁淤积<sup>[52]</sup>。临床

上表现为反复发作性的高结合胆红素血症, 伴皮肤瘙痒, 白陶土样便, 肝脾肿大及胃肠道出血等, 常在成年前进展为肝硬化和肝衰竭, 部分与幼儿肝细胞癌发生相关. 现已发现4种亚型: PFIC-1、PFIC-2、PFIC-3与PFIC-4型<sup>[53]</sup>. PFIC-1 又称Byler病, 为常染色体18q21-22上ATP8B1基因突变导致家族性肝内胆胆汁淤积相关蛋白-1(FIC1)缺陷, 而出现胆汁在肝脏内的淤积<sup>[54]</sup>. 研究表明PFIC-1 ATP8B1基因突变多属无义突变和缺失突变, 严重影响了FIC1蛋白的功能, 并间接干扰胆管胆汁酸分泌, 致使胆管胆汁酸浓度降低. PFIC-2型是由ABCB11基因突变所致, 该基因定位于染色体2q24, 编码肝细胞毛细胆管膜胆盐转运相关的BSEP蛋白<sup>[55]</sup>. PFIC-3型是由位于染色体7q21上的ABCB4基因发生突变所致, 该突变通过影响多耐药糖蛋白3(multidrug resistance glycoprotein 3, MDR3), 进而导致毛细胆管转运缺陷<sup>[56-58]</sup>, PFIC-4可能与遗传性胆汁酸盐合成途径缺陷致使胆酸合成障碍有关<sup>[59-61]</sup>.

## 2 体质性高胆红素血症的分子诊断

**2.1 变性梯度凝胶电泳** 当DNA双链末端解链时, 其在凝胶中的电泳速度将会急剧下降. 如果某一区域首先解链, 而与其仅有一个碱基之差的另一条链就会有不同的解链温度. 因此, 将样品加入含有变性剂梯度的凝胶进行电泳就可将二者分开. 最终, 如果一双链在其低温解链区碱基错配(异源双链), 而与另一等同的双链相比差别仅在于此, 那么含有错配碱基的双链将在低得多的变性剂浓度下解链. 事实上, 样品通常含有突变、正常的同源双链以及配对的异源双链, 后者是在PCR扩增时产生的. 而含有错配的双链通常可以远远地与两个同源双链分开, 这种分离效果使该方法灵敏度很高<sup>[62]</sup>. 利用双变性梯度凝胶电泳检测GS患者的血样, 不仅可以快速检测出TA插入异常, 并且还可以区分(TA)<sub>6</sub>/(TA)<sub>7</sub>杂合子和(TA)<sub>7</sub>/(TA)<sub>7</sub>纯合子<sup>[63]</sup>.

**2.2 单链构象多态性分析** 是一种分析突变基因的方法. 单链构象多态性分析的原理是: 单链DNA在中性条件下会形成二级结构, 这种二级结构依赖于其碱基组成, 即使是1个碱基的不同, 也会形成不同的二级结构并引起在非变性电泳条件下不同的电泳迁移率, 因此可以用来检测微小到1个基因突变的差异<sup>[64]</sup>.

**2.3 变性高效液相色谱** 是一项在单链构象多态性分析和变性梯度凝胶电泳基础上发展起来的

新的杂合双链突变检测技术, 其原理与变性梯度凝胶电泳类似, 即通过变性高效液相色谱在部分变性的条件下可将发生错配的异源杂合双链DNA和完全匹配的同源双链DNA分离开来. 与传统的杂合双链分析技术相比, 该技术耗时短, 分析一个样品一般仅需几分钟, 不使用放射性同位素, 自动化程度高, 但需要置备一台变性高效液相色谱仪<sup>[65]</sup>. 目前该技术主要用来检测200-300 bp的DNA片段, 已经应用于UGT1A1基因异常的检测<sup>[66]</sup>.

**2.4 基因测序** 将受检者的DNA从其血细胞样品中提取出来, 应用PCR技术将待检测的基因片段定位, 并大量复制, 然后进行基因测序, 对相应疾病进行诊断. 测序的方法有很多种, 如Maxam-Gilbert化学降解法、Sanger双脱氧链终止法和焦磷酸化测序等, 目前最常用的是自动化测序. 该技术稳定、简便, 自动化程度高, 现已逐步成为分子遗传病诊断的常规方法. GS患者直接测序可检测到UGT1A1\*28基因型<sup>[67,68]</sup>.

## 3 结论

随着对体质性高胆红素血症的深入认识, 使得该类疾病的诊断水平较前有了很大的提高. 尤其是分子检测手段的进步, 让体质性高胆红素血症已经不再高深莫测. 然而, 由于这类疾病基因异常的复杂性以及检测试剂与方法的相对滞后, 离临床常规应用还存在一定的距离. 在今后, 更加深入地研究可以进一步阐明其分子致病机制, 并且可能为临床应用开发出一系列简单、易行的分子检测方法, 从而为该类疾病的临床常规化检测奠定基础.

## 4 参考文献

- 1 Strassburg CP. Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome). *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 555-571
- 2 Kadakol A, Ghosh SS, Sappal BS, Sharma G, Chowdhury JR, Chowdhury NR. Genetic lesions of bilirubin uridine-diphosphoglucuronate glucuronosyltransferase (UGT1A1) causing Crigler-Najjar and Gilbert syndromes: correlation of genotype to phenotype. *Hum Mutat* 2000; 16: 297-306
- 3 Gilbert A, Lereboullet P. La cholemie simple familiale. *Sem Med* 1901; 21: 241-243
- 4 朱骏乐, 施斌. Gilbert综合征的研究现状. *临床肝胆病杂志* 2011; 27: 110-112
- 5 沈健, 吴建新, 李定国. 1例中国Gilbert综合征家系UGT1A1基因遗传分析. *胃肠病学* 2007; 12: 392-396
- 6 郑金国, 陈翠英, 宁更献. Gilbert综合征. *临床荟萃* 2005; 20: 113-114
- 7 Matsui K, Maruo Y, Sato H, Takeuchi Y. Combined

### 同行评价

本文综合整理了大量文献, 将体质性高胆红素血症这一少见疾病系统、全面的介绍给读者, 对消化病医师的临床诊断具有一定的借鉴意义.

- effect of regulatory polymorphisms on transcription of UGT1A1 as a cause of Gilbert syndrome. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 57
- 8 栾翔凌, 辛绍杰. 先天性非结合性高胆红素血症的分子诊断、治疗进展. *生物技术通讯* 2008; 19: 440-443
  - 9 Peters WH, te Morsche RH, Roelofs HM. Combined polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferases 1A1 and 1A6: implications for patients with Gilbert's syndrome. *J Hepatol* 2003; 38: 3-8
  - 10 Gwee KA, Koay ES, Kang JY. The prevalence of isolated unconjugated hyperbilirubinaemia (Gilbert's syndrome) in subjects attending a health screening programme in Singapore. *Singapore Med J* 1992; 33: 588-589
  - 11 Marinković N, Pasalić D, Grsković B, Ferencak G, Honović L, Rukavina AS. Genotype frequencies of UDP-glucuronosyltransferase 1A1 promoter gene polymorphism in the population of healthy Croatian pre-scholars. *Coll Antropol* 2008; 32: 725-729
  - 12 Borlak J, Thum T, Landt O, Erb K, Hermann R. Molecular diagnosis of a familial nonhemolytic hyperbilirubinemia (Gilbert's syndrome) in healthy subjects. *Hepatology* 2000; 32: 792-795
  - 13 Urawa N, Kobayashi Y, Araki J, Sugimoto R, Iwasa M, Kaito M, Adachi Y. Linkage disequilibrium of UGT1A1 \*6 and UGT1A1 \*28 in relation to UGT1A6 and UGT1A7 polymorphisms. *Oncol Rep* 2006; 16: 801-806
  - 14 Owens IS, Basu NK, Banerjee R. UDP-glucuronosyltransferases: gene structures of UGT1 and UGT2 families. *Methods Enzymol* 2005; 400: 1-22
  - 15 陈光榆, 无建新, 李定国, 陆汉明. 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶基因突变的研究现状. *临床儿科杂志* 2007; 25: 411-414
  - 16 余利红, 高静, 王春丽, 王静, 高艳, 袁巧玲, 孙志贤, 王航雁, 张成岗. 一个中国Gilbert综合征家系的遗传学分析. *遗传* 2006; 28: 11-16
  - 17 Yusoff S, Van Rostenberghe H, Yusoff NM, Talib NA, Ramli N, Ismail NZ, Ismail WP, Matsuo M, Nishio H. Frequencies of A(TA)7TAA, G71R, and G493R mutations of the UGT1A1 gene in the Malaysian population. *Biol Neonate* 2006; 89: 171-176
  - 18 Takeuchi K, Kobayashi Y, Tamaki S, Ishihara T, Maruo Y, Araki J, Mifuji R, Itani T, Kuroda M, Sato H, Kaito M, Adachi Y. Genetic polymorphisms of bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene in Japanese patients with Crigler-Najjar syndrome or Gilbert's syndrome as well as in healthy Japanese subjects. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1023-1028
  - 19 Maruo Y, D'Addario C, Mori A, Iwai M, Takahashi H, Sato H, Takeuchi Y. Two linked polymorphic mutations (A(TA)7TAA and T-3279G) of UGT1A1 as the principal cause of Gilbert syndrome. *Hum Genet* 2004; 115: 525-526
  - 20 Ferraris A, D'Amato G, Nobili V, Torres B, Marcelini M, Dallapiccola B. Combined test for UGT1A1 -3279T->G and A(TA)nTAA polymorphisms best predicts Gilbert's syndrome in Italian pediatric patients. *Genet Test* 2006; 10: 121-125
  - 21 Kitagawa C, Ando M, Ando Y, Sekido Y, Wakai K, Imaizumi K, Shimokata K, Hasegawa Y. Genetic polymorphism in the phenobarbital-responsive enhancer module of the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene and irinotecan toxicity. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 35-41
  - 22 Bernabeu I, Marazuela M, Lucas T, Loidi L, Alvarez-Escolá C, Luque-Ramírez M, Fernandez-Rodriguez E, Paniagua AE, Quinteiro C, Casanueva FF. Pegvisomant-induced liver injury is related to the UGT1A1\*28 polymorphism of Gilbert's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 2147-2154
  - 23 Nong SH, Xie YM, Chan KW, Cheung PT. Severe hyperbilirubinaemia in a Chinese girl with type I Crigler-Najjar syndrome: first case ever reported in Mainland China. *J Paediatr Child Health* 2005; 41: 300-302
  - 24 张久聪, 聂青和. 胆红素尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶分子生物学研究进展. *肝脏* 2008; 13: 164-165
  - 25 Ciotti M, Werlin SL, Owens IS. Delayed response to phenobarbital treatment of a Crigler-Najjar type II patient with partially inactivating missense mutations in the bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28: 210-213
  - 26 Yamamoto K, Soeda Y, Kamisako T, Hosaka H, Fukano M, Sato H, Fujiyama Y, Adachi Y, Satoh Y, Bamba T. Analysis of bilirubin uridine 5'-diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferase gene mutations in seven patients with Crigler-Najjar syndrome type II. *J Hum Genet* 1998; 43: 111-114
  - 27 Passuello V, Puhl AG, Wirth S, Steiner E, Skala C, Koelbl H, Kohlschmidt N. Pregnancy outcome in maternal Crigler-Najjar syndrome type II: a case report and systematic review of the literature. *Fetal Diagn Ther* 2009; 26: 121-126
  - 28 Udomuksorn W, Elliot DJ, Lewis BC, Mackenzie PI, Yoovathaworn K, Miners JO. Influence of mutations associated with Gilbert and Crigler-Najjar type II syndromes on the glucuronidation kinetics of bilirubin and other UDP-glucuronosyltransferase 1A substrates. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17: 1017-1029
  - 29 Aloulou H, Ben Thabet A, Khanfir S, Ben Mansour L, Chabchoub I, Labrune P, Kammoun T, Hachicha M. [Type I Crigler Najjar syndrome in Tunisia: a study of 30 cases]. *Tunis Med* 2010; 88: 707-709
  - 30 Seo YS, Keum B, Park S, Kim du R, Kwon YD, Kim YS, Jeon YT, Chun HJ, Um SH, Kim CD, Ryu HS. Gilbert's syndrome phenotypically expressed as Crigler-Najjar syndrome type II. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 540-541
  - 31 Imai T, Isobe K. [Lucey-Driscoll syndrome]. *Ryōikibetsu Shokogun Shirizu* 1995: 440-441
  - 32 Dennerly PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. *N Engl J Med* 2001; 344: 581-590
  - 33 Nisa AU, Ahmad Z. Dubin-Johnson syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak* 2008; 18: 188-189
  - 34 Toh S, Wada M, Uchiumi T, Inokuchi A, Makino Y, Horie Y, Adachi Y, Sakisaka S, Kuwano M. Genomic structure of the canalicular multispecific organic anion-transporter gene (MRP2/cMOAT) and mutations in the ATP-binding-cassette region in Dubin-Johnson syndrome. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 739-746
  - 35 孙艳玲, 赵景民, 辛绍杰, 李文淑, 周光德, 潘登, 刘树红. 几种主要的先天性胆红素代谢障碍性肝病的临床及病理研究. *传染病信息* 2008; 21: 287-290
  - 36 Cebecauerova D, Jirasek T, Budisova L, Mandys V, Volf V, Novotna Z, Subhanova I, Hrebicek M, Elleder M, Jirsa M. Dual hereditary jaundice: simultaneous occurrence of mutations causing Gilbert's and Dubin-Johnson syndrome. *Gastroenterology* 2005; 129: 315-320
  - 37 Rastogi A, Krishnani N, Pandey R. Dubin-Johnson

- syndrome--a clinicopathologic study of twenty cases. *Indian J Pathol Microbiol* 2006; 49: 500-504
- 38 Bosia JD, D'Ascenzo MV, Borzi S, Cozzi S, Defelitto JR, Curciarello JO. [The Dubin-Johnson syndrome: case report and review of literature]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2008; 38: 194-198
  - 39 郭长吉, 林三仁, 李益农, 段晓文, 段丽萍. 腹腔镜和肝活检对Dubin-Johnson综合征诊断的价值. *北京医科大学学报* 2002; 34: 129
  - 40 Lee JH, Chen HL, Chen HL, Ni YH, Hsu HY, Chang MH. Neonatal Dubin-Johnson syndrome: long-term follow-up and MRP2 mutations study. *Pediatr Res* 2006; 59: 584-589
  - 41 Toh S. [Genomic structure of the canalicular multispecific organic anion-transporter gene (MRP2/cMOAT) and mutations in the ATP-binding-cassette region in Dubin-Johnson syndrome]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 2000; 91: 246-250
  - 42 Kanda D, Takagi H, Kawahara Y, Yata Y, Takakusagi T, Hatanaka T, Yoshinaga T, Iesaki K, Kashiwabara K, Higuchi T, Mori M, Hirota T, Higuchi S, Ieiri I. Novel large-scale deletion (whole exon 7) in the ABCC2 gene in a patient with the Dubin-Johnson syndrome. *Drug Metab Pharmacokinet* 2009; 24: 464-468
  - 43 Corpechot C, Ping C, Wendum D, Matsuda F, Barbu V, Poupon R. Identification of a novel 974C->G; G nonsense mutation of the MRP2/ABCC2 gene in a patient with Dubin-Johnson syndrome and analysis of the effects of rifampicin and ursodeoxycholic acid on serum bilirubin and bile acids. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2427-2432
  - 44 Shoda J, Suzuki H, Suzuki H, Sugiyama Y, Hirouchi M, Utsunomiya H, Oda K, Kawamoto T, Matsuzaki Y, Tanaka N. Novel mutations identified in the human multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ABCC2) gene in a Japanese patient with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatol Res* 2003; 27: 323-326
  - 45 Materna V, Lage H. Homozygous mutation Arg768Trp in the ABC-transporter encoding gene MRP2/cMOAT/ABCC2 causes Dubin-Johnson syndrome in a Caucasian patient. *J Hum Genet* 2003; 48: 484-486
  - 46 张广, 欧晓娟, 崔焱. Rotor综合征1例. *北京中医药大学学报(中医临床版)* 2009; 16: 38
  - 47 Fretzayas A, Koukoutsakis P, Moustaki M, Stavrinadis C, Karpathios T. Coinheritance of Rotor syndrome, G-6-PD deficiency, and heterozygous beta thalassemia: a possible genetic interaction. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 211-213
  - 48 Wolkoff AW, Wolpert E, Pascasio FN, Arias IM. Rotor's syndrome. A distinct inheritable pathophysiologic entity. *Am J Med* 1976; 60: 173-179
  - 49 Chen YW, Lee IH, Chuang YW, Chang TT, Liu GC. Tc-99m di-isopropyl-iminodiacetic acid cholescintigraphic findings in Rotor's syndrome. *Kaohsiung J Med Sci* 2002; 18: 529-532
  - 50 杨丽, 马应杰, 冯素萍. Rotor综合征合并慢性肾衰1例家系调查并文献复习. *中国误诊学杂志* 2006; 6: 1840-1842
  - 51 蒯宝林, 谢君, 赵红艳. Dubin-Johnson综合征4例临床病理分析. *诊断病理学杂志* 2002; 9: 149-150
  - 52 聂青和. 胆红素代谢障碍相关疾病. *肝脏* 2006; 11: 189-192
  - 53 厉有名, 项尊. 遗传代谢性肝病. *中华肝病杂志* 2005; 13: 72-73
  - 54 Morotti RA, Suchy FJ, Magid MS. Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) type 1, 2, and 3: a review of the liver pathology findings. *Semin Liver Dis* 2011; 31: 3-10
  - 55 Suchy FJ, Ananthanarayanan M. Bile salt excretory pump: biology and pathobiology. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43 Suppl 1: S10-S16
  - 56 Oude Elferink RP, Paulusma CC, Groen AK. Hepatocanalicular transport defects: pathophysiologic mechanisms of rare diseases. *Gastroenterology* 2006; 130: 908-925
  - 57 Hayashi H, Sugiyama Y. 4-phenylbutyrate enhances the cell surface expression and the transport capacity of wild-type and mutated bile salt export pumps. *Hepatology* 2007; 45: 1506-1516
  - 58 Morita SY, Kobayashi A, Takanezawa Y, Kioka N, Handa T, Arai H, Matsuo M, Ueda K. Bile salt-dependent efflux of cellular phospholipids mediated by ATP binding cassette protein B4. *Hepatology* 2007; 46: 188-199
  - 59 田辉. 进行性家族性肝内胆汁淤积症的最新研究进展. *实用肝脏杂志* 2009; 12: 477-480
  - 60 Kubitz R, Bode J, Erhardt A, Graf D, Kircheis G, Müller-Stöver I, Reinehr R, Reuter S, Richter J, Sagir A, Schmitt M, Donner M. Cholestatic liver diseases from child to adult: the diversity of MDR3 disease. *Z Gastroenterol* 2011; 49: 728-736
  - 61 Strautnieks SS, Byrne JA, Pawlikowska L, Cebecauerová D, Rayner A, Dutton L, Meier Y, Antoniou A, Stieger B, Arnell H, Özçay F, Al-Hussaini HF, Bassas AF, Verkade HJ, Fischler B, Németh A, Kotalová R, Shneider BL, Cielecka-Kuszyk J, McClean P, Whittington PF, Sokal E, Jirsa M, Wali SH, Jankowska I, Pawłowska J, Mieli-Vergani G, Knisely AS, Bull LN, Thompson RJ. Severe bile salt export pump deficiency: 82 different ABCB11 mutations in 109 families. *Gastroenterology* 2008; 134: 1203-1214
  - 62 Kagawa T, Watanabe N, Mochizuki K, Numari A, Ikeno Y, Itoh J, Tanaka H, Arias IM, Mine T. Phenotypic differences in PFIC2 and BRIC2 correlate with protein stability of mutant Bsep and impaired taurocholate secretion in MDCK II cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G58-G67
  - 63 Wendum D. [Liver disease associated with hereditary defects of hepatobiliary transporters]. *Ann Pathol* 2010; 30: 426-431
  - 64 Brüggemann J, Stephen JR, Chang YJ, Macnaughton SJ, Kowalchuk GA, Kline E, White DC. Competitive PCR-DGGE analysis of bacterial mixtures: an internal standard and an appraisal of template enumeration accuracy. *J Microbiol Methods* 2000; 40: 111-123
  - 65 Gürtler V, Parkin JD, Mayall BC. Use of double gradient denaturing gradient gel electrophoresis to detect (AT)n polymorphisms in the UDP-glucuronosyltransferase 1 gene promoter associated with Gilbert's syndrome. *Electrophoresis* 1999; 20: 2841-2843
  - 66 Kent JW. Analysis of multiple phenotypes. *Genet Epidemiol* 2009; 33 Suppl 1: S33-S39
  - 67 Shapiro R, Anikster Y, Yardeni T, Korem S, Hartman K, Shamir R, Broide E, Levine A, Bujanover Y, Bercovich D. DHPLC screening for mutations in progressive familial intrahepatic cholestasis patients. *J Hum Genet* 2010; 55: 308-313
  - 68 Harraway JR, George PM. Use of fully denaturing HPLC for UGT1A1 genotyping in Gilbert syndrome. *Clin Chem* 2005; 51: 2183-2185

- 69 Ehmer U, Lankisch TO, Erichsen TJ, Kalthoff S, Freiberg N, Wehmeier M, Manns MP, Strassburg CP. Rapid allelic discrimination by TaqMan PCR for the detection of the Gilbert's syndrome marker UGT1A1\*28. *J Mol Diagn* 2008; 10: 549-552
- 70 Minucci A, Concolino P, Giardina B, Zuppi C, Capoluongo E. Rapid UGT1A1 (TA)(n) genotyping by high resolution melting curve analysis for Gilbert's syndrome diagnosis. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 246-249

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

## 百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

**本刊讯** 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

# 胰腺导管内乳头状黏液瘤的研究进展

郭子皓, 张杰, 郝建宇

郭子皓, 张杰, 郝建宇, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科 北京市 100020

作者贡献分布: 本文综述由郭子皓完成; 张杰与郝建宇审校。

通讯作者: 郝建宇, 教授, 主任医师, 100020, 北京市, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科, haojianyu@medmail.com.cn

收稿日期: 2011-05-19 修回日期: 2011-06-23

接受日期: 2011-07-05 在线出版日期: 2011-08-08

## Progress in research of intraductal papillary mucinous neoplasms

Zi-Hao Guo, Jie Zhang, Jian-Yu Hao

Zi-Hao Guo, Jie Zhang, Jian-Yu Hao, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

Correspondence to: Professor Jian-Yu Hao, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China. haojianyu@medmail.com.cn

Received: 2011-05-19 Revised: 2011-06-23

Accepted: 2011-07-05 Published online: 2011-08-08

## Abstract

Intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) represent a spectrum of neoplasms arising from the main pancreatic duct or branch ducts and producing mucin and can be regarded as a type of precancerous lesions. Thanks to improvements in endoscopy and imaging techniques, IPMNs are being diagnosed with increasing frequency. However, there are currently no highly sensitive and specific preoperative criteria available to distinguish benign IPMNs from malignant ones. What's more, the necessity for EUS and ERCP in the diagnosis of IPMNs is still under debate. Here, we review recent advances in research of IPMNs and summarize potential differences between benign and malignant IPMNs.

Key Words: Intraductal papillary mucinous neoplasms; Diagnosis; Treatment

Guo ZH, Zhang J, Hao JY. Progress in research of intraductal papillary mucinous neoplasms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(22): 2353-2357

## 摘要

胰腺导管内乳头状黏液瘤(intraductal papillary

mucinous neoplasm, IPMNs)为来源于胰腺导管上皮的分化程度多样的胰腺肿瘤,位于主胰管或其分支内,可分泌黏液,为胰腺癌的癌前病变。区分IPMNs的良恶性对制定治疗方案,预估患者预后意义重大。随影像学和内镜的发展,IPMNs发现率逐年提高,但目前仍无敏感度和特异度均高的术前IPMNs良恶性评估标准。超声内镜引导下细针穿刺活检(endoscopic ultrasonography guided fine-needle aspiration, EUS-FNA)及内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)在IPMNs诊断中的应用逐渐增多,但必要性尚存在争议。本文对IPMN研究进展进行综述,并总结文献中良恶性IPMNs可能存在的差异。

关键词: 胰腺导管内乳头状黏液瘤; 诊断; 治疗

郭子皓, 张杰, 郝建宇. 胰腺导管内乳头状黏液瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2353-2357

http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2353.asp

## 0 引言

胰腺导管内乳头状黏液瘤(intraductal papillary-mucinous neoplasms, IPMNs)是临床较少见的一种胰腺囊性肿瘤,约占胰腺外分泌肿瘤的1%<sup>[1]</sup>,近年来随着影像技术的发展,IPMNs的发现率逐年增高,50%的IPMN为临床偶然发现的胰腺囊性肿瘤<sup>[2,3]</sup>。IPMNs的病理类型多样,包括良性、交界性、原位癌、侵袭性癌等不同分化阶段,并且可伴发胰腺导管内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)、胰腺导管细胞癌,为胰腺癌的癌前病变类型之一<sup>[4,5]</sup>。因而早期诊断IPMNs并鉴别其良恶性,有助于治疗方案的选择,提高患者生存率。近年来IPMNs在诊断学上的进展很快,尤其是影像及内镜学方面,本文对IPMNs进展综述如下。

## 1 概述

对IPMNs的认识经历了约20年,1982年由Ohhashi首次报道,后曾有乳头状癌、绒毛样腺瘤、高分泌黏液癌、黏液性导管扩张症等多种

## ■背景资料

胰腺导管内乳头状黏液瘤是临床较少见的一种胰腺囊性肿瘤,来源于胰腺导管上皮,分化程度多样,位于主胰管或其分支内,可分泌黏液,是胰腺癌的癌前病变。随影像技术的进展,近年其发现率逐年上升,综合应用各种手段以早期诊断IPMNs并鉴别其良恶性,有助于治疗方案的选择,提高患者生存率。

## ■同行评议者

李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

## ■研发前沿

影像学技术的进步,应用EUS-FNA技术早期发现IPMNs,并通过对囊液的细胞学、生化及肿瘤标志物的检查早期鉴别良恶性,制定更加完善的治疗方案是目前努力的方向。

## ■相关报道

Carrara等对90例胰腺囊性肿瘤患者行EUS-FNA,收集其囊液进行荧光定量PCR等分子生物学检查,发现MUC7基因可能为恶性肿瘤的标志基因,该研究提供了应用EUS-FNA穿刺物行分子生物学检查的新思路。

命名,直至2000年世界卫生组织(WHO)将此类肿瘤正式命名为IPMNs<sup>[6-8]</sup>。2003年在约翰霍普金斯医院举行的全球胰腺会议中将IPMNs定义为:起源于主胰管或分支胰管的乳头状(多见)或扁平(少见)状的大体上可见的胰腺肿瘤,非侵袭性,可产黏液,并伴有不同程度的胰管扩张,病变直径多>1 cm,细胞及组织异型性多样<sup>[9]</sup>。

## 2 临床表现

IPMNs的发病率男女均等,最常见于60-70岁的老年人,平均发病年龄为65岁,恶性IPMNs患者的平均发病年龄较良性患者大6.4岁<sup>[10-12]</sup>。临床表现多样,无特异性的症状,最常见的症状为腹痛、体质量下降、急慢性胰腺炎反复发作、黄疸,可伴发糖尿病的发生或加重,另约有1/3的患者可无任何表现<sup>[13,14]</sup>。黄疸和糖尿病同恶性IPMN高度相关<sup>[15]</sup>。

## 3 病理学表现

IPMNs具有多种病理类型<sup>[16-18]</sup>。根据上皮的异型性和分为非浸润癌和浸润癌,非浸润癌又可分为低、中、高度异型性,浸润癌可分为胶样癌、导管腺癌及其他类型,如未分化癌等。根据被覆上皮的形态及免疫组织化学,可分为胃型、肠型、胰胆管细胞型和嗜酸性细胞型,各类型可同时出现,都有MUC5AC(+)。胃型IPMNs具有类似胃小凹的上皮细胞,细胞异型性小,常为良性小囊性肿物;肠型IPMNs细胞高柱状假复层排列,类似肠乳头状腺瘤,伴中-重度不典型增生,多为位于主胰管或分支胰管的大的囊性肿物,特异性的表达MUC2(+);胰胆管型IPMNs类似胆管乳头状腺瘤,常为重度不典型增生,多为原位癌, MUC1(+);嗜酸性细胞型含有丰富的嗜酸性胞质和圆形核,重度不典型增生, MUC1(+)<sup>[19-23]</sup>。

## 4 血清学检查

尚未发现特异性改变,部分胰腺囊性病变患者中可见CA19-9或CEA的升高,且多发生于恶性者,有文献报道<sup>[24]</sup>,CA19-9升高的胰腺囊性病变患者因其潜在恶性,均应行外科手术切除。此外,血清Span-1、DUPAN-2、PAM4水平及外周血Foxp3/CD25/CD4 T淋巴细胞数目或可用于鉴别良恶性IPMNs<sup>[6]</sup>。

## 5 影像表现概述

IPMNs的临床症状不典型,多由影像学检查偶然

发现,且影像学检查是术前诊断的主要依据<sup>[25]</sup>。根据肿瘤起源不同,在影像学上可分为主胰管型、分支胰管型和混合型,其中主胰管型和混合胰管型的恶性程度较高<sup>[26,27]</sup>。分支型IPMNs较少被关注,部分可不含壁结节,生长缓慢,长期随访可有84.1%的患者无明显进展<sup>[28]</sup>。

主胰管型表现为主胰管呈弥漫性和(或)节段性扩张,管壁变薄,胰管壁上可见结节状和(或)扁平状的软组织突起,管腔内的黏液栓可造成管腔内密度不均匀增高,常合并胰腺实质的萎缩,十二指肠乳头增大,突入肠腔。分支型表现为单房或多房囊性肿瘤,肿瘤内部有厚薄不均的分隔及大小不等的壁结节,囊性肿瘤与主胰管相交通,当主胰管受累时,可伴主胰管不同程度的扩张。是否与主胰管相通是鉴别IPMNs和浆液性囊腺瘤/癌的要害<sup>[29,30]</sup>。

不同影像学手段对IPMNs诊断有不同方面的价值<sup>[31,32]</sup>。增强动态MRCP有助于定位、分期及确定外科手术的可能性。增强CT有助于评估肿瘤与周围脏器和血管的关系,有无侵犯。ERCP可观察胰管形态,及可观察十二指肠乳头的扩张(“鱼眼征”)及黏液溢出,通过判断囊性肿物是否与主胰管相连,ERCP有助于区分IPMNs和胰腺囊腺瘤,这是非侵入性影像检查不能做到的,同时ERCP可作为一种治疗手段,暂时胆道减压,缓解黄疸<sup>[33,34]</sup>。EUS不仅可显示病变及扩张胰管,还可通过细针穿刺活检(fine needle aspiration, FNA)行细胞学及分子学检测<sup>[35,36]</sup>。

## 6 EUS-FNA在IPMNs诊断中的应用

在EUS下IPMNs可表现为:(1)实性肿物;(2)多囊性病变,并与扩张的主胰管相通;(3)胰管充盈缺损;(4)低回声囊肿,内可疑黏液<sup>[37]</sup>。EUS下尚无明确的良恶性IPMNs区分标准,Kubo等在2001年提出超声内镜下恶性IPMNs诊断标准:(1)主胰管型IPMNs主胰管扩张( $\geq 10$  mm);(2)分支型IPMNs肿瘤直径 $>40$  mm并伴不规则厚间隔;(3)主胰管型或分支型IPMN中发现大的腔壁结节( $>10$  mm)。根据上述标准,据近期Aso等<sup>[38]</sup>研究报道据此标准诊断率为79%,并可发现全部侵袭性胰腺癌。Aso等认为超声内镜下恶性IPMNs的诊断标准可以有效鉴别良恶性IPMNs,指导外科决策的制定。Maire等<sup>[39]</sup>对40例IPMNs患者进行了术前EUS,发现在主胰管型IPMNs中,主胰管直径 $<5$  mm时IPMNs患病率为8%,直径5-10 mm时IPMNs患病率为57%,恶性率为33%,直径

≥10 mm时恶性率为100%, 且管壁结节为恶性IPMN所独有. 分支型IPMNs中, 胰管直径≥10 mm则IPMNs患病率为100%, 有管壁结节者恶性率为62%. 并且78%的IPMNs患者并发PanIN, 恶性IPMNs更易并发PanIN.

在行EUS同时还可进行FNA对囊液进行细胞学、生化及肿瘤标志物的检查, 以区分IPMNs良恶性. 囊液CEA>200 μg/L区分良恶性IPMNs的敏感性为47%; 囊液CA19-9>10 000 kU/L区分良恶性IPMNs的敏感性为80%<sup>[6]</sup>. Maire等<sup>[40]</sup>等发现囊液CEA和CA72-4水平可作为良好的恶性IPMNs阴性预测指标: CEA>200 μg/L诊断恶性IPMNs的敏感度为90%、特异性为71%、阳性预测值为50%、阴性预测值为96%; CA72-4>40 kU/L敏感度为87.5%, 特异性为73%, 阳性预测值为47%, 阴性预测值为96%.

细胞学检测敏感度为68%-91%, 于低倍镜下IPMNs的典型表现为可见多少不等的黏液, 且以细胞内的黏液更有诊断意义, 细胞多成乳头状排列, 中有纤维血管束, 并缺乏正常肠上皮的“蜂巢”样结构. 交界性IPMNs或原位癌可表现为微绒毛状排列, 或散在的异性细胞. 坏死性炎症、多形核仅见于恶性IPMNs<sup>[37]</sup>.

EUS在IPMNs的应用渐多<sup>[41-43]</sup>, 但也有文章认为<sup>[44]</sup>增强CT中胰管直径≥1 cm( $P = 0.034$ )是胰腺高度异型性病变及胰腺癌的显著预测因素, CT上病变直径≥2.5 cm可识别出了71%胰腺癌及高度异型性病变患者, 故增强CT表现为胰腺病变直径≥2.5 cm和/或胰管直径≥1 cm可不需EUS检查.

## 7 治疗

主胰管型IPMNs恶性率高(57%-92%), 分支型IPMNs恶性率相对较低(6%-46%). 2006年国际胰腺协会(international association of pancreatology, IAP)发表指南, 建议在患者一般情况允许时, 对主胰管型IPMNs均行外科手术治疗; 并且对具有以下特征之一的分支型IPMNs行手术治疗: 有症状的、肿瘤直径大于3 cm、含腔内结节的、主胰管扩张大于6 mm; 对无以上特征的分支型IPMNs可在定期的影像学监测下行保守治疗<sup>[45-47]</sup>. Tang等<sup>[48]</sup>及Pelaiez-Luna等<sup>[49]</sup>的临床随访研究均显示依照该指南对恶性IPMNs诊断的敏感性可达100%, 而特异性仅为23%-31%, 提示依照该指南在很好的识别恶性IPMNs的同时, 对于良性IPMNs切除率也较高. Huang等<sup>[50]</sup>通过Tree-

Age 2008软件建立模型, 对60岁胰头部分支型IPMNs患者行假设的队列分析, 比较了依据指南切除组、立即手术切除组及根据症状行手术切除组的成本-收获比值, 发现依照现有指南行监测或切除的成本-收获最高, 然而假设队列研究是受年龄、肿瘤部位等因素限制的, 远期而言, 花费仍很大, 需寻找更据特异性的指南.

## 8 结论

恶性IPMNs可能具有以下特征: 发病年龄偏大, 易伴发黄疸及糖尿病; 主胰管型及混合胰管型的恶性程度较高, 主胰管直径≥6 mm, 病变≥2.5 cm, 含有腔壁结节, 尤其结节直径>10 mm者对恶性有较大的预测意义; 血清CA199或CEA升高; 囊液检测见CEA(>200 μg/L)或CA19-9(>10 000 kU/L)或CA72-4(>40 kU/L)升高; 囊液细胞学检测见微绒毛状排列, 或散在的异性细胞、多形核, 或坏死性炎症; 病理类型多为肠型、胰胆管型、嗜酸细胞型. 虽然2006年的IAP发布的IPMNs指南敏感性高, 但特异度低, 仍需进一步寻找更特异的术前IPMNs良恶性评估标准.

## 9 参考文献

- 1 Taouli B, Vilgrain V, O'Toole D, Vullierme MP, Teris B, Menu Y. Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas: features with multimodality imaging. *J Comput Assist Tomogr* 2002; 26: 223-231
- 2 Klöppel G, Kosmahl M, Sipos B. Intraductal papillary-mucinous neoplasms: a new and evolving entity among the pancreatic tumors. *Verh Dtsch Ges Pathol* 2007; 91: 66-73
- 3 Kent TS, Jr CM, Callery MP. Intraductal papillary mucinous neoplasm and the pancreatic incidentaloma. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2: 319-323
- 4 Jang JY, Kim SW, Ahn YJ, Yoon YS, Choi MG, Lee KU, Han JK, Kim WH, Lee YJ, Kim SC, Han DJ, Kim YI, Choi SH, Cho BH, Yu HC, Yoon DS, Lee WJ, Lee KB, Kim YC, Lee KS, Kim MW, Kim HJ, Kim HJ, Park YH. Multicenter analysis of clinicopathologic features of intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas: is it possible to predict the malignancy before surgery? *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 124-132
- 5 Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Hruban RH, Fukushima N, Campbell KA, Lillemoe KD. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: an updated experience. *Ann Surg* 2004; 239: 788-797; discussion 797-799
- 6 Bussom S, Saif MW. Intraductal papillary mucinous neoplasia (IPMN). Highlights from the "2010 ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium". Orlando, FL, USA. January 22-24, 2010. *JOP* 2010; 11: 131-134
- 7 Fernández-del Castillo C, Adsay NV. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology* 2010; 139: 708-713, 713.e1-e2
- 8 Dongbin L, Fei L, Werner Josefin B, Roland A. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: diagnosis and management. *Eur J Gastro-*

## ■创新盘点

本文创新性地综述了IPMNs的多种检查手段, 着重介绍了EUS-FNA方面的研究进展, 并总结了恶性IPMNs可能具有的临床特征, 对于指导临床诊断和治疗有指导意义.

## ■应用要点

本文全面系统地阐述了胰腺导管内乳头状黏液瘤的临床表现,以及病理学、血清学、影像学 and EUS-FNA 及治疗等方面的研究进展,并总结了恶性 IPMNs 可能具有的特征,对于指导临床诊断和治疗有指导意义。

- enterol Hepatol 2010; 22: 1029-1038
- 9 Hruban RH, Takaori K, Klimstra DS, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, Biankin SA, Compton C, Fukushima N, Furukawa T, Goggins M, Kato Y, Klöppel G, Longnecker DS, Lüttges J, Maitra A, Offerhaus GJ, Shimizu M, Yonezawa S. An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 977-987
- 10 Gourgiotis S, Ridolfini MP, Germanos S. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 678-684
- 11 Jeurnink SM, Vleggaar FP, Siersema PD. Overview of the clinical problem: facts and current issues of mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 837-846
- 12 Al-Refaie WB, Choi EA, Tseng JF, Tamm EP, Lee JH, Lee JE, Evans DB, Pisters PW. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Med Princ Pract* 2006; 15: 245-252
- 13 Tanaka M, Kobayashi K, Mizumoto K, Yamaguchi K. Clinical aspects of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. *J Gastroenterol* 2005; 40: 669-675
- 14 Sakorafas GH, Sarr MG. Cystic neoplasms of the pancreas; what a clinician should know. *Cancer Treat Rev* 2005; 31: 507-535
- 15 Salvia R, Fernández-del Castillo C, Bassi C, Thayer SP, Falconi M, Mantovani W, Pederzoli P, Warshaw AL. Main-duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: clinical predictors of malignancy and long-term survival following resection. *Ann Surg* 2004; 239: 678-685; discussion 685-687
- 16 Parra-Herran CE, Garcia MT, Herrera L, Bejarano PA. Cystic lesions of the pancreas: clinical and pathologic review of cases in a five year period. *JOP* 2010; 11: 358-364
- 17 Cheon YK, Cho YD, Jeon SR, Moon JH, Jeong SW, Hur KY, Jin SY, Lee JS. Pancreatic resection guided by preoperative intraductal ultrasonography for intraductal papillary mucinous neoplasm. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1963-1969
- 18 Augustin T, Vandermeer TJ. Intraductal papillary mucinous neoplasm: a clinicopathologic review. *Surg Clin North Am* 2010; 90: 377-398
- 19 Furukawa T, Klöppel G, Volkan Adsay N, Albores-Saavedra J, Fukushima N, Horii A, Hruban RH, Kato Y, Klimstra DS, Longnecker DS, Lüttges J, Offerhaus GJ, Shimizu M, Sunamura M, Suriawinata A, Takaori K, Yonezawa S. Classification of types of intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas: a consensus study. *Virchows Arch* 2005; 447: 794-799
- 20 Nakamura A, Horinouchi M, Goto M, Nagata K, Sakoda K, Takao S, Imai K, Kim YS, Sato E, Yonezawa S. New classification of pancreatic intraductal papillary-mucinous tumour by mucin expression: its relationship with potential for malignancy. *J Pathol* 2002; 197: 201-210
- 21 Terada T, Ohta T, Sasaki M, Nakanuma Y, Kim YS. Expression of MUC apomucins in normal pancreas and pancreatic tumours. *J Pathol* 1996; 180: 160-165
- 22 Basturk O, Khayyata S, Klimstra DS, Hruban RH, Zamboni G, Coban I, Adsay NV. Preferential expression of MUC6 in oncocyctic and pancreatobiliary types of intraductal papillary neoplasms highlights a pyloropancreatic pathway, distinct from the intestinal pathway, in pancreatic carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 364-370
- 23 Shimamoto T, Tani M, Kawai M, Hirono S, Ina S, Miyazawa M, Shimizu A, Uchiyama K, Yokoyama S, Tsutsumi M, Yamaue H. MUC1 is a useful molecular marker for malignant intraductal papillary mucinous neoplasms in pancreatic juice obtained from endoscopic retrograde pancreatography. *Pancreas* 2010; 39: 879-883
- 24 Jones NB, Hatzaras I, George N, Muscarella P, Ellison EC, Melvin WS, Bloomston M. Clinical factors predictive of malignant and premalignant cystic neoplasms of the pancreas: a single institution experience. *HPB (Oxford)* 2009; 11: 664-670
- 25 Campbell F, Azadeh B. Cystic neoplasms of the exocrine pancreas. *Histopathology* 2008; 52: 539-551
- 26 Zhang J, Wang PJ, Yuan XD. Correlation between CT patterns and pathological classification of intraductal papillary mucinous neoplasm. *Eur J Radiol* 2010; 73: 96-101
- 27 Nakajima Y, Yamada T, Sho M. Malignant potential of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Surg Today* 2010; 40: 816-824
- 28 Tanno S, Nakano Y, Nishikawa T, Nakamura K, Sasajima J, Minoguchi M, Mizukami Y, Yanagawa N, Fujii T, Obara T, Okumura T, Kohgo Y. Natural history of branch duct intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas without mural nodules: long-term follow-up results. *Gut* 2008; 57: 339-343
- 29 Sahani DV, Kadavigere R, Blake M, Fernandez-Del Castillo C, Lauwers GY, Hahn PF. Intraductal papillary mucinous neoplasm of pancreas: multi-detector row CT with 2D curved reformations--correlation with MRCP. *Radiology* 2006; 238: 560-569
- 30 Tan L, Zhao YE, Wang DB, Wang QB, Hu J, Chen KM, Deng XX. Imaging features of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas in multi-detector row computed tomography. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4037-4043
- 31 Waters JA, Schmidt CM, Pinchot JW, White PB, Cummings OW, Pitt HA, Sandrasegaran K, Akisik F, Howard TJ, Nakeeb A, Zyromski NJ, Lillemoe KD. CT vs MRCP: optimal classification of IPMN type and extent. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 101-109
- 32 Gupta R, Mortelé KJ, Tatli S, Girshman J, Glickman JN, Levy AD, Erturk SM, Heffess CS, Banks PA, Silverman SG. Pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms: role of CT in predicting pathologic subtypes. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 191: 1458-1464
- 33 Freeman HJ. Intraductal papillary mucinous neoplasms and other pancreatic cystic lesions. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2977-2979
- 34 Harada R, Kawamoto H, Fukatsu H, Kato H, Hirao K, Kurihara N, Mizuno O, Ogawa T, Ishida E, Okada H, Yamamoto K, Yamamoto H. Nonprevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatographic pancreatitis by pancreatic stent after aspiration of pure pancreatic juice in patients with intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Pancreas* 2010; 39: 340-344
- 35 Tsuyuguchi T, Sakai Y, Sugiyama H, Miyakawa K, Ishihara T, Ohtsuka M, Miyazaki M, Yokosuka O. Endoscopic diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasm of the bile duct. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 230-235
- 36 Verna EC, Hwang C, Stevens PD, Rotterdam H,

- Stavropoulos SN, Sy CD, Prince MA, Chung WK, Fine RL, Chabot JA, Frucht H. Pancreatic cancer screening in a prospective cohort of high-risk patients: a comprehensive strategy of imaging and genetics. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5028-5037
- 37 Salla C, Chatzipantelis P, Konstantinou P, Karoumpalis I, Sakellariou S, Pantazopoulou A, Manika Z. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. A study of 8 cases. *JOP* 2007; 8: 715-724
- 38 Aso A, Kubo H, Itaba S, Akiho H, Nakamura K, Oono M, Igarashi H, Ito T, Goto A, Oda Y, Nakamura M, Tanaka M, Takayanagi R. Preoperative evaluation of benign or malignant intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas by endoscopic ultrasonography. *Endoscopy* 2010; 42 (Suppl I): A
- 39 Maire F, Couvelard A, Palazzo L, Aubert A, Vullierme MP, Hammel P, Sauvanet A, Rebours V, Lévy P, Ruszniewski P. From pancreatic intraepithelial neoplasia(PanIN) to intraductal papillary mucinous neoplasms(IPMN): what is the significance of endoscopic ultrasound findings? *Gut* 2010; 59 (Suppl III): A34
- 40 Maire F, Voitot H, Aubert A, Palazzo L, O'Toole D, Couvelard A, Levy P, Vidaud M, Sauvanet A, Ruszniewski P, Hammel P. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: performance of pancreatic fluid analysis for positive diagnosis and the prediction of malignancy. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2871-2877
- 41 Kubo H, Nakamura K, Itaba S, Yoshinaga S, Kinukawa N, Sadamoto Y, Ito T, Yonemasu H, Takayanagi R. Differential diagnosis of cystic tumors of the pancreas by endoscopic ultrasonography. *Endoscopy* 2009; 41: 684-689
- 42 Ringold DA, Shroff P, Sikka SK, Ylagan L, Jonnalagadda S, Early DS, Edmundowicz SA, Azar R. Pancreatitis is frequent among patients with side-branch intraductal papillary mucinous neoplasia diagnosed by EUS. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 488-494
- 43 Carrara S, Cangi MG, Arcidiacono PG, Perri F, Petrone MC, Mezzi G, Boemo C, Talarico A, Cin ED, Grassini G, Doglioni C, Testoni PA. Mucin Expression Pattern in Pancreatic Diseases: Findings From EUS-Guided Fine-Needle Aspiration Biopsies. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1359-1363
- 44 Cone MM, Rea JD, Diggs BS, Billingsley KG, Sheppard BC. Endoscopic ultrasound may be unnecessary in the preoperative evaluation of intraductal papillary mucinous neoplasm. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 112-116
- 45 Jang JY, Kim SW, Lee SE, Yang SH, Lee KU, Lee YJ, Kim SC, Han DJ, Choi SH, Heo JS, Cho BH, Yu HC, Yoon DS, Lee WJ, Lee HE, Kang GH, Lee JM. Treatment guidelines for branch duct type intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: when can we operate or observe? *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 199-205
- 46 Paik KY, Choi SH. Experience of limited pancreatic head resection for management of branch duct intraductal papillary mucinous neoplasm in a single center. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2904-2907
- 47 Tanaka M, Chari S, Adsay V, Fernandez-del Castillo C, Falconi M, Shimizu M, Yamaguchi K, Yamao K, Matsuno S. International consensus guidelines for management of intraductal papillary mucinous neoplasms and mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Pancreatology* 2006; 6: 17-32
- 48 Tang RS, Weinberg B, Dawson DW, Reber H, Hines OJ, Tomlinson JS, Chaudhari V, Raman S, Farrell JJ. Evaluation of the guidelines for management of pancreatic branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasm. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 815-819; quiz 719
- 49 Pelaez-Luna M, Chari ST, Smyrk TC, Takahashi N, Clain JE, Levy MJ, Pearson RK, Petersen BT, Topazian MD, Vege SS, Kendrick M, Farnell MB. Do consensus indications for resection in branch duct intraductal papillary mucinous neoplasm predict malignancy? A study of 147 patients. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1759-1764
- 50 Huang ES, Gazelle GS, Hur C. Consensus guidelines in the management of branch duct intraductal papillary mucinous neoplasm: a cost-effectiveness analysis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 852-860

## 同行评价

本文从临床表现、病理学、血清学、影像学和EUS-FNA等方面对胰腺导管内乳头状黏液瘤进行介绍, 对提高临床医生对本病的认识, 以此指导临床诊断和治疗, 有重要指导意义。

编辑 李薇 电编 何基才

# siRNA抑制NF- $\kappa$ B p65对Bcl-2及肝癌细胞凋亡的影响

赵心恺, 宁巧明, 孙晓宁, 田德安

## ■背景资料

肝癌的发生、发展过程均与肝癌细胞的增殖与凋亡失衡有关, 其中较为重要的是核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)基因和细胞凋亡相关基因**bcl-2**表达的改变。NF- $\kappa$ B是重要的转录调节因子, NF- $\kappa$ B的活化在肿瘤的抗凋亡机制中起了关键作用。**bcl-2**是最早发现的参与细胞凋亡的癌基因之一, 其表达产物具有抗凋亡的重要作用。

赵心恺, 宁巧明, 孙晓宁, 海南省人民医院 海南省海口市 570311

赵心恺, 田德安, 华中科技大学同济医学院同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

海南省卫生厅科研立项课题, No. 琼卫2010-8

作者贡献分布: 赵心恺、宁巧明及孙晓宁对此文所作贡献均等; 此课题由赵心恺、宁巧明及田德安设计; 研究过程由赵心恺与宁巧明操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由田德安提供; 数据分析由赵心恺、宁巧明及孙晓宁完成; 本论文写作由赵心恺、宁巧明及孙晓宁完成。

通讯作者: 田德安, 博士, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院同济医院消化科. tianda1971@163.com

收稿日期: 2011-06-19 修回日期: 2011-08-04

接受日期: 2011-08-06 在线出版日期: 2011-08-08

## SiRNA-mediated inhibition of NF- $\kappa$ B p65 down-regulations Bcl-2 expression and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines

Xin-Kai Zhao, Qiao-Ming Ning, Xiao-Ning Sun, De-An Tian

Xin-Kai Zhao, Qiao-Ming Ning, Xiao-Ning Sun, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Xin-Kai Zhao, De-An Tian, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

Supported by: the Scientific Research Project of Hainan Provincial Department of Health, No. Qiong Wei 2010-8

Correspondence to: De-An Tian, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. xinkaizhao@163.com

Received: 2011-06-19 Revised: 2011-08-04

Accepted: 2011-08-06 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the impact of small interfering RNA (siRNA)-mediated inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B P65 (NF- $\kappa$ B p65) on Bcl-2 expression and apoptosis in human hepatocellular carcinoma (HCC) cell lines.

**METHODS:** HCC cell lines HepG2, SMMC7721 and human fetal liver cell line LO2 were used in the study. The expression of NF- $\kappa$ B p65 and Bcl-2 in the above three cell lines was detected by Western blot. SiRNA technology was then

used to inhibit NF- $\kappa$ B p65 to observe the effect of NF- $\kappa$ B p65 knockdown on Bcl-2 expression and cell apoptosis.

**RESULTS:** The expression levels of NF- $\kappa$ B p65 and Bcl-2 in HepG2 and SMMC7721 cells were significantly higher than those in LO2 cells ( $2.14 \pm 0.19$ ,  $2.09 \pm 0.27$  vs  $0.54 \pm 0.11$ ;  $1.42 \pm 0.15$ ,  $1.47 \pm 0.14$  vs  $0.60 \pm 0.08$ , all  $P < 0.05$ ). No significant difference was detected in the expression levels of NF- $\kappa$ B p65 and Bcl-2 between HepG2 and SMMC7721 cells. SiRNA transfection significantly down-regulated NF- $\kappa$ B p65 expression in HepG2 and SMMC7721 cells compared to non-transfected cells ( $2.08 \pm 0.19$  vs  $0.99 \pm 0.12$ ;  $2.03 \pm 0.17$  vs  $0.94 \pm 0.14$ , both  $P < 0.05$ ). SiRNA-mediated NF- $\kappa$ B p65 knockdown significantly down-regulated Bcl-2 expression ( $1.37 \pm 0.05$  vs  $0.72 \pm 0.02$ ;  $1.44 \pm 0.03$  vs  $0.69 \pm 0.03$ , both  $P < 0.05$ ) and increased apoptosis ( $5.12\% \pm 0.61\%$  vs  $37.87\% \pm 4.10\%$ ;  $5.80\% \pm 0.71\%$  vs  $40.19\% \pm 3.78\%$ , both  $P < 0.05$ ) in HepG2 and SMMC7721 cells compared to non-transfected cells.

**CONCLUSION:** SiRNA-mediated NF- $\kappa$ B p65 knockdown significantly down-regulates Bcl-2 expression and promotes apoptosis in HepG2 and SMMC7721 cells.

**Key Words:** Nuclear factor- $\kappa$ B P65; Bcl-2; Hepatocellular carcinoma

Zhao XK, Ning QM, Sun XN, Tian DA. SiRNA-mediated inhibition of NF- $\kappa$ B p65 down-regulates Bcl-2 expression and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2358-2362

## 摘要

**目的:** 研究siRNA抑制NF- $\kappa$ B p65后Bcl-2在肝癌细胞中的变化及对肝癌细胞凋亡的影响。

**方法:** 选择肝癌细胞HepG2、SMMC7721和人胚胎肝细胞LO2细胞株, 应用Western blot法分别检测NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2在不同细胞中的表达; 应用siRNA方法抑制NF- $\kappa$ B p65在肝癌细胞中的表达, 观察NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2在肝癌细

## ■同行评议者

沈柏用, 副教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院肝胆胰外科中心; 党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

胞中的变化及应用流式细胞仪观察肝癌细胞的凋亡情况。

**结果:** Western blot法检测显示NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2在肝癌细胞HepG2、SMMC7721中的表达明显高于人胚胎肝细胞LO2( $2.14 \pm 0.19$ ,  $2.09 \pm 0.27$  vs  $0.54 \pm 0.11$ ;  $1.42 \pm 0.15$ ,  $1.47 \pm 0.14$  vs  $0.60 \pm 0.08$ , 均 $P < 0.05$ ), 而NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2在肝癌细胞HepG2、SMMC7721中的表达差异无统计学意义; 应用siRNA抑制NF- $\kappa$ B p65的表达后, 应用Western blot法检测显示NF- $\kappa$ B p65在肝癌细胞HepG2、SMMC7721中的表达较未转染组明显下降( $2.08 \pm 0.19$  vs  $0.99 \pm 0.12$ ;  $2.03 \pm 0.17$  vs  $0.94 \pm 0.14$ , 均 $P < 0.05$ ), 说明转染成功。随后应用Western blot法检测显示Bcl-2在肝癌细胞HepG2、SMMC7721中的表达较未转染组明显下降( $1.37 \pm 0.05$  vs  $0.72 \pm 0.02$ ;  $1.44 \pm 0.03$  vs  $0.69 \pm 0.03$ , 均 $P < 0.05$ ), 且肝癌细胞凋亡较未转染组明显增加( $5.12\% \pm 0.61\%$  vs  $37.87\% \pm 4.10\%$ ;  $5.80\% \pm 0.71\%$  vs  $40.19\% \pm 3.78\%$ , 均 $P < 0.05$ )。

**结论:** siRNA可以成功抑制NF- $\kappa$ B p65在肝癌细胞中的活性, 进一步证实NF- $\kappa$ B p65对Bcl-2具有调控作用, 他们共同参与了肝癌的发生发展过程。

**关键词:** 核因子 $\kappa$ B p65; Bcl-2; 肝癌细胞癌

赵心恺, 宁巧明, 孙晓宁, 田德安. siRNA抑制NF- $\kappa$ B p65对Bcl-2及肝癌细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2358-2362  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2358.asp>

## 0 引言

肝癌的发生、发展过程均与肝癌细胞的增殖与凋亡失衡有关, 其中较为重要的是核因子- $\kappa$ B(nuclearfactor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)基因和细胞凋亡相关基因**bcl-2**表达的改变。NF- $\kappa$ B是重要的转录调节因子, NF- $\kappa$ B的活化在肿瘤的抗凋亡机制中起了关键作用。bcl-2是最早发现的参与细胞凋亡的癌基因之一, 其表达产物具有抗凋亡的重要作用。我们通过以下实验深入研究NF- $\kappa$ B p65与Bcl-2信号通路间的联系, 了解二者在肝癌发生发展中的意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司; RIPA裂解液购自美国Pierce公司; 鼠抗人

p65(sc-8008)购自美国Santa Cruz公司; 鼠抗人Bcl-2(sc-7382)购自美国Santa Cruz公司; 羊抗兔IgG-HRP购自美国Fermentas公司; Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; NF- $\kappa$ B p65小分子干扰核糖核酸购自美国Thermo Scientific Dharmacon公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 人肝癌细胞株HepG2、SMMC 7721、人胚胎肝细胞株LO2购自中国科学院上海生物所细胞库。细胞培养在RPMI 1640培养基中, 常规加入100 mL/L胎牛血清(FBS), 在50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中37 °C培养, 每3 d传代1次。

**1.2.2 核蛋白提取及Western blot:** NE-PER<sup>®</sup> Nuclear and Cytoplasmic Extraction Kit (PIERCE)参照说明书进行操作。Western blot采用化学发光法(PIERCE Biotecnology)和放射自显影进行检测。

**1.2.3 NF- $\kappa$ B p65的RNA干扰:** NF- $\kappa$ B p65小分子干扰核糖核酸(siRNA: 5'GCCCCU-AUCCCUUUACGUCA3')转染入肝癌细胞HepG2、SMMC7721中<sup>[1]</sup>, 首先将处于对数生长期的细胞以 $3.0 \times 10^6$ 个/孔铺于6孔板中, 待到细胞融合至80%-90%时进行转染。转染时取10  $\mu$ L的Lipofectamine 2000与4  $\mu$ g siRNA寡聚物分别加入到250  $\mu$ L的OPTI-MEM中, 混匀后室温孵育30 min, 再将混合液加入每个孔中, 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub>孵育4 h后换用含有100 mL/L胎牛血清的培养基培养。转染后24 h提取细胞核蛋白, Western blot的方法检测NF- $\kappa$ B p65的表达。

**1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡:** 取对数生长期的细胞以 $3 \times 10^5$ 个/孔接种6孔板, 待细胞汇合率达到80%-90%时, 胰酶消化收集细胞。进行细胞凋亡检测时, PBS细胞洗3次, 加入10  $\mu$ L的Annexin V混匀后避光保存30 min, 再加入5  $\mu$ L的PI, 立即上机检测。

**统计学处理** 用SPSS11.0进行数据处理, 采用mean $\pm$ SD表示, 同一组变量比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 组间两两比较采用SNK法,  $P < 0.05$ 为差异有显著性。

## 2 结果

**2.1 NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2在3种细胞中的表达**

**2.1.1 NF- $\kappa$ B p65在3种细胞中的表达:** NF- $\kappa$ B p65在HepG2和SMMC7721细胞核中的蛋白表达水平明显高于LO2细胞( $2.14 \pm 0.19$ ,  $2.09 \pm 0.27$  vs  $0.54 \pm 0.11$ , 均 $P < 0.05$ ), 在HepG2、SMMC7721细胞中表达无明显差异( $2.14 \pm 0.19$  vs  $2.09 \pm$

### ■研发前沿

RNA干扰(RNAi), 即用20多个核苷酸组成的短的双链RNA(siRNA)代替传统反义核酸进行转录后基因沉默, 已经迅速而广泛地应用到基因功能、基因表达调控机制研究等热门领域, 并为基因治疗开辟了新的途径。

## ■应用要点

本文通过研究 siRNA 成功抑制 NF- $\kappa$ B p65 在肝癌细胞中的表达及引起肝癌细胞凋亡明显增加, 进一步证实 NF- $\kappa$ B p65 对 Bcl-2 具有调控作用, 为肝癌的靶向治疗提供更好的理论依据。

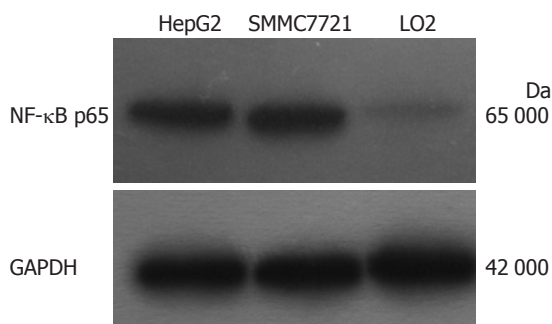


图 1 HepG2、SMMC7721 和 LO2 细胞中 NF- $\kappa$ B 亚单位 p65 的表达。

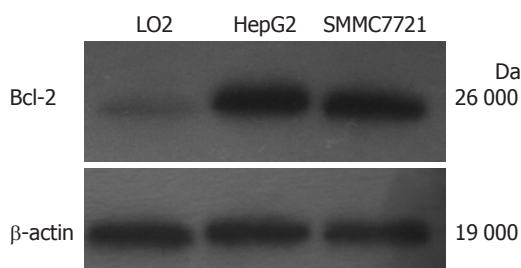


图 2 HepG2、SMMC7721 和 LO2 细胞中 Bcl-2 的表达。

0.27,  $P > 0.05$ , 图1)。

2.1.2 Bcl-2 蛋白在 3 种细胞中的表达: Bcl-2 蛋白在 HepG2、SMMC7721 细胞中表达明显高于 LO2 细胞 ( $1.42 \pm 0.15$ ,  $1.47 \pm 0.14$  vs  $0.60 \pm 0.08$ , 均  $P < 0.05$ ), 在 HepG2、SMMC7721 细胞中表达无明显差异 ( $1.42 \pm 0.15$  vs  $1.47 \pm 0.14$ ,  $P > 0.05$ , 图2)。

2.2 siRNA 抑制 NF- $\kappa$ B p65 后, Bcl-2 在肝癌细胞中的表达及细胞的凋亡状况

2.2.1 Western blot 检测 NF- $\kappa$ B p65 蛋白的表达: SiRNA 转染 HepG2 和 SMMC7721 细胞 24 h 后 NF- $\kappa$ B p65 蛋白的表达明显下调 ( $2.08 \pm 0.19$  vs  $0.99 \pm 0.12$ ;  $2.03 \pm 0.17$  vs  $0.94 \pm 0.14$ , 均  $P < 0.05$ , 图3)。

2.2.2 Western blot 检测 HepG2、SMMC7721 细胞核中蛋白的表达: 沉默 NF- $\kappa$ B p65 后, Bcl-2 在肝癌细胞 HepG2、SMMC7721 细胞核中蛋白的表达水平明显降低 ( $1.37 \pm 0.05$  vs  $0.72 \pm 0.02$ ;  $1.44 \pm 0.03$  vs  $0.69 \pm 0.03$ , 均  $P < 0.05$ , 图4)。

2.3 siRNA NF- $\kappa$ B p65 对 HepG2、SMMC7721 细胞凋亡的影响 siRNA 转染 HepG2、SMMC7721 细胞后 24 h, SiRNA 转染组细胞凋亡率显著增加, 明显高于未转染组细胞的凋亡率 ( $5.12\% \pm 0.61\%$  vs  $37.87\% \pm 4.10\%$ ;  $5.80\% \pm 0.71\%$  vs  $40.19\% \pm 3.78\%$ , 均  $P < 0.05$ )。未转染组细胞之间的凋亡率差异无统计学意义 ( $5.12\% \pm 0.61\%$  vs  $5.80\% \pm 0.71\%$ ,  $P > 0.05$ , 图5)。

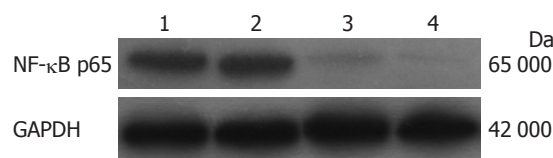


图 3 siRNA 对 HepG2、SMMC7721 细胞 NF- $\kappa$ B p65 表达的抑制作用。1: HepG2 未转染组; 2: SMMC7721 未转染组; 3: HepG2 转染组; 4: SMMC7721 转染组。

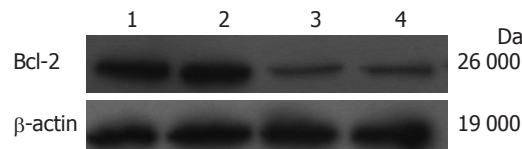


图 4 Bcl-2 蛋白在 HepG2、SMMC7721 细胞及转染组中的表达。1: HepG2 未转染组; 2: SMMC7721 未转染组; 3: HepG2 转染组; 4: SMMC7721 转染组。

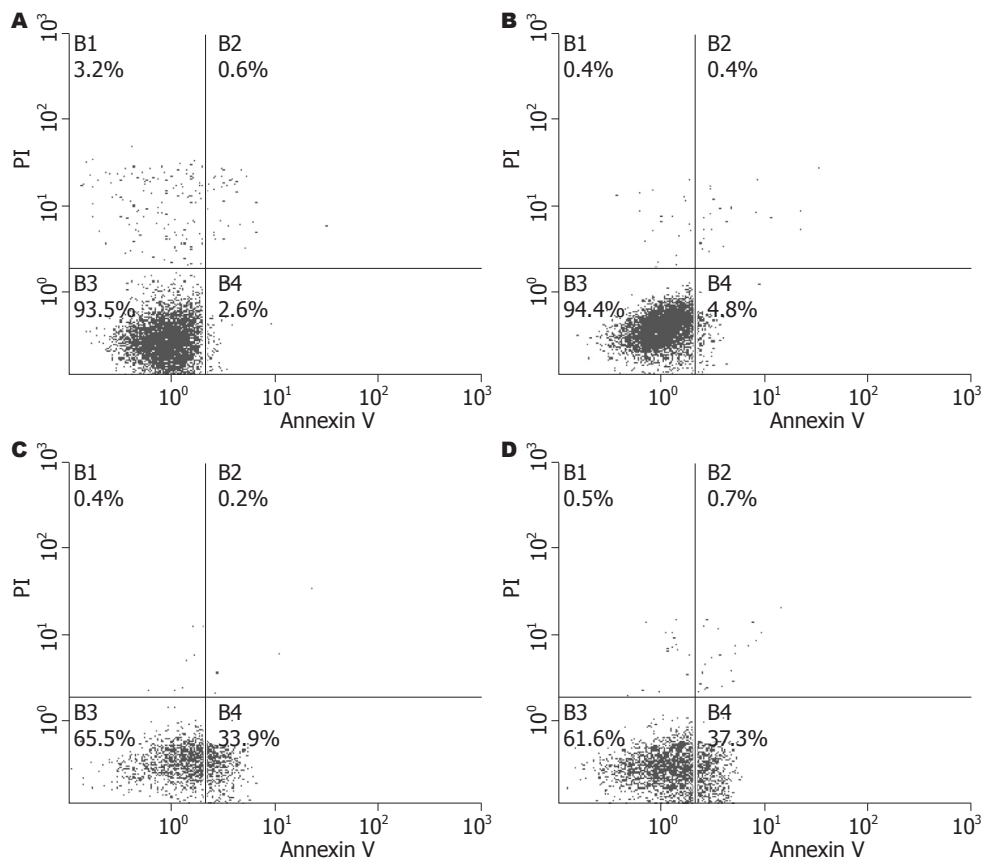
### 3 讨论

细胞凋亡相关基因 *bcl-2* 和 NF- $\kappa$ B 基因表达的改变是肝癌的发生、发展过程中重要的调节因素<sup>[2]</sup>。

NF- $\kappa$ B 是一种广泛存在于体内多种细胞的核转录因子, 在细胞的癌变及凋亡调控等方面发挥着重要作用, 目前有研究表明, NF- $\kappa$ B 信号转导途径参与了肝脏中原癌基因和抑癌基因的转录表达可通过抑制细胞凋亡参与肝癌的发生发展<sup>[3-6]</sup>。 *bcl-2* 也是一种原癌基因, 由其编码的蛋白产物 Bcl-2 蛋白, 定位于细胞线粒体外膜、核膜及内质网膜上, 是一种膜定位蛋白, 促进细胞由 G<sub>1</sub> 期向 S 期转化并修复染色体损伤, 与肿瘤的早期形成有关<sup>[7]</sup>。

首先, 我们检测了肝癌细胞和人胚胎肝细胞中 NF- $\kappa$ B p65、Bcl-2 的表达, 结果显示在肝癌细胞系 (HepG2、SMMC7721) 中二者均高表达, 明显高于正常人胚胎肝细胞中的表达。这同国内外的研究结果相符<sup>[8,9]</sup>。为了进一步揭示二者是否存在调控关系, 我们应用基因沉默的方法下调 NF- $\kappa$ B p65 的表达, 本实验显示转染 p65 siRNA 阻断 NF- $\kappa$ B 信号通路后, 可使肝癌细胞凋亡明显增加, 同时 Bcl-2 的表达受到影响, 在实验组中 Bcl-2 的表达明显降低。这些结果表明: 在肝癌的发生发展中可能存在 NF- $\kappa$ B 调控 Bcl-2 的表达, 通过抑制各种凋亡刺激信号从而抑制细胞凋亡, 在肝癌的发生中具有重要的作用。

大量研究<sup>[10,11]</sup>提示, NF- $\kappa$ B 与 Bcl-2 可能在促进肝癌形成中具有协同作用, 可能的机制为 NF- $\kappa$ B 基因的持续存在激活了原癌基因 *bcl-2*, 进一步合成 Bcl-2 蛋白, 后者又反馈性刺激 NF- $\kappa$ B 基



#### 同行评价

本文方法得当, 结论可靠, 对于了解NF- $\kappa$ B p65与Bcl-2在肝癌细胞发生相互关系及作用机制有研究意义。

图5 siRNA NF- $\kappa$ B p65对HepG2、SMMC7721细胞凋亡的影响. A: HepG2未转染组; B: SMMC7721未转染组; C: HepG2转染组; D: SMMC7721转染组。

因的增殖, 形成环路状的级联放大, 使增殖信号不断加强。这与我们的实验结果相符<sup>[12,13]</sup>, 当使用p65 siRNA阻断肝癌细胞中NF- $\kappa$ B信号通路时, Bcl-2的表达下调, 细胞凋亡数增加, 可以得出Bcl-2位于NF- $\kappa$ B基因下游的结论。NF- $\kappa$ B作为一种抑制凋亡的转录因子, 通过对**bcl-2**等下游抗凋亡基因的表达, 对癌细胞的正常程序化死亡产生抑制作用<sup>[14,15]</sup>。我们的研究揭示NF- $\kappa$ B是Bcl-2的上游调控基因。siRNA可以成功抑制NF- $\kappa$ B p65在肝癌细胞中的活性, 进一步证实NF- $\kappa$ B p65对Bcl-2具有调控作用, 他们共同参与了肝癌的发生发展过程。他们之间是直接调控还是间接调控及其具体调控机制还有待于进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 Pinkenburg O, Platz J, Beisswenger C, Vogelmeier C, Bals R. Inhibition of NF-kappaB mediated inflammation by siRNA expressed by recombinant adeno-associated virus. *J Virol Methods* 2004; 120: 119-122
- 2 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597
- 3 Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, Amit S, Kasem S, Gutkovich-Pyest E, Urieli-Shoval S, Galun E, Ben-Neriah Y. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 2004; 431: 461-466
- 4 Wang T, Wang Y, Wu MC, Guan XY, Yin ZF. Activating mechanism of transcription NF-kappaB regulated by hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 356-360
- 5 Djavaheri-Mergny M, Amelotti M, Mathieu J, Besançon F, Bauvy C, Souquère S, Pierron G, Codogno P. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy. *J Biol Chem* 2006; 281: 30373-30382
- 6 Guo SP, Wang WL, Zhai YQ, Zhao YL. Expression of nuclear factor-kappa B in hepatocellular carcinoma and its relation with the X protein of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 340-344
- 7 Beerheide W, Tan YJ, Teng E, Ting AE, Jedpiya-wongse A, Srivatanakul P. Downregulation of pro-apoptotic proteins Bax and Bcl-X(S) in p53 overexpressing hepatocellular carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273: 54-61
- 8 Chen Y, Li R, Wang R, Liu Z. [The significance of nuclear factor kappa Bp65 (NF kappa Bp65) expression on the vascular endothelial cells of rectum adenocarcinoma of human]. *Huaxi Yike Daxue Xuebao* 2001; 32: 196-199
- 9 O'Neil BH, Bůzková P, Farrah H, Kashatus D, Sanoff H, Goldberg RM, Baldwin AS, Funkhouser WK. Expression of nuclear factor-kappaB family proteins in hepatocellular carcinomas. *Oncology* 2007; 72: 97-104
- 10 Pereira SG, Oakley F. Nuclear factor-kappaB1: regulation and function. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;

- 40: 1425-1430
- 11 Yu Y, Wan Y, Huang C. The biological functions of NF-kappaB1 (p50) and its potential as an anti-cancer target. *Curr Cancer Drug Targets* 2009; 9: 566-571
- 12 Wu LF, Li GP, Su JD, Pu ZJ, Feng JL, Ye YQ, Wei BL. Involvement of NF-kappaB activation in the apoptosis induced by extracellular adenosine in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Biochem Cell Biol* 2010; 88: 705-714
- 13 Huang C, Yao JY, Li ZF, Liu LY, Ni L, Song TS. [Small interfering RNA-mediated nuclear factor-kappaB P65 suppression induces apoptosis of hepatic carcinoma SMMC-7721 cells]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2007; 27: 1841-1844
- 14 Arsura M, Cavin LG. Nuclear factor-kappaB and liver carcinogenesis. *Cancer Lett* 2005; 229: 157-169
- 15 Herman MD, Nyman T, Welin M, Lehtiö L, Flodin S, Trésaugues L, Kotenyova T, Flores A, Nordlund P. Completing the family portrait of the anti-apoptotic Bcl-2 proteins: crystal structure of human Bfl-1 in complex with Bim. *FEBS Lett* 2008; 582: 3590-3594

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 招聘生物医学编辑部主任

**本刊讯** 百世登出版集团(Baishideng Publishing Group Co., Limited, BPG)已经为各位编辑部主任搭建好整体架构, 希望培养出对编辑与出版行业真正感兴趣甚至愿意将其作为终身事业的专业人才, 成为BPG的核心人物. 欢迎应届毕业生加盟BPG团队, 请将您的简历E-mail发至: j.l.li@wjgnet.com

#### ■ 工作职责

- 1 贯彻执行员工手册、编辑手册、编委手册和作者手册.
- 2 根据作者指南及学科发展动向和读者的需求, 制订期刊的总体发展规划, 负责编辑、出版、发行和经营管理.
- 3 策划年度编委会成员的社论和专题亮点等栏目约稿, 并按照计划负责监督落实.
- 4 负责期刊同行评议和定稿会, 按期编排、加工, 发排稿件, 发排后参与校对或审核校样、核红、签字付印.
- 5 组织期刊印刷版或网络版出版后审读, 发现问题及时修改.

#### ■ 职位要求

硕士及以上学历, 具有生物医学专业学科背景及丰富的写作和发表生物医学文章者优先录用.

#### ■ 薪资待遇面议

#### ■ 培训流程

第一步学习手册; 第二步编务; 第三步排版制作; 第四步编辑; 第五步投稿办公系统操作; 第六步期刊网络系统学习; 第七步期刊管理培训; 第八步BPG管理委员会考核; 第九步考核通过后正式签订劳动合同, 并颁发编辑部主任聘任书.

# 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 JAK-STAT信号通路STAT3的影响

郭昱, 霍瑞静, 姚金锋

郭昱, 霍瑞静, 姚金锋, 河北医科大学第二医院 河北省石家庄市 050000

河北省科技支撑计划基金资助项目, No. 072461478D

作者贡献分布: 郭昱与霍瑞静对此文所作贡献均等; 此课题由郭昱、霍瑞静及姚金锋设计; 研究过程由霍瑞静操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由霍瑞静提供; 数据分析由霍瑞静完成; 本论文写作由郭昱与霍瑞静完成。

通讯作者: 郭昱, 副主任医师, 050000, 河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院消化内科, guoyu123123@sina.com

收稿日期: 2011-05-24 修回日期: 2011-06-22

接受日期: 2011-07-05 在线出版日期: 2011-08-08

## Effect of baicalin on the JAK-STAT3 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721

Yu Guo, Rui-Jing Huo, Jin-Feng Yao

Yu Guo, Rui-Jing Huo, Jin-Feng Yao, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Supported by: the Key Technology Research and Development Project of Hebei Province, No. 072461478D

Correspondence to: Yu Guo, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. guoyu123123@sina.com

Received: 2011-05-24 Revised: 2011-06-22

Accepted: 2011-07-05 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of baicalin on the JAK-STAT3 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721.

**METHODS:** SMMC-7721 cells were divided into four groups: blank control group, baicalin group, AG490 group, and baicalin plus AG490 group. The mRNA expressional level of STAT3 in SMMC-7721 cells was measured by RT-PCR. The protein expression levels of STAT3 and p-STAT3 in SMMC-7721 cells were measured by Western blot.

**RESULTS:** The expressional level of STAT3 mRNA in SMMC-7721 cells was significantly lower in the baicalin group than in the blank control group ( $0.505 \pm 0.111$  vs  $0.697 \pm 0.145$ ,  $P < 0.05$ ). The protein expressional levels of STAT3

and p-STAT3 in SMMC-7721 cells were also significantly lower in the baicalin group than in the blank control group ( $0.879 \pm 0.012$  vs  $1.087 \pm 0.015$ ,  $0.983 \pm 0.085$  vs  $1.103 \pm 0.074$ , both  $P < 0.05$ ). Compared to the baicalin group, the protein expressional level of p-STAT3 in SMMC-7721 cells was significantly decreased in the baicalin plus AG490 ( $0.756 \pm 0.103$  vs  $0.983 \pm 0.085$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Baicalin could significantly down-regulate the mRNA and protein expressional levels of STAT3 and p-STAT3 and inhibit the activation of STAT3 protein in SMMC-7721 cells.

**Key Words:** Baicalin; Hepatocellular carcinoma; JAK-STAT pathway; STAT3; AG490

Guo Y, Huo RJ, Yao JF. Effect of baicalin on the JAK-STAT3 signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2363-2367

## 摘要

**目的:** 探讨黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 JAK-STAT信号通路STAT3的影响。

**方法:** 将肝癌细胞SMMC-7721分为4组: 对照组、黄芩苷组、AG490组、黄芩苷+AG490组。应用RT-PCR法检测各组肝癌细胞SMMC-7721中STAT3 mRNA表达, Western blot法检测肝癌细胞SMMC-7721中STAT3、P-STAT3蛋白表达。

**结果:** 黄芩苷可以下调肝癌细胞SMMC-7721 STAT3 mRNA表达, 与对照组比较明显下降 ( $0.505 \pm 0.111$  vs  $0.697 \pm 0.145$ ,  $P < 0.05$ ); 可以降低STAT3蛋白的表达量 ( $0.879 \pm 0.012$  vs  $1.087 \pm 0.015$ ,  $P < 0.05$ ); 还可以抑制STAT3向活化形式P-STAT3转化, 与对照组比较P-STAT3表达明显下降 ( $0.983 \pm 0.085$  vs  $1.103 \pm 0.074$ ,  $P < 0.05$ ), 而与AG490联合应用后P-STAT3蛋白表达量较单用黄芩苷下降明显 ( $0.756 \pm 0.103$  vs  $0.983 \pm 0.085$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 黄芩苷能下调STAT3 mRNA表达水平,

## ■背景资料

STAT3是JAK-STAT信号通路中一个至关重要的转录因子。P-STAT3是其磷酸化的活化形式。他参与许多肿瘤发生的环节如加速细胞周期循环、诱导细胞转化和抑制细胞凋亡等。黄芩苷具有明显的抗肿瘤作用, 作用机制是否与JAK/STAT信号通路有关尚不清楚。

## ■同行评议者

宣世英, 教授, 山东省青岛市市立医院肝病内科

## ■研发前沿

近年来,研究针对肿瘤细胞内异常信号通路为靶点的特异性抗肿瘤药物已成为肿瘤治疗研究的热点.

降低STAT3蛋白表达,还可以抑制STAT3向活化形式P-STAT3转化,与AG490有协同作用.黄芩苷可能通过抑制JAK-STAT信号通路发挥抗肿瘤作用.

**关键词:** 黄芩苷; 肝癌; JAK-STAT信号通路; STAT3; AG490

郭昱, 霍瑞静, 姚金锋. 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 JAK-STAT信号通路STAT3的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2363-2367

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2363.asp>

## 0 引言

原发性肝癌是人类常见的恶性肿瘤之一,严重的危害我国人民的生命和健康.据统计,全世界每年新发肝癌26万例,其中42.5%在中国,中国肝癌死亡率为20.4/10万.目前普遍认为肝癌的发生发展是多基因突变、多环节、多步骤、多阶段的演进过程.细胞信号转导在细胞生长调控中起重要作用,信号通路中任何组分的改变都会导致细胞增殖凋亡的失控,发生癌变.研究表明在肝癌细胞的信号转导链中涉及多种信号转导途径,起主要作用的是Janus蛋白酪氨酸激酶/信号转导和转录激活因子(Janus kinases/signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)通路.其中信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)是该信号通路中一个至关重要的转录因子.P-STAT3是其磷酸化的活化形式.他参与许多肿瘤发生的环节如加速细胞周期循环、诱导细胞转化和抑制细胞凋亡等.黄芩苷是由黄芩的干燥根中提取的一种黄酮类化合物,分子式为 $C_{21}H_{18}O_{11}$ ,相对分子质量为446.36,具有抗炎、抗变态反应、抗肿瘤等多种药理作用<sup>[1-5]</sup>.我们以往的研究表明黄芩苷可以影响肝癌细胞的多种生物学特性如抑制肝癌细胞增殖,诱导肝癌细胞凋亡,降低肝癌细胞侵袭力等<sup>[6-10]</sup>,其机制是否是通过抑制STAT3途径完成的尚乏研究.本实验通过应用黄芩苷干预肝癌细胞,采用RT-PCR技术及Western blot技术,从基因水平及蛋白水平探讨黄芩苷对STAT3及P-STAT3表达的影响,探讨其抗肿瘤作用可能的信号通路机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人肝癌细胞株SMMC-7721河北医科大学第四医院肿瘤实验室惠赠.黄芩苷(baicalin)购自成都曼斯特生物科技有限公司,纯度>98%;

AG490酪氨酸磷酸化抑制剂购自杭州四季青生物制品公司; TRIzol购自北京赛百盛基因有限公司.兔抗STAT3多克隆抗体购自北京中山生物技术公司;兔抗P-STAT3多克隆抗体 购自北京中山生物技术公司;兔抗 $\beta$ -actin多克隆抗体购自北京中山生物技术公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 人肝癌细胞株SMMC-7721培养于RPMI 1640培养液,内含100 mL/L小牛血清、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素,置37 °C, 50 mL/L CO<sub>2</sub>, 恒温密闭式孵箱内培养.实验分为4组: (1)对照组(只加培养基); (2)黄芩苷组(浓度为10 mg/L); (3)AG490(浓度为50  $\mu$ mol/L); (4)黄芩苷+AG490组(10 mg/L黄芩苷+50  $\mu$ mol/L AG490).作用48 h后收集细胞.

**1.2.2 RT-PCR法检测黄芩苷对肝癌SMMC-7721细胞STAT3 mRNA的影响:** 将作用48 h后收集的细胞,按TRIzol试剂盒说明书提取细胞总RNA,测定RNA纯度及定量并完整性鉴定,逆转录cDNA第一链合成后行PCR;利用基因设计软件Primer 5.0进行引物对设计.在PE9700 PCR仪上进行实时定量扩增. STAT3上游引物: 5'-ATTCAAACACTTG ACCCTGA-3',下游引物: 5'-ATTGTTGGTC AGCATGTTGT-3',扩增的目的片段长度为238 bp. PCR的具体循环参数为: 94 °C, 5 min; 94 °C, 1 min; 56 °C, 40 s; 72 °C, 30 s, 循环35次,以后72 °C延伸7 min.  $\beta$ -actin上游引物: 5'-TCCACCGCAAATGCTTCTAG-3',下游引物: 5'-TGCTGTACCTTCACCGTTC-3',扩增的目的片段长度为189 bp, PCR的具体循环参数为: 95 °C, 5 min; 95 °C, 30 s; 50.4 °C, 30 s; 72 °C, 30 s, 循环35次,以后72 °C延伸7 min. 用美国ST公司AlphaImager TM1200型读胶仪读取扩增条带的灰度值进行分析,以目标基因与 $\beta$ -actin扩增产物的灰度值的比值来表示基因表达水平.

**1.2.3 Western blot法检测SMMC-7721细胞中STAT3、P-STAT3蛋白表达:** 分别提取各组细胞总蛋白, -80 °C冰箱冻存备用.考马斯亮蓝G-250法测定蛋白含量.配制100 mL/L分离胶及制备浓缩胶.将已加入上样缓冲液的标准蛋白质样品及待测样品加入样品槽内.然后接通电源,上槽负极,下槽正极,80 V电压,4 °C,进行电泳,样品在浓缩胶中电泳约1 h,待样品进入分离胶后,150 V电泳1.5 h左右,直到溴酚

## ■相关报道

赵军艳等发现肝癌组织中存在JAK-STAT信号转导通路过度活化,而且活化程度与肝癌组织中细胞的分化程度关系密切,恶性程度较高的肝癌组织中.

表 1 STAT3 mRNA、STAT3和P-STAT3在肝癌细胞SMMC-7721的表达

分组	STAT3 mRNA	STAT3	P-STAT3
对照组	0.697 ± 0.145	1.087 ± 0.015	1.103 ± 0.074
AG490组	0.688 ± 0.077 <sup>d</sup>	1.083 ± 0.013 <sup>d</sup>	0.984 ± 0.064 <sup>ad</sup>
黄芩苷组	0.505 ± 0.111 <sup>af</sup>	0.879 ± 0.012 <sup>af</sup>	0.980 ± 0.059 <sup>ad</sup>
黄芩苷+AG490组	0.495 ± 0.117 <sup>af</sup>	0.871 ± 0.009 <sup>af</sup>	0.756 ± 0.103 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 黄芩苷+AG490组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 黄芩苷组.

蓝到达分离胶的底部, 关闭电源. 转膜终了, 丽春红染色, 以确定胶中蛋白质的转移情况. 在50 mL/L脱脂奶粉中, 室温振摇封闭1 h. 封闭结束后, 以TBS溶液稀释兔抗STAT3(1:500)多克隆抗体, 兔抗P-STAT3多克隆抗体(1:500), 兔抗 $\beta$ -actin多克隆抗体(1:200), 按0.1 mL/cm<sup>2</sup>加入一抗溶液, 封膜机封口, 4℃过夜. 加入二抗(1:1 000稀释), 按每cm<sup>2</sup>膜加入0.1 mL, 室温摇动孵育1 h. 取出NC膜, 用TBS溶液振摇洗3次, 每次10 min, 在暗室中进行化学发光, 胶片曝光显影后分析结果. 采用美国Image JA软件对Western blot结果进行定量分析, 灰度值以累积吸光度值(LA)表示, 结果以目的蛋白与 $\beta$ -actin的累积吸光度的比值表示.

**统计学处理** 用SPSS12.0软件统计分析, 所有计量资料数据均采用mean±SD表示, 同一个指标的各组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$ 表示差异有显著性.

## 2 结果

**2.1 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 STAT3 mRNA表达的影响** 黄芩苷组肝癌细胞SMMC-7721 STAT3 mRNA表达量与对照组和AG490组比较均有明显下降( $P < 0.05$ ); AG490组STAT3 mRNA表达量与对照组比较无显著差异( $P > 0.05$ ); 黄芩苷+AG490组STAT3 mRNA表达量与对照组和AG490组比较明显下降( $P < 0.05$ ), 与黄芩苷组比较无显著差异( $P > 0.05$ , 图1, 表1).

**2.2 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 STAT3蛋白表达的影响** 黄芩苷组肝癌细胞SMMC-7721 STAT3蛋白表达量与对照组和AG490组比较均有明显下降( $P < 0.05$ ); AG490组STAT3蛋白表达量与对照组比较差异无显著性( $P > 0.05$ ); 黄芩苷+AG490组STAT3蛋白与对照组和AG490组比较明显下降( $P < 0.05$ ), 与黄芩苷组比较无显著差异( $P > 0.05$ , 图2, 表1).

**2.3 黄芩苷对肝癌细胞SMMC-7721 P-STAT3**

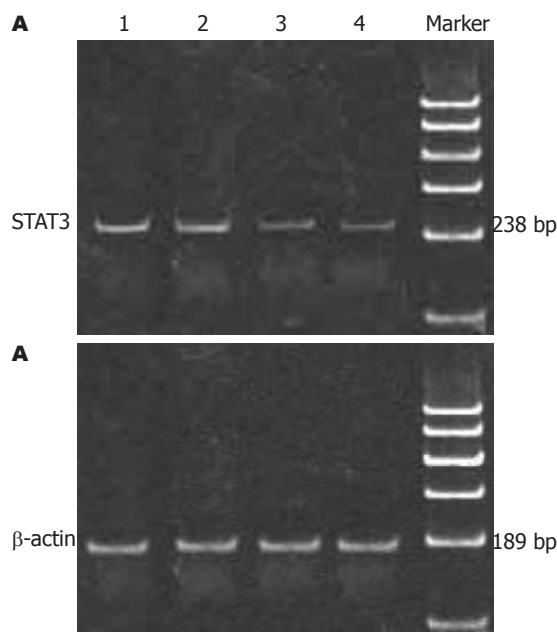


图 1 STAT3 mRNA在肝癌细胞SMMC-7721的表达. 1: 对照组; 2: AG490组; 3: 黄芩苷组; 4: 黄芩苷+AG490组.

**蛋白表达的影响** 黄芩苷组, AG490组肝癌细胞SMMC-7721 P-STAT3蛋白表达量与对照组比较明显下降( $P < 0.05$ ); 黄芩苷组与AG490组比较无显著差异; 黄芩苷+AG490组P-STAT3与对照组、黄芩苷组和AG490组比较均有明显下降( $P < 0.05$ , 图2).

**2.4 治疗后生物化学应答比较** 随着治疗时间的延长, 2组ALT复常率都在提高, 治疗组ALT阴转率高于对照组, 比较有统计学差异( $P < 0.05$ 或0.01, 表1).

## 3 讨论

目前已知转录因子在调节多个肿瘤相关基因方面起重要作用. 靶向性阻断某个转录因子也逐渐成为探讨治疗肿瘤的一个新策略. 近年来, 研究针对肿瘤细胞内异常信号通路为靶点的特异性抗肿瘤药物已成为肿瘤治疗研究的热点. 这类药物的优势在于只对肿瘤细胞具有杀伤作

### ■应用要点

黄芩苷作为传统中药黄芩的主要有效成分之一, 近年来其抗肿瘤作用得到越来越多的实验证实. 本研究结果加深了对其作用机制的认识, 为其进一步开发应用奠定了理论基础.

### ■同行评价

本文阐明了黄芩苷在信号转导水平发挥抗肿瘤作用的可能机制,具有较高的学术价值和重要的理论意义。

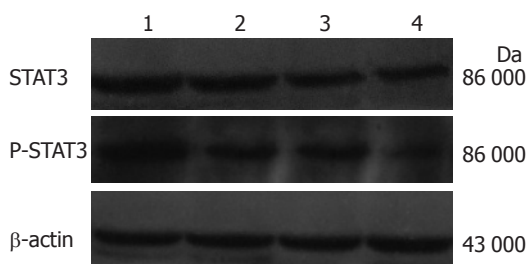


图2 STAT3和P-STAT3在肝癌细胞SMMC-7721的表达. 1: 对照组; 2: AG490组; 3: 黄芩苷组; 4: 黄芩苷+AG490组。

用,而对正常细胞没有影响或影响较小.减轻了药物对正常组织的损伤,这恰恰弥补了传统化疗药物的不足. JAK-STAT信号通路在多种实体瘤及血液系统肿瘤中都有其异常表达及活化,与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡、转移及血管生成等过程有关.许多该通路抑制剂在体内实验中外均体现出抗肿瘤效果.新近研究表明某些中药单体如苦参碱、姜黄素等其发挥抗肿瘤的作用机制与JAK-STAT信号传导通路的阻断有关<sup>[11,12]</sup>.在STAT成员中,STAT3是多个致癌性酪氨酸激酶信号通道的汇聚的焦点. STAT3存在于胞质,活化的STAT3可进入细胞核内导致其下游靶基因的异常激活.而其下游靶基因如Survivin、*bcl-2*、caspases、*c-myc*等均已证实与细胞增殖、分化、恶性转化、凋亡抑制等过程密切相关. STAT3已被认为与癌症的发生、发展的关系最为密切.在正常生理状态下,STAT3的激活是短暂而且受严格调控的,然而在许多人类的肿瘤中都发现STAT3分子的持续激活<sup>[13,14]</sup>.显性负性抑制STAT3的信号转导或应用STAT3反义寡核苷酸可抑制一些肿瘤的恶性转化过程.表明STAT3持续性激活与细胞的恶性转化进程密切相关<sup>[15]</sup>.选择性抑制STAT3的活化可能成为一个新的有潜力的癌症治疗靶向<sup>[16]</sup>.

JAK-STAT信号转导通路与肝癌发生、发展的关系目前已积累了较多资料.赵军艳等<sup>[17]</sup>发现肝癌组织中存在JAK-STAT信号转导通路过度活化,而且活化程度与肝癌组织中细胞的分化程度关系密切,恶性程度较高的肝癌组织中STAT表达阳性率高于恶性度较低的肝癌组织.张斌等<sup>[18]</sup>研究发现JAK-1蛋白和STAT-3蛋白在无包膜肝细胞癌组织中的表达明显高于在有包膜肝细胞癌组织中的表达,其与患者的病理分级和临床分期也密切相关,进一步行Cox模型多因素分析表明,患者JAK-1蛋白和STAT-3蛋白的表达、临床分期、病理学分级是影响肝癌预后的独立危险因素.黄芩苷作为传统中药

黄芩的主要有效成分之一,近年来其抗肿瘤作用得到越来越多的实验证实.我们以往的研究发现黄芩苷能显著抑制肝癌细胞增殖,具有直接抗肿瘤作用,并呈时间、剂量依赖关系;诱导肝癌细胞凋亡;黄芩苷还可能通过下调癌细胞integrin $\beta$ 1表达,上调E-cad的表达,改变癌细胞的黏附功能,抑制肿瘤侵袭和转移等<sup>[6-10]</sup>.黄毅等<sup>[19]</sup>研究发现黄芩苷体外能抑制人Burkitt淋巴瘤细胞株CA46增殖;并下调了CA46细胞的PI3K/Akt信号通路蛋白pAkt、NF- $\kappa$ B、pI $\kappa$ B、pGSK-3 $\beta$ 、mTOR、pmTOR的表达,而对Akt、GSK-3 $\beta$ 、I $\kappa$ B的表达无明显影响;下调了MAPK(ERK1/2)信号通路蛋白pMAPK(44/42)的表达,而对MAPK(44/42)的表达无明显影响.认为黄芩苷抑制人Burkitt淋巴瘤细胞株CA46增殖的机制与阻断PDGFR/MEK/ERK1/2信号通路有关.郑静等<sup>[20]</sup>研究结果显示黄芩苷下调了对耐阿霉素人髓系白血病HL-60/ADR细胞株PI3K/Akt/mTOR和MAPK信号通路蛋白中p-Akt、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B、p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 、p-GSK-3 $\beta$ 、p-MAPK、mTOR、p-mTOR的表达,而不影响Akt、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、MAPK和GSK-3 $\beta$ 的表达.提示PI3K/Akt/mTOR、MAPK信号通路的改变可能参与了黄芩苷抑制HL-60/ADR细胞增殖、诱导其凋亡的过程.但黄芩苷抑制肝癌细胞增殖的作用是否通过阻断JAK-STAT信号传导通路来实现尚未见报道.本实验通过黄芩苷作用于肝癌细胞后发现,黄芩苷不仅可以抑制STAT3 mRNA、STAT3蛋白的表达,还可以抑制STAT3蛋白的磷酸化,从而减少其活化形式P-STAT3的生成,阻断JAK-STAT信号转导通路,抑制肝癌细胞增殖. Liu等<sup>[4]</sup>在观察黄芩苷对多发性骨髓瘤细胞的作用时发现黄芩苷能抑制JAK、STAT3、MAPK和Akt蛋白的磷酸化,同时抑制靶基因如Bcl-x1表达,与我们的结果一致.近来的研究报道显示STAT3的表达与肿瘤的侵袭转移有密切的关系.抑制STAT3的表达阻断其活化,可以明显地抑制胰腺癌的转移.提示我们黄芩苷抑制肝癌细胞侵袭、转移的机制可能也与阻断STAT3的表达及活化有关.

$\alpha$ -氰基-(3,4-羟基)N-苄苯乙烯胺(AG490)是一种人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物,结构上类似酪氨酸,可以和受体酪氨酸激酶竞争结合位置,是JAK-STAT信号转导通路的特异性抑制剂.他作用于卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌、白血病细胞等,抑制癌细胞STAT3的活

化, 使癌细胞的增殖受到抑制, 凋亡增加<sup>[21,22]</sup>。如Burke等<sup>[23]</sup>发现AG490处理卵巢癌细胞株Caov3和MDAH2774后, 肿瘤细胞STAT3的磷酸化水平和Bcl-xL的表达水平均明显减少, STAT3与DNA特异性的结合能力也下降。AG490对正常细胞如卵巢细胞、人皮肤成纤维细胞和乳腺细胞等的增殖和凋亡不受影响。本实验发现AG490作用于肝癌细胞后STAT3 mRNA及蛋白的表达与对照组相比并无明显差别, 但P-STAT3表达降低, 表明AG490作用位点在抑制STAT3向其活化形式P-STAT3转化这一水平; 结果还显示黄芩苷与AG490在此水平上的作用无显著差别。AG490与黄芩苷联合作用于肝癌细胞后STAT3 mRNA及蛋白的表达与对照组和单用AG490相比均有明显降低, 与单用黄芩苷无显著差别; 同时P-STAT3表达与对照组相比下降明显, 且与单用黄芩苷比有明显降低。表明AG490可以抑制STAT3向活化形式P-STAT3转化, 在抑制STAT3蛋白磷酸化水平与黄芩苷有协同作用。

总之, 可以看出黄芩苷对肝癌细胞STAT3表达的抑制作用是多层次的, 他不但可以抑制STAT3向活化形式P-STAT3转化, 还下调STAT3 mRNA表达, 降低STAT3蛋白表达, 从而阻断JAK-STAT信号转导通路, 抑制肝癌细胞增殖。

#### 4 参考文献

- Gao J, Zhao H, Hylands PJ, Corcoran O. Secondary metabolite mapping identifies Scutellaria inhibitors of human lung cancer cells. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 53: 723-728
- Zhou BR, Liu WL, Luo D. Protective effect of baicalin against multiple ultraviolet B exposure-mediated injuries in C57BL/6 mouse skin. *Arch Pharm Res* 2011; 34: 261-268
- Dong LH, Wen JK, Miao SB, Jia Z, Hu HJ, Sun RH, Wu Y, Han M. Baicalin inhibits PDGF-BB-stimulated vascular smooth muscle cell proliferation through suppressing PDGFR $\beta$ -ERK signaling and increase in p27 accumulation and prevents injury-induced neointimal hyperplasia. *Cell Res* 2010; 20: 1252-1262
- Liu S, Ma Z, Cai H, Li Q, Rong W, Kawano M. Inhibitory effect of baicalin on IL-6-mediated signaling cascades in human myeloma cells. *Eur J Haematol* 2010; 84: 137-144
- Du G, Han G, Zhang S, Lin H, Wu X, Wang M, Ji L, Lu L, Yu L, Liang W. Baicalin suppresses lung carcinoma and lung metastasis by SOD mimic and HIF-1 $\alpha$  inhibition. *Eur J Pharmacol* 2010; 630: 121-130
- 郭昱, 姚树坤. 黄芩苷对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响. *第三军医大学学报* 2006; 28: 594-597
- 郭昱, 姚金锋, 崔东来, 郭霞, 姚树坤. 黄芩苷对肝癌细胞BEL-7402抗黏附作用中细胞凋亡和细胞周期的改变. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3390-3394
- 郭昱, 郭霞, 武京学, 姚金锋, 崔东来. 黄芩苷对人肝癌BEL-7402细胞增殖和侵袭转移的影响及机制. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2008; 17: 336-339
- 郭霞, 郭昱. 黄芩苷对肝癌细胞BEL-7402线粒体膜电位、细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 468-472
- 郭霞, 郭昱. 黄芩苷体外对人肝癌细胞BEL-7402的诱导分化作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1119-1123
- Abuzeid WM, Davis S, Tang AL, Saunders L, Brenner JC, Lin J, Fuchs JR, Light E, Bradford CR, Prince ME, Carey TE. Sensitization of head and neck cancer to Cisplatin through the use of a novel curcumin analog. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 137: 499-507
- Kato T. Stat3-driven cancer-related inflammation as a key therapeutic target for cancer immunotherapy. *Immunotherapy* 2011; 3: 587-590
- Wang H, Lafdil F, Kong X, Gao B. Signal transducer and activator of transcription 3 in liver diseases: a novel therapeutic target. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 536-550
- Zhang J, Gill A, Atmore B, Johns A, Delbridge L, Lai R, McMullen T. Upregulation of the signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) pathway in lymphatic metastases of papillary thyroid cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 356-362
- Wang H, Lafdil F, Kong X, Gao B. Signal transducer and activator of transcription 3 in liver diseases: a novel therapeutic target. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 536-550
- Masciocchi D, Gelain A, Villa S, Meneghetti F, Barlocco D. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3): a promising target for anticancer therapy. *Future Med Chem* 2011; 3: 567-597
- 赵军艳, 郑艳敏, 赵红艳. MAPK和JAK-STAT途径中酪氨酸蛋白激酶在肝癌组织中的表达及意义. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2008; 17: 335-340
- 张斌, 钟德珩, 王群伟. JAK/STAT信号通路与肝细胞性肝癌的肿瘤进展和预后的相关性研究. *细胞与分子学杂志* 2010; 26: 368-373
- 黄毅, 胡建达, 郑静, 魏天南, 陈鑫基. 黄芩苷抑制CA46细胞增殖和诱导凋亡的作用机制探讨. *中国病理生理杂志* 2009; 25: 888-892
- 郑静, 胡建达, 黄毅. 黄芩苷对耐阿霉素白血病细胞株HL-60/ADR增殖、凋亡的影响. *中国实验血液学杂志* 2009; 17: 1198-1202
- Zhang H, Zhang D, Luan X, Xie G, Pan X. Inhibition of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 signalling pathway by AG490 in laryngeal carcinoma cells. *J Int Med Res* 2010; 38: 1673-1681
- C, Priester M, Polacin M, Schröder K, Seifert V, Kögel D, Weissenberger J. Inhibition of the JAK-2/STAT3 signaling pathway impedes the migratory and invasive potential of human glioblastoma cells. *J Neurooncol* 2011; 101: 393-403
- Burke WM, Jin X, Lin HJ, Huang M, Liu R, Reynolds RK, Lin J. Inhibition of constitutively active Stat3 suppresses growth of human ovarian and breast cancer cells. *Oncogene* 2001; 20: 7925-7934

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

# 微波消融联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠结肠癌移植瘤的治疗

林海, 王云海

## ■背景资料

微波消融术(MA)是近几十年发展起来的微创技术, 广泛应用于各个学科。他不仅可以治疗丧失手术机会的肿瘤患者, 而且具有较手术治疗更能耐受脏器功能差、保存瘤外正常组织、避免全身化疗不良反应以及减少手术创伤和病死率、有效治疗转移肿瘤的优势, 在结肠癌及结肠癌肝转移的治疗中更是取得了显著成效, 然而MA后局部复发较为常见, 是造成治疗失败的重要原因。

## ■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院  
分子医学中心

林海, 王云海, 新疆医科大学第一附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

林海, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院普外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

作者贡献分布: 本课题由林海设计; 实验由林海完成; 数据分析由林海完成; 王云海修改; 论文写作由林海完成; 王云海审校。

通讯作者: 王云海, 教授, 博士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院胃肠外科。

ftcall777@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-05-12 修回日期: 2011-07-21

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Therapeutic effect of microwave ablation combined with injection of 5-fluorouracil in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts

Hai Lin, Yun-Hai Wang

Hai Lin, Yun-Hai Wang, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hai Lin, Department of General Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region of Chinese PLA, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Correspondence to: Professor Yun-Hai Wang, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ftcall777@yahoo.com.cn

Received: 2011-05-12 Revised: 2011-07-21

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the therapeutic effect of microwave ablation (MA) combined with injection of 5-fluorouracil (5-FU) in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts.

**METHODS:** Balb/c mice were subcutaneously inoculated with CT26 cells to establish a xenograft mouse model of colon carcinoma. Model mice were divided into four groups: PBS group, MA group, 5-FU group, and MA plus 5-FU group. After treatment, the changes in tumor volume were measured; tumor recurrence, mouse survival and living status were observed; and peripheral serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-12 and IFN- $\gamma$  were determined by ELISA.

**RESULTS:** The life span of mice treated by MA, 5-FU injection, MA plus 5-FU was significantly longer than that of mice treated with PBS ( $47 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ ,  $36 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$ ,  $56 \text{ d} \pm 2.5 \text{ d}$  vs  $33 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$ , all  $P < 0.05$ ). Tumor size significantly decreased in the MA plus 5-FU group compared to the other three groups (all  $P < 0.05$ ). Peripheral serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-12, and IFN- $\gamma$  in the combination therapy group were significantly higher than those in the other three groups ( $180.3 \pm 35.9$  vs  $62.8 \pm 12.7$ ,  $96.3 \pm 25.1$ ,  $136.9 \pm 49.4$ ;  $72.5 \pm 6.8$  vs  $20.6 \pm 7.3$ ,  $27.9 \pm 10.5$ ,  $46.4 \pm 9.3$ ;  $302.3 \pm 69.6$  vs  $123.4 \pm 13.1$ ,  $153.8 \pm 35.4$ ,  $278.9 \pm 57.0$ ;  $68.4 \pm 8.2$  vs  $29.9 \pm 4.3$ ,  $36.8 \pm 4.6$ ,  $59.1 \pm 9.0$ ; all  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** MA combined with 5-FU injection can improve anti-tumor effect by strengthening immunological function and reducing local recurrences as compared to that of either treatment alone.

**Key Words:** Microwave ablation; 5-fluorouracil; Colon carcinoma

Lin H, Wang YH. Therapeutic effect of microwave ablation combined with injection of 5-fluorouracil in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2368-2371

## 摘要

**目的:** 研究微波消融(MA)联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠移植性结肠癌的治疗作用。

**方法:** Balb/c小鼠皮下接种结肠癌CT26细胞建立肿瘤模型, 肿瘤分别给予瘤周注射PBS、MA、瘤周注射5-氟尿嘧啶和MA+瘤周注射5-氟尿嘧啶4种处理。测量各组肿瘤大小; 观察肿瘤复发情况、动物生存期及生活状态; ELISA法检测各组小鼠外周血TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12和IFN- $\gamma$ 的含量。

**结果:** 60 d生存期观察发现微波消融组 $47 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ 、5-氟尿嘧啶组 $36 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$ 和微波消融联合5-氟尿嘧啶组 $56 \text{ d} \pm 2.5 \text{ d}$ 小鼠的生存期显著高于PBS组 $33 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$ ; 微波消融联合5-

氟尿嘧啶组肿瘤体积 $[(0.11 \pm 0.03) \text{ cm} \times \text{cm} \times \text{cm}]$ 较其他3组显著增大( $P < 0.05$ ); 联合治疗组小鼠外周血中TNF- $\alpha$ 浓度( $\text{ng/L}$ ), IL-2浓度( $\text{ng/L}$ ), IL-12浓度( $\text{ng/L}$ ), IFN- $\gamma$ 浓度( $\text{ng/L}$ )显著高于其他3组( $180.3 \pm 35.9$  vs  $62.8 \pm 12.7$ ,  $96.3 \pm 25.1$ ,  $136.9 \pm 49.4$ ;  $72.5 \pm 6.8$  vs  $20.6 \pm 7.3$ ,  $27.9 \pm 10.5$ ,  $46.4 \pm 9.3$ ;  $302.3 \pm 69.6$  vs  $123.4 \pm 13.1$ ,  $153.8 \pm 35.4$ ,  $278.9 \pm 57.0$ ;  $68.4 \pm 8.2$  vs  $29.9 \pm 4.3$ ,  $36.8 \pm 4.6$ ,  $59.1 \pm 9.0$ , 均 $P < 0.01$ ).

**结论:** MA联合5-氟尿嘧啶瘤内注射可以减少结肠癌移植瘤局部复发, 提高治疗效果.

**关键词:** 微波消融; 5-氟尿嘧啶; 结肠癌

林海, 王云海. 微波消融联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠结肠癌移植瘤的治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2368-2371

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2368.asp>

## 0 引言

微波消融术(microwave ablation, MA)是近几十年发展起来微创技术, 广泛应用于各个学科<sup>[1-4]</sup>. 他不仅可以治疗丧失手术机会的肿瘤患者, 而且具有较手术治疗更能耐受脏器功能差、保存瘤外正常组织、避免全身化疗不良反应以及减少手术创伤和病死率、有效治疗转移肿瘤的优势, 在结肠癌及结肠癌肝转移的治疗中更是取得了显著成效, 然而MA后局部复发较为常见, 是造成治疗失败的重要原因<sup>[5-9]</sup>. 据报道, MA联合阿霉素应用可以更有效的抑制肿瘤生长<sup>[10]</sup>. 本实验采用MA联合5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)瘤内注射的治疗方案, 观察这种治疗方法在减少肿瘤复发, 改善生存期方面的疗效.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 5-FU注射液购自上海旭东海普药业有限公司; MTC-3C微波消融治疗仪为南京庆海微波电子研究所产品, 微波电极针直径为1.2 mm; Balb/C小鼠, 鼠龄4-6 wk, 体质量20-25 g, 雌雄各半, 购自中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院实验动物中心.

### 1.2 方法

**1.2.1 分组与造模:** 将在体外培养的指数生长期CT26细胞以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 浓度的单细胞悬液0.1 mL注射于Balb/c小鼠皮下, 建立小鼠结肠癌模型. 将小鼠随机分成瘤周注射PBS组、MA组、MA+5-FU组和5-FU组, 每组12只.

**1.2.2 MA+5-FU瘤内注射:** 挑选肿瘤直径1.0 cm左右、形似圆球的小鼠时进行实验. 微波消融时, 10%水合氯醛麻醉后, 700 mL/L乙醇消毒, 在肿瘤旁皮肤做小切口, 沿肿瘤长轴插入微波电极针, 5 W $\times$ 300 s. 联合治疗组小鼠在MA结束后0.5 h, 瘤周注射5 mg无菌5-FU, 分3点做瘤周注射. 5-FU组和PBS组分别行瘤周注射5 mg无菌5-FU和60  $\mu\text{L}$  PBS, 分3点注射. 定期测量肿瘤大小, 在治疗后第21天处死部分小鼠, 取出瘤块测量肿瘤体积.

**1.2.3 生存期及生活状态观察:** 记录小鼠治疗前后进食、饮水、活动等生活状态, 并记录其死亡时间, 观察时间为60 d.

**1.2.4 小鼠TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 检测:** 小鼠治疗后第21天, 眼眶取血, 1 500 r/min离心5 min, 取上清, 保存-20  $^{\circ}\text{C}$ 备用. 按说明书步骤进行实验.

**统计学处理** 所有数据采用SPSS14.0软件进行分析, 计量资料均采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示. One-way ANOVA对各试验组计量资料进行多重比较, 两个独立样本采用 $\chi^2$ 检验比较.  $P < 0.05$ 为有统计学差异.

## 2 结果

**2.1 生存期** 生存期计算从治疗后的第1天开始, 共观察60 d. MA+5-FU组的中位生存期为56 d $\pm$ 2.5 d, MA组的中位生存期为47 d $\pm$ 1.7 d, 两者无显著性差异( $P > 0.05$ ), 比PBS组(33 d $\pm$ 1.4 d)和5-FU组(36 d $\pm$ 2.1 d)有显著延长(均 $P < 0.01$ ). 5-FU组中位生存期优于PBS组( $P < 0.05$ ).

**2.2 肿瘤体积抑瘤率** 小鼠治疗后21 d, PBS组、5-FU组、MA组和MA+5-FU组( $n = 6$ )小鼠的平均肿瘤体积( $\text{cm} \times \text{cm} \times \text{cm}$ )分别是5.45、3.24、0.21和0.11. MA+5-FU组和MA组肿瘤体积均比PBS组和5-FU组显著缩小( $P < 0.01$ ). 5-FU组肿瘤体积显著小于PBS组( $P < 0.01$ ).

**2.3 小鼠血清细胞因子检测** MA+5-FU组中小鼠血浆中TNF- $\alpha$ 浓度为( $180.3 \pm 35.9$ )  $\text{ng/L}$ , IL-2浓度为72.5  $\text{ng/L} \pm 6.8$   $\text{ng/L}$ , IL-12浓度为302.3  $\text{ng/L} \pm 69.6$   $\text{ng/L}$ , IFN- $\gamma$ 浓度为68.4  $\text{ng/L} \pm 8.2$   $\text{ng/L}$ , 显著高于其他3组, 其中MA组较PBS组和5-FU组高(均 $P < 0.01$ , 表1).

## 3 讨论

近年来, 随着影像技术的进步及操作方法的改进, 微波消融在结肠癌的应用得到了很大的推

### ■ 相关报道

有报道称, MA联合全身化疗或经导管动脉化疗栓塞可以减少肝癌的复发率, 提高治愈率.

## ■应用要点

MA联合5-氟尿嘧啶瘤内注射可以减少结肠癌移植瘤局部复发, 提高治疗效果。

表 1 小鼠血清细胞因子变化 ( $n = 6$ , ng/L)

分组	TNF- $\alpha$	IL-2	IL-12	IFN- $\gamma$
PBS组	62.8 $\pm$ 12.7	20.6 $\pm$ 7.3	123.4 $\pm$ 13.1	29.9 $\pm$ 4.3
5-FU组	96.3 $\pm$ 25.1	27.9 $\pm$ 10.5	153.8 $\pm$ 35.4	36.8 $\pm$ 4.6
MA组	136.9 $\pm$ 49.4	46.4 $\pm$ 9.3	278.9 $\pm$ 57.0	59.1 $\pm$ 9.0 <sup>bd</sup>
MA+5-FU组	180.3 $\pm$ 35.9	72.5 $\pm$ 6.8	302.3 $\pm$ 69.6	68.4 $\pm$ 8.2 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs PBS组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 5-FU组。

广<sup>[11]</sup>。但是作为局部减瘤术, MA对肿瘤周围的亚临床病灶不能有效进行杀伤, 常常伴随部分局部复发率, 复发率高达20%-50%, 是造成肿瘤复发及进展重要原因<sup>[12-14]</sup>。如何对消融区域的亚临床病灶进行有效杀伤, 是提高MA治疗恶性肿瘤疗效需要解决的重要问题。有报道称, MA联合全身化疗或经导管动脉化疗栓塞可以减少肝癌的复发率, 提高治愈率<sup>[15,16]</sup>。但关于瘤内化学药物注射联合MA治疗结肠癌的研究较少。

本实验采用治疗消化系统肿瘤常用化学药物5-FU作为瘤内注射药物。5-FU为抗代谢类抗肿瘤药物, 通过抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶而抑制DNA的合成, 不仅可以全身用药, 而且可以在腔内及瘤内用药, 在包括结肠癌在内的多种恶性实体肿瘤的治疗中, 发挥重要作用。在实验中, 我们发现瘤内5-FU注射能显著减小肿瘤体积。但同MA相比, 单纯瘤内注射5-FU短期疗效稍差, 可能与MA可在短期内减少肿瘤体积有关。这同国内MA联合全身化疗的结果相类似<sup>[17,18]</sup>。实验中发现, MA后, 局部注射化疗药物5-FU可以提高小鼠生存期、减少肿瘤负荷, 其可能的机制是对MA后残留的肿瘤组织的化学杀伤, 减少MA消融不彻底的病灶。

肿瘤内部抗肿瘤细胞因子对抑制肿瘤进展具有重要作用, IL-2、IL-12由活化的免疫细胞分泌, 是重要的抗肿瘤细胞因子, 同时可以促进NK细胞、T淋巴细胞产生IFN- $\gamma$ 及TNF- $\alpha$ 等有效诱导因子, 均具有抗肿瘤免疫的作用。研究表明, 肿瘤内部TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12及IFN- $\gamma$ 的含量较低, 是造成肿瘤进展的重要因素<sup>[19]</sup>。本实验证明, MA后, 瘤内注射化疗药物5-FU可以在3 wk后提高抗肿瘤细胞因子的含量。这表明MA联合瘤内注射5-FU可以改善肿瘤内部免疫状态。但不同作用机制的化疗药物对不同的肿瘤是否也具有类似的作用, 尚需要进一步研究。

## 4 参考文献

1 Wang ZL, Liang P, Dong BW, Yu XL, Yu de J. Prog-

nostic factors and recurrence of small hepatocellular carcinoma after hepatic resection or microwave ablation: a retrospective study. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 327-337

2 赖仁纯, 卢雅立, 黄婉, 许梅曦, 赖洁兰, 谢敬敦, 王旭东. Narcotrend在肝癌微波消融术中异丙酚-芬太尼全凭静脉麻醉深度监测的应用. *癌症* 2010; 29: 117-120

3 邓满泉, 麦海强, 麦伟源, 莫浩元, 黄晓明, 郭翔, 洪明晃. 内窥镜下微波固化术治疗鼻咽癌放疗后鼻咽腔内复发患者的疗效. *癌症* 2008; 27: 734-737

4 Inoue K, Yamasaki I, Fukata S, Iiyama T, Karashima T, Shuin T, Kurabayashi A, Ohtsuki Y, Hatta A. [Evaluation of the effects of microwave tissue coagulation, radiofrequency ablation or ultrasonically-activated scalpel on renal tissue as a minimally invasive therapy]. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi* 2007; 98: 808-818

5 Hashimoto K, Sasaki Y, Yokoyama S, Naitou A, Hiraki M, Matsumoto S, Matsuyama J, Morita S, Morimoto T, Fukushima Y, Nishisho I, Nomura T, Takeda M. [Hepatectomy with microwave coagulation therapy for multiple liver metastases of rectal carcinoid—a case report]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009; 36: 2198-2200

6 董宝玮, 温朝阳, 梁萍, 于晓玲, 苏莉, 于德江, 夏红天. 微波消融与手术切除治疗原发性小肝癌对癌细胞播散入血的影响. *中华肿瘤杂志* 2006; 28: 39-42

7 Yang WZ, Jiang N, Huang N, Huang JY, Zheng QB, Shen Q. Combined therapy with transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous microwave coagulation for small hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 748-752

8 Schramm W, Yang D, Wood BJ, Rattay F, Haemmerich D. Contribution of direct heating, thermal conduction and perfusion during radiofrequency and microwave ablation. *Open Biomed Eng J* 2007; 1: 47-52

9 Murakami K, Morikawa S, Naka S, Demura K, Sato K, Shiomi H, Kurumi Y, Inubushi T, Tani T. Correlation between high field MR images and histopathological findings of rat transplanted cancer immediately after partial microwave coagulation. *Magn Reson Med Sci* 2008; 7: 105-112

10 Dvorak J, Zoul Z, Melichar B, Petera J, Vesely P, Vosmik M, Dolezel M. Liposomal doxorubicin combined with regional hyperthermia: reducing systemic toxicity and improving locoregional efficacy in the treatment of solid tumors. *J Chemother* 2004; 16 Suppl 5: 34-36

11 Boutros C, Somasundar P, Garrean S, Saied A, Espat NJ. Microwave coagulation therapy for hepatic tumors: review of the literature and critical analysis. *Surg Oncol* 2010; 19: e22-e32

12 Iannitti DA, Martin RC, Simon CJ, Hope WW,

- Newcomb WL, McMasters KM, Dupuy D. Hepatic tumor ablation with clustered microwave antennae: the US Phase II trial. *HPB (Oxford)* 2007; 9: 120-124
- 13 Yin XY, Xie XY, Lu MD, Xu HX, Xu ZF, Kuang M, Liu GJ, Liang JY, Lau WY. Percutaneous thermal ablation of medium and large hepatocellular carcinoma: long-term outcome and prognostic factors. *Cancer* 2009; 115: 1914-1923
- 14 Tobinaga S, Nanashima A, Araki M, Hidaka S, Kunizaki M, Takeshita H, Sawai T, Yasutake T, Nagayasu T. [Evaluation of local coagulation therapy with hepatectomy for liver metastases]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009; 36: 2042-2044
- 15 Fahy BN, Jarnagin WR. Evolving techniques in the treatment of liver colorectal metastases: role of laparoscopy, radiofrequency ablation, microwave coagulation, hepatic arterial chemotherapy, indications and contraindications for resection, role of transplantation, and timing of chemotherapy. *Surg Clin North Am* 2006; 86: 1005-1022
- 16 Bang BW, Lee DH, Jeong S, Kim JM, Jeon YS, Lee JI, Lee JW, Kwon KS, Kim HG, Shin YW, Kim YS. Ischemic biliary stricture developed after repeated transcatheter arterial chemoembolization diagnosed by percutaneous transhepatic cholangioscopy in a patient with hepatocellular carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1224-1226
- 17 李秀忠, 张锦, 陈娟, 崔丽萍. 经电子支气管镜介导微波联合全身化疗治疗晚期肺癌的临床研究. *宁夏医学杂志* 2009; 1: 44-45
- 18 石寒冰, 张贵祥. 支气管镜下微波结合全身化疗治疗恶性气道狭窄疗效分析. *医学研究杂志* 2006; 35: 735-737
- 19 谢裕安. 树突状细胞与细胞因子诱导杀伤细胞治疗肿瘤研究进展. *中国肿瘤* 2005; 14: 663-666

#### ■同行评价

本文反映了我国胃肠病学基础研究的水平, 提高治疗效果, 具有一定的借鉴意义。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 丙型肝炎患者IL28B基因型和HCV基因型对抗病毒治疗的影响

陶剑, 刘俊, 雷华, 普冬

## ■背景资料

干扰素和利巴韦林联合治疗是慢性丙型肝炎标准的治疗方案, 但是不同个体对于干扰素治疗应答差异性较大, 公认的影响慢性丙型肝炎患者抗病毒治疗疗效的因素主要是机体和病毒两方面。

陶剑, 昆明医学院 云南省昆明市 650214

刘俊, 普冬, 雷华, 昆明市第三人民医院肝病科 云南省昆明市 650041

昆明学院引进博士专项基金资助项目, No. 昆明学院YTL11005  
作者贡献分布: 陶剑组织该课题的实验室研究工作, 完成IL28B SNP基因检测及统计学分析; 刘俊与雷华完成丙肝患者治疗、随访和资料收集; 普冬完成丙肝患者病毒载量及生化检测; 本文写作由陶剑与刘俊完成。

通讯作者: 刘俊, 副主任医师, 650041, 云南省昆明市, 昆明市第三人民医院肝病科, liujun6408100@163.com

收稿日期: 2011-05-09 修回日期: 2011-07-19

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Association of IL28B SNP and HCV genotypes with response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C

Jian Tao, Jun Liu, Hua Lei, Dong Pu

Jian Tao, Medical College, Kunming University, Kunming 650214, Yunnan Province, China

Jun Liu, Hua Lei, Dong Pu, Department of Hepatology, the Third People's Hospital of Kunming 650041, Yunnan Province, China

Supported by: the Special Doctoral Fund of Kunming University, No. YTL11005

Corresponding to: Jun Liu, Department of Hepatology, the Third People's Hospital of Kunming, Kunming 650041, Yunnan Province, China. liujun6408100@163.com

Received: 2011-05-09 Revised: 2011-07-19

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To explore the association of IL28B single nucleotide polymorphism (SNP) and hepatitis C virus (HCV) genotypes with response to pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C.

**METHODS:** Blood samples from patients who were sustained virological responders (SVR) or non-responders (NR) after pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy for chronic hepatitis C, were collected and used for genotyping of HCV and IL28B SNP rs12979860.

**RESULTS:** Of 30 patients with sustained virological response, 3 were infected with HCV-1b, 27 with non-HCV-1b; 29 had a C/C genotype

of rs12979860, 1 had a T/C genotype. Of 30 patients with non-response, 12 were infected with HCV-1b, 18 with non-HCV-1b; 20 had a C/C genotype of rs12979860, 10 had a T/C genotype. Patients who were infected with non-HCV-1b had better SVR rate than those with HCV 1b infection. Patients who had a C/C genotype of rs12979860 had better SVR rate than those with a T/C genotype.

**CONCLUSION:** IL28B SNP and HCV genotypes could be predictive of response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C.

**Key Words:** Hepatitis C virus; Genotype; IL28B; Single nucleotide polymorphism

Tao J, Liu J, Lei H, Pu D. Association of IL28B SNP and HCV genotypes with response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2372-2375

## 摘要

**目的:** 研究丙型肝炎患者IL28B基因相关的rs12979860基因型和HCV基因型对聚乙二醇干扰素 $\alpha$ 和利巴韦林联合抗病毒治疗疗效的影响。

**方法:** 对干扰素 $\alpha$ 联合利巴韦林治疗后获得持续病毒学应答(SVR)和无应答(NR)的各30例丙型肝炎患者的血液样品进行检测, 采用PCR反向斑点杂交法进行HCV基因分型, 采用聚合酶链-连接酶检测反应进行患者IL28B相关的单核苷酸多态性(SNP) rs12979860基因分型。

**结果:** 抗病毒治疗后SVR的30例丙型肝炎患者中, HCV基因型为1b的有3例, 非HCV-1b基因型的有27例, rs12979860基因型为C/C型(保护性基因型)的有29例, 为T/C型(非保护性基因型)的有1例; 抗病毒治疗后NR的30例丙型肝炎患者中, HCV基因型为1b的有12例, 为非HCV-1b基因型的有18例, rs12979860基因型为C/C型的有20例, 为T/C型的有10例。HCV-1b

## ■同行评议者

谭德明, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

和非HCV-1b感染者在获得SVR率之间的差异有显著性( $P<0.05$ ), 获得早期病毒学应答的患者都是保护性SNP基因型携带者, 保护性和非保护SNP基因型携带者获得SVR率之间的差异有显著性( $P<0.05$ ).

**结论:** HCV-1b型病毒感染者治疗后获得SVR的几率低于非HCV-1b型的患者, rs12979860为C/C基因型的患者治疗后获得SVR的几率高于T/C基因型的患者; 将HCV的病毒基因型与宿主rs12979860基因型检测相结合, 可作为丙型肝炎患者干扰素联合利巴韦林治疗疗效预测评价的重要指标.

**关键词:** 丙型肝炎病毒; 基因型; 白介素28B; 单核苷酸多态性

陶剑, 刘俊, 雷华, 普冬. 丙型肝炎患者IL28B基因型和HCV基因型对抗病毒治疗的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2372-2375  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2372.asp>

## 0 引言

通过干扰素 $\alpha$ 为主的持续的免疫诱导治疗, 可以清除丙型肝炎患者体内的病毒, 但由于病毒基因亚型的不同和丙型肝炎患者的个体差异, 许多患者还达不到预期疗效<sup>[1-5]</sup>. 2009年以来, 学者们研究了不同种族的大量丙型肝炎患者, 包括不同丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因型的慢性感染者和自发清除病毒者, 以及对药物治疗的不同反应者的宿主遗传因素, 与HCV持续感染和治疗应答的关系. 发现, 当患者是难治性的HCV病毒(如1型和4型)感染或者携带对干扰素治疗不敏感的白介素28B(interleukin 28B, IL28B)相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)基因型时, 在48 wk的抗病毒治疗后获得持续性病毒学应答(sustained virologic response, SVR)的可能性非常低<sup>[6-8]</sup>; 为此, 学者将不同的IL28B相关的SNP基因型称为保护性和非保护性基因型(如对于rs12979860来说, C/C为保护性, T/C或者T/T为非保护性基因型). 2010年以来, 我们对昆明地区聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗后, 获得SVR和无NR的60位丙型肝炎患者的血液样品进行病毒基因型和宿主IL28B相关的rs12979860的SNP基因型检测, 分析HCV基因型和患者IL28B基因变异对干扰素联合利巴韦林治疗丙型肝炎的影响, 以期建立丙型肝炎患者抗病毒治疗药物效应预测的评

价方法.

## 1 材料和方法

1.1 材料 60例慢性丙型肝炎患者均符合丙型肝炎诊断标准, 采用聚乙二醇干扰素( $\alpha$ -2a 180  $\mu$ g皮下注射, 上海罗氏公司生产)和利巴韦林治疗(900-1 200 mg/d, 口服), 疗程为48 wk. 参照《丙型肝炎防治指南》判定标准<sup>[9]</sup>. 在征得受检者知情同意后, 抗病毒治疗前采集静脉血, 分离血浆用于病毒载量和病毒基因型检测, 治疗结束后随访中, 采集静脉血, 分离血细胞进行IL28B基因型检测.

### 1.2 方法

1.2.1 HCV病毒基因分型: 根据GenBank中已发表的HCV的基因序列, 采用选择HCV 5'非编码区(nt 299-1), 设计特异性引物和分型探针. 提取血浆标本中的HCV RNA后, 经过RT-PCR反应与巢式PCR基因扩增, 将扩增产物进行斑点杂交, 根据酶联显色反应结果进行HCV基因分型<sup>[10]</sup>.

1.2.2 SNP rs12979860基因分型: 设计特异性引物和荧光探针(表1), 抽提血细胞DNA后, PCR扩增目的SNP rs12979860位点所在片段; 反应条件: 95  $^{\circ}$ C 预变性15 min, PCR共35个循环(变性94  $^{\circ}$ C 30 s, 退火56  $^{\circ}$ C 90 s, 延伸72  $^{\circ}$ C 1 min). PCR扩增产物进行多重连接酶检测反应(反应条件: 95  $^{\circ}$ C 变性2 min, 35个循环, 每个循环有2个温度: 94  $^{\circ}$ C 30 s, 50  $^{\circ}$ C 2 min). LDR产物通过测序胶电泳检测, 应用Genemapper软件进行数据分析和基因分型<sup>[11]</sup>.

**统计学处理** 采用SPSS10.0统计软件进行数据分析. HCV-1b和非HCV-1b感染者获得SVR率之间的差异比较, 和不同SNP基因型携带者获得SVR率之间的差异比较均采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 HCV基因分型结果 60例丙型肝炎患者共检测到5种HCV基因亚型, 包括1b, 2a, 3a, 3b和6a, 无混合感染. 获得SVR的30位丙型肝炎患者, HCV基因型为1b的有3例, 非HCV-1b基因型的有27例, NR的30例丙型肝炎患者中, HCV基因型为1b的有12例, 非HCV-1b基因型的有18例. HCV-1b型感染的丙型肝炎患者治疗后获得SVR的几率低于非HCV-1b型的丙型肝炎患者, 两者获得SVR之间的差异有显著性( $P<0.05$ , 表2).

2.2 rs12979860的SNP基因分型 60例丙型肝炎患

### ■相关报道

研究发现, 在人19号染色体上, 编码干扰素- $\lambda$ 3的白介素(IL)28B基因的单核苷酸多态性HCV感染者的自发病清除、慢性感染发生率与干扰素联合利巴韦林治疗的效果有十分密切的关联, 该研究进展为丙型肝炎患者的个体化治疗提供了重要依据.

## ■应用要点

HCV-1b型病毒感染者治疗后获得SVR的几率低于非HCV-1b型的患者, rs12979860为C/C基因型的患者治疗后获得SVR的几率高于T/C基因型的患者; 将HCV的病毒基因型与宿主rs12979860基因型检测相结合, 可作为丙型肝炎患者干扰素联合利巴韦林治疗疗效预测评价的重要指标。

表 1 rs12979860的SNP基因型检测的引物和探针

引物和探针	序列5'-3'	产物(bp)
PCR引物	Primer Fw	GCGCTTATCGCATACGGCTAG
	Primer Re	GCAGGCTCAGGGTCAATCACAG
荧光探针序列	rs12979860_modify	P-CGCCTTCGGGGAGCTCCCTGGTTCATTTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	rs12979860_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTCGGAGTGCAATTCAACCCTGGTTCG
	rs12979860_T	TTTTTTTTTTTTTTTTTCGGAGTGCAATTCAACCCTGGTTCA

表 2 HCV基因亚型和患者IL28B的SNP基因型与丙型肝炎治疗转归 n(%)

治疗转归	HCV基因亚型		宿主SNP基因型		HCV基因亚型和宿主IL28B基因型	
	HCV-1b	非HCV-1b	C/C型	T/C型	非HCV-1b+C/C型	HCV-1b+T/C型
RVR	3(20)	27(60)	30(61.2)	0(0.0)	27(81.8)	0(0.0)
SVR	3(20)	27(60)	29(59.2)	1(9.0)	27(81.8)	0(0.0)
NR	12(80)	18(40)	20(40.8)	10(91.0)	6(18.2)	5(100.0)
合计	15	45	49	11	33	5

者rs12979860位点检测到C/C和C/T两种基因型。其中C/C型的有49例, C/T的有11例。在获得SVR的30例丙型肝炎患者中, SNP rs12979860基因型为C/C型(保护性基因型)的有29例, SNP为T/C型(非保护性基因型)的有1例; NR的30位丙型肝炎患者中, SNP rs12979860基因型为C/C型的有20例, SNP为非保护性基因型(T/C型)的有10例。获得早期病毒学应答的患者都是保护性SNP基因型携带者, 保护性SNP基因型携带者治疗后获得SVR的几率高于非保护性基因携带者, 两种SNP基因型患者获得SVR率之间的差异有显著性( $P<0.05$ , 表2)。

## 3 讨论

为了避免丙型肝炎患者接受无效的抗病毒治疗, 而又无辜的承受药物的不良反应, 在治疗前进行抗病毒药物效应预测非常重要<sup>[1]</sup>。

通过对昆明地区聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗后获得SVR的和NR丙型肝炎患者的血液样品, 进行HCV病毒基因和IL28B相关的rs12979860的SNP基因型检测。研究发现, HCV-1b型病毒感染者干扰素 $\alpha$ 为主的治疗后获得SVR的几率低于非HCV-1b型病毒感染者; 获得早期病毒学应答的患者都是C/C型(保护性SNP基因型)携带者; rs12979860基因型为保护性基因型的患者, 治疗后获得SVR的几率高于T/C基因型(非保护性基因型)的丙型肝炎患者; HCV病毒基因型和宿主rs12979860基因型在获得SVR

率的差异都有统计学意义。进一步研究还发现, 如果患者是非HCV-1b型病毒感染同时又携带rs12979860保护性基因型, 其获得SVR可高达81.8%, 而患者是HCV-1b型病毒感染同时又携带非保护性基因型, 则没有获得SVR。

个体化治疗是慢性丙型肝炎患者的治疗发展方向, 将HCV的病毒基因型与宿主rs12979860基因型检测相结合, 可作为丙型肝炎患者干扰素利巴韦林治疗疗效预测的重要指标。学者认为<sup>[12]</sup>, 对于非保护性基因型携带的HCV-1b感染者, 如果没有出现肝脏组织损害, 可考虑延长聚乙二醇干扰素 $\alpha$ 联合利巴韦林的治疗周期, 或者推迟干扰素和利巴韦林抗病毒治疗, 以及等待新的特异性抗HCV病毒药物上市后再进行治疗; 如果患者肝脏已经严重受损, 则应该推荐患者进行肝脏移植; 对于IL28B保护性基因携带的非HCV-1b感染的丙型肝炎患者则可根据治疗中是否获得快速应答, 而调整相应(缩短)治疗周期。这种新的治疗策略在减少患者由于药物不良反应引起的痛苦和节省不必要的医疗开支都具有重要意义<sup>[12-15]</sup>。

## 4 参考文献

- Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009; 49: 1335-1374
- Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. *J Gen Virol* 2004; 85: 3173-3188
- Germer JJ, Majewski DW, Yung B, Mitchell PS, Yao

- JD. Evaluation of the invader assay for genotyping hepatitis C virus. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 318-323
- 4 Zeuzem S, Yoshida EM, Benhamou Y, Pianko S, Bain VG, Shouval D, Flisiak R, Rehak V, Grigorescu M, Kaita K, Cronin PW, Pulkstenis E, Subramanian GM, McHutchison JG. Albinterferon alfa-2b dosed every two or four weeks in interferon-naïve patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008; 48: 407-417
- 5 Mangia A, Minerva N, Bacca D, Cozzolongo R, Ricci GL, Carretta V, Vinelli F, Scotto G, Montalto G, Romano M, Cristofaro G, Mottola L, Spirito F, Andriulli A. Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2008; 47: 43-50
- 6 Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, Bassendine M, Spengler U, Dore GJ, Powell E, Riordan S, Sheridan D, Smedile A, Fragomeli V, Müller T, Bahlo M, Stewart GJ, Booth DR, George J. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100-1104
- 7 Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105-1109
- 8 Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, Heinzen EL, Qiu P, Bertelsen AH, Muir AJ, Sulkowski M, McHutchison JG, Goldstein DB. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399-401
- 9 中华医学会肝病学分会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2004; 22: 131-136
- 10 唐文志, 杨永强, 黄小燕, 戴小波, 李宇雄, 谭星蓉. HCV反向点杂交基因分型方法的建立. 热带医学杂志 2009; 9: 533-536
- 11 Xiao Z, Xiao J, Jiang Y, Zhang S, Yu M, Zhao J, Wei D, Cao H. A novel method based on ligase detection reaction for low abundant YIDD mutants detection in hepatitis B virus. *Hepatol Res* 2006; 34: 150-155
- 12 Ahlenstiel G, Booth DR, George J. IL28B in hepatitis C virus infection: translating pharmacogenomics into clinical practice. *J Gastroenterol* 2010; 45: 903-910
- 13 McHutchison JG, Manns MP, Muir AJ, Terrault NA, Jacobson IM, Afdhal NH, Heathcote EJ, Zeuzem S, Reesink HW, Garg J, Bsharat M, George S, Kauffman RS, Adda N, Di Bisceglie AM. Telaprevir for previously treated chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2010; 362: 1292-1303
- 14 Lange CM, Zeuzem S. IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C. *J Hepatol* 2011 Mar 25. [Epub ahead of print]
- 15 Iadonato SP, Katze MG. Genomics: Hepatitis C virus gets personal. *Nature* 2009; 461: 357-358

■同行评价  
本文选题新颖, 创新性较好, 具有一定的实用价值.

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录, 在国际上享有较高声誉和影响力. WJG在PubMed Central (PMC)统计, 单月独立IP地址访问58 257次, 全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次, 全文PDF下载59 694次. 另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计, 2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种, 总被引频次排名, WJG位于第174名. (2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

# 逆行胆胰管造影对急性胰腺炎的疗效和转归的影响

张俊旺, 李素平, 师水生, 毓珊, 齐莹

张俊旺, 师水生, 毓珊, 齐莹, 山西医科大学第二医院消化内镜中心 山西省太原市 030001

李素平, 山西省宁武县东寨镇中心卫生院 山西省忻州市 036007

作者贡献分布: 张俊旺与李素平对此文的贡献均等; 此课题由张俊旺、李素平及毓珊设计; 研究过程由张俊旺、李素平、师水生、毓珊及齐莹操作完成; 资料收集、数据分析由张俊旺和李素平完成; 本文写作由张俊旺完成。

通讯作者: 李素平, 主治医师, 036007, 山西省忻州市, 山西省宁武县东寨镇中心卫生院. junwangzhang@126.com

电话: 0350-4784439

收稿日期: 2011-05-15 修回日期: 2011-07-06

接受日期: 2011-07-11 在线出版日期: 2011-08-08

## Efficacy of ERCP in the management of acute pancreatitis

Jun-Wang Zhang, Su-Ping Li, Shui-Sheng Shi, Shan Yu, Ying Qi

Jun-Wang Zhang, Shui-Sheng Shi, Shan Yu, Ying Qi, Center for Digestive Endoscopy, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Su-Ping Li, the Central Hospital of Dongzhai Town, Xinzhou 036007, Shanxi Province, China

Correspondence to: Su-Ping Li, the Center Hospital of Dongzhai Town, Ningwu County, Xinzhou 036001, Shanxi Province, China. junwangzhang@126.com

Received: 2011-05-15 Revised: 2011-07-06

Accepted: 2011-07-11 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the efficacy of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in the management of acute pancreatitis of various causes and to analyze the indications for ERCP.

**METHODS:** One hundred and fourteen cases of acute pancreatitis were divided into two groups: acute biliary pancreatitis and non-biliary pancreatitis. Each group was further divided into two subgroups: one was treated by conservative method, and the other by ERCP. The incidence of severe acute pancreatitis, the time required to relieve abdominal pain and achieve normal amylase level, and the length of hospital stay were compared between different groups and subgroups.

**RESULTS:** Of 114 cases of acute pancreatitis, 55

received conservative treatment, and 59 received ERCP. The incidence of severe acute pancreatitis was significantly higher in the conservative group than in the ERCP group (27% vs 12%,  $P < 0.05$ ). In the acute biliary pancreatitis group, the incidence of severe acute pancreatitis was significantly higher in the conservative subgroup than in the ERCP subgroup (30% vs 10%,  $P < 0.05$ ), and the time required to relieve abdominal pain and the length of hospital stay in the ERCP subgroup were significantly shorter than those in the conservative subgroup (both  $P < 0.05$ ). In the non-biliary pancreatitis group, the incidence of severe acute pancreatitis was comparable between the conservative subgroup and ERCP subgroup (23% vs 14%,  $P > 0.05$ ), but the time required to achieve normal amylase level ( $6.92 \text{ d} \pm 2.26 \text{ d}$  vs  $8.85 \text{ d} \pm 3.08 \text{ d}$ ,  $P < 0.05$ ) and the length of hospital stay ( $8.1 \text{ d} \pm 3.04 \text{ d}$  vs  $10.3 \text{ d} \pm 3.80 \text{ d}$ ,  $P < 0.05$ ) in the ERCP subgroup were shorter than those in the conservative subgroup.

**CONCLUSION:** ERCP is effective in the management of acute pancreatitis and can effectively prevent the progression from mild acute pancreatitis to severe acute pancreatitis. ERCP is also effective in the management of non-biliary pancreatitis in terms of shortening the length of hospital stay.

**Key Words:** Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Acute pancreatitis; Efficacy; Prognosis; Non-biliary pancreatitis

Zhang JW, Li SP, Shi SS, Yu S, Qi Y. Efficacy of ERCP in the management of acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2381-2385

## 摘要

**目的:** 探讨逆行胆胰管造影(ERCP)对不同病因引起的急性胰腺炎(AP)治疗效果, 进一步把握ERCP的适应证。

**方法:** 对山西医科大学第二医院收治的114例AP病例按照不同病因分为2组, 分别为胆源性胰腺炎(ABP)和非胆源性胰腺炎。每组分为保守治疗(对照组)和ERCP治疗(治疗组)两部分,

## ■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)是一种病死率较高的疾病, 无论采取手术或保守治疗, 其死亡率均较高, 早期诊断采取合适的治疗措施非常重要。

## ■同行评议者

王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

## ■相关报道

胡冰等研究ERCP联合药物治疗SAP临床分析得出结论:在药物治疗的基础上联合ERCP治疗重症非胆源性胰腺炎可获得更好的治疗效果。

比较2组重症胰腺炎(SAP)发生率的差异,以及不同疗法对AP的腹痛缓解时间、淀粉酶正常时间、住院时间的影响。

**结果:**全组114例患者,保守治疗55例,ERCP治疗59例,保守治疗组重症化发生率为27%(15/55),ERCP治疗组重症化发生率为12%(7/59),两组比较重症化发生率有统计学差异( $P<0.05$ );其中ABP对照组和治疗组重症化发生率分别为30%(8/24)和10%(3/30),有统计学差异( $P<0.05$ ),治疗组患者腹痛缓解时间和住院时间有统计学差异( $P<0.05$ ),治疗组时间较短;非胆源性胰腺炎对照组和治疗组重症化发生率分别为23%(7/31)和14%(4/29),无统计学差异;治疗组患者淀粉酶正常时间( $6.92\text{ d}\pm 2.26\text{ d}$ )和住院时间( $8.1\text{ d}\pm 3.04\text{ d}$ )较对照组淀粉酶正常时间( $8.85\text{ d}\pm 3.08\text{ d}$ )和住院时间( $10.3\text{ d}\pm 3.80\text{ d}$ )短,有统计学差异( $P<0.05$ )。

**结论:**ERCP对ABP有积极的治疗作用,可以减少轻型胰腺炎(MAP)向SAP转化,减少SAP的发生率,对非胆源性胰腺炎也有治疗作用,缩短住院时间。

**关键词:**逆行胆胰管造影;急性胰腺炎;疗效;转归;非胆源性胰腺炎

张俊旺,李素平,师水生,毓珊,齐莹.逆行胆胰管造影对急性胰腺炎的疗效和转归的影响.世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2381-2385

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2381.asp>

## 0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种病死率较高的疾病,无论采取手术或保守治疗,其死亡率<sup>[1]</sup>均较高,早期诊断采取合适的治疗措施非常重要。近年来,逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的广泛应用,急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的并发症和重症化发生率明显下降,死亡率下降<sup>[2]</sup>。但是临床实践中对ERCP适应证的把握还需要一定的探索和经验的总结,特别是对非胆源性胰腺炎ERCP的应用尚未达成共识。本文就山西医科大学第二医院对收治的114例急性胰腺炎的治疗效果和适应证把握进行分析和探讨,以期更精确地指导临床。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 山西医科大学第二医院2008-02/2011-03收治的AP患者,除外胰腺肿瘤,外伤或手术所

致的AP及能引起血、尿淀粉酶升高的其他疾病,纳入本研究的共114例。本研究经伦理委员会批准,所有患者和(或)家属均知情同意,并在治疗知情同意书上签字。患者年龄28-90(平均63±9)岁。全部病例经询问病史、体格检查、血清淀粉酶、脂肪酶、肝功、空腹血钙、血脂等实验室检测和影像学检查,包括腹部超声、CT、磁共振胆管成像(MRCP)、上消化道内镜、超声内镜确诊AP,AP的诊断符合以下标准:(1)急性上腹痛,伴或不伴急性胆绞痛,恶心呕吐,腹胀;(2)上腹压痛,反跳痛;以脐周为著;(3)血、尿淀粉酶、脂肪酶升高,血淀粉酶>500苏氏单位以上(酶速率法),尿淀粉酶>1 000 U/L以上;脂肪酶升高大于110 U/L以上(酶速率法37℃);(4)B超显示胰腺肿大,密度不均,胰外有浸润;(5)MRCP提示胰腺肿大,花边样轮廓消失,长T1长T2或等T1长T2信号,胰腺边界模糊不清,可以累及全胰,也可为胰腺局部改变。在T2W像,胰腺被膜呈线状或窄带状高信号,胰腺内可见沿小叶间隔分布的线条状高信号。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:**114例患者分为胆源性胰腺炎54例,非胆源性胰腺炎60例。每组病例分为对照组(保守治疗)和治疗组(ERCP治疗),两组患者具有可比性。胆源性胰腺炎全部为胆总管结石病例;非胆源性胰腺炎包括酒精性胰腺炎25例,胰腺分裂症(pancreatic divisum, PD)11例,胆胰管合流异常(abnormal pancreatic duct, APBD)9例,胰管狭窄8例,胰管结石7例。

**1.2.2 病因分类标准:**(1)急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP):符合下列一项以上的胰腺炎即可考虑诊断ABP:胆囊炎或胆结石、胆总管结石;胆总管直径>7 mm或胆总管直径增加4 mm以上(胆囊切除术后要增加8mm);血清胆红素>41 μmol/L;血清碱性磷酸酶和谷丙转氨酶、谷草转氨酶超过正常值上限3倍以上;内镜超声发现胆道强回声光点考虑微结石等确诊ABP;(2)非胆源性胰腺炎:AP病例经影像学检查排除胆道疾病原因。酒精性胰腺炎有明确的酗酒病史;胰腺分裂症:MRCP提示主、副胰管分离,有或仅有细小交通支;APBD:MRCP提示胆管胰管十二指肠壁外合流,胆胰管合流位置偏高≥1.5 cm,胆道扩张,胆总管囊状扩张,或胰管扩张、走行、形态异常;胰管狭窄或结石:MRCP提示主胰管欠光滑,近端胰管直径<2 mm,远端胰管直径>3 mm以上,胰管中断等表现。

1.2.3 治疗: 对照组采取常规保守治疗: (1)禁食; (2)胃肠减压; (3)补液及预防性输入抗生素; (4)抑制胰腺分泌, 奥曲肽1.0-1.2 mg每日, 持续静滴3-7 d, 0.1 mg皮下注射, 每6-8 h 1次, 8-14 d; 或生长抑素每天6 mg, 持续静脉点滴, 平均9 d, 然后用奥曲肽0.1 mg/6-8 h皮下注射平均7 d; (5)泮托拉唑每日40 mg静滴, 或使用其他质子泵抑制剂. 治疗组于入院确诊后给予相关检查和对照组相同治疗方法, 2-3 d内根据病情需要, 建议患者行ERCP治疗, 征得家属同意后, 根据不同病因2-5 d内采取相应的ERCP治疗方法. 内镜采用Olympus JF260十二指肠镜, 术前局部咽部麻醉, 肌注安定10 mg, 盐酸哌替啶50-75 mg, 氢溴东莨菪碱2 mg, 对所有患者在治疗过程中均给以吸氧, 心电图、血压和氧饱和度监测, 全部病例先行ERCP造影检查尽量采用胆胰管分别造影, 明确病变性质, 明确胆管或胰管病变部位、性质和程度后决定内镜治疗方法.

1.2.4 不同病因的ERCP处理方法: (1)ABP: 胆总管结石 $\leq 2$  cm者, 乳头狭窄等梗阻明显者行乳头肌切开(endoscopic sphincterotomy, EST), 根据结石大小、乳头形态决定切口大小, 切口均为中、小切口(1-2 cm)EST后采用网篮取石, 网篮无法取到的结石, 再用球囊取石, 尽可能一次性取净结石, 取石后行鼻胆管引流术(endoscopic naso-biliary drainage, ENBD). 对于结石 $> 2$  cm者患者耐受性好时用计划碎石网篮碎石后取石. 对耐受性差的患者先行EST, 行ENBD, 待病情好转后二次取石, ENBD放置时间为3-5 d, 应用抗生素3-5 d; (2)PD: 行保守治疗有效果, 病情明显好转, 或家属不愿行ERCP治疗者纳入保守治疗组, 保守治疗效果差, 无明显好转, 行副乳头切开加支架短期引流或鼻胰管引流(ENPD); (3)胰管狭窄: 胰管括约肌切开(EPs)、胰管扩张、胰管支架植入术; (4)胆管先天异常(APBD): ERCP行ENBD, 或胆胰管分别切开, 消除或缩短共同通道; (5)胰管结石: 先行EPs, 再行狭窄段扩张, 应用取石网篮或气囊清除胰石.

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件, 计数资料卡方检验, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,  $t$ 检验.  $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 治疗效果观测标准 治愈: 患者症状, 体征消失, 体温及血象恢复正常, 进食无油食物后无不良反应; 重症化: 重症化是指MAP经内科治疗, 症

状、体征加重, 实验室指标升高或无下降, 最终由MAP转为SAP. SAP的诊断参照1996年急性胰腺炎的临床诊断及分级标准<sup>[3]</sup>. 患者病情无好转, 出现下列症状或体征: (1)腹痛加重, 范围扩大, 腹胀加重; (2)在任何时期APACHE指数 $\geq 8$ ; (3)出现症状48-72 h, C反应蛋白质 $\geq 150$  mg/L; (4)收缩压SBP $< 90$  mmHg或收缩压下降 $\geq 40$  mmHg; (5)动脉氧分压 $\leq 60$  mmHg; (6)补液后肌酐 $> 177$   $\mu\text{g/L}$ ; (7)血小板计数 $\leq 100 \times 10^6/\text{L}$ .

2.2 不同组别治疗结果 胆源性胰腺炎对照组, 共24例, 有8例转化为SAP, 4例行手术治疗, 行胰腺被膜切开, 腹腔引流及胆总管引流, 死亡2例(ARDS 1例, 肾功能衰竭1例). 另4例行保守治疗, 死亡2例, 治愈2例, 形成胰腺脓肿1例, 胰周脓肿1例, 均在发病后3-6 mo经手术治愈. 治疗组: 30例ABP中, 成功进行了ERCP检查27例, 均在48-72 h内行EST后, 取石网篮取尽结石, 然后行ENBD引流, 痊愈出院, 其中有4例EST后取石网篮取石第1次未取尽, 放置ENBD引流, 1 wk后病情好转, 二次取石成功痊愈出院; 3例转化为重症, 就诊较晚未能及时行ERCP检查, 取石引流后渐好转, 痊愈后出院.

非胆源性胰腺炎组中, 25例酒精性胰腺炎, 经保守治疗18例痊愈, ERCP治疗7例, 每组各有1例重症化, 保守治疗痊愈. 11例PD保守治疗6例, 重症化2例; ERCP治疗5例, 重症化1例, 继续保守治疗痊愈. 9例ABPD保守治疗4例, 重症化1例; ERCP治疗5例, 重症化1例, 继续保守治疗痊愈. 胰管结石13例, 保守治疗5例, 重症化2例, 转外科手术取石成功并痊愈; ERCP治疗8例, 7例取石成功痊愈, 1例结石较大, 二次取石, 碎石后取石成功. 胰管狭窄12例, 保守治疗4例, 重症化1例; ERCP治疗8例, 全部支架植入成功, 重症化1例, 2例均保守治疗痊愈.

在乳头肌切开过程中, 术中出血5例, 术中用乳头切开刀止血3例, 内镜注射针向括约肌切开口位黏膜下注射1:10 000肾上腺素止血2例, 钛夹止血1例. 无术后延期出血发生.

2.3 治疗效果及SAP发生率比较 全组114例患者, 保守治疗55例, ERCP治疗59例, 保守治疗组重症化发生率为27%(15/55), ERCP治疗组重症化发生率为12%(7/59), 两组比较重症化发生率有统计学差异( $P < 0.05$ ); 其中ABP对照组和治疗组重症化发生率分别为30%(8/24)和10%(3/30), 有统计学差异( $P < 0.05$ ). 治疗组患者腹痛缓解时间和住院时间有统计学差异( $P < 0.05$ , 表1), 治疗组时

### ■应用要点

ERCP对ABP有积极的治疗作用, 可以减少轻型胰腺炎(MAP)向SAP转化, 减少SAP的发生率, 对非胆源性胰腺炎也有治疗作用, 缩短住院时间.

### ■同行评价

本文从临床病例入手,对急性胰腺炎的ERCP治疗进行了详尽的分析,明确了ERCP的显著作用,进而表述了对急性胰腺炎综合治疗的见解和思考。对于消化内科及外科对本病的认识有相当的科学贡献和指导意义。

表 1 不同病因急性胰腺炎治疗情况比较

	<i>n</i>	腹痛缓解(d)	淀粉酶正常(d)	住院时间(d)
胆源性胰腺炎				
对照组	24	12.1 ± 6.4	9.3 ± 2.1	26.3 ± 18.7
治疗组	30	8.2 ± 3.1	8.2 ± 3.2	14.5 ± 7.9
<i>t</i> 值		2.9392	1.4511	3.130
<i>P</i> 值		<0.05	>0.05	<0.05
非胆源性胰腺炎				
对照组	31	6.86 ± 3.22	8.85 ± 3.08	10.3 ± 3.8
治疗组	29	5.50 ± 2.44	6.92 ± 2.26	8.1 ± 3.04
<i>t</i> 值		1.8342	2.5837	2.4655
<i>P</i> 值		>0.05	<0.05	<0.05

表 2 不同类型急性胰腺炎重症化两组比较

病因特征	<i>n</i>	轻型	重型	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
胆源性					
对照组	24	16	8	4.475	0.034
治疗组	30	27	3		
非胆源性胰腺炎					
对照组	31	24	7	0.7728	<0.05
治疗组	29	25	4		

间较短;非胆源性胰腺炎对照组和治疗组重症化发生率分别为23%(7/31)和14%(4/29),无统计学差异( $P>0.05$ ,表2),治疗组患者淀粉酶正常时间和住院时间有统计学差异( $P<0.05$ ),治疗组时间较短。

### 3 讨论

AP大约有20%转化为SAP<sup>[4]</sup>,SAP的病死率高达25%左右<sup>[5]</sup>,是临床上常见的急危重症疾病。ERCP的微创治疗的发展和逐步普及明显降低了SAP的病死率,特别是对于某些高龄患者,或伴有合并症的患者,如糖尿病、冠心病、肺心病、肾脏疾病、重度黄疸等,外科手术风险较高,住院时间长,ERCP微创治疗,手术时间短,创伤小,治疗效果确切明显,住院时间短,是AP的适应证<sup>[6]</sup>。本研究中治疗组SAP发生率为12%(7/59),对照组为27%(15/55),两组总的重症化病例发生率有显著性差异,ERCP对AP有明确的治疗效果。

ABP是由胆道疾病引发的胰腺炎,在我国占AP的50%-60%以上<sup>[7]</sup>,ERCP诊治指南<sup>[8]</sup>(2010版)建议重症ABP或最初判断是轻症病例,但在治疗中病情恶化者,条件许可可行急诊ERCP,重症ABP建议在发病72 h内(最好在24 h内)行

ERCP或EST,有利于降低并发症和死亡率,轻型ABP应先行保守治疗,不推荐行紧急ERCP,除非存在胆道感染或梗阻。在临床实践中,患者就诊时间不一,家属惧怕手术,医生对病情判断偏差,一部分重症ABP未能在72 h及时行ERCP,在行ERCP时已是进展期SAP,由于十二指肠水肿,肠腔狭小行ERCP治疗难度增大,不但不易成功,而且有可能加重病情<sup>[9]</sup>,转外科手术机率增大。本研究中,54例ABP患者,发现存在胆管扩张,发热等胆道梗阻或感染迹象,建议患者积极行ERCP检查,SAP发生率明显降低,与国外研究结果<sup>[10]</sup>一致。所以,临床判断或预测AP的严重程度是十分重要的。急性胰腺炎的诊断并不困难,临床症状、体征、实验室检查以及影像学检查完全可以确诊,动态观察病情进展情况也是非常必要的,更重要的是要对引起AP的病因有尽可能清楚的认识,特别是对于存在胆管、胰管梗阻、感染的病例,要积极行ERCP解除梗阻,充分引流,是符合外科治疗原则的。日本最新AP诊断标准<sup>[11]</sup>把病因的诊断作为诊断的重要组成部分,值得借鉴。

非胆源性胰腺炎多由过量饮酒、暴饮暴食、胆胰管先天异常、药物、免疫、感染等因素引发。本组研究收集酒精性胰腺炎、PD、胰管结石、胰管狭窄以及ABPD共60例患者,保守组和治疗组重症化发生率无统计学差异,治疗组淀粉酶正常时间以及住院时间短于对照组,有统计学差异。酒精性胰腺炎绝大多数保守治疗可以治愈,很少发生重症化,无需ERCP干预。胰管结石、狭窄以及ABPD,或多或少存在器质性病变,ERCP治疗有效,本研究中病例较少,不便统计。胡冰等<sup>[12]</sup>研究ERCP联合药物治疗SAP临床分析得出结论:在药物治疗的基础

上联合ERCP治疗重症非胆源性胰腺炎可获得更好的治疗效果。田伏洲等<sup>[13]</sup>也认为: 尽早消除共同通道的梗阻, 是预防AP重症化的核心<sup>[14]</sup>。可见, ERCP对非胆源性胰腺炎有一定治疗效果。分析非胆源性胰腺炎的病因, 绝大多数与胰管梗阻、腺泡过度刺激<sup>[15]</sup>共同通道梗阻或共同通道反流<sup>[16]</sup>等致病因素有关。ERCP行EPBD可直接降低胰管内压, 防止反流较保守治疗高效快捷。可见非胆源性胰腺炎考虑存在器质性病变也应行ERCP治疗。非胆源性胰腺炎发病率相对较低, 病例较少, 有待更多病例的多中心对照研究, 进一步把握ERCP的适应证。

#### 4 参考文献

- 1 Bank S, Singh P, Pooran N, Stark B. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 50-60
- 2 Neoptolemos JP, Carr-Locke DL, London NJ, Bailey IA, James D, Fossard DP. Controlled trial of urgent endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic sphincterotomy versus conservative treatment for acute pancreatitis due to gallstones. *Lancet* 1988; 2: 979-983
- 3 中华医学会外科学会胰腺学组. 急性胰腺炎的临床诊断及分级标准(1996年第二次方案). *中华外科杂志* 1997; 35: 773
- 4 Al Mofleh IA. Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 675-684
- 5 Pitchumoni CS, Patel NM, Shah P. Factors influencing mortality in acute pancreatitis: can we alter them? *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 798-814
- 6 Fiocca F, Santagati A, Ceci V, Donatelli G, Pasqualini MJ, Moretti MG, Speranza V, Di Giulio M, Minervini S, Sportelli G, Giri S. ERCP and acute pancreatitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2002; 6: 13-17
- 7 丁谷华. 胰管反流与急性胆源性胰腺炎. *中华消化杂志* 2001; 21: 315-316
- 8 中华医学会消化内镜分会ERCP组. ERCP诊治指南(2010版)(三). *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 225-228
- 9 田伏洲, 张丙印, 黎冬暄, 庞勇, 李旭, 蔡忠红, 周庆贤. 内镜胆管减压治疗急性胰腺炎20年探索与思考. *中国实用外科杂志* 2005; 25: 347-349
- 10 Hazem ZM. Acute biliary pancreatitis: diagnosis and treatment. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 147-155
- 11 Kiriya S, Gabata T, Takada T, Hirata K, Yoshida M, Mayumi T, Hirota M, Kadota M, Yamanouchi E, Hattori T, Takeda K, Kimura Y, Amano H, Wada K, Sekimoto M, Arata S, Yokoe M, Hirota M. New diagnostic criteria of acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 24-36
- 12 胡冰, 陈平, 唐承薇. 内镜联合药物治疗急性重症胰腺炎153例临床分析. *中国实用内科杂志* 2007; 27: 441-443
- 13 田伏洲, 黎冬暄. 急性胰腺炎重型化的预防. *中国实用外科杂志* 1999; 19: 525-527
- 14 Wang GJ, Gao CF, Wei D, Wang C, Ding SQ. Acute pancreatitis: etiology and common pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1427-1430
- 15 Wang GJ, Li Y, Zhou ZG, Wang C, Meng WJ. Integrity of the pancreatic duct-acinar system in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 242-247
- 16 Arogunjo AM, Höllriegel V, Giussani A, Leopold K, Gerstmann U, Veronese I, Oeh U. Uranium and thorium in soils, mineral sands, water and food samples in a tin mining area in Nigeria with elevated activity. *J Environ Radioact* 2009; 100: 232-240

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26)

# 经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水14例

傅念, 阳学风, 胡杨, 吴清, 彭飞

## ■背景资料

顽固性腹水是肝硬化晚期常见的严重并发症之一, 治疗方法主要包括利尿、多次反复放液、肝移植以及经颈静脉肝内门体分流术等治疗措施, 存在着效果差或费用、风险极高等局限, 故寻求新的疗效确定、易行、安全、费用低廉的治疗方法具有重要意义。

傅念, 阳学风, 胡杨, 吴清, 彭飞, 南华大学附属南华医院消化内科 湖南省衡阳市 421002

作者贡献分布: 文献检索、部分临床操作、结果分析和论文撰写由傅念完成; 选题和审校阳学风完成; 部分临床操作、病例收集由胡杨、吴清及彭飞完成。

通讯作者: 阳学风, 教授, 421002, 湖南省衡阳市, 南华大学附属南华医院消化内科, yxf9988@126.com

收稿日期: 2011-06-15 修回日期: 2011-07-07

接受日期: 2011-07-19 在线出版日期: 2011-08-08

## Efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation via the hepatic artery in combination with octreotide in the management of refractory ascites in patients with hepatic cirrhosis

Nian Fu, Xue-Feng Yang, Yang Hu, Qing Wu, Fei Peng

Nian Fu, Xue-Feng Yang, Yang Hu, Qing Wu, Fei Peng, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Correspondence to: Professor Xue-Feng Yang, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, Hengyang 421002, Hunan Province, China. yxf9988@126.com

Received: 2011-06-15 Revised: 2011-07-07

Accepted: 2011-07-19 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of transplantation of autologous bone marrow stem cells via the hepatic artery in combination with octreotide in the treatment of refractory ascites in patients with cirrhosis.

**METHODS:** Thirty-three cirrhotic patients with refractory ascites were randomly divided into two groups: treatment group ( $n = 14$ ) and control group ( $n = 19$ ). The treatment group underwent conventional therapy, transplantation of autologous bone marrow stem cells via the hepatic artery, and treatment with octreotide, while the control group underwent conventional

therapy and treatment with octreotide. The abdominal circumference, appetite, urine volume, the status of edema of the lower extremities and ascites, serum urea nitrogen, creatinine, albumin, and health status score were compared between before and after treatment and between the two groups.

**RESULTS:** No obvious complications occurred in all patients. One week after treatment, the total response rate showed no significant difference between the treatment and control groups (78.57% vs 78.95%,  $P > 0.05$ ). However, the total response rate at week 4 was significantly higher in the treatment group than in the control group (92.86% vs 63.16%,  $P < 0.05$ ). After four weeks of treatment, the improvements in abdominal circumference and urine volume were more significant in the treatment group than in the control group (both  $P < 0.05$ ), and albumin was increased from  $19.79 \text{ g/L} \pm 4.02 \text{ g/L}$  to  $27.34 \text{ g/L} \pm 4.00 \text{ g/L}$  ( $P < 0.05$ ). The healthy status, as assessed according to the Karnofsky Performance Status (KPS) scale, was better in the treatment group than in the control group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Transplantation of autologous bone marrow stem cells via the hepatic artery in combination with octreotide has good short-term efficacy and safety in the management of refractory ascites in patients with cirrhosis.

**Key Words:** Bone marrow stem cells; Transplantation; Octreotide; Liver cirrhosis; Refractory ascites

Fu N, Yang XF, Hu Y, Wu Q, Peng F. Efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation via the hepatic artery in combination with octreotide in the management of refractory ascites in patients with hepatic cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2376-2380

## 摘要

**目的:** 研究经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水的临床疗效。

## ■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系; 梁力建, 教授, 中山大学附属第一医院肝胆外科; 高泽立, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

**方法:** 33例肝硬化顽固性腹水患者被随机分为两组, 治疗组(14例)在常规治疗药物治疗上行经肝动脉自体骨髓干细胞移植后, 再加用奥曲肽, 对照组(19例)在常规治疗药物治疗上加奥曲肽。观察患者治疗后的腹围、食欲、尿量、双下肢浮肿、腹水消退情况及血清ALT、BUN、Cr的变化, 同时在治疗4 wk后进行健康状况KPS量化评分。

**结果:** 所有患者无特殊不良反应及并发症。治疗后1 wk, 治疗组及对照组总有效率分别为78.57%(11/14)及78.95%(15/19), 两组之间无差异。治疗4 wk, 治疗组的总有效率提高至92.86%(13/14), 而对照组则下降到了63.16%(12/19), 两组之间差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。在治疗4 wk, 治疗组的腹围及尿量的改善明显优于对照组( $P<0.05$ ), 并伴有血清ALB的明显上升, 由治疗前 $19.79\text{ g/L}\pm 4.02\text{ g/L}$ 上升至 $27.34\text{ g/L}\pm 4.00\text{ g/L}$ , 治疗前后及组间比较均具有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗4 wk, 健康状况KPS评分亦较治疗前有显著好转, 并明显优于对照组( $82.51\pm 14.27$  vs  $56.68\pm 12.33$ ,  $70.28\pm 10.67$ ,  $P<0.05$ 或 $0.01$ )。

**结论:** 经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水有较好的近期疗效和安全性。

**关键词:** 骨髓干细胞; 移植; 奥曲肽; 肝硬化; 顽固性腹水

傅念, 阳学风, 胡杨, 吴清, 彭飞. 经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水14例. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2376-2380  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2376.asp>

## 0 引言

肝硬化顽固性腹水又称难治性腹水, 是指经限钠、限水和利尿剂治疗6 wk无效或经治疗性腹腔穿刺术放腹水后腹水很快再次出现。目前治疗顽固性腹水的方法包括反复大量腹水穿刺和经颈静脉门体分流术等。在国内外一些新的研究中发现奥曲肽具有降门脉压、改变内脏的血液动力学, 从而对顽固性腹水有很好的消除作用<sup>[1-3]</sup>, 故目前在临床上已逐渐被临床医生接受, 并用于治疗肝硬化顽固性腹水, 但仍有部分肝硬化顽固性腹水的患者在奥曲肽治疗后仍不能达到缓解或完全缓解。故我们在原有的基础上, 联合经肝动脉自体骨髓干细胞移植技术对肝硬化顽固性腹水患者进行治疗观察。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-2011年收治的33例失代偿期肝硬化同时并有顽固性腹水患者, 其中男23例, 女10例, 年龄42-75(平均51.5)岁。21例为慢性乙型肝炎后肝硬化, 6例酒精性肝硬化, 6例为隐源性肝硬化。Child-Pugh分级: B级12例, C级21例。诊断均依照西安第十次全国病毒性肝炎防治及肝病学术会议讨论修订的肝硬化诊断标准<sup>[4]</sup>及《新编实用肝胆病学》<sup>[5]</sup>顽固性腹水诊断标准: 符合2000年西安会议肝硬化诊断标准; 腹水量多, 增长迅速; 腹水持续超过3 mo; 对钠和水不能耐受; 无自发性利尿反应, 对利尿剂无利尿效应; B超或CT显示大量腹水; 排除心源性腹水、癌性腹水、结核性腹水等。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组及治疗:** 将患者随机分为治疗组和对照组。治疗组14例, 对照组19例, 两组患者在性别、年龄、病程、病情方面差异无统计学意义。所有患者住院后常规内科对症治疗, 包括给予限水限钠、利尿、保肝、补充血浆及白蛋白, 有腹水感染者加用抗生素, 以及积极预防上消化道出血等综合治疗, 所有治疗在患者知情同意情况下进行, 签署知情同意书。治疗组行经肝动脉自体骨髓干细胞移植术, 术后加奥曲肽0.1 mg, 每8 h 1次, 皮下注射, 连用7 d; 对照组仅用奥曲肽0.1 mg, 每8 h 1次, 皮下注射, 连用7 d。

**1.2.2 术前准备:** 治疗组患者均于术前行碘过敏实验, 双侧腹股沟备皮, 备血、血浆。

**1.2.3 骨髓干细胞制备:** 在百万级洁净手术室环境下, 自患者髂后上棘多点抽取骨髓180-200 mL, 以7 500 U肝素抗凝, 应用骨髓、脐带血有核细胞体外分离液(宁夏中联达生物有限公司)分离出骨髓干细胞, 稀释至5 mL生理盐水中, 提取的骨髓干细胞总数在 $(3.0-11.3)\times 10^{12}/\text{L}$ , 4℃保存, 1 h内进行骨髓干细胞移植术。

**1.2.4 移植:** 在DSA下经股动脉穿刺插管, 先行选择性肝固有动脉造影, 将含有骨髓干细胞的生理盐水经导管缓慢注入肝固有动脉的左右分支, 各2.5 mL, 其中右侧分支注意避开胆囊动脉, 再用少量生理盐水冲管, 术毕拔管, 穿刺点加压包扎后返回病房, 穿刺侧下肢制动6 h。预防性应用抗生素3 d, 行肝动脉导管治疗后常规护理。

**1.2.5 临床综合疗效判断:** 观察患者腹围、食欲、尿量、双下肢浮肿等临床症状及体征情况; 疗效判定标准: 显效: 尿量明显增加, 食欲增加, 下肢水肿消失, B超显示腹水消退或基本消

## ■研究前沿

肝硬化顽固性腹水的形成原因中门脉高压及低蛋白血症贯穿了整个病程, 如何同时解决这两方面的问题成为治疗顽固性腹水的焦点。

## ■相关报道

近年提出奥曲肽可减少门静脉主干血流量18%-36%，具有降低门静脉压力、减少腹水形成的作用。同进大量实验性研究显示，骨髓干细胞具有持久生成肝细胞和胆管细胞的能力，在肝损伤后的修复过程中，参与补充因损伤而减少的肝细胞数量，参与修复因损伤破坏的肝组织结构，代偿部分肝功能的作用从而合成白蛋白。

表 1 两组患者治疗前后腹围、3 d平均尿量、血清ALB及肾功能变化 (mean ± SD)

分组	腹围(cm)	尿量(mL)	ALB(g/L)	Cr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
治疗组(n = 14)					
治疗前	93.18 ± 10.56	815 ± 220	19.79 ± 4.02	120.24 ± 47.23	8.45 ± 2.20
治疗后1 wk	84.81 ± 11.27 <sup>a</sup>	1 450 ± 380 <sup>a</sup>	22.67 ± 5.33	106.43 ± 55.55	5.40 ± 3.91
治疗4 wk	79.77 ± 8.99 <sup>ac</sup>	1 415 ± 325 <sup>a</sup>	27.34 ± 4.00 <sup>ac</sup>	97.09 ± 65.89	6.50 ± 3.89
对照组(n = 19)					
治疗前	94.82 ± 11.37	855 ± 195	22.78 ± 4.67	117.32 ± 44.44	5.94 ± 2.33
治疗后1 wk	83.11 ± 9.28 <sup>a</sup>	1 575 ± 295 <sup>a</sup>	23.11 ± 5.17	96.88 ± 35.68	6.77 ± 4.76
治疗4 wk	88.34 ± 11.99	960 ± 470	22.18 ± 3.67	99.54 ± 46.99	7.67 ± 3.44

<sup>a</sup>P<0.05 vs 治疗前; <sup>c</sup>P<0.05 vs 对照组。

退; (2)有效: 腹胀减轻, 食欲改善, 尿量增加, B超显示腹水明显减少; (3)无效: 腹胀无减轻, 食欲无改善, 腹水无明显减少。总有效率 = (显效+有效)/例数×100%

1.2.6 实验室检查: 观察治疗前后的血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)和白蛋白(ALB)及B超检查腹水消退情况。

1.2.7 健康状况量化评分: 两组在治疗前及治疗4 wk, 根据卡诺夫斯基健康状况量表(karnofsky performance scale, KPS)进行健康状况评分, 评估患者治疗前后的健康状况及生活质量<sup>[6,7]</sup>。具体评分标准如下: 正常, 无症状及体征(100分); 能进行正常活动, 有轻微症状及体征(90分); 勉强可进行正常活动, 有一些症状及体征(80分); 生活可自理, 但不能维持正常生活或工作(70分); 有时需人扶助, 但大多数时间可自理(60分); 常需人照顾(50分); 生活不能自理, 需特别照顾(40分); 生活严重不能自理(30分); 病重, 须住院积极治疗(20分); 病危, 临近死亡(10分); 死亡(0分)。

**统计学处理** 采用SPSS15.0统计软件进行统计学分析。计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用方差分析, 同一患者治疗前后比较采用配对t检验, 各组间率的比较采用 $\chi^2$ 精确概率法检验。P<0.05为差异有统计学意义, P<0.01为差异有显著性统计学意义。

## 2 结果

2.1 手术成功率 14例患者手术全部成功, 手术成功率为100%。

2.2 临床综合疗效 治疗后1 wk, 两组患者顽固性腹水均有一定程度的缓解, 表现出腹围、食欲、尿量、双下肢浮肿的改善。治疗组显效2例(14.29%), 有效9例(64.29%), 总有效率

为78.57%, 对照组显效4例(21.05%), 有效11例(57.89%), 总有效率为78.95%, 两组之间无统计学意义(P>0.05)。但在治疗4 wk时, 治疗组显效5例(35.71%), 有效8例(57.14%), 总有效率提高至92.86%, 而对照组显效2例(10.53%), 有效10例(52.63%), 总有效率下降到了63.16%, 两组之间差异具有统计学意义(P<0.05)。

2.3 各项指标及实验室检查 经治疗后, 两组均表现出腹围减少, 尿量增加, 但在治疗组中腹围减少更明显, 治疗4 wk, 其腹围及尿量的改变与治疗前及对照组治疗4 wk比较, 均具有统计学意义(均P<0.05)。并且在治疗组治疗4 wk, 血清ALB由治疗前19.79 g/L±4.02 g/L上升至27.34 g/L±4.00 g/L, 明显高于对照组的22.18 g/L±3.67 g/L, 其在治疗前后及组间比较均具有统计学意义(P<0.05, 表1)。

2.4 KPS评分 将两组患者在治疗前及治疗4 wk后进行KPS评分, 两组患者治疗4 wk后KPS评分均较治疗前好转(P<0.05)。治疗组的KPS评分由56.68±12.33上升至82.51±14.27, 而对照组由治疗前的55.71±11.91上升至70.28±10.67, 治疗4 wk后治疗组的KPS评分明显优于对照组(P<0.05)。

2.5 不良反应 治疗组中仅1例患者在术后10 d时, 由于进食大量高蛋白饮食后诱发肝性脑病, 经内科常规降氨等治疗后恢复。诉骨髓穿刺处疼痛3例, 其他及对照组患者未发现严重不良反应及并发症。

## 3 讨论

目前对难治性腹水, 常规保肝、利尿、补充血浆及白蛋白等方法疗效欠佳, 且易造成肝性脑病、水电解质紊乱, 故如何更好地降低门静脉

压力、提高白蛋白成为临床治疗肝硬化腹水的主要问题。近年提出奥曲肽可直接作用于内脏的血管平滑肌, 通过开放钙通道使 $\text{Ca}^{2+}$ 内流而引起血管的收缩; 并可抑制胰高血糖素、降钙素等内源性扩血管物质的释放, 具有降低门静脉压力、减少腹水形成的作用<sup>[2,3]</sup>, 并可减少门静脉主干血流量18%-36%<sup>[1]</sup>。故目前临床开始应用奥曲肽治疗顽固性腹水, 但我们在治疗过程中发现奥曲肽不能有效的解决低蛋白血症的问题, 其疗效仍达不到理想化, 故如何解决肝硬化顽固性腹水的另一形成原因-低蛋白血症成为我们考虑的重点。

随着治疗方法的探讨, 发现干细胞, 尤其是骨髓干细胞因具有的多向分化潜能及超强的可塑性, 目前被临床广泛用来探索性治疗晚期肝硬化<sup>[8-10]</sup>, 提出通过移植具有分化增殖能力的干细胞, 使其在体内分化成肝细胞, 可以代偿部分肝功能, 从而合成白蛋白<sup>[6,10-13]</sup>。且应用导管直接将干细胞引入肝动脉, 为肝脏干细胞移植中干细胞的“归巢”提供了有力的技术支持, 我们的前期研究也发现经肝动脉自体骨髓干细胞移植对肝硬化患者的治疗总体上具有一定的改善作用, 对酒精性及隐源性肝硬化患者的疗效优于乙型肝炎后肝硬化, 并且肝硬化的程度越轻, 治疗效果越好<sup>[14]</sup>。

故我们将两种方法结合起来, 采用经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水。治疗结果显示联合治疗的效果明显优于单独应用奥曲肽, 尤其是在治疗4 wk后, 联合治疗组的总有效率提高至92.86%, 而单独使用奥曲肽的对照组总有效率则下降到了63.16%, 腹围及尿量的改善亦明显优于对照组。具有特征性的改善表现在血清ALB的提高, 联合治疗组ALB由治疗前的 $19.79 \text{ g/L} \pm 4.02 \text{ g/L}$ 上升至治疗4 wk的 $27.34 \text{ g/L} \pm 4.00 \text{ g/L}$ 。

肝硬化顽固性腹水的形成原因包括门静脉高压、低蛋白血症、肝淋巴液生成过多、继发性醛固酮增多抗利尿激素分泌增多、肾脏血流灌注不足、激肽释放酶-激肽系统释放的胰激肽减少、前列腺素、心房利钠多肽减少等<sup>[15]</sup>。不同的因素在腹水的形成和持续阶段会有不同的侧重, 而其中门脉高压及低蛋白血症贯穿了整个过程。我们将经肝动脉自体骨髓干细胞移植与奥曲肽有效的结合在一起, 可在短时间内明显的改善顽固性腹水患者症状, 使腹水生长时间放缓, 并能在一定程度上提升白蛋白, 使肾功能

好转, 从而满足患者的基本自理能力, 改善健康状况, 这是常规治疗方法无法比拟的。

由于本研究中治疗的样本量较少, 在行自体骨髓干细胞移植术后, 为追求最好疗效, 对单用骨髓干细胞移植治疗肝硬化顽固性腹水的患者不多, 故未设置单用骨髓干细胞移植治疗的对照组。从理论上分析骨髓干细胞移植联合奥曲肽, 同时具备了骨髓干细胞移植及奥曲肽两种治疗方法的优点, 在肝功能失代偿及门脉高压两方面对肝硬化顽固性腹水进行了治疗, 但在治疗中不排除有患者的多样性及其他药物、治疗手段的干扰, 其近期、远期疗效及安全性还需加大病例数、延长随访时间, 进一步观察。

#### 4 参考文献

- Spahr L, Giostra E, Mentha G, Hadengue A. Octreotide bolus injection and azygos blood flow in patients with cirrhosis: is the effect really predictable? *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: e206-e209
- Zhou DX, Zhou HB, Wang Q, Zou SS, Wang H, Hu HP. The effectiveness of the treatment of octreotide on chylous ascites after liver cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1783-1788
- 杨文燕, 吴建新, 戴强, 江佛湖. 长效奥曲肽对大鼠肝纤维化门静脉高压形成的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2815-2819
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 池肇春, 叶维法. 新编实用肝病学. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社出版, 1994: 237
- 黄丽雯, 刘黎, 周健. 干细胞移植治疗肝硬化顽固性腹水的疗效观察. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 237-239
- Friendlander AH, Ettinger RL. Karnofsky performance status scale. *Spec Care Dentist* 2009; 29: 147-148
- Gilchrist ES, Plevris JN. Bone marrow-derived stem cells in liver repair: 10 years down the line. *Liver Transpl* 2010; 16: 118-129
- Astori G, Soncin S, Lo Cicero V, Siclari F, Sürder D, Turchetto L, Soldati G, Moccetti T. Bone marrow derived stem cells in regenerative medicine as advanced therapy medicinal products. *Am J Transl Res* 2010; 2: 285-295
- Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, Davis J, Dazzi F, Smadja C, Jensen SL, Nicholls JP, Apperley JF, Gordon MY. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 115-125
- Dai LJ, Li HY, Guan LX, Ritchie G, Zhou JX. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on hepatic cirrhosis. *Stem Cell Res* 2009; 2: 16-25
- Zhong YS, Lin N, Deng MH, Zhang FC, Tang ZF, Xu RY. Deficient proliferation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with chronic hepatitis B viral infections and cirrhosis of the liver. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 438-445

#### ■应用要点

本文将经肝动脉自体骨髓干细胞移植与奥曲肽有效的结合在一起, 在短时间内明显的改善顽固性腹水患者症状, 使腹水生长时间放缓, 并能在一定程度上提升白蛋白, 使肾功能好转, 这是常规治疗方法无法比拟的。

## ■同行评价

本文选题合理, 实验设计严谨, 方法得当, 骨髓干细胞移植+奥曲肽治疗顽固性肝硬化腹水其疗效显著, 有进一步研究的价值。

- 13 Salama H, Zekri AR, Zern M, Bahnassy A, Loutfy S, Shalaby S, Vigen C, Burke W, Mostafa M, Medhat E, Alfi O, Huttinger E. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant* 2010; 19: 1475-1486
- 14 傅念, 阳学风, 吴清, 刘朝霞, 胡杨, 彭飞. 经肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗不同病因肝硬化12例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2274-2278
- 15 Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006; 55 Suppl 6: vi1-vi12

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 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出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、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理。

### 3 版权

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

# 血清胰蛋白酶原-2对胰腺癌的诊断价值

崔婷婷, 郭汉斌, 李浩然, 马丽, 李冰, 杜因鹏, 曹建彪

## ■背景资料

胰腺癌是消化系统预后极差的恶性肿瘤之一, 每年新发病例与死亡例数几乎一致。目前手术治疗是有望治愈胰腺癌的唯一手段, 而80%-90%的病例确诊时已为晚期, 失去手术根治的机会, 因此, 早期诊断是改善胰腺癌预后的关键, 但目前临床仍缺少有效的非侵袭性筛查方法。

崔婷婷, 郭汉斌, 李浩然, 马丽, 李冰, 杜因鹏, 曹建彪, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心 北京市100700

作者贡献分布: 曹建彪与崔婷婷对此文所作贡献均等; 此课题由曹建彪与崔婷婷设计; 研究工作由崔婷婷、李浩然及杜因鹏操作完成; 数据分析由崔婷婷、杜因鹏及李冰完成; 本论文写作由崔婷婷、曹建彪、郭汉斌及马丽完成。

通讯作者: 曹建彪, 教授, 主任医师, 100700, 北京市, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病治疗中心。caojianbiao@sina.com 电话: 010-66721394

收稿日期: 2011-05-13 修回日期: 2011-07-21

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

## Diagnostic value of serum trypsinogen-2 in patients with pancreatic cancer

Ting-Ting Cui, Han-Bin Guo, Hao-Ran Li, Li Ma, Bing Li, Qiu-Peng Du, Jian-Biao Cao

Ting-Ting Cui, Han-Bin Guo, Hao Ran Li, Li Ma, Bing Li, Qiu-Peng Du, Jian-Biao Cao, Institute of Hepatology, the Military General Hospital of Beijing Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Correspondence to: Professor Jian-Biao Cao, Institute of Hepatology, the Military General Hospital of Beijing Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China. caojianbiao@sina.com

Received: 2011-05-13 Revised: 2011-07-21

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the significance of serum trypsinogen-2 in the detection of pancreatic cancer.

**METHODS:** Fresh serum samples were collected from 23 patients with pancreatic cancer, 30 patients with pancreatitis who received no prior treatment with somatostatin, and 35 normal controls. Serum levels of trypsinogen-2 were measured by ELISA.

**RESULTS:** The median level of serum trypsinogen-2 was significantly higher in patients with pancreatitis and those with pancreatic cancer than in normal controls (82.7  $\mu\text{g/L}$ , 13.8  $\mu\text{g/L}$  vs 0.8  $\mu\text{g/L}$  both  $P < 0.01$ ). The sensitivity and specificity of detection of serum trypsinogen-2 for differentiation between patients with pancreatic cancer and normal controls were 91.4% and 95.7%, respectively, and the area under the ROC

curve was 0.989. The sensitivity and specificity for differentiation between pancreatic cancer and pancreatitis were 63.3% and 73.9%, respectively, and the area under the ROC curve was 0.725.

**CONCLUSION:** Detection of serum trypsinogen-2 can be used to screen early pancreatic cancer.

**Key Words:** Pancreatic cancer; Pancreatitis; Serum trypsinogen-2; Diagnosis

Cui TT, Guo HB, Li HR, Ma L, Li B, Du QP, Cao JB. Diagnostic value of serum trypsinogen-2 in patients with pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2386-2390

## 摘要

**目的:** 研究血清胰蛋白酶原-2与胰腺癌的相关性。

**方法:** 选取中国人民解放军北京军区总医院内、外科诊断为胰腺癌未经治疗的患者23例; 发病<12 h、未经生长抑素治疗的胰腺炎患者30例, 对照组随机选取体检中心健康体检者35人。入组者留取血清标本, 采用ELISA法定量检测血清胰蛋白酶原-2的含量。

**结果:** 胰腺癌组患者血清胰蛋白酶原-2中位数为13.8  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为2.3-60.7  $\mu\text{g/L}$ , 胰腺炎组中位数为82.7  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为21.45-201.5  $\mu\text{g/L}$ , 对照组中位数为0.8  $\mu\text{g/L}$ , 四分位间距为0.6-1.2  $\mu\text{g/L}$ 。三组间两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 其中胰腺炎组血清胰蛋白酶原最高, 胰腺癌组次之, 均明显高于正常对照组。以44.05  $\mu\text{g/L}$ 为临界值, 此时血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌与胰腺炎的敏感度和特异度分别为63.3%和73.9%, ROC曲线下的面积为0.725。以1.85  $\mu\text{g/L}$ 为临界值, 鉴别诊断胰腺癌与健康人的敏感度为91.4%, 特异度为95.7%, ROC曲线下的面积为0.989。

**结论:** 血清胰蛋白酶原-2与胰腺癌相关, 其含量检测作为一种非侵入性筛选试验, 为临床早期胰腺癌筛查提供了手段。

## ■同行评议者

沈柏用, 副教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院肝胆胰外科中心; 李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

**关键词:** 胰腺癌; 胰腺炎; 血清胰蛋白酶原-2; 诊断

崔婷婷, 郭汉斌, 李浩然, 马丽, 李冰, 杜国鹏, 曹建彪. 血清胰蛋白酶原-2对胰腺癌的诊断价值. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2386-2390

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2386.asp>

## 0 引言

胰腺癌是一种恶性程度很高的消化系肿瘤, 其发病率在全球范围内逐年升高. 在美国消化系统癌症死亡病例居第2位, 癌症总死亡病例中居第4位<sup>[1]</sup>. 胰腺癌对放疗化疗敏感度不高, 早期根治性手术切除仍是目前唯一有希望治愈胰腺癌的手段. 但由于大部分胰腺癌确诊时已至中晚期, 尤其是胰体、尾部癌肿, 缺乏胰头部常见的梗阻性黄疸, 直至侵及四周而局部疼痛加重时方能发现, 预后很差(1999-2005年美国胰腺癌病局限者5年相对生存率约22%, 而伴有远处转移者5年相对生存率仅2%<sup>[1]</sup>). 因此, 早期诊断是改善预后的关键, 但目前临床仍缺少有效的非侵袭性筛查方法. 此外, 胰头癌和胰头部肿块型慢性胰腺炎不容易鉴别<sup>[2]</sup>, 尚有少数胰腺癌病例以急性胰腺炎为首发表现<sup>[3,4]</sup>, 从而导致了胰腺癌的延误诊治和部分胰腺炎的扩大治疗. 因此, 胰腺癌的早期诊断及其与胰腺炎的鉴别, 均为当前胰腺疾病研究重要课题. 胰蛋白酶原-2, 属于丝氨酸蛋白酶类, 由T-8氨基酸编码, 绝大部分由胰腺腺泡分泌, 以酶原的形式分泌到胰液中. 少数研究报道<sup>[5]</sup>, 胰蛋白酶原(包括胰蛋白酶原-1和胰蛋白酶原-2)表达于胰腺癌细胞中, 而有关血清胰蛋白酶原-2与胰腺癌相关性研究鲜有报道. 本研究用ELISA法定量检测胰腺癌、胰腺炎及对照组血清中胰蛋白酶原-2含量, 研究胰蛋白酶原-2与胰腺癌的相关性, 旨在为胰腺癌的筛查及早期诊断提供新的敏感性及特异性较高的无创指标.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集中国人民解放军北京军区总医院2009-12/2010-06内、外科23例诊断为胰腺癌治疗前的住院患者的血清, 以上患者均有术后病理证实, 未行放化疗. 此外, 收集同时期该院发病<12 h、未经生长抑素治疗的胰腺炎患者血清30例. 随机选取在该院门诊行健康体检的就诊人员35名为正常对照, 入组者均无明显上消化道症状及胰腺疾病病史; 无高血压、糖尿病、高脂血症; 无严重心、肺、肝、肾和神经、精

神疾病等; 并排除孕妇、酗酒者、药瘾者. 胰蛋白酶原-2检测试剂盒(由北京永瀚星港生物技术有限公司惠赠), 酶标仪为全自动多功能酶标仪(OLYMUS5421全自动生化分析仪). 本研究经中国解放军北京军区总医院伦理委员会伦理审查批准, 所有受试者均签署知情同意书.

### 1.2 方法

**1.2.1 标本收集:** 所有入组患者留取空腹静脉全血, 全血标本在采集后于2℃-8℃冷藏保存<2 d, 离心后取上清液分装后在-70℃冻存, 统一检测.

**1.2.2 血清胰蛋白酶原-2定量检测:** 试验严格按照试剂盒说明书进行. (1)离心: 全血标本经1 000 g离心10 min分离后取血清分装至-70℃冻存备用; (2)ELISA检测: 检测前将冻存标本放置于4℃冷藏室解冻, 检测当日取出至室温, 常规ELISA操作流程(双抗体夹心法)检测; (3)测定: 标准品包括5个标准品浓度(0、3、10、30、100、300 μg/L), 采用全自动多功能酶标仪(OLYMUS5421全自动生化分析仪)及检测统计软件, 分别记录标准品、样品、阳性对照、阴性对照和空白孔的A值, 取平均值进行结果计算和判断. **1.2.3 血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌的敏感度和特异度:** 应用SPSS16.0软件, 计算鉴别胰腺癌的敏感度和特异度, 绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线), 确定诊断找出最佳截断点, 一般取ROC曲线上最左上方的点. 并计算ROC曲线下面积(area under curve, AUC). AUC介于0.5-0.7诊断价值较低, AUC介于0.7-0.9时诊断价值中等, AUC介于0.9-1.0则诊断价值高.

**统计学处理** 试验数据采用SPSS16.0统计软件进行统计学分析. 计算中位数、四分位数间距、全距, 采用非参数检验Kruskal-Wallis H检验从总体上分析3组间有无差别, 组间多重比较采用Bonferroni法检验校正,  $P<0.0167$ 具有统计学意义. 计算检测指标的敏感度、特异度, 应用ROC曲线对这些检测指标进行综合评价.

## 2 结果

**2.1 病例基本组成** 本试验根据影像学及临床表现分为胰腺癌组、胰腺炎组、正常对照组, 3组的性别组成通过卡方检验, 差异无统计学意义( $P=0.62>0.05$ ). 3组实验的年龄组成通过单因素方差分析, 差异无统计学意义( $F=1.93, P=0.11>0.05$ ). 两组患者组与对照组的年龄、性别分布差异不明显(表1).

### ■研究前沿

胰腺癌发生时胰腺组织受损, 肿瘤分泌的一些细胞因子或致癌物质可释放至血液中, 这些标志物可能成为敏感度和特异度较高的筛检指标. 相关研究已成为全球的研究热点.

## ■相关报道

有研究报道,胰蛋白酶原(包括胰蛋白酶原-1和胰蛋白酶原-2)表达于胰腺癌细胞系中(CFPAC-1及CAPAN-1).

表 1 病例基本构成

分组	n	性别(男/女)	年龄(岁)
胰腺癌	23	13/10	60.39 ± 18.4
胰腺炎	30	20/10	47.60 ± 19.8
对照组	35	19/16	44.00 ± 17.4

表 2 各组血清胰蛋白酶原-2含量检测值 (μg/L)

分组	n	M	QL-QU	Min-Max
对照组	35	0.80	0.60-1.20	0.30-2.10
胰腺炎组	30	82.70	21.45-201.50	3.00-300.00
胰腺癌组	23	13.80 <sup>bd</sup>	2.30-60.70 <sup>bd</sup>	1.60-261.60 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 胰腺炎组; <sup>d</sup> $P < 0.001$  vs 对照组. M: 中位数; QL-QU: 四分位数间距; Min-Max: 最小值-最大值.

2.2 胰腺癌组、胰腺炎组及对照组血清胰蛋白酶原-2浓度 胰腺癌组、胰腺炎组及正常对照组血清胰蛋白酶原-2的浓度差异有统计学意义( $P < 0.001$ ). 胰腺炎组血清胰蛋白酶原最高, 胰腺癌组次之, 均明显高于正常对照组. 胰腺癌组患者血清明显高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 胰腺炎组与胰腺癌组比较差异亦有统计学意义( $P < 0.01$ , 表2).

2.3 血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌和正常人的敏感度和特异度 以点SEN 0.943(1-SPE0.087), 为最佳临界点, 其对应的临界值为1.85 μg/L, 曲线下的面积为0.989(95%CI: 0.971-1.007;  $P < 0.001$ ) 此时血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌与正常人的敏感度和特异度分别为91.4%和95.7%(图1).

以点SEN 0.633(1-SPE0.261), 为最佳临界点, 其对应的临界值为44.05 μg/L, 曲线下的面积为0.725(95%CI: 0.585-0.866;  $P = 0.005$ )此时血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌与胰腺炎的敏感度和特异度分别为63.3%和73.9%(图2).

## 3 讨论

胰腺癌是消化系中预后极差的恶性肿瘤, 病死率逾90%, 是发达国家癌症死亡的主要原因之一<sup>[6]</sup>, 发病率近年来逐渐升高, 1999年韩国胰腺癌年龄标准化发病率为5.6/100 000, 2008年上升至6.3/100 000, 年变化百分率为1.7<sup>[7]</sup>. 我国胰腺癌发病率亦明显上升, 也已经成为我国消化系统肿瘤的主要死亡原因之一. 目前手术治疗是唯一有望治愈胰腺癌的手段, 但术后5年生存率仍然处于很低的水平. 胰腺癌半数以上位于胰头,

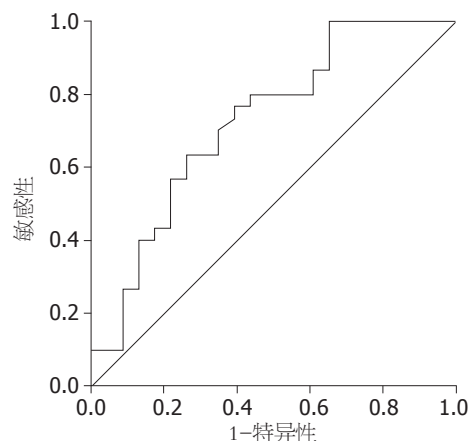


图 1 胰腺癌组和胰腺炎组粪便钙卫蛋白含量ROC曲线. AUC = 0.725,  $P = 0.005$ , 拒绝无效假设(AUC = 0.5).

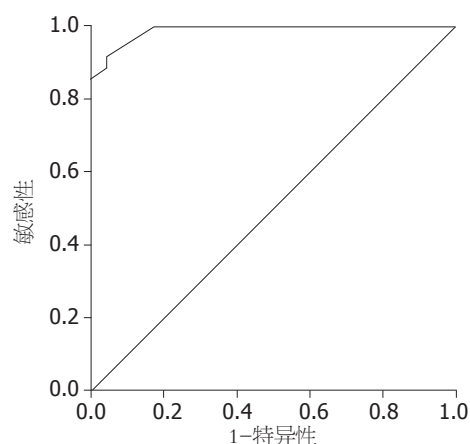


图 2 胰腺癌组和正常对照组粪便钙卫蛋白含量ROC曲线. AUC = 0.989,  $P < 0.001$ , 拒绝无效假设(AUC = 0.5).

约90%起源于腺管上皮, 由于受胰腺解剖学和胰腺癌生物学特征等因素的影响, 胰腺癌早期容易侵犯周围组织器官并发生远处转移, 加之胰腺癌早期无明显、特异的症状和体征, 缺乏简便、可靠的诊断方法, 确诊时多已失去行根治手术的机会. 因此, 进行深入的胰腺癌基础和临床研究, 提高胰腺癌早期诊断、治疗水平和改善患者预后, 是当前胰腺癌研究的重要课题. 通常胰腺癌和急性胰腺炎在临床表现上各有不同, 鉴别较容易. 但是, 有少数特殊类型的胰腺癌以急性胰腺炎为首表现, 诊断较难, 疗效欠佳. 1996-2006年部分国内期刊报道21例以急性胰腺炎为首表现的胰腺癌<sup>[8]</sup>, 其中仅1例得到及时诊断, 行胰十二指肠切除术, 术后18 mo, 一般情况正常, 1例明确诊断后失去根治机会, 19例未能及时诊断, 未能完成胰十二指肠切除术, 随访中位生存期为半年. Grinó等<sup>[9]</sup>认为胰腺癌可以导致胰腺实质的急性炎症, 究其原因在于: (1)肿瘤

堵塞主胰管导致胰液排出受阻; (2)肿瘤细胞生长引起局部血管缺血所致胰腺组织坏死; (3)肿瘤组织直接激活胰酶导致炎症. 正因为如此, 在临床诊断急性胰腺炎时 also 需考虑到胰腺癌的可能.

胰腺癌发生时由于胰腺组织受损, 肿瘤分泌的一些细胞因子或致癌物质可释放至血液中, 理论上检测这些标志物有助于胰腺癌的确诊或筛查, 目前已成为全球研究热点. 胰蛋白酶原-2是一种25 000 Da的蛋白酶, 绝大部分由胰腺腺泡以酶原的形式分泌到胰液中, 并在肠内被肠激酶激活, 变成高活性的其他消化酶的激活剂. 近年来发现, 胰蛋白酶原-2广泛分布在人类的皮肤、消化道、肺、肾、肝和胆道的上皮细胞中<sup>[10]</sup>, 在一些肿瘤细胞或组织中, 胰蛋白酶原-2也有高表达, 如胃癌<sup>[11]</sup>、结直肠癌<sup>[12]</sup>、卵巢癌<sup>[13]</sup>、肺癌<sup>[14]</sup>、前列腺癌<sup>[15]</sup>等. 胰蛋白酶原-2可以被自发激活或肿瘤组织分泌的内源性激活物所激活, 如肠激酶等. 胰蛋白酶原-2活化后不仅在细胞外基质的降解上发挥重要作用, 还能作为一种生长刺激因子, 活化蛋白酶激活受体-2(PAR-2), 促进细胞增殖转移, 另外, 在侵袭性生长、重度纤维化的胰腺癌较扩张性生长、轻中度纤维化的胰腺癌细胞中, PAR-2表达更高, 提示PAR-2的活化可能参与人胰腺癌细胞的侵袭和纤维化, 进而促进胰腺癌进展<sup>[16]</sup>. 胰蛋白酶原-2及蛋白酶激活受体-2在实体肿瘤增殖侵袭转移上发挥重要作用.

胰腺中的胰蛋白酶原-2浓度很高, 正常情况下, 仅有比例很小的一部分漏到血液循环中去, 急性胰腺炎时胰腺组织受损, 胰蛋白酶原-2大量入血, 血中胰蛋白酶原-2含量明显升高<sup>[17]</sup>, 胰腺组织受损越严重, 胰蛋白酶原-2含量越高<sup>[18]</sup>. 我们的试验结果显示正常对照组血清中存在少量的胰蛋白酶原-2, 胰腺炎组胰蛋白酶原-2含量明显高于正常对照组, 差异有统计学意义, 该结果与上述理论相符合. 本试验中正常对照组血清胰蛋白酶原-2中位数为: 0.8  $\mu\text{g/L}$ , 该数值与国外文献报道并不一致: Itkonen等<sup>[19]</sup>采用放射免疫法检测正常组血清胰蛋白酶原-2含量均值为17(2-60)  $\mu\text{g/L}$ . 由于检测方法及试剂盒的不同, 同时不能排除血清保存方法、时间、人种等因素的影响, 目前此类文献关于胰蛋白酶原-2的正常值尚不统一, 因此我们并不能直接比较上述结果. 胰腺癌组胰蛋白酶原-2含量明显高于正常组, 差异均有统计学意义( $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ), 因此, 我们可以推断胰腺癌时血中胰蛋白酶原-2含量明显升高,

同样是由于胰腺组织的损伤, 胰腺中的胰蛋白酶原-2释放入血所致.

本实验中根据ROC曲线结果, 当其正常临界值 $>1.85 \mu\text{g/L}$ 时, 95.7%的患者如无明显胰腺炎症状, 应高度警惕胰腺癌, 该类患者可安排下一步检查如腹部超声、CT或核磁等检查明确诊断, 提高胰腺癌的早期诊断率, 改善预后. 以44.05  $\mu\text{g/L}$ 为临界值, 此时血清胰蛋白酶原-2鉴别胰腺癌与胰腺炎的敏感度和特异度分别为63.3%和73.9%, 据我们前文所述, 胰蛋白酶原-2的含量与胰腺组织受损相关, 在急性胰腺炎中, 如经禁食、补液、生长抑素等治疗后血清胰蛋白酶原-2降低及腹痛缓解不明显, 或短期改善后反复, 应高度不除外胰腺癌, 此时应及时完善或复查腹部CT, 仍不能明确诊断者, 建议进一步行PET-CT检查.

因此, 血清胰蛋白酶原-2与胰腺癌关系密切, 其ELISA检测可作为一种非侵入性的初筛试验, 其检测方法简便、经济, 对胰腺癌具有较好的敏感性、特异性, 对临床初筛胰腺癌有一定的临床应用价值.

#### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300
- 2 陈汝福, 林青. 胰头癌与胰头肿块型慢性胰腺炎的鉴别和治疗. *岭南现代临床外科* 2010; 12: 415-416
- 3 Perera D, Kandavar R, Palacios E. Pancreatic adenocarcinoma presenting as acute pancreatitis during pregnancy: clinical and radiologic manifestations. *J La State Med Soc* 2011; 163: 114-117
- 4 Tsai MJ, Liao KS, Shih PM, Lee KT, Chuang WL, Chiu YJ, Lin ZY. Relapsed acute pancreatitis as the initial presentation of pancreatic cancer in a young man: a case report. *Kaohsiung J Med Sci* 2010; 26: 448-455
- 5 Ohta T, Terada T, Nagakawa T, Tajima H, Itoh H, Fonseca L, Miyazaki I. Pancreatic trypsinogen and cathepsin B in human pancreatic carcinomas and associated metastatic lesions. *Br J Cancer* 1994; 69: 152-156
- 6 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- 7 Jung KW, Park S, Kong HJ, Won YJ, Lee JY, Park EC, Lee JS. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2008. *Cancer Res Treat* 2011; 43: 1-11
- 8 王健, 谢敏, 包善华. 以急性胰腺炎为首发表现的胰腺癌-附21例分析. *胰腺病学* 2006; 6: 352-353
- 9 Grinó P, Martínez J, Grinó E, Carnicer F, Alonso S, Pérez-Berenguer H, Pérez-Mateo M. Acute pancreatitis secondary to pancreatic neuroendocrine tumours. *JOP* 2003; 4: 104-110
- 10 Koshikawa N, Hasegawa S, Nagashima Y, Mitsuhashi K, Tsubota Y, Miyata S, Miyagi Y, Yasumitsu H, Miyazaki K. Expression of trypsin by epithelial

#### ■创新盘点

本文采用ELISA方法检测了急性胰腺炎与胰腺癌患者、健康人血清中胰蛋白酶原-2的含量, 并采用ROC曲线分析得出相应的cut-off值.

## ■同行评价

本文选题恰当, 结论可靠, 具有一定的临床参考价值.

- cells of various tissues, leukocytes, and neurons in human and mouse. *Am J Pathol* 1998; 153: 937-944
- 11 Miyata S, Miyagi Y, Koshikawa N, Nagashima Y, Kato Y, Yasumitsu H, Hirahara F, Misugi K, Miyazaki K. Stimulation of cellular growth and adhesion to fibronectin and vitronectin in culture and tumorigenicity in nude mice by overexpression of trypsinogen in human gastric cancer cells. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16: 613-622
- 12 Williams SJ, Gotley DC, Antalis TM. Human trypsinogen in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2001; 93: 67-73
- 13 Paju A, Vartiainen J, Haglund C, Itkonen O, von Boguslawski K, Leminen A, Wahlström T, Stenman UH. Expression of trypsinogen-1, trypsinogen-2, and tumor-associated trypsin inhibitor in ovarian cancer: prognostic study on tissue and serum. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4761-4768
- 14 Diederichs S, Bulk E, Steffen B, Ji P, Tickenbrock L, Lang K, Zänker KS, Metzger R, Schneider PM, Gerke V, Thomas M, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. S100 family members and trypsinogens are predictors of distant metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 5564-5569
- 15 张慕淳, 孔祥波, 王伟华, 温建平, 张静洁. 肿瘤相关性胰蛋白酶原在前列腺癌中的表达及意义. *中国老年学杂志* 2007; 27: 669-670
- 16 Ikeda O, Egami H, Ishiko T, Ishikawa S, Kamohara H, Hidaka H, Mita S, Ogawa M. Expression of proteinase-activated receptor-2 in human pancreatic cancer: a possible relation to cancer invasion and induction of fibrosis. *Int J Oncol* 2003; 22: 295-300
- 17 Sainio V, Puolakkainen P, Kempainen E, Hedström J, Haapiainen R, Kivisaari L, Stenman UH, Schröder T, Kivilaakso E. Serum trypsinogen-2 in the prediction of outcome in acute necrotizing pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 818-824
- 18 王毅, 曾祝伦, 谯雅嘉, 胡孝彬. 胰蛋白酶原-2在急性胰腺炎诊断中的应用. *重庆医学* 2002; 31: 408-410
- 19 Itkonen O. Human trypsinogens in the pancreas and in cancer. *Scand J Clin Lab Invest* 2010; 70: 136-143

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发, 采用定量评价和定性分析相结合的方法, 对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究, 得出了65个学术期刊排行榜, 其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

## 腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病26例

殷骏, 毛忠琦, 周晓俊, 徐露, 朱政, 陈昕

殷骏, 毛忠琦, 周晓俊, 徐露, 朱政, 陈昕, 苏州大学附属第一医院腔镜外科 江苏省苏州市 215006

作者贡献分布: 此课题设计、研究过程手术操作均由毛忠琦、周晓俊、殷骏、徐露、朱政及陈昕完成; 研究数据分析由殷骏、徐露、朱政及陈昕完成; 本论文写作由殷骏完成。

通讯作者: 毛忠琦, 副主任医师, 215006, 江苏省苏州市沧浪区十梓街188号, 苏州大学附属第一医院腔镜外科。

maozq31@hotmail.com

电话: 0512-67780347

收稿日期: 2011-01-29 修回日期: 2011-07-20

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

### Treatment of type 2 diabetes mellitus by laparoscopic gastric bypass: an analysis of 26 cases

Jun Yin, Zhong-Qi Mao, Xiao-Jun Zhou, Lu Xu, Zhen Zhu, Xin Chen

Jun Yin, Zhong-Qi Mao, Xiao-Jun Zhou, Lu Xu, Zhen Zhu, Xin Chen, Department of Minimally Invasive Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhong-Qi Mao, Department of Minimally Invasive Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Avenue, Canglang District, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. maozq31@hotmail.com

Received: 2011-01-29 Revised: 2011-07-20

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

### Abstract

**AIM:** To summarize the initial experience with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) in the management of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**METHODS:** The clinical data for 26 T2DM patients ( $BMI \geq 24 \text{ kg/m}^2$ ,  $HbA_{1c} \geq 7\%$ , peptide C  $\geq 1 \mu\text{g/L}$ ) who received laparoscopic gastric bypass from May 2010 to November 2010 were retrospectively analyzed. The changes in FBG,  $HbA_{1c}$ , insulin and peptide C levels and in doses of hypoglycemic agents at different postoperative time points (1, 3 and 6 mo) were analyzed.

**RESULTS:** The operation was successful in all cases. Postoperatively, one case developed anastomotic bleeding and 2 cases developed gastro-

pareisis, but they were all cured after conservative medical management. All cases have been followed up and the total effective rate of the operation was 96.3%. Eleven cases were free of dependence on hypoglycemic agents from weeks 3 to 8 after LRYGB, and the 3- and 6-month cure rates were 36.7% and 50%, respectively.

**CONCLUSION:** LRYGP is safe, feasible and effective in the management of T2DM in the short term, and long-term efficacy still need further clinical follow-up.

**Key Words:** Laparoscopy; Gastric bypass; Type 2 diabetes mellitus

Yin J, Mao ZQ, Zhou XJ, Xu L, Zhu Z, Chen X. Treatment of type 2 diabetes mellitus by laparoscopic gastric bypass: an analysis of 26 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2391-2394

### 摘要

**目的:** 总结腹腔镜胃旁路手术治疗2型糖尿病的初步经验。

**方法:** 回顾性分析苏州大学附属第一医院2010-05/2010-11开展的腹腔镜下胃旁路手术(LRYGB)治疗2型糖尿病26例的临床资料。患者纳入标准:  $BMI \geq 24 \text{ kg/m}^2$ 、糖化血红蛋白( $HbA_{1c}$ )  $\geq 7\%$ 、空腹血清C肽  $\geq 1 \mu\text{g/L}$ , 患者对手术有强烈的要求, 依从性好。术后根据血糖情况逐步减少降糖药物的用量, 直至停药; 术后1、3、6 mo测空腹血糖、血清胰岛素、C肽及 $HbA_{1c}$ 等指标。

**结果:** 26例手术均在腹腔镜下顺利完成, 无1例中转开腹。1例术后出现吻合口出血, 2例出现胃瘫, 经保守治疗后均好转。所有病例均获随访, 术后除1例外其余患者均有效控制血糖, 有效率为96.3%; 11例于术后第3天至第8周内停用所有糖尿病药物, 3、6 mo的治愈率分别为36.7%、50.0%。

**结论:** 腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病安全可行, 疗效肯定, 但需严格把握手术适应证,

### ■背景资料

胃旁路手术20世纪60年代起应用于临床治疗病理肥胖, 后来发现其具有治疗2型糖尿病的功效。作为肥胖外科的减肥手术, 胃绑带术、胃旁路术、胆胰绕道术等均具有一定程度的控制血糖的作用, 但其效果及并发症的发生率各不一致。

### ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院普通外科

## ■研发前沿

目前治疗2型糖尿病主流推崇的手术方式是胃旁路术。手术适应证的把握、术中胃囊留存的大小以及肠襻旷置、转流的长度与降糖的效果之间的关系均是需要进一步临床探讨的。

其长期疗效仍需进一步临床随访、观察。

**关键词:** 腹腔镜; 胃旁路术; 2型糖尿病

殷骏, 毛忠琦, 周晓俊, 徐露, 朱政, 陈昕. 腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病26例. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2391-2394

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2391.asp>

## 0 引言

20世纪80年代, 外科医生们偶然发现一些伴有2型糖尿病的病理性肥胖患者在接受胃旁路手术后, 糖尿病得到了缓解、治愈。此后, 研究证实肥胖外科的一些手术对2型糖尿病有治疗作用<sup>[1]</sup>。苏州大学附属第一医院自2010-05起开展腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病, 至2010-11共完成手术26例, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本组患者共26例, 其中男8例, 女18例; 所有患者糖尿病的诊断符合1999年WHO标准, 即空腹血糖 $>7.1$  mmol/L和口服葡萄糖耐量试验2 h血糖 $>11.1$  mmol/L; 平均年龄51(27-72)岁; 平均体质量86.9(56-132) kg; 平均腹围98.8(73-139) cm; 平均体质量指数(body mass index, BMI): 30.2(24.35-51.56); 8例患者合并有不同程度的糖尿病并发症; 糖尿病病程平均8.5(1-20)年, 术前均接受正规内科治疗, 包括饮食控制、运动锻炼及口服降糖药或注射胰岛素等药物治疗, 效果欠佳; 术前均行内分泌及全身检查, 并接受心理辅导。术前平均HbA1c 10.1(6.3-15.4), 平均血清C肽值2.44(1.01-7.11)。

### 1.2 方法

**1.2.1 适应证:** 目前尚无一个统一的手术治疗糖尿病的适应证标准, 我们的筛选标准是: (1)2型糖尿病患者, 合并其他肥胖并发症者为佳; (2)年龄40岁左右(35-60岁); (3)糖尿病病程10年左右; (4)胰岛细胞功能存在(C肽高于正常低值的1/3; 餐后30 min C肽值为空腹值3倍以上); (5)要求手术, 依从性好, 获得家人支持。

**1.2.2 手术:** 全身麻醉下气管插管。患者取“大”字形体位, 主刀站立于患者两腿之间。10 mm观察孔位于脐左旁2 cm, 12 mm主操作孔位于脐上右旁5 cm, 其余3个5 mm辅助操作孔分别位于右锁骨中线肋缘下3 cm、左腋前线肋缘下3 cm及左腋前线平脐。在贲门下小弯侧血管弓第1、2分支之间(离贲门约4-5 cm)分离肝胃韧

带至小网膜囊胃后壁, 置入45 mm直线切割闭合器闭合近端胃至贲门左旁His角, 保留近端胃囊容积约20-50 mL。由Treitz韧带沿空肠向下100 cm, 用直线切割闭合器横断空肠; 远端空肠端由结肠前上移至近端胃囊, 用直线切割闭合器行“胃空肠侧侧吻合”, 吻合口2.5 cm, 连续缝合关闭开口; 胃空肠吻合口向远端空肠下100 cm处与近端空肠用直线切割闭合器行“小肠侧侧吻合”; 术中胃镜检查吻合口通畅, 无渗漏, 无张力, 胃、小肠腔内均无出血。排列小肠肠管, 非可吸收线连续缝合系膜裂孔。术后常规不放置胃管和腹腔引流管。

**1.2.3 观察指标:** 术前和术后3、6 mo空腹血糖、口服葡萄糖耐量试验、HbA1c、糖尿病并发症的变化。

**统计学处理** 用t检验法进行统计学分析。

## 2 结果

26例均顺利完成手术, 无中转开腹, 平均手术时间156.4(110-210) min, 术中平均出血44.8(15-200) mL。23例无早期并发症发生, 均术后第1天开始进食流质, 第3天进食半流质, 术后平均住院时间5.6(3-7) d, 平均住院费用为人民币33 895.6(25 512.6-58 414.7)元。1例术后第1天出现呕血, 量共约200 mL, 考虑为吻合口出血, 予以胃管内注入冰生理盐水+去甲肾上腺素, 静脉泵注施他宁等保守治疗后血止; 2例术后进食后出现呕吐, 消化系造影提示胃瘫, 予以进食后改变体位, 口服胃肠道动力药等保守治疗, 分别于1、3 wk后治愈。

患者术后常规监测空腹及餐后血糖; 术后6 mo随访, 共有11名患者分别在术后第3天至第8周内停用任何降糖药物, 3、6 mo的治愈率分别为36.7%、50.0%。1例患者术后胰岛素剂量仍同术前, 但血糖能基本维持在正常范围, 较术前改善; 其余患者胰岛素用量较术前均有不同程度的减少。空腹、餐后1、2、3 h的血糖较术前有明显改善(表1), 有显著统计学差异, 餐后30 min血糖差异不显著是否与样本少有关, 有待进一步观察研究。糖化血红蛋白(HbA1c)术后第3、6月分别为 $6.72 \pm 0.90$ 、 $6.67 \pm 0.82$ , 与术前的 $9.35 \pm 3.01$ 相比有统计学差异( $P < 0.05$ )。12例患者伴有高血压, 术后血压均恢复正常, 停用降压药。患者出院后逐渐恢复正常饮食, 饮食量减少, 降为原进食量的1/4-1/2, 有明显的进食后饱胀感, 进食米饭后尤甚; 无腹痛、腹泻。术后1-2 wk恢

## ■相关报道

Scopinaro等报道312例2型糖尿病患者行胆胰绕道术, 经10年的临床随访, 其治愈率达97%。

表 1 OGTT试验, 患者手术前后血糖变化

分组	空腹血糖	餐后血糖			
		30 min	60 min	120 min	180 min
术前	9.60 ± 3.53	14.29 ± 3.37	17.61 ± 5.57	20.37 ± 4.80	18.38 ± 6.76
术后6 mo	6.81 ± 2.34	13.86 ± 2.84	14.19 ± 3.94	8.70 ± 5.49	6.78 ± 3.92
t值	3.359	0.498	2.556	8.160	7.569
P值	<0.050	>0.100	<0.050	<0.001	<0.001

## ■应用要点

腹腔镜下胃旁路手术治疗2型糖尿病安全可行, 疗效肯定, 但需严格把握手术适应证, 其长期疗效仍需进一步临床随访、观察。

复正常生活。术后每天口服金施尔康或善存片1粒。定期复查, 各项生化指标均正常, 无贫血及营养不良。

## 3 讨论

糖尿病多年以来一直被认为是一种需依靠内科治疗的慢性、进展性疾病, 一般需要终身服药。自从Pories等<sup>[2]</sup>发现减重手术对2型糖尿病有很好的疗效后, 糖尿病的治疗从此进入了外科治疗时代。Buchwald等<sup>[3]</sup>在对22 094个患者的Meta分析中发现外科手术治疗糖尿病效果满意, 不同的手术方式其各自的治愈率分别为: 胆胰绕道术98.9%, 胃旁路术83.7%, 胃绑带术47.9%。Pories等<sup>[2]</sup>在对608例2型糖尿病患者行胃旁路术后14年随访, 83%患者的糖尿病得到治愈。Schauer等<sup>[4]</sup>在对240例肥胖患者施行腹腔镜下胃旁路术后同样达到了83%的治愈率。本组病例术后3、6 mo分别有6例和11例患者停用任何降糖药物, 治愈率达36.7%、50.0%, 前期效果较令人满意, 由于病例数少, 随访时间尚短, 远期效果是否稳定、是否有反复等还有待进一步观察。

大量的文献报道<sup>[1,4]</sup>治疗2型糖尿病的效果满意, 而1型糖尿病效果欠佳, 虽然国内也有学者报道<sup>[5]</sup>1型糖尿病的治愈率在61%。但我们还是采取比较谨慎的态度, 选择2型糖尿病的患者。其次, 从某种程度上讲糖尿病与肥胖是伴发的, 胃旁路手术既减重又降糖, 大量的国外资料<sup>[3]</sup>已证明, 但是对于BMI偏高或正常的糖尿病患者其手术治疗效果如何尚无定论, 这有待于进一步临床观察。香港、台湾有学者<sup>[6,7]</sup>研究认为BMI低于35的糖尿病患者胃旁路手术同样有效。Lee等<sup>[8]</sup>报道了腹腔镜下胃旁路手术治疗BMI介于23-35的2型糖尿病患者62例, 1、2年的治愈率分别为57%和55%, 糖化血红蛋白由术前的9.7%降至2年后的5.9%。由于华人普遍较欧美人种的BMI低, 所有BMI与手术效果的关系的研究具有更广泛的意义。应对要求手术的患者病期有个

恰当的评估与把握。对于较早期的患者、糖尿病初发, 内科治疗血糖水平控制良好, 糖化血红蛋白<7%, 我们称之为第一阶段; 第二阶段: 糖尿病内科治疗血糖水平控制欠佳, 糖化血红蛋白持续>7%; 到了三阶段, 出现全身多器官的并发症, 胰岛细胞功能衰竭, 此时则不宜手术, 即使手术, 效果也不理想。著名的2型糖尿病前瞻性研究UKPDS发现初诊2型糖尿病患者群的β细胞功能仅及正常人的50%, 而且以后以每年4.5%的速率下滑。所以, 我们尽量选择病程在5-10年左右的患者。本组有1例术后效果欠佳, 其糖尿病病程有20年, 可能与之有关。第四, 胰岛功能的评估。这是筛选患者、判断术后效果的重要指标。但是体内胰岛β细胞功能评估可操作性更差, 存在很多的矛盾和争论, 没有一种方法可以可靠地评估β细胞功能的标准。原因诸多, 主要是胰岛素分泌量和分泌时相的变化及受糖负荷和胰岛素抵抗双重刺激调节导致胰岛素分泌方式的复杂性<sup>[9]</sup>。临床上我们主要采用口服葡萄糖耐量试验, 测定血清血糖、胰岛素、C肽的浓度来判断胰岛β细胞功能。

目前临床上采用的成熟的手术方式主要有可调节的胃绑带术、胃旁路术、迷你胃旁路术、胆胰绕道术等。在诸多手术方式中, 胆胰绕道术的治疗效果最好。Scopinaro等<sup>[10]</sup>报道312例2型糖尿病患者行胆胰绕道术, 经10的临床随访, 其治愈率达97%。在最近一项随机、对照试验<sup>[11]</sup>中, 胃绑带术疗效虽达可73%, 但由于其控制血糖仅依靠减少机体的摄入和体质量的减轻, 所以其效果相对要差, 且没有患者在术后的前6 mo内达到治愈效果。有鉴于胆胰绕道术后发生腹泻、营养不良等并发症的几率较高及胃绑带术疗效相对欠佳, 我们选择采用了胃旁路术式。

腹腔镜下胃旁路术是一项安全、可靠的技术<sup>[12,13]</sup>。Buchwald等<sup>[3]</sup>的一项涉及136个研究、包括22 094例患者的荟萃分析显示, 5 644例接受胃旁路术的患者术后近期(30 d内)的死

## ■同行评价

本文选题新颖, 结合临床实际, 具有一定的临床实用价值和前景。

亡率为0.5%。相比较而言, 腹腔镜下胆囊切除术, 这项已被广泛接受的胆囊切除“金标准”的手术死亡率为0.26%-0.6%, 两者相当。本组研究中有3例出现并发症, 其中吻合口出血与学习曲线有关, 随着手术数量的增加、操作技巧的提高, 并发症的发生率会下降; 胃瘫的发生与糖尿病本身对植物神经的影响有关。据报道<sup>[14]</sup>, 糖尿病胃轻瘫发病率高达30%-50%。但各家报道不一, 故而因重视、加强术前检查, 对糖尿病并发症的评估更完善, 准确把握。本组所有病例随访至今未出现死亡。有研究报道<sup>[15]</sup>, 胃旁路术后出现缺铁性贫血, 发生率约为10%, 补充硫酸亚铁有助于防止其出现。本组病例由于术后时间尚短, 未有发现缺铁性贫血。

糖尿病带来了巨大的经济、医疗、社会压力与负担, 鉴于当前糖尿病内科治疗仅能控制病情而无法治愈, 外科手术无疑为糖尿病的治疗提供了全新的、令人振奋的选择。对于手术的长期疗效、潜在的风险及其内在的作用机制有待于进一步的研究探讨。

## 4 参考文献

- Scheen AJ, De Flines J, De Roover A, Paquot N. Bariatric surgery in patients with type 2 diabetes: benefits, risks, indications and perspectives. *Diabetes Metab* 2009; 35: 537-543
- Pories WJ, MacDonald KG, Morgan EJ, Sinha MK, Dohm GL, Swanson MS, Barakat HA, Khazanie PG, Leggett-Frazier N, Long SD. Surgical treatment of obesity and its effect on diabetes: 10-y follow-up. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 582S-585S
- Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737
- Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, Eid GM, Mattar S, Ramathan R, Barinas-Mitchel E, Rao RH, Kuller L, Kelley D. Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2003; 238: 467-484; discussion 84-85
- 张新国. 糖尿病是手术能够治愈的胃肠道疾病. 中华普通外科杂志 2010; 25: 1-3
- Lee WJ, Wang W, Lee YC, Huang MT, Ser KH, Chen JC. Effect of laparoscopic mini-gastric bypass for type 2 diabetes mellitus: comparison of BMI<35 and >35 kg/m<sup>2</sup>. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 945-952
- Huang CK, Shabbir A, Lo CH, Tai CM, Chen YS, Houng JY. Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass for the Treatment of Type II Diabetes Mellitus in Chinese Patients with Body Mass Index of 25-35. *Obes Surg* 2011; 21: 1344-1349
- Lee WJ, Chong K, Chen CY, Chen SC, Lee YC, Ser KH, Chuang LM. Diabetes remission and insulin secretion after gastric bypass in patients with body mass index < 35 kg/m<sup>2</sup>. *Obes Surg* 2011; 21: 889-895
- 李光伟. 胰岛β细胞功能评估. 国外医学·内分泌学分册 2003; 23: 159-163
- Scopinaro N, Marinari GM, Camerini GB, Papadia FS, Adami GF. Specific effects of biliopancreatic diversion on the major components of metabolic syndrome: a long-term follow-up study. *Diabetes Care* 2005; 28: 2406-2411
- Dixon JB, O'Brien PE, Playfair J, Chapman L, Schachter LM, Skinner S, Proietto J, Bailey M, Anderson M. Adjustable gastric banding and conventional therapy for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 299: 316-323
- Vagenas K, Panagiotopoulos S, Kehagias I, Karamanakis SN, Mead N, Kalfarentzos F. Prospective evaluation of laparoscopic Roux en Y gastric bypass in patients with clinically severe obesity. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6024-6029
- Adams TD, Gress RE, Smith SC, Halverson RC, Simper SC, Rosamond WD, Lamonte MJ, Stroup AM, Hunt SC. Long-term mortality after gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2007; 357: 753-761
- Jones KL, Russo A, Stevens JE, Wishart JM, Berry MK, Horowitz M. Predictors of delayed gastric emptying in diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1264-1269
- Avgerinos DV, Llaguna OH, Seigerman M, Lefkowitz AJ, Leitman IM. Incidence and risk factors for the development of anemia following gastric bypass surgery. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1867-1870

编辑 李薇 电编 何基才

# 序贯疗法和四联疗法对幽门螺杆菌初治失败患者的疗效评价

张春红, 魏金文, 程兆明, 吴莺, 黄红梅

张春红, 镇江市新区大路卫生院 江苏省镇江市 212134  
魏金文, 程兆明, 吴莺, 黄红梅, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001

作者贡献分布: 此课题由张春红设计; 魏金文指导; 研究过程由张春红、魏金文、程兆明及吴莺操作完成. 资料分析及统计由张春红完成; 英文翻译由黄红梅完成.

通讯作者: 魏金文, 主任医师, 212001 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院消化科. weijinwen1818@sina.com.cn  
电话: 0511-85026370

收稿日期: 2011-04-27 修回日期: 2011-06-21

接受日期: 2011-06-28 在线出版日期: 2011-08-08

## Sequential therapy versus quadruple therapy in the management of *Helicobacter pylori* infection after initial treatment failure

Chun-Hong Zhang, Jin-Wen Wei, Zhao-Ming Cheng, Ying Wu, Hong-Mei Huang

Chun-Hong Zhang, Dalu Hospital of Zhenjiang Xinqu, Zhenjiang 212134, Jiangsu Province, China

Jin-Wen Wei, Zhao-Ming Cheng, Ying Wu, Hong-Mei Huang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jin-Wen Wei, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. weijinwen1818@sina.com.cn

Received: 2011-04-27 Revised: 2011-06-21

Accepted: 2011-06-28 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of levofloxacin-containing sequential therapy versus bismuth-containing quadruple therapy in the management of *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection after initial treatment failure.

**METHODS:** Ninety-eight patients who had failed eradication of *H.pylori* infection using traditional standard triple therapy were enrolled and randomly divided into treatment group and control group. The treatment group underwent a 10-day sequential therapy, which consisted of rabeprazole and levofloxacin for the first 5 days, and rabeprazole, clarithromycin and furazolidone for another 5 days. The control group received a 7-day quadruple therapy, which consisted of

proton pump, clarithromycin inhibitors, criterion, and bismuth. The curative effects were estimated using the urea breath test four weeks after the treatment, and the safety was also evaluated.

**RESULTS:** The eradication rate of *H.pylori* infection was 83.0% in the treatment group and 68.2% in the control group. There was a significant difference in the eradication rate of *H.pylori* infection between the two groups ( $P < 0.05$ ). The incidence of adverse reactions was comparable between the two groups, and no serious adverse reactions occurred.

**CONCLUSION:** Although both sequential therapy and quadruple therapy are effective and safe in the management of *H.pylori* infection after initial treatment failure, sequential therapy is associated with better efficacy.

**Key Words:** Sequential therapy; *Helicobacter pylori*; Levofloxacin; Quadruple therapy

Zhang CH, Wei JW, Cheng ZM, Wu Y, Huang HM. Sequential therapy versus quadruple therapy in the management of *Helicobacter pylori* infection after initial treatment failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2395-2398

## 摘要

**目的:** 评价含左氧氟沙星序贯疗法和含铋剂四联疗法治疗根除失败的幽门螺杆菌感染患者的疗效以及发生的不良反应.

**方法:** 将98例经传统标准三联疗法(7 d)根除幽门螺杆菌失败的患者, 随机分成治疗组和对照组. 治疗组(序贯疗法)方案为前5 d雷贝拉唑+左氧氟沙星, 后5 d雷贝拉唑+克拉霉素+呋喃唑酮, 疗程10 d. 对照组(四联疗法)方案为质子泵抑制剂+克拉霉素+甲硝唑+铋剂, 疗程7 d. 治疗结束至少4 wk后, 通过<sup>13</sup>C-尿素呼吸试验判断根除幽门螺杆菌效果, 并评价耐受性.

**结果:** 序贯疗法(治疗组)幽门螺杆菌根除率为83.0%, 四联疗法(对照组)幽门螺杆菌根除

## ■背景资料

随着根治*H.pylori*标准化治疗的广泛推广和抗生素的大量使用, *H.pylori*耐药株的发生率不断上升, 以致*H.pylori*根除的难度越来越大. 报道显示目前采用传统标准三联治疗方案根治*H.pylori*的成功率已经降低至67.2%. 对于根除初治失败的幽门螺杆菌感染患者, 标准三联治疗疗效更低. 因此, 寻找一种新的根治*H.pylori*补救措施已刻不容缓.

## ■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

## ■相关报道

De Francesco等研究发现序贯疗法序是根除初治 *H.pylori* 感染比较高的疗效方案。王震华等也发现含左氧氟沙星的10 d三联方案疗效优于含铋剂的7 d四联方案, 不良反应率/严重不良反应率低于后者。

率为68.2%, 两组间比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。不良反应发生率相似, 无严重的不良反应病例。

**结论:** 含左氧氟沙星序贯疗法(10 d)和含铋剂四联疗法(7 d)均是治疗根除幽门螺杆菌感染失败患者有效的补救措施, 而不良反应均不明显。但含左氧氟沙星序贯疗法疗效更为满意。

**关键词:** 序贯疗法; 幽门螺杆菌; 左氧氟沙星; 四联疗法

张春红, 魏金文, 程兆明, 吴莺, 黄红梅. 序贯疗法和四联疗法对幽门螺杆菌初治失败患者的疗效评价. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2395-2398

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2395.asp>

## 0 引言

随着对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)感染根治治疗的广泛开展, *H.pylori*耐药株的发生率不断上升, 以致*H.pylori*根除的难度越来越大。有报道认为采用传统标准三联治疗方案根治*H.pylori*的成功率已经降低至67.2%<sup>[1]</sup>。因此, 对于根除失败的*H.pylori*感染患者的补救治疗方案的选择越来越被人们所重视。目前国内大多数研究认为, 四联疗法(7 d)是比较常用于根治*H.pylori*感染失败的补救疗法。序贯疗法(10 d)作为补救方案治疗疗效如何, 国内报道较少<sup>[2]</sup>。2008-01/2011-03, 江苏大学附属医院消化内科采用含左氧氟沙星10 d序贯疗法治疗根治失败*H.pylori*感染患者, 并与传统四联疗法治疗患者进行比较, 取得了比较满意的疗效。现报道如下, 同时对相关文献复习。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2008-01/2011-03江苏大学附属医院消化内科就诊的门诊或者病房患者, 经胃镜确诊的胃、十二指肠溃疡、慢性浅表、萎缩性胃炎患者, 其中*H.pylori*阳性作为入选对象, 该入选病例均曾给予正规三联疗法(7 d), 具体方案为: 质子泵抑制剂/枸橼酸铋(标准剂量)+阿莫西林(1 g)/甲硝唑(0.4 g)+克拉霉素(0.5 g), bid; 根除*H.pylori*治疗, 疗程结束4 wk后行<sup>13</sup>C-尿素呼气实验(<sup>13</sup>C-UBT)检测*H.pylori*仍为阳性者, 作为*H.pylori*初治失败患者, 共98例为入选病例, 其中男53例、女45例, 年龄21-72岁。采用随机、单盲、平行对照研究方法, 分成治疗组(50例)和对

照组(48例)。两组临床资料均具有可比性。入选病例还须排除严重肝、肾、肺等器官功能障碍, 排除相关药物过敏史、孕妇和哺乳期妇女以及近4 wk内已接受质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)、抗生素、H<sub>2</sub>受体拮抗剂(H<sub>2</sub> receptor antagonist H<sub>2</sub>RA)及铋剂治疗的患者。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方案:** 治疗组(序贯疗法)50例患者前5 d给予雷贝拉唑10 mg加左氧氟沙星0.2 g, 口服, 2次/d, 后5 d. 给予雷贝拉唑10 mg加克拉霉素0.5 g加呋喃唑酮0.1 g, 口服, 2次/d. 治疗组疗程10 d. 对照组(四联疗法)48例患者给予雷贝拉唑10 mg加阿莫西林1.0 g, 口服, 甲硝唑0.4 g, 口服, 2次/d复方铝酸铋1.3 g 3次/d. 对照组疗程为7 d. 服药开始后第3、7、14天记录两组药物不良反应, 了解患者服药依从性及对药物的耐受性。治疗结束后第4周行<sup>13</sup>C-UBT检测*H.pylori*, 统计*H.pylori*根除率及药物不良反应发生率。

**1.2.3 *H.pylori*检测:** 采用快速尿素酶试验、胃黏膜组织学检查和<sup>13</sup>C-UBT。胃镜检查时, 于胃窦和胃体各取2块进行快速尿素酶试验或胃黏膜组织学检查, 试验阳性者即诊断*H.pylori*感染。补救治疗结束至少4 wk后进行<sup>13</sup>C-UBT检测, 结果为阴性, 确定为*H.pylori*已根除。阳性者为补救治疗失败, 通过根除率评判该方案的疗效。

**统计学处理** 采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为结果有显著性差异。

## 2 结果

**2.1 *H.pylori*根除率比较** 治疗组(50例): 47例完成全程治疗, 失访3例。其中39例治疗下行<sup>13</sup>C-UBT证实*H.pylori*感染已根除, 根除率为83.0%。对照组(48例): 44例完成全程治疗, 失访4例。其中30例治疗下行<sup>13</sup>C-UBT证实*H.pylori*感染已根除, 根除率为68.2%, 差异具显著统计学意义 ( $\chi^2 = 4.76, P<0.05$ )。

**2.2 不良反应比较** 主要为恶心、纳差和轻度皮疹, 症状比较轻, 均不影响治疗。其中治疗组4例(8.5%), 对照组3例(6.8%), 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

*H.pylori*感染是消化性溃疡, 慢性胃炎最主要的病因, 根除*H.pylori*对治疗慢性胃炎, 促进溃疡愈合以及预防消化性溃疡复发、减少溃疡病的并发症、预防癌变均有重要意义<sup>[3,4]</sup>。*H.pylori*感染

理想治疗方案是含PPI联合两种抗生素的三联一周疗法, 该方案起初用于临床时, *H.pylori*的平均根除率80%以上。但随着根治*H.pylori*标准化治疗的广泛推广和抗生素的大量使用, *H.pylori*耐药率日渐增高, 目前传统的标准三联疗法(7 d)方案*H.pylori*根除治疗失败率达30%以上。研究表明对于标准三联疗法(7 d)治疗失败的*H.pylori*感染的患者, 临床比较多用的补救治疗措施是(7 d)四联疗法, 其方案包括一种PPI加铋剂及两种抗生素(四环素, 甲硝唑或呋喃唑酮)。但其疗效也只有70%左右<sup>[5,6]</sup>, 因此, (7 d)四联疗法作为根治失败的*H.pylori*补充措施疗效也不甚理想, 寻找新的补救方案已刻不容缓。

10 d序贯疗法是意大利De Francesco等<sup>[7]</sup>提出的根除*H.pylori*的新方案。De Francesco等发现14 d二联药物治疗和随后的7 d三联药物治疗的*H.pylori*根除率显著高于给药顺序相反的方案(即7 d三联药物治疗和随后的14 d二联药物治疗), 两种给药方案的*H.pylori*根除率分别为97.3%和81.6%, 这提示抗生素的应用顺序影响了*H.pylori*的根除率。基于这一研究结果, Vaira等<sup>[8]</sup>进一步简化了方案, 提出了10 d序贯疗法: 在5 d的诱导期中应用PPI(PPI常规剂量bid, 联合阿莫西林1 000 mg bid, 在接下来的5 d中, 应用PPI常规剂量bid, 替硝唑500 mg bid和克拉霉素500 mg bid的三联治疗, 取得了满意的疗效。Vaira等<sup>[8]</sup>对300例患者的随机双盲研究显示, 10 d序贯疗法*H.pylori*根除率(89%)明显高于传统三联疗法(77%)。亦有学者对序贯疗法进行改良为含左氧氟沙星的方案, 亦取得比较好疗效<sup>[9,10]</sup>。汇总所有10 d序贯疗法相关研究的结果显示, 共约1800例患者接受了该方案的治疗, 意向性分析(ITT分析)提示*H.pylori*根除率超过了90%。因此, 序贯治疗是目前对*H.pylori*根除率比较高的疗效的方案。但随着阿莫西林, 灭滴灵等耐药性的增加, 原序贯疗法*H.pylori*的根治率也开始下降。

近几年研究发现<sup>[11]</sup>左氧氟沙星对体内外*H.pylori*均有很强的抗菌活性, 对左氧氟沙星的抗*H.pylori*体外抗菌活性的研究表明其MIC范围及MIC<sub>50</sub>及耐药性均低于克拉霉素, 且对阿莫西林和克拉霉素同时耐药的三重耐药菌株对左氧氟沙星均敏感。王震华等<sup>[12]</sup>检索Medline、Embase、Cinahl和CBM-disc, 筛选比较含左氧氟沙星的三联方案和含铋剂的四联方案的随机对照试验以进行荟萃分析得出, 含左氧氟沙星的10 d三联方案疗效优于含铋剂的7 d四联方案(86.9%

vs 61.8%,  $P<0.00001$ ), 不良反应率/严重不良反应率低于后者(16.8% vs 37.1%,  $P<0.0001$ ; 0.41% vs 12.1%,  $P<0.001$ ), 耐受性较好。而含左氧氟沙星的7 d三联方案疗效与含铋剂的7 d四联方案相当。近年来临床采用左氧氟沙星为基础三联方案可有效根除*H.pylori*, 取得了比较明确的疗效<sup>[13,14]</sup>。但含左氧氟沙星10 d序贯疗法作为补救治疗方案根除*H.pylori*疗效如何, 国内外报道不多。

根据上述文献提示, 本研究采用了10 d序贯疗法作为补救措施用于临床治疗根治失败*H.pylori*感染。并用*H.pylori*敏感性高的左氧氟沙星, 痢特灵分别替代阿莫西林和甲硝唑来观察其*H.pylori*根除率。本研究显示在治疗根治失败*H.pylori*感染的补救措施中, 10 d序贯疗法*H.pylori*根除率为83%, 7 d四联疗法*H.pylori*根除率为68.2%, 两组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。且均无严重的不良反应病例。结果证明10 d序贯疗法疗效优于7 d四联疗法。其确切机制可能为: (1)序贯疗法疗程10 d, 长于传统的四联疗法7 d; (2)序贯用药时抗生素左氧氟沙星和痢特灵耐药菌株产生较低; (3)抗生素用药有先后顺序, 细菌能形成克拉霉素的流出通道, 将药物快速转运出细胞外, 阻止克拉霉素与核糖体结合。而左氧氟沙星作用于细胞壁, 其第一阶段治疗能通过破坏细胞壁而阻止克拉霉素流出通道形成, 可能提高第二阶段克拉霉素的疗效<sup>[7,15]</sup>。

总之, 含左氧氟沙星序贯疗法(10 d)和含铋剂的四联疗法(7 d)均是治疗根除*H.pylori*感染失败患者有效的补救措施, 而不良反应均不明显。但含左氧氟沙星10 d序贯疗法疗效更为满意, 为*H.pylori*补充治疗方案提供新的途径, 新的思路。

#### 4 参考文献

- 1 王改芹, 谢佳平, 金红. 66例幽门螺杆菌感染者耐药性分析. 临床内科杂志 2008; 25: 747-749
- 2 童锦禄, 冉志华, 沈骏, 黄美兰, 陈翔, 萧树东. 10天序贯疗法与标准三联疗法治疗幽门螺杆菌感染荟萃分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 601-801
- 3 魏金文, 张尤历, 吴莺, 许静. CagA阳性幽门螺杆菌感染和血清胃泌素相关性探讨. 中华消化杂志 2004; 24: 245
- 4 张万岱, 萧树东, 胡伏莲. 幽门螺杆菌共识意见(2003·年安徽桐城). 中华消化杂志 2004; 24: 126-127
- 5 邹健, 董洁, 于晓峰. 左氧氟沙星三联方案与常规四联补救方案治疗幽门螺杆菌感染的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1160-1165
- 6 元刚, 陈昱湖. 幽门螺杆菌根除失败的补救措施. 临床消化病杂志 2006; 18: 70-71
- 7 De Francesco V, Zullo A, Margiotta M, Marangi S, Burattini O, Berloco P, Russo F, Barone M, Di Leo A, Minenna MF, Stoppino V, Morini S, Panella C, Francavilla A, Ierardi E. Sequential treatment for

#### ■应用要点

含左氧氟沙星序贯疗法(10 d)和含铋剂四联疗法(7 d)均是治疗根除幽门螺杆菌感染失败患者有效的补救措施, 而不良反应均不明显。但含左氧氟沙星序贯疗法疗效更为满意。

## ■同行评价

本文选题密切结合  
实际,有一定实  
际应用价值和临  
床意义。

- Helicobacter pylori does not share the risk factors of triple therapy failure. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 407-414
- 8 Vaira D, Zullo A, Vakil N, Gatta L, Ricci C, Perna F, Hassan C, Bernabucci V, Tampieri A, Morini S. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for Helicobacter pylori eradication: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 556-563
- 9 英恒敏, 马筱玲, 张义永. 唑诺酮类药物耐药机制及临床应用方案. *中国感染与化疗杂志* 2009; 9: 154-157
- 10 仇晓华, 萧树东. 根除幽门螺杆菌10 d序贯疗法的临床实践. *胃肠病学* 2009; 14: 58-59
- 11 张喜梅, 张振玉. 左氧氟沙星联合雷贝拉唑及果胶铋治疗幽门螺杆菌的疗效. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1951-1953
- 12 王震华, 熊光苏, 吴叔明. 含左氧氟沙星的三联方案补救根除幽门螺杆菌: 荟萃分析. *中华消化杂志* 2007; 27: 534-537
- 13 Murakami K, Fujioka T, Okimoto T, Sato R, Kodama M, Nasu M. Drug combinations with amoxycillin reduce selection of clarithromycin resistance during Helicobacter pylori eradication therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 67-70
- 14 胡水清, 张玫. 10日序贯疗法治疗幽门螺杆菌感染39例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1693-1695
- 15 罗雁, 刘会领, 金玉坤, 陆伟. 幽门螺杆菌根除失败原因及防治对策探讨. *国际消化病杂志* 2008; 28: 211-212

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 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: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t=4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

# 针灸治疗消化性溃疡的Meta分析

陈程, 崔海福, 严兴科, 王富春

陈程, 崔海福, 王富春, 长春中医药大学针灸推拿学院 吉林省长春市 130117

严兴科, 甘肃中医学院针灸推拿系 甘肃省兰州市 730000

国家自然科学基金资助项目, No. 81072863

教育部博士点基金资助项目, No. 20092227120002

吉林省教育厅“十一五”规划科研基金资助项目, No. 吉教科合字2009第377号

作者贡献分布: 陈程与严兴科对此文所作贡献均等; 此课题由严兴科设计; 研究过程由陈程、崔海福及严兴科操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王富春提供; 数据分析由陈程完成; 本文写作由陈程与严兴科完成。

通讯作者: 严兴科, 副教授, 730000, 甘肃省兰州市, 甘肃中医学院针灸推拿系. yanxingke@126.com

收稿日期: 2011-04-13 修回日期: 2011-05-23

接受日期: 2011-07-22 在线出版日期: 2011-08-08

## A meta-analysis of randomized controlled trials assessing efficacy and safety of acupuncture and moxibustion in the treatment of peptic ulcer

Cheng Chen, Hai-Fu Cui, Xing-Ke Yan, Fu-Chun Wang

Cheng Chen, Hai-Fu Cui, Fu-Chun Wang, Department of Acupuncture and Massage, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin Province, China

Xing-Ke Yan, School of Acupuncture-moxibustion and Massotherapy, Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072863; the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20092227120002; and the Scientific Research Foundation of Education Department of Jilin Province during the 11<sup>th</sup> Five-Year Plan Period, No. 2009-377

Correspondence to: Associate Professor Xing-Ke Yan, School of Acupuncture-moxibustion and Massotherapy, Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. yanxingke@126.com

Received: 2011-04-13 Revised: 2011-05-23

Accepted: 2011-07-22 Published online: 2011-08-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of acupuncture and moxibustion in the treatment of peptic ulcer (gastric and duodenal ulcers).

**METHODS:** The Wan Fang, VIP, CNKI and PubMed databases were searched to retrieve randomized controlled trials RCTs assessing the

efficacy and safety of acupuncture and moxibustion versus conventional therapy in the treatment of peptic ulcer. The quality of the included studies was evaluated using the Jadad score. Statistical analysis was carried out using RevMan 4.2.

**RESULTS:** Ten studies involving a total of 1 122 patients were included. The results of meta-analysis showed significant differences between patients undergoing acupuncture and moxibustion and those undergoing conventional therapy in terms of total response rate [total RR = 1.10, 95%CI (1.05, 1.16), Z = 4.02, P < 0.0001], conversion rate from *H.pylori* positive to negative status [total RR = 1.12, 95%CI (1.03, 1.21), Z = 2.71, P = 0.007], and recurrence rate [total OR = 0.42, 95%CI (0.24, 0.74), Z = 3.05, P = 0.002], but demonstrated no significant difference in the healing efficiency between the two groups [total RR = 1.02, 95%CI (0.97, 1.08), Z = 0.75, P = 0.45].

**CONCLUSION:** Acupuncture and moxibustion are effective in the treatment of peptic ulcer in the immediate and long term.

**Key Words:** Acupuncture and moxibustion; Peptic ulcer; Randomized controlled trials; Meta-analysis

Chen C, Cui HF, Yan XK, Wang FC. A meta-analysis of randomized controlled trials evaluating efficacy and safety of acupuncture and moxibustion in the treatment of peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2399-2404

## 摘要

**目的:** 评价针灸治疗消化性溃疡(胃溃疡、十二指肠溃疡)的有效性和安全性, 分析临床研究的现状。

**方法:** 检索万方数据库、VIP数据库、CNKI数据库、Pubmed数据库及手工检索, 纳入针灸治疗消化性溃疡与常规药物比较的随机对照试验(RCT)和临床对照试验(CCT), 根据Jadad评分标准评价纳入研究项目的质量。采用RevMan4.2统计软件进行分析。

## ■背景资料

消化性溃疡的发病率逐渐增高, 成为一种常见的消化性疾病, 其中在我国的发病率约为10%, 针灸治疗本病广泛应用于临床, 方法众多, 但其疗效和安全性尚未得到评价。

## ■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海龙华医院肿瘤外科

## ■研究前沿

针灸治疗消化性溃疡的近期和远期疗效肯定,但由于纳入的CCT和RCT研究少,高质量、大样本、多中心的随机对照研究更少,因此还不能得出完全肯定的结论,尚需高质量证据来进一步验证。

**结果:** 10项研究符合纳入标准, 共计1 122例患者。Meta分析显示针灸治疗消化性溃疡与常规药物治疗总有效率比较, 差异有统计学意义[合并RR(固定效应模型) = 1.10, 95%CI: 1.05-1.16,  $Z = 4.02$ ,  $P < 0.0001$ ]; 针灸治疗与常规药物幽门螺杆菌转阴率比较, 差异有统计学意义[合并RR(固定效应模型) = 1.12, 95%CI: 1.03-1.21,  $Z = 2.71$ ,  $P = 0.007$ ]; 针灸治疗与常规药物胃镜下溃疡面积愈合有效率比较, 差异无统计学意义[合并RR(固定效应模型) = 1.02, 95%CI: 0.97-1.08,  $Z = 0.75$ ,  $P = 0.45$ ]; 针灸治疗与常规药物复发率比较, 差异有统计学意义[合并OR(固定效应模型) = 0.42, 95%CI: 0.24-0.74,  $Z = 3.05$ ,  $P = 0.002$ ].

**结论:** 针灸治疗消化性溃疡的近期和远期疗效肯定, 但由于纳入的CCT和RCT研究少, 高质量、大样本、多中心的随机对照研究更少, 因此还不能得出完全肯定的结论, 尚需高质量证据来进一步验证。

**关键词:** 针灸; 消化性溃疡; 随机对照; Meta分析

陈程, 崔海福, 严兴科, 王富春. 针灸治疗消化性溃疡的Meta分析. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2399-2404  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2399.asp>

## 0 引言

消化性溃疡是指胃肠道黏膜被胃酸和胃蛋白酶等自身消化而发生的溃疡, 主要包括胃溃疡和十二指肠溃疡, 该病属于中医学“胃脘痛”范畴。随着社会的发展, 消化性溃疡的发病率逐渐增高, 成为一种常见的消化性疾病, 其中在我国的发病率约为10%<sup>[1]</sup>。消化性溃疡的常规治疗主要采用西药三联疗法或四联疗法, 经过长期临床验证其治疗存在很多不良反应, 如恶心、呕吐、上腹不适、轻微腹泻、皮疹、便秘等, 影响了治疗消化性溃疡的长期疗效。现代研究证实针灸治疗消化性溃疡广泛应用于临床, 方法众多, 但其疗效和安全性尚未得到评价, 因此, 本文收集了2001-2011年发表的针灸治疗消化性溃疡的随机对照试验, 进行质量评价并作Meta分析, 以评价针灸治疗消化性溃疡的疗效, 为消化性溃疡的治疗提供有益的证据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以“消化性溃疡”、“十二指肠溃疡”、“胃溃疡”和“针刺”、“针灸”、“艾灸”、“电针”、“耳穴贴压”、“穴位

埋线”、“Peptic ulcer”、“Gastric ulcer”、“Duodenal ulcer”、“acupuncture”、“moxibustion”、“Electroacupuncture”、“Auricular application pressure”、“Catgut implantation at acupoint”等为关键词, 检索2001-01/2011-02万方数据库、重庆维普全文数据库(VIP)、中国知网(CNKI)、PubMed国际互联网上数据库中的相关文献, 各库交叉检索, 以免遗漏。不能获取的文献通过长春中医药大学图书馆手工检索获得。检索日期均截止到2011-02-28。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** (1)研究类型: 2001-01/2011-03生物医学期刊发表的有关针灸治疗消化性溃疡的临床研究文献, 且不受语种限制, 无论是否用盲法; (2)研究对象具有明确的诊断标准; (3)随机分组, 并含有对照组, 且治疗组以针灸治疗为主, 或者同时还包括针灸配合其他疗法, 对照组采用基础药物治疗为主, 将两组进行比较。

**1.2.2 排除标准:** (1)动物实验研究; (2)综述文献; (3)个案报道, 专家经验报道; (4)其他基础性疾病伴随消化性溃疡的针灸治疗研究; (5)针灸作为辅助疗法; (6)不同针灸手法或不同选穴组方的观察组与对照组间的比较; (7)设立多个对照组。

**1.2.3 随机对照试验和临床对照试验选择标准:** 根据国际Cochrane协作网制定的手检指南, 检索符合要求的相关随机对照试验(RCT)和临床对照试验(CCT)文章<sup>[2]</sup>: (1)在一个或多个患者中进行的一种研究; (2)同期比较的两种或多种干预措施; (3)RCT: 将受试者分入不同处理组时采用随机分配法(随机数字表、计算机随机排序、抽签、抛硬币等随机方法)的临床治疗试验; (4)CCT: 将受试者分入不同处理组时采用半随机分配法(根据入院顺序、住院号、出生日期、星期几等交替分配到治疗组或对照组)或不能确定随机分配方法的临床治疗试验。

**1.2.4 研究质量评价:** 研究质量评价纳入研究的方法学质量采用Jadad质量计分法<sup>[3]</sup>。(1)患者是否是真正随机分配到试验组或对照组, 并保证观察者和患者在分配前不知道将分在哪一组(随机分2分。2分: 描述正确的随机方法; 1分: 作者叙述为随机); (2)是否除所要研究的干预措施外, 其他处理两组一致; (3)是否采用盲法(盲法评分0-2分。2分: 患者和试验者双盲, 且叙述其方法; 1分: 作者叙述为双盲; 0分: 非盲法); (4)是否存在排除偏倚, 即退出试验的情况2组是否有系统差异(是否描述是失访及失访的原因计为0-1分)。

RCT总分为1-5分, 3分以上为高质量的研究, 1-2分为低质量的研究。由2名评价员独立进行资料的质量评价, 如意见不一致, 讨论协商解决。

1.2.5 文献筛选与数据提取: 两位研究者独立阅读文献题目和摘要, 对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 以确定是否真正符合纳入标准, 对有分歧的文献通过讨论或有第3位研究人员决定是否纳入。两位研究人员对纳入的研究进行独立的数据提取, 提取的内容有: 作者、年份、随机化方法运用、样本含量、盲法的运用、基线均衡性、研究对象选择(纳入与排除标准的确定)、干预措施、疗效评价指标、随访与否等。

1.2.6 疗效指标: 有效率、胃镜检查溃疡面积愈合率、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)转阴率、溃疡复发率。

**统计学处理** 采用Cochrane国际协作组织提供的Review Manager(RevMan 4.2)统计软件进行Meta分析。采用RevMan4.2统计软件绘制漏斗图进行发表偏倚性的检测。计数资料使用计算合并的相对危险度(RR)值。然后进行统计学异质性检验(Test for heterogeneity), 当实验结果同质性较好时( $P>0.05$ )采用固定效应模型(fixed effects model)合并效应量, 反之用随机效应模型(random effects model)。选择RR作为效应尺度指标, 计算其95%CI, 以 $P<0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 文献的一般情况 按检索策略和资料搜集方法, 共检索到英文文献16篇, 无相符文献; 中文文献179篇, 经阅读标题、摘要、全文后, 共10项研究<sup>[4-13]</sup>符合纳入标准, 均为国内发表文献, 故存在语种的偏倚性, 发表时间为2001-2011年。

### 2.2 文献评价

2.2.1 标准评价: (1)诊断标准: 6项研究<sup>[7-10,12,13]</sup>采用中国医药科技出版社出版的《中药新药临床研究指导原则》, 1项研究<sup>[4]</sup>采用孙传兴主编《临床疾病诊断依据治愈好转标准》(第2版), 1项研究<sup>[5]</sup>采用危北海主编的《中医脾胃学说应用研究》内的标准, 1项研究<sup>[11]</sup>采用《内科学》诊断标准; (2)纳入和排除标准: 3项研究<sup>[7,8,12]</sup>提到纳入标准, 3项研究<sup>[9,10,12]</sup>提到排除标准; (3)疗效判定标准: 2项研究<sup>[8,11]</sup>采用《中医临床病症诊断疗效标准》, 2项研究<sup>[9,12]</sup>采用《中药新药临床研究指导原则》, 1项研究<sup>[5]</sup>采用《中医脾胃学说应用研究》作为标准, 1项研究<sup>[6]</sup>采用《中医病症诊断疗效标准》, 4项研究<sup>[4,7,10,13]</sup>未明确给

出疗效判定标准。

2.2.2 随机对照试验的方法学: (1)随机方法: 10项研究中1项研究<sup>[4]</sup>采用了随机表法, 2项<sup>[6,9]</sup>采用就诊顺序随机, 1项<sup>[7]</sup>采用SAS随机数字程序, 6项研究<sup>[5,8,10-13]</sup>仅提出了随机字样, 未给出明确的随机方法; (2)盲法的运用: 各项研究均未提及盲法的使用情况; (3)脱落、远离疗效和随访的报道: 10项研究均未提及病例脱落、远离疗效的情况; 有6项研究<sup>[4,5,9,11-13]</sup>报道了随访情况, 其中4项研究<sup>[4,9,12,13]</sup>随访1年, 1项研究<sup>[5]</sup>随访17 mo, 1项研究<sup>[11]</sup>随访6 mo, 除<sup>[5]</sup>外均详细分析了复发率。

2.2.3 基线均衡性分析: 10项研究中除<sup>[5]</sup>仅提到了治疗组与对照组有“可比性”外, 其他报道组间相似性良好。

2.2.4 质量评价: 根据Jadad评分标准评分, 其中3项研究<sup>[4,6,7]</sup>为2分, 其余研究均为1分, 表明这些随机对照试验的方法学质量较低。

2.2.5 干预措施: 10项研究中治疗组有3项研究<sup>[6,7,9]</sup>采用了单纯针刺, 1项研究<sup>[8]</sup>采用了针刺加西药, 2项研究<sup>[10,13]</sup>采用了穴位埋线, 2项研究<sup>[4,11]</sup>采用了穴位埋线加中药, 2项研究<sup>[5,12]</sup>采用了穴位埋线加西药; 对照组10项研究均采用西药治疗。

2.2.6 不良反应及安全性评价: 有4项研究<sup>[5,7,8,12]</sup>提及了不良反应, 其中<sup>[5,8,12]</sup>报道了对照组的不良反应为恶心、呕吐、上腹不适、轻微腹泻, 皮疹、便秘, 仅有1项研究<sup>[5]</sup>报道了穴位埋线的不良反应, 但未影响治疗。其余研究均未提到不良反应, 表明针灸治疗消化性溃疡安全、有效。

### 2.3 针灸治疗消化性溃疡的Meta分析

2.3.1 针灸治疗消化性溃疡的总有效率: 针灸治疗消化性溃疡的总有效率比较参考9项研究<sup>[4-7,9-13]</sup>。异质性检验结果显示, 具有同质性( $\chi^2 = 12.32$ ,  $P = 0.14$ ), 采用固定效应模型。合并效应量RR = 1.10, 表明试验因素对疾病的有益影响很大, 合并效应量RR的95%CI: 1.05-1.16, 表明针灸治疗消化性溃疡有效。合并效应量的检验结果, 表明在统计学上两组比较具有极其显著性差异( $Z = 4.02$ ,  $P<0.0001$ , 图1)。

2.3.2 治疗后*H.pylori*转阴率: 治疗后*H.pylori*转阴率比较参考文献4项研究<sup>[4,8,9,12]</sup>。异质性检验结果显示, 具有同质性( $\chi^2 = 2.84$ ,  $P = 0.42$ ), 采用固定效应模型。合并效应量RR = 1.12, 表明试验因素对疾病的有益影响很大, 合并效应量RR的95%CI: 1.03-1.21, 表明针灸治疗消化性溃疡有效。合并效应量的检验结果, 表明在统计学上两组比较具有极其显著性差异( $Z = 2.71$ ,  $P = 0.007$ , 图2)。

### ■创新盘点

现代针灸治疗消化性溃疡的文献较多, 但目前关于针灸治疗本病的有效性和安全性评价还没发现, 本研究利用RevMan4.2统计软件分析针灸治疗消化性溃疡的疗效与研究过程中存在的不足, 为今后的研究提供了理论依据。

## ■同行评价

本文为针灸消化性溃疡提供了科学依据,具有很好的学术价值。

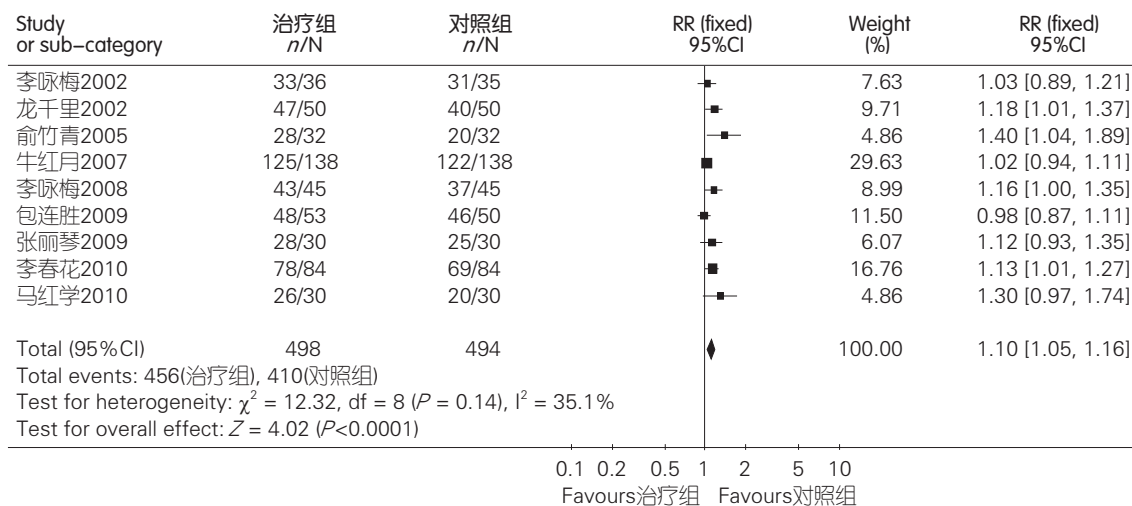


图1 Meta分析治疗组与对照组的总有效率。

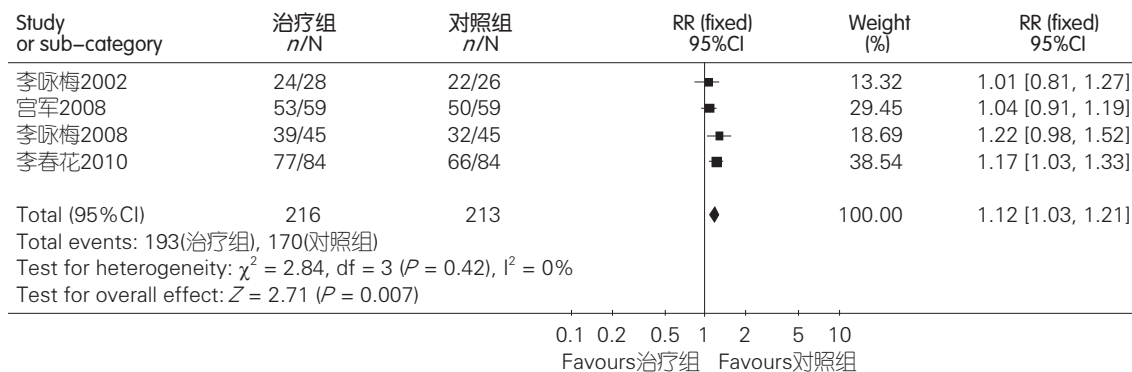


图2 Meta分析治疗组与对照组的H.pylori转阴率。

2.3.3 胃镜下溃疡面积愈合有效率: 胃镜下溃疡面积愈合有效率比较参考4项研究<sup>[7,8,10,12]</sup>, 异质性检验结果显示, 具有同质性( $\chi^2 = 3.75$ ,  $P = 0.29$ ), 采用固定效应模型。合并效应量RR = 1.02, 表明试验因素对疾病的有益影响很大, 合并效应量RR的95%CI: 0.97-1.08, 表明针灸治疗消化性溃疡有效。合并效应量的检验结果, 表明两组胃镜下溃疡愈合率比较无统计学意义( $Z = 0.75$ ,  $P = 0.45$ , 图3)。

2.3.4 针灸治疗消化性溃疡复发率: 针灸治疗消化性溃疡复发率比较参考5项研究<sup>[4,9,11-13]</sup>。异质性检验结果, 具有同质性( $\chi^2 = 2.78$ ,  $P = 0.60$ ), 采用固定效应模型。合并效应量OR = 0.42, 表明试验因素对疾病的有益影响很大, 合并效应量OR的95%CI: 0.24-0.74, 表明针灸治疗哮喘有效。合并效应量的检验结果, 表明两组比较具有极其显著性差异( $Z = 3.05$ ,  $P = 0.002$ , 图4)。

2.3.5 发表偏倚性分析: 通过对上述观察指标进行发表偏析性分析, 结果发现H.pylori转阴率、胃镜下溃疡面积愈合率疗效比较的倒漏斗图上

分布的点基本上呈对称性, 提示不存在发表偏倚, 而对于总有效率和复发率比较的倒漏斗图上分析的点则呈不对称性, 提示纳入的研究可能存在发表偏倚(图5)。

### 3 讨论

本研究采用Meta分析对收集到的针灸治疗消化性溃疡临床随机对照研究进行总体疗效评价, 结果提示针灸治疗消化性溃疡疗效优于常规药物治疗, 且远期疗效值得肯定, 无不良反应。但是由于纳入的RCT和CCT研究过少, 特别是高质量、大样本、多中心的随机研究更少, 纳入排除标准不统一, 无盲法运用, 病例脱落失访情况报告不详细, 无高质量研究出现, 文献存在发表和语种偏倚性等问题, 因此还不能得出完全肯定的结论, 尚需高质量证据来进一步验证。所以我们工作的重点是进行严格的临床研究设计、开展多中心、大样本、高质量的随机对照试验, 以增强研究结论的可靠性, 促进针灸治疗消化性溃疡临床研究水平的提高, 为临床应用提供

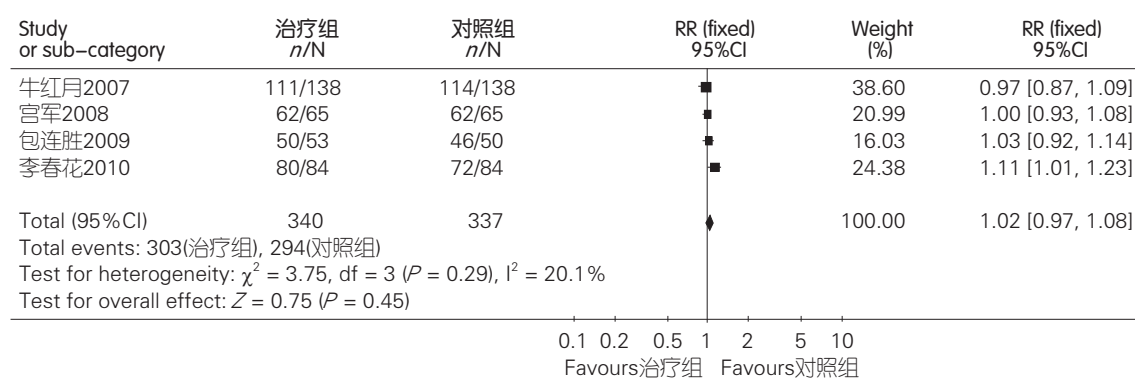


图 3 Meta分析治疗组与对照组的胃镜下溃疡面积愈合有效率.

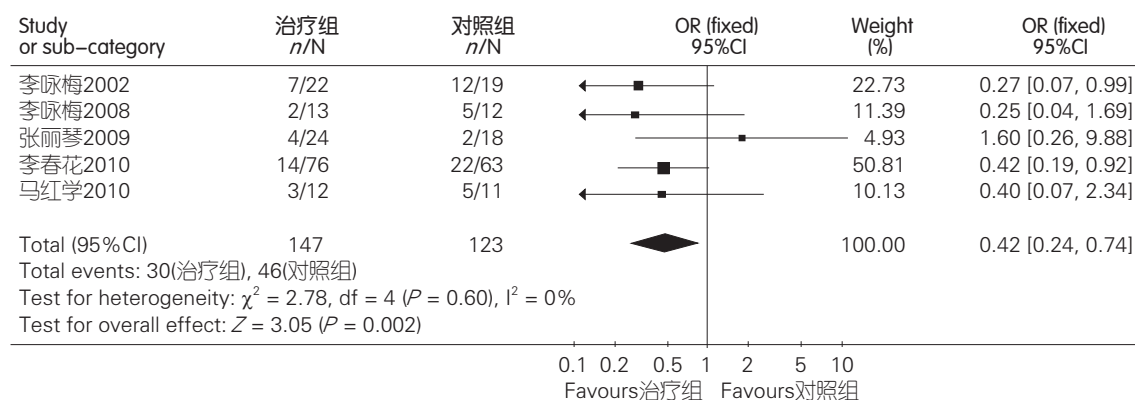
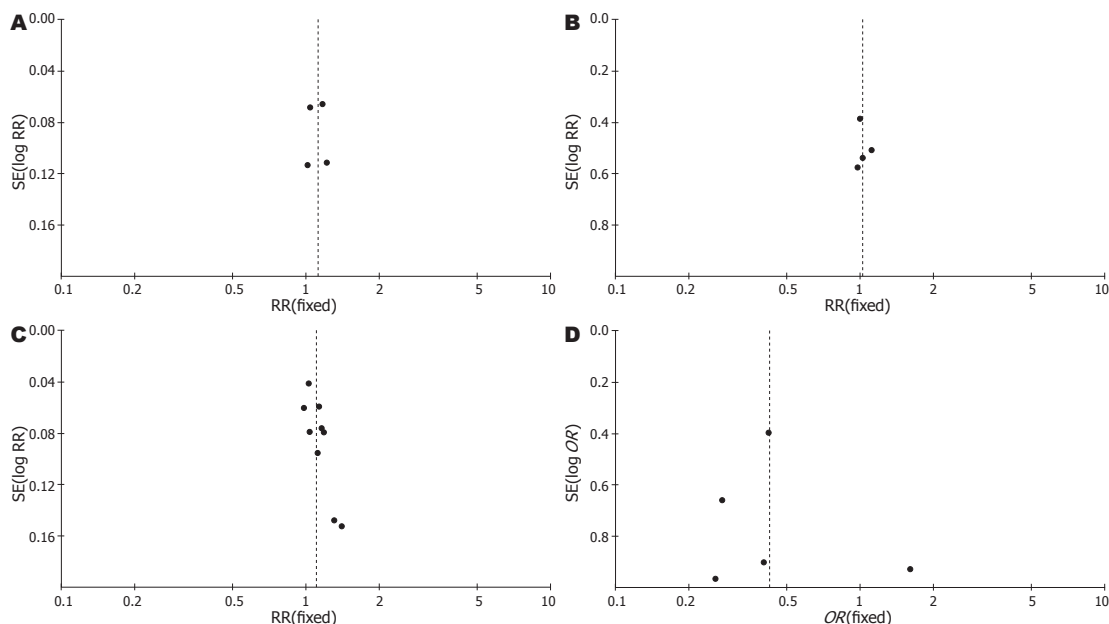


图 4 Meta分析治疗组与对照组的随访后复发率.

图 5 偏倚性分析. A: *H. pylori*转阴率; B: 胃镜下溃疡面积愈合率; C: 总有效率; D: 随访后复发率.

科学、真实、客观的依据.

#### 4 参考文献

- 1 张晗, 刘鹏年, 崔雷. 国外消化性溃疡文献研究热点分析. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1150-1155
- 2 Jadad AR, Moher M, Browman GP, Booker L, Sig-

- ouin C, Fuentes M, Stevens R. Systematic reviews and meta-analyses on treatment of asthma: critical evaluation. *BMJ* 2000; 320: 537-540
- 3 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12

- 4 李咏梅, 吴杞. 穴位埋线配合益气活血法治疗消化性溃疡36例临床观察. 湖南中医药导报 2002; 8: 250-251
- 5 龙千里, 张文春. 穴位埋线联合四联疗法治疗消化性溃疡50例. 新医学 2002; 33: 347-348
- 6 俞竹青, 毛水泉. 针灸治疗胃、十二指肠溃疡32例临床观察. 光明中医 2005; 20: 31-32
- 7 牛红月, 杨铭, 强宝全, 郭庆捷, 杨兆钢. 针刺中脘治疗消化性溃疡: 多中心随机对照研究. 中国针灸 2007; 27: 89-92
- 8 官军. 针刺配合奥美拉唑镁肠溶片治疗消化性溃疡65例疗效观察. 河北中医 2008; 30: 969-970
- 9 李咏梅, 吴杞. 针刺干预治疗消化性溃疡45例临床观察. 中医药导报 2008; 14: 84-85
- 10 包连胜. 穴位埋线治疗消化性溃疡53例疗效观察. 内蒙古民族大学学报(自然科学版) 2009; 24: 95-96
- 11 张丽琴, 陈银山. 埋线疗法配合平疡灵治疗消化性溃疡60例临床观察. 河北中医 2009; 31: 677-678
- 12 李春花. 穴位埋线疗法联合西药三联疗法治疗幽门螺杆菌相关性十二指肠溃疡84例疗效观察. 中国现代药物应用 2010; 4: 14-15
- 13 马红学. 穴位埋线治疗消化性溃疡30例疗效观察. 山西中医学院学报 2010; 11: 24-25

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 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), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 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, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《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。

# 胃肌纤维瘤1例

张洪生, 王丽, 余英豪, 黄培生, 魏小杰, 高爱明

张洪生, 王丽, 黄培生, 魏小杰, 高爱明, 福建中医药大学附属人民医院病理科福建省福州市 350004  
余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025  
作者贡献分布: 本文写作由张洪生与王丽共同完成; 余英豪与黄培生进行审校; 技术操作由王丽、高爱明及魏小杰共同完成。  
通讯作者: 张洪生, 350004, 福建省福州市台江区八一七中路602号, 福建中医药大学附属省人民医院病理科. zhhs@qq.com  
电话: 0591-83947164  
收稿日期: 2011-05-07 修回日期: 2011-06-18  
接受日期: 2011-06-28 在线出版日期: 2011-08-08

## Myofibroma of the stomach: a case report

Hong-Sheng Zhang, Li Wang, Ying-Hao Yu,  
Pei-Sheng Huang, Xiao-Jie Wei, Ai-Ming Gao

Hong-Sheng Zhang, Li Wang, Pei-Sheng Huang, Xiao-Jie Wei, Ai-Ming Gao, Department of Pathology, the People's Hospital of Fujian Province, Fuzhou 350004, Fujian Province, China  
Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 602 Baiyiqi Middle Road, Taijiang District, Fuzhou 350025, Fujian Province, China  
Correspondence to: Hong-Sheng Zhang, Department of Pathology, the People's Hospital of Fujian Province, 602 Baiyiqi Middle Road, Taijiang District, Fuzhou 350004, Fujian Province, China. zhhs@qq.com  
Received: 2011-05-07 Revised: 2011-06-18  
Accepted: 2011-06-28 Published online: 2011-08-08

## Abstract

Myofibroma of the stomach is rare and there has been only one reported case in previous Chinese literature. Here we report a case of myofibroma of the stomach in a 43-year-old female patient who presented to our hospital with repeated melena. Gastrosocopy revealed an ulcerated tumor in the stomach. CT showed a hyperdense soft-tissue mass. The patient received distal subtotal gastrectomy. Postoperative pathologic and immunohistochemical examinations confirmed the initial diagnosis of myofibroma. The patient recovered well postoperatively.

Key Words: Stomach; Myofibroma; Differential diagnosis

Zhang HS, Wang L, Yu YH, Huang PS, Wei XJ, Gao AM. Myofibroma of the stomach: a case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(22): 2405-2407

## 摘要

本文报道1例发生于胃的肌纤维瘤。女, 43岁, 因反复排黑便, 胃镜发现胃部隆起型肿物伴溃疡形成, CT显示胃窦区局部胃壁增厚, 见软组织密度增高影。入院行远端胃大部切除术, 术后行病理及免疫组织化学检查确诊为胃窦部肌纤维瘤。术后患者恢复良好。

关键词: 胃; 肌纤维瘤; 鉴别诊断

张洪生, 王丽, 余英豪, 黄培生, 魏小杰, 高爱明. 胃肌纤维瘤1例. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2405-2407  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2405.asp>

## 0 引言

肌纤维瘤/肌纤维瘤病(myofibroma/myofibromatosis)是指有收缩功能的肌样细胞排列在薄壁血管周围形成的良性肿瘤, 孤立性者称为肌纤维瘤, 多发性者为肌纤维瘤病。绝大部分发生于2岁以前, 约60%为先天性<sup>[1]</sup>。发生于胃部的肌纤维瘤罕见, 查阅国内文献仅2006年见1例病例报道<sup>[2]</sup>。现将福建中医药大学附属人民医院1例胃肌纤维瘤病例报道如下。

## 1 病例报告

女, 43岁, 因反复排黑便40余天就诊于福建中医药大学附属人民医院。外院胃镜示: 胃体下部前壁-胃窦部见一隆起型肿物(图1), 约2.8 cm×1.8 cm×1.7 cm; 外院胃镜病理示: (胃体下部)黏膜符合溃疡病改变。入院后查体见患者贫血面容, 余无异常。血常规示: 红细胞 $2.93 \times 10^{12}/L$ , 血红蛋白69.3 g/L; 粪便隐血试验阴性; 上腹部CT示(图2): 胃窦区软组织密度增高影, 大小约2.7 cm×4.7 cm, 局部胃腔狭窄, 胃周围及腹膜后未见肿大淋巴结, 腹腔内未见积液; 提示胃窦区占位。后对患者行剖腹探查术, 术中于胃窦前壁小弯侧见一肿物, 大小约4 cm×4 cm×3 cm, 部分侵及浆膜外, 余未见异常。后行远端胃大部切除术及Billroth-I式吻合重建胃肠道。术后结合组织学形态及免疫组化结果(图3), 病理诊断为: (胃窦部)肌纤维瘤, 肿物位于胃壁肌层, 黏膜见溃

## ■背景资料

肌纤维瘤/肌纤维瘤病是指有收缩功能的肌样细胞排列在薄壁血管周围形成的良性肿瘤, 孤立性者称为肌纤维瘤, 多发性者为肌纤维瘤病。

## ■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

### ■相关报道

有研究表明,肌纤维瘤/肌纤维瘤病和婴儿型血管外皮瘤在组织学和免疫表型上存在重叠.

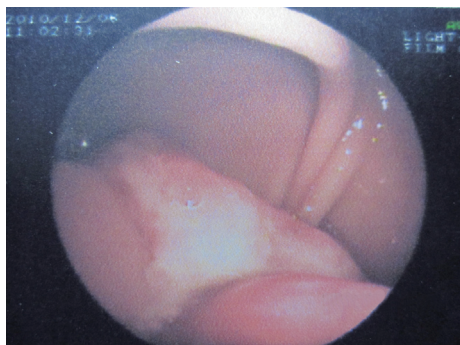


图1 胃体下部前壁-胃窦部见一隆起型肿物.

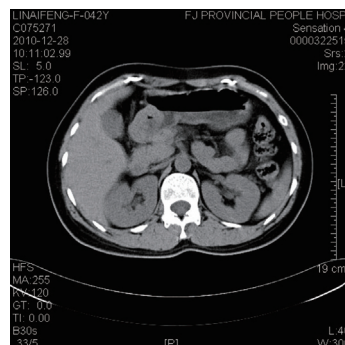


图2 胃窦部见一类圆形结节影.

疡形成;上、下切端净;胃大小弯淋巴结未见肿瘤(0/9).免疫组织化学:vimentin(+++),SMA局部(+),CD117(-),CD34(-),CK(-),desmin(-),EMA(-),ki-67(-),S-100(-),CD68(-),CD99(-),Bcl-2(-),ALK(-),CD31(-).术后患者恢复良好,顺利出院.目前患者一般情况良好,术后3 mo门诊复查各项指标正常.

## 2 讨论

肌纤维瘤/肌纤维瘤病(myofibroma/myofibromatosis)是一种好发于婴幼儿的良性间叶性肿瘤,为具有收缩功能的肌样细胞排列在薄壁血管周围形成.肌纤维瘤/肌纤维瘤病、肌外周细胞瘤和所谓的婴儿型血管外周细胞瘤一起构成形态上连续的统一体.

肌纤维瘤可发生于任何器官或组织,临床上有三种类型:(1)孤立型,常见,临床表现为无痛性孤立性肿块,大多数病变位于皮肤和浅表组织中,多发生于头颈部及躯干部,偶可位于骨内<sup>[3]</sup>,尤其是颅面骨,发生于内脏的肌纤维瘤十分罕见<sup>[4]</sup>.本型多见于男性;(2)多中心型,不常见,包括两种亚型,一种为多个部位的软组织内或骨内有病灶但不伴有内脏累及;另一种为除软组织外,同时还伴有内脏累及,最易累及的内脏为肺<sup>[5]</sup>,偶可见于中枢神经系统.本型多见于女性;(3)成年型,少见,多表现为肢体和头颈部皮肤或口腔内缓慢生长的无痛性肿块<sup>[6]</sup>,两性均可发生,无明显差异.

国内文献现有报道的累及内脏的肌纤维瘤病仅数例<sup>[5,7]</sup>,十分罕见.单发于内脏的肌纤维瘤仅2006年侯英勇等<sup>[2]</sup>报道1例:患者女,5岁,腹痛1 mo入院.入院后行剖腹探查术,术后病理诊断未明确,后经上海市9家医院对该病例进行读片讨论,最后诊断为胃肌纤维瘤.该作者还在文中提到“复习上海市10家医院数十年间近千例消

化道间叶性肿瘤档案资料,尚未发现类似病例,本例实属消化道罕见病例”.

镜下观察肌纤维瘤呈结节状或多结节状生长,并表现为双相的区域分化:由淡染的周边区和深染的中央区组成.周边区由结节状或短束状排列的梭形细胞组成,胞质呈嗜伊红色;中央区由圆形或小多边形的原始间叶细胞组成,呈实性片状分布,或围绕分支状的血管呈血管外皮瘤样排列,可见核分裂相和坏死,后者常伴有钙化,20%的病例内还可见瘤细胞突向血管腔内生长.肿瘤的间质呈纤维黏液样,可伴有胶原化或玻璃样变性,部分病例可见灶性的出血和囊性变.

肌纤维母细胞性成分和原始间叶细胞性成分均可表达vimentin和SMA,肌纤维母细胞性成分还可表达肌动蛋白(muscle specific actin, MSA),不表达desmin和S-100蛋白,以及EMA或角蛋白(cytokeratin, CK).肌纤维瘤需与婴儿型血管外皮瘤、婴儿型纤维肉瘤、具有血管外皮瘤样结构的肿瘤及肌纤维母细胞瘤等相鉴别.

有关肌纤维瘤/肌纤维瘤病的细胞起源问题仍存在争议.有人认为,肌纤维瘤/肌纤维瘤病的肿瘤细胞起源于血管周细胞,是肌性分化的血管周细胞,这与血管外皮瘤和血管球瘤相似<sup>[6]</sup>.多个学者电镜观察瘤细胞<sup>[8-10]</sup>,有的发现有纤维母细胞和平滑肌细胞的超微结构特点,有的认为瘤细胞是肌纤维母细胞,有的则未发现肌源性分化,总之,对该瘤的细胞构成还不很确定,原因可能是该瘤存在双相的区域分化,电镜取材的部位不同可出现不同的结果.此外,该瘤的组织学形态与多种肿瘤相重叠,不同病理学家的评判标准可能存在差异.

有研究表明,肌纤维瘤/肌纤维瘤病和婴儿型血管外皮瘤在组织学和免疫表型上存在重叠<sup>[6]</sup>.Mentzel等<sup>[11]</sup>的研究表明,肌纤维瘤/肌纤维瘤病含有血管外皮瘤样排列的不成熟细胞成分,并

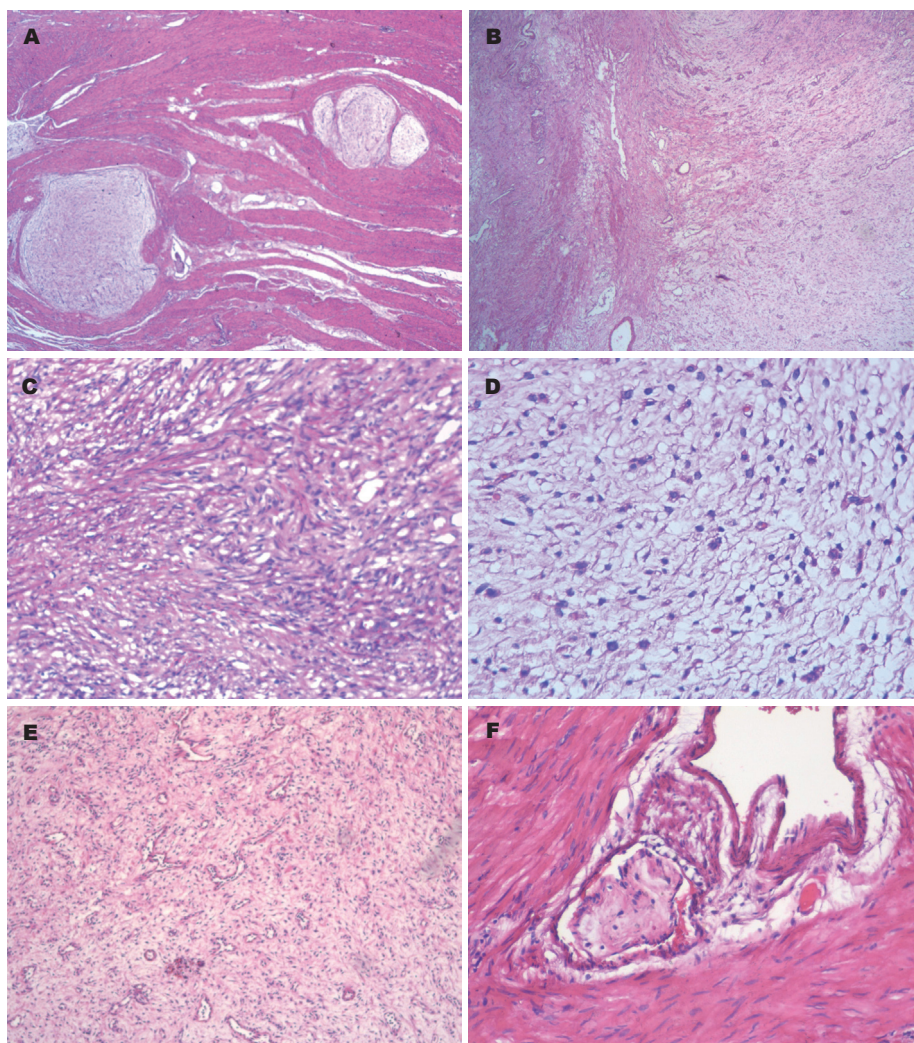


图3 胃部肌纤维瘤(HE染色). A: 肿瘤穿梭于肌间呈结节状生长; B: 呈深染区和淡染区排列; C: 深染区梭形细胞呈束状排列; D: 淡染区细胞呈圆形或小多边形, 片状分布; E: 血管外皮瘤样结构; F: 肿瘤在血管内侵袭性生长.

■同行评价  
本文病例少见, 为临床医师的诊断鉴别提供依据.

认为其和婴儿型血管外皮瘤是同一疾病的不同发展阶段, 婴儿型血管外皮瘤是肌纤维瘤/肌纤维瘤病的早期表现.

本病系一种良性自限性的病变, 预后多良好, 术后很少复发, 但随年龄的增长可出现新的病变结节<sup>[9]</sup>, 少部分肿瘤可自行消退, 尤其是发生于骨组织的病例; 累及内脏的病例常导致压迫和阻塞而预后不良, 至今未见肿瘤转移的报道<sup>[6]</sup>. 本例随访5 mo无复发, 一般情况良好, 目前仍在随访中.

### 3 参考文献

- 1 Benevolo M, Mariani L, Vocaturo G, Vasselli S, Natali PG, Mottotese M. Independent prognostic value of peritoneal immunocytoanalysis in endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 241-247
- 2 侯英勇, 陈莲, 徐立明, 周燕南, 宿杰, 阿克苏, 曾海英, 刘弢. 胃后壁肿块. *中华病理学杂志* 2006; 35: 312-313
- 3 邝亦元, 吴汉江, 游弋. 腮腺区婴儿型肌纤维瘤病1例. *北京口腔医学* 2007; 15: 345-346
- 4 Fine SW, Davis NJ, Lykins LE, Montgomery E. Solitary testicular myofibroma: a case report and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129: 1322-1325
- 5 王邵华, 黄海龙, 黄海华, 彭寿行, 袁琳. 肺肌纤维瘤病一例. *中华外科杂志* 2007; 45: 821
- 6 蒙国照. 肌纤维母细胞分化肿瘤. *临床与实验病理学杂志* 2011; 27: 410-414
- 7 Chung EB, Enzinger FM. Infantile myofibromatosis. *Cancer* 1981; 48: 1807-1818
- 8 Benjamin SP, Mercer RD, Hawk WA. Myofibroblastic contraction in spontaneous regression of multiple congenital mesenchymal hamartomas. *Cancer* 1977; 40: 2343-2352
- 9 Mentzel T, Calonje E, Nascimento AG, Fletcher CD. Infantile hemangiopericytoma versus infantile myofibromatosis. Study of a series suggesting a continuous spectrum of infantile myofibroblastic lesions. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 922-930
- 10 Fletcher CD, Achu P, Van Noorden S, McKee PH. Infantile myofibromatosis: a light microscopic, histochemical and immunohistochemical study suggesting true smooth muscle differentiation. *Histopathology* 1987; 11: 245-258
- 11 Mentzel T, Dei Tos AP, Sapi Z, Kutzner H. Myopericytoma of skin and soft tissues: clinicopathologic and immunohistochemical study of 54 cases. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 104-113

编辑 李军亮 电编 何基才

# 自身免疫性胆管炎合并隐匿性乙型肝炎1例

曾经章, 杨京, 张权, 李伟

## ■背景资料

我国不明原因慢性肝炎较常见, AIC目前在临床上较为少见, 其临床表现, 病理改变, 治疗往往与AIH, PBC有重叠的因素, 其诊断归属目前尚无定论. 隐匿性HBV感染在我国目前报道较多, 但上述两病合并病例少见, 在治疗上存在相互矛盾因素.

曾经章, 杨京, 张权, 李伟, 贵阳医学院附属医院感染科 贵州省贵阳市 550004

作者贡献分布: 曾经章负责论文撰写; 杨京校审; 张权与李伟收集整理资料.

通讯作者: 杨京, 教授, 550004, 贵州省贵阳市, 贵阳医学院附属医院感染科. yangjing-107@126.com

电话: 0851-6773914

收稿日期: 2011-05-25 修回日期: 2011-07-08

接受日期: 2011-07-15 在线出版日期: 2011-08-08

## Concomitant autoimmune cholangitis and occult hepatitis B virus infection: a case report

Jing-Zhang Zeng, Jing Yang, Quan Zhang, Wei Li

Jing-Zhang Zeng, Jing Yang, Quan Zhang, Wei Li, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Professor Jing Yang, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. yangjing-107@126.com

Received: 2011-05-25 Revised: 2011-07-08

Accepted: 2011-07-15 Published online: 2011-08-08

## Abstract

Autoimmune cholangitis is rarely seen clinically, and concomitant autoimmune cholangitis and occult hepatitis B is particularly rare. As there are conflicts in the treatment of the two diseases, a comprehensive treatment is required to achieve better results.

**Key Words:** Autoimmune cholangitis; Occult hepatitis B; Comprehensive treatment

Zeng JZ, Yang J, Zhang Q, Li W. Concomitant autoimmune cholangitis and occult hepatitis B virus infection: a case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2408-2410

## 摘要

自身免疫性胆管炎临床上少见, 合并隐匿性乙型肝炎更为罕见, 由于本例患者合并上述两种疾病, 治疗上存在矛盾因素, 通过综合治疗后取得较好疗效.

**关键词:** 自身免疫性胆管炎; 隐匿性乙型肝炎; 综合治疗

## ■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

曾经章, 杨京, 张权, 李伟. 自身免疫性胆管炎合并隐匿性乙型肝炎1例. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2408-2410

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2408.asp>

## 0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)为成人由于肝内胆管异常造成慢性瘀胆的常见疾病. 一般认为PBC是一种自身免疫介导的非化脓性破坏性肝内胆管炎, 95%的PBC患者抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)阳性, 其对PBC的诊断尤其是AMA-M2型特异性达98%. 但近来发现有10% PBC患者AMA阴性, 其瘀胆的生化指标和肝穿病理与AMA阳性的PBC患者相似, 但抗核抗体或抗平滑肌抗体阳性率高, 被称为自身免疫性胆管炎(autoimmune cholangitis, AIC)<sup>[1]</sup>. 该病是否为独立的疾病或是PBC或自身免疫性肝炎的亚型目前意见不一; 我国属于HBV高感染国家, 隐匿性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染, 目前越来越受到重视, 临床上表现为血清HBsAg阴性, 而血清或肝组织中HBV DNA阳性和(或)肝组织HBsAg和(或)HBcAg阳性<sup>[2]</sup>. 临床上上述2种疾病合并病例少见, 现将近期我院收治的患者1例报道如下.

## 1 病例报告

女, 41岁, 因“全身皮肤及巩膜黄染伴乏力纳差18 mo”于2010-05-13入院. 患者1年前无明显诱因自觉全身皮肤及巩膜黄染, 伴乏力, 纳差, 有陶土色大便. 无腹痛, 腹泻, 发热, 畏寒, 咳嗽, 咳痰等症状. 曾求诊于贵阳医学院附属医院肝胆外科, 经辅查后疑诊为“原发性硬化性胆管炎”, 经“复方甘草甜素”“肝利欣”治疗, 黄疸消退不明显后出院. 出院后黄疸症状仍持续, 且有加重趋势, 先后2次就诊于“毕节地区医院”, 曾用“强的松”20 mg口服, 并逐渐减量治疗, 疗程共2 mo, 自述疗效不佳. 为明确诊断及进一步治疗, 再次转诊于贵阳医学院附属医院. 门诊上腹B超示: (1)肝内光点改变, 请结合临床考虑; (2)胆囊炎; (3)脾大; (4)胰腺超声未见

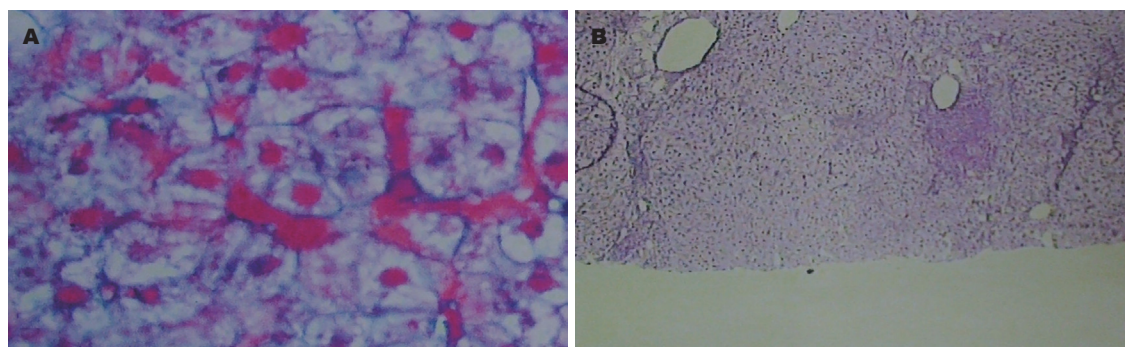


图1 患者肝脏病理图. A: Masson染色; B: 浸银染色.

# ■相关报道

Czaja等认为, 具备以下条件即可诊断: ANA和(或)抗平滑肌抗体阳性, 或高丙球蛋白血症; 间接免疫荧光法AMA阴性; 淤胆的临床表现和(或)肝病理学改变; 排除其他原因的肝损伤.

异常. 门诊以“黄疸原因: 肝内胆汁淤积”收入感染科. 患者无“不明原因黄疸”家属史. 4年前曾于“毕节地区医院”行“宫外孕”手术(具体不详). 入院后查体: 生命特征平稳, 一般情况尚可, 发育正常, 营养中等, 自动体位, 慢性病容, 全身皮肤黏膜明显黄染, 无皮疹, 未见肝掌及蜘蛛痣, 全身浅表淋巴结未扪及. 头颅五官无畸形, 鼻腔外耳道无异常分泌物. 颜面无浮肿, 巩膜明显黄染, 双肺叩诊清音, 双肺呼吸音清晰, 未闻及干湿性啰音. 心前区无异常隆起, 各瓣膜区未触及异常震颤, 叩诊心界不大, 心率75次/min, 律齐, 各瓣膜听诊区未闻及杂音. 腹丰满, 脐下可见一长约5 cm的横行手术瘢痕, 愈合好, 腹软, 脐周轻压痛, 无肌卫及反跳痛, 莫非氏征阴性, 肝脾未扪及, 肝脾区无叩击痛, 肾区无叩击痛, 肠鸣音5次/min, 肛门外生殖器未查. 上腹部MRI显示: (1)胆囊炎可能; (2)脾大. 多肿瘤标志物阴性, 铁蛋白221.36  $\mu\text{g/L}$ . 血常规: WBC 3.70  $\text{g/L}$ , N 66.1%, HGB 112  $\text{g/L}$ , PLT 145  $\text{g/L}$ ; 血生化: ALT 235.08 U/L, AST 222.57 U/L, TBIL 163.02  $\mu\text{mol/L}$ , DBIL 105.81  $\mu\text{mol/L}$ , IBIL 57.21  $\mu\text{mol/L}$ , ALB 44.61  $\text{g/L}$ , GGT 1 294.86 U/L, ALP 829.51 U/L, CHE 6 889.7 U/L; 凝血功能示: PT-% 145%, APTT 11.2 s; 小便常规: 尿胆原1+, 胆红素1+; 大便常规正常; 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA): 滴度1:100(+), 核型: 颗粒(+); AMA(-); IgM: 2 000  $\text{mg/L}$ , IgG: 13 269  $\text{mg/L}$ , IgA: 2 451  $\text{mg/L}$ , C3 1 466  $\text{mg/L}$ , CH50 116  $\text{kU/L}$ ; ENA多肽抗体谱(Nnpn/Sm、Sm、SS-A、Ro-52、SS-B; Scl-70、PCNA、dsDNA、AMA-M2等)均为阴性、抗中性粒细胞胞质抗体, RF均阴性. 乙型肝炎两对半: (-); 抗HAV(-), 抗HCV(-), 抗HEV(-); Fibroscan: 8.7 kPa. 并于2010-05-24行肝穿刺病理活检术, 术后病理诊断: 汇管区扩大, 淋巴细胞、浆细胞及少量中性粒细胞及滤泡形成, 明

显界面炎, BN(P-P, P-V), 桥接纤维形成, 小叶内肝细胞水肿, 部分呈羽毛状, Mallory小体形成, 嗜酸性小体较多见(图1). 免疫组织化学结果: HBsAg(-), HBcAg(+). 符合自身免疫性肝炎(G4/S3)并乙型肝炎病毒感染. 后查HBV DNA $<10^3$  拷贝/mL, 临床诊断: (1)AIC; (2)隐匿性乙型肝炎. 予异甘草酸镁, 熊去氧胆酸, 腺苷蛋氨酸, 舒肝宁等保肝, 退黄对症支持治疗, 并予拉米夫定抗HBV治疗基础上, 予口服泼尼松30  $\text{mg/d}$ , 硫唑嘌呤50  $\text{mg/d}$ 抗免疫治疗, 1 wk后泼尼松减量至25  $\text{mg/d}$ , 硫唑嘌呤续用50  $\text{mg/d}$ , 同时复查肝功能: ALT 224.2 U/L, AST 210.5 U/L, TBIL 104.3  $\mu\text{mol/L}$ , DBIL 50.3  $\mu\text{mol/L}$ , IBIL 54  $\mu\text{mol/L}$ , ALB 41.2  $\text{g/L}$ , GGT 1 119 U/L, ALP 692.6 U/L. 患者症状好转, 黄疸较前减轻. 患者病情好转, 尚需进一步治疗, 但因经济原因出院, 院外口服上述药物治疗并渐减量. 2 mo后随访患者肝功能: ALT 80.12 U/L, AST 56.0 U/L, TBIL 61.1  $\mu\text{mol/L}$ , DBIL 31.0  $\mu\text{mol/L}$ , IBIL 30.1  $\mu\text{mol/L}$ , GGT 605.2 U/L, ALP 283.3 U/L.

## 2 讨论

AIC最早由Brunner等<sup>[3]</sup>于1987年报道, 其特征为: AMA阴性, ANA和(或)SMA阳性, 病理组织学有胆管损伤证据. 关于目前AIC诊断的归属, 主要有以下3方向: (1)AIC是PBC的一个亚型; (2)AIC为AIH与PBC的重叠表现; (3)AIC是一个独立的疾病<sup>[4]</sup>. 目前AIC的诊断尚缺乏统一的标准, Czaja等<sup>[1]</sup>认为, 具备以下条件即可诊断: ANA和(或)抗平滑肌抗体阳性, 或高丙球蛋白血症; 间接免疫荧光法AMA阴性; 淤胆的临床表现和(或)肝病理学改变; 排除其他原因的肝损伤. 就现有的文献资料可归纳为以下几点: (1)女性为主; (2)ALT大于正常2-5倍, ALP大于1-2倍; (3)血清免疫球蛋白IgM、IgG均升高; (4)AMA(-)、抗

### ■同行评价

本文报道的自身免疫性胆管炎合并隐匿性乙型肝炎病例确实少见, 有一定借鉴意义和临床实用价值.

-M2(-)、ANA(+)或抗平滑肌抗体(+); (5)血清抗-碳酸酐酶抗体阳性; (6)病理学检查, 轻度肝实质炎症, 胆管缺失或损伤伴有汇管区的炎症和坏死; (7)肝外表现: 合并干燥综合征、红斑狼疮、溃疡性结肠炎等.

贵阳医学院附属医院收治的该病例病史长达18 mo, 起病主要症状为黄疸, 高胆红素血症, 淤胆临床表现明显, 实验室检查ALT>5ULN, ALP>5ULN, GGT 1 294.86 U/L(>10ULN), AMA阴性, ANA阳性, 病理改变呈汇管区及肝细胞明显炎症, 虽符合AIH表现, 但结合其临床表现及实验室检查, 综合考虑诊断为AIC. 在其病理行免疫组织化学结果: HBsAg(-), HBcAg(+). 我国为HBV高感染国家, 该患者虽外周血清HBVM阴性, 但其肝组织中HBcAg阳性, 考虑合并隐匿性HBV感染. 因此, 该患者肝组织病理炎症性损害与上述2种因素有关. 隐匿性HBV感染是病毒与机体相互作用的结果, 可能与以下机制有关: (1)HBVS基因的突变; (2)HBV整合; (3)PBMCs感染HBV; (4)HBV的免疫复合物; (5)机体的免疫状态; (6)HBV与HCV的相互影响; (7)检查方法的灵敏度和特异度<sup>[5]</sup>. 患者在院外曾予口服激素治疗, 疗效不佳, 但此次入贵阳医学院附属医院仍同样予激素治疗却取得满意疗效, 考虑因患者合并了隐匿性HBV感染有关, 因单用口服激素治疗可能导致HBV DNA活动性复制, 导致肝细胞炎症加重. 故该患者需综合治疗, 首先对于其AIC考虑予熊去氧胆酸, 该药可通过增加内源性胆汁排泄, 稳定细胞膜, 抑制免疫反应等治疗淤胆性疾病, 在改善淤胆有一定效果. 在PBC中有较好的疗效, 通过临床观察对治疗AIC效果与PBC相近<sup>[6]</sup>. 但对于病理活检肝实质损伤较明显的患者, 熊去氧胆酸结合免疫抑制剂效果更好<sup>[7]</sup>. 该患者肝病理提示肝细胞炎症明显, 故治

疗上选用了熊去氧胆酸结合免疫抑制剂, 取得了较好的疗效; 其次, 患者肝组织HBcAg(+), 考虑合并隐匿性HBV感染. 而治疗AIC考虑应用免疫抑制剂, 有使HBV出现活动性复制的风险, 故综合以上因素, 予联合拉米夫定口服, 抑制HBV的复制. 但由于患者HBV DNA为阴性, 如何检测拉米夫定疗效成为新问题.

AIC目前在临床上较为少见, 其临床表现, 病理改变, 治疗往往与AIH, PBC有重叠的因素, 其诊断归属目前尚无定论. 隐匿性HBV感染在我国目前报道较多, 我国不明原因慢性肝炎较常见, 应引起临床医生的足够重视, 上述两病合并病例报道少见, 在治疗上存在相互矛盾因素, 需综合考虑, 以期达到更好疗效.

### 3 参考文献

- 1 Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Autoimmune cholangitis within the spectrum of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2000; 31: 1231-1238
- 2 王霞, 董芳, 李玮, 陈常云, 朱新宇, 王守义. 隐匿性乙型肝炎病毒感染者临床特点和肝组织病理学检查. *实用肝病杂志* 2008; 11: 157-158
- 3 Brunner G, Klinge O. [A chronic destructive non-suppurative cholangitis-like disease picture with antinuclear antibodies (immunocholangitis)]. *Dtsch Med Wochenschr* 1987; 112: 1454-1458
- 4 潘丽恩, 马骥良. 自身免疫性胆管炎. *临床内科杂志* 2003; 20: 334-335
- 5 史宇晖, 庄辉. 隐匿性乙型肝炎研究现状. *传染病信息* 2005; 18: 97-99
- 6 Lacerda MA, Ludwig J, Dickson ER, Jorgensen RA, Lindor KD. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 247-249
- 7 Li CP, Tong MJ, Hwang SJ, Luo JC, Co RL, Tsay SH, Chang FY, Lee SD. Autoimmune cholangitis with features of autoimmune hepatitis: successful treatment with immunosuppressive agents and ursodeoxycholic acid. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 95-98
- 8 马安林, 王泰龄. 自身免疫性胆管炎. *中华肝病杂志* 2004; 12: 703-704

编辑 李军亮 电编 何基才

## 儿童十二指肠肠壁血肿3例

刘菁华, 李婷婷, 韩燕乔

刘菁华, 李婷婷, 韩燕乔, 上海市儿童医院 上海市交通大学附属儿童医院影像科 上海市 200040  
作者贡献分布: 本文写作由刘菁华完成; 李婷婷共同参与读片、提供相关资料; 韩燕乔进行修改指导。  
通讯作者: 刘菁华, 副主任医师, 200040, 上海市北京西路1400弄24号, 上海市儿童医院, 上海市交通大学附属儿童医院影像科. tingfengkanshui@163.com  
电话: 021-62474880-85106  
收稿日期: 2011-05-20 修回日期: 2011-07-22  
接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

### A report of three cases of duodenal wall hematoma in children

Jing-Hua Liu, Ting-Ting Li, Yan-Qiao Han

Jing-Hua Liu, Ting-Ting Li, Yan-Qiao Han, Medical Imaging Center, Children's Hospital of Shanghai, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China  
Correspondence to: Jing-Hua Liu, Medical Imaging Center, Children's Hospital of Shanghai, Shanghai Jiao Tong University, 24 1400 Long, West Beijing Road, Shanghai 200040, China. tingfengkanshui@163.com  
Received: 2011-05-20 Revised: 2011-07-22  
Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

### Abstract

Three children with clinically suspected duodenal wall hematoma underwent gastrointestinal (GI) examination, B-ultrasound, plain and contrast-enhanced CT scans, and follow-up CT scans. The imaging features were compared among the three cases. The specificity of GI examination and B-ultrasound was low in the diagnosis of duodenal wall hematoma, whereas plain and contrast-enhanced CT scans and follow-up CT scans could provide a reliable diagnosis, especially when combined with the disease history. Thus, CT examination has important clinical value in the diagnosis of duodenal wall hematoma in children.

**Key Words:** Children; Duodenal wall hematoma; Imaging features

Liu JH, Li TT, Han YQ. A report of three cases of duodenal wall hematoma in children. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2411-2413

### 摘要

对上海市儿童医院3例临床怀疑为十二指肠肠

壁血肿的患儿, 通过GI、B超、CT平扫+增强, 以及CT扫描随访检查, 结合患儿病史, 对影像学特点进行分析比较, 发现GI、B超对十二指肠肠壁血肿诊断没有特异性, CT平扫+增强, 以及CT扫描随访检查, 在十二指肠肠壁血肿的诊断上具有很明显的特异性, 结合病史可作为可靠的诊断依据。CT检查对于十二指肠肠壁血肿的诊断具有重要的临床价值。

**关键词:** 儿童; 十二指肠肠壁血肿; 影像特点

刘菁华, 李婷婷, 韩燕乔. 儿童十二指肠肠壁血肿3例. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2411-2413  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2411.asp>

### 0 引言

儿童十二指肠壁血肿在临床上比较少见, 常表现为腹痛、反复呕吐前来就诊。由于症状往往不典型, 发病时间及病因不确定, 临床确诊比较困难。上消化道造影检查多能提供十二指肠梗阻诊断, 很难明确梗阻原因, B超诊断缺乏特异性, 难以定性。随着CT在急腹症中应用的增多, 发现率逐步增加, 现就上海市儿童医院2009-06/2010-10发现的3例确诊为十二指肠肠壁血肿患者的影像检查及临床表现, 进行探讨。

### 1 病例报告

病例1: 男, 8岁, 有可疑外伤史, 临床症状表现为阵发性呕吐腹痛4 d, 反应迟钝1 d, 来本院就诊时脉搏为180次/min, 血压偏低80/40 mmHg, 皮肤弹性差, 眼眶凹陷, 表现为低血容量性休克症状。体检发现中上腹压痛, 腹肌紧张, 可扪及腹部肿块。腹部B超检查, 提示为右上腹囊实性肿块, 与胰头关系密切, 将肠系膜向外推移。腹部CT平扫及增强检查, 范围从膈顶至骨盆入口平面, 层厚10 mm, 层间距10 mm。对比剂为安射力, 剂量为1.5 mL/kg。发现十二指肠水平段条索样囊性肿块, 边界清晰, 胰头向下推移, 平扫CT值约为41 HU, 增强后肿块无强化。患儿于治疗2 wk后复查腹部CT, 十二指肠水平段肿块基本消失(图1)。

病例2: 男, 3岁, 临床症状为呕吐腹痛1 d, 有

### ■背景资料

儿童十二指肠肠壁血肿在临床上比较少见, 常表现为腹痛、反复呕吐前来就诊。由于症状往往不典型, 发病时间及病因不确定, 临床确诊比较困难。上消化道造影检查多能提供十二指肠梗阻诊断, 很难明确梗阻原因, B超诊断缺乏特异性, 难以定性。

### ■同行评议者

袁友红, 副教授, 湖南省人民医院科研部

### ■相关报道

十二指肠肠壁血肿除外伤引起外,也有报道在抗凝治疗、血友病、过敏性紫癜、骨髓瘤等出血性疾病中发生,还可由急性胰腺炎、医源性操作不当引起。

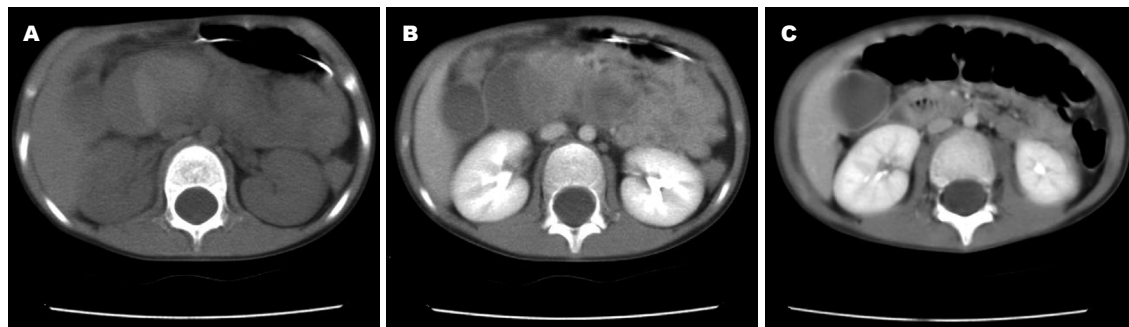


图1 病例1 CT检测结果. A: 入院第1次CT平扫见十二指肠水平段条索样肿块; B: 入院第1次CT增强见肿块无明显强化; C: 2 wk后CT增强见十二指肠水平段肿块消失。

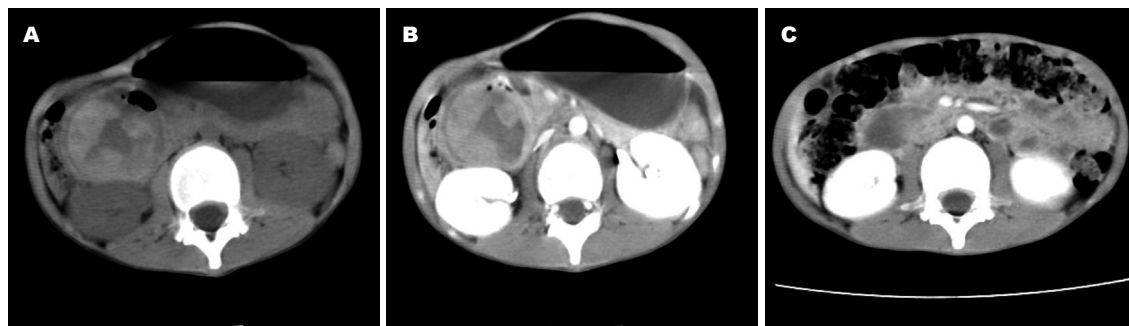


图2 病例3 CT检测结果. A: 入院第1次CT平扫见十二指肠降段、水平段条索样肿块; B: 入院第1次CT增强见肿块无明显强化; C: 4 wk后CT增强见十二指肠水平段肿块明显缩小, 密度趋均匀。

明确外伤史, 体检发现右上腹饱满, 有明显触痛, 未扪及明显肿块. 腹部B超提示为右上腹混合型肿块, 位于肝脏右前叶下方, 右侧肾脏前方. 腹部CT表现为十二指肠降段腔内肿块, 密度不均匀, 平扫CT值约为60 HU. 增强扫描后肿块内容物无强化, 肠壁与肿块界限清晰, 有明显增厚. 患儿于治疗后2、3 wk随访检查, 肿块缩小, CT值逐渐降低, 肿块密度趋均匀。

病例3: 女, 6岁, 腹痛呕吐3 d前来就诊, 病史中有明确外伤史, 体检全腹有明显压痛, 伴腹肌紧张, 右上腹扪及肿块, 边界不清. 腹部B超表现为胰头区高密度影, 腹腔内少量出血. 肿块来源与性质不能明确. CT表现为降段至水平段见一长条状高密度肿块, 平扫CT值约为56 HU. 增强后肿块无明显强化. 患儿治疗2 wk后复查CT, 肿块缩小不明显, 但密度已趋均匀. 4 wk后复查腹部B超、CT, 均提示肿块有缩小(图2).

以上3例患儿入院后都进行口服钡餐检查, 显示为: 十二指肠管腔不同程度受压变窄, 腔内见有弧形压迹, 近端肠管均有不同程度的扩张, 积液, 钡剂通过受阻. 3例患儿入院时的血淀粉酶都有不同程度的升高, 凝血酶原时间、凝血时间、活化部分凝血酶时间、肝肾功能指标、血常规均在正常范围. 入院后给予保守治疗, 临

床症状好转, 均痊愈出院. 根据临床症状结合影像特征, 明确诊断为十二指肠肠壁血肿。

## 2 讨论

十二指肠损伤约占腹部闭合性损伤的2%-5%, 且多合并其他脏器损伤, 单纯性外伤性十二指肠肠壁血肿发病率极低<sup>[1]</sup>, 在儿童中尤少见. 由于Treitz韧带的固定, 十二指肠肠段活动度较减小, 又紧贴腹后壁, 其降段、水平段属腹膜后位器官, 靠胸椎较近, 十二指肠的供血动脉又是前后、上下吻合成弓, 钝性外伤的剪切力易造成血管丛的撕裂, 使肠壁及系膜形成血肿<sup>[2]</sup>. 此外儿童两侧前肋弓缘位置较高且分开角度较大, 对上腹保护差, 腹肌发育差, 儿童活动多, 易受伤等特点, 也是易造成十二指肠肠壁血肿的主要原因<sup>[3]</sup>. 血肿可位于肠壁各层, 位于黏膜下层者往往引起不同程度的十二指肠梗阻<sup>[4]</sup>. 十二指肠肠壁血肿除外伤引起外, 也有报道在抗凝治疗、血友病、过敏性紫癜<sup>[5]</sup>、骨髓瘤等出血性疾病中发生, 还可由急性胰腺炎、医源性操作不当引起<sup>[6]</sup>. 因此以往病史的询问十分重要. 十二指肠肠壁血肿临床多以腹痛就诊, 表现为无放射状的脐周疼痛, 中上腹压痛、反跳痛, 轻度的腹肌紧张, 可呕吐含胆汁的胃内容物. 有轻

度或中度发热, 若继发破裂或者穿孔则可造成陈旧血液和小肠液渗入腹膜后间隙或腹膜腔, 引起严重感染, 此外还可造成胰腺损伤, 后果较为严重. 由于儿童十二指肠肠壁血肿临床比较少见, 外伤病史往往不能明确, 容易误诊, 故患儿的影像表现特征在诊断中尤为重要. 十二指肠肠壁血肿CT影像表现为与十二指肠走行一致或相邻的高、等密度的软组织肿块影, 边界多较清晰, 形态多不规则, 密度不均匀, 呈现边缘有环状的高密度和中心有“融冰样”高密度是其特征<sup>[6]</sup>, 时间比较长的血肿可呈液样均匀低密度影, 增强扫描肿块无强化. 胃肠道钡餐检查常表现为十二指肠梗阻近端有扩张, 钡剂通过缓慢延迟. 梗阻段肠管管壁光滑, 管腔变细狭窄, 呈现杯口样弧形凹陷压迹. 本院的3例患儿的临床症状与CT、GI表现特征均符合十二指肠肠壁血肿, 故诊断明确.

儿童十二指肠壁血肿需与先天性十二指肠梗阻性疾病相鉴别, 如先天性十二指肠隔膜、肠系膜上动脉压迫、环状胰腺、肠旋转不良、屈氏韧带畸形等<sup>[7]</sup>, CT通常表现为十二指肠近端

的扩张, 部分可有胃囊积液, 扩张的肠管一般呈水样均匀密度, 无肿块影, 结合病史和GI检查可以鉴别. 小儿十二指肠的肿瘤比较罕见, 需与早期血肿相鉴别. 恶性肿瘤如十二指肠恶性间质瘤、腺癌、原发性淋巴瘤等, 良性肿瘤如息肉、腺瘤、血管瘤、脂肪瘤、平滑肌瘤、神经纤维瘤等, 影像学表现都有各自的特异性, 与血肿有明显差异, 鉴别诊断不难, 可以进行区分.

### 3 参考文献

- 1 李峰. 外伤性单纯性十二指肠肠壁血肿一例. 中华普通外科杂志 2001; 16: 621
- 2 王怀经. 局部解剖学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2001; 143-146
- 3 熊耕, 谭毅, 廖凯男, 刘铭. 小儿单纯性十二指肠壁内血肿二例. 中国小儿急救医学 2009; 16: 507-508
- 4 何启明, 吴小平. 外伤性十二指肠壁内血肿一例. 中国普通外科杂志 2001; 16: 664
- 5 王莹, 宋林芳, 郭慧贞. 儿童过敏性紫癜引发十二指肠血肿1例. 潍坊医学院学报 2006; 28: 440
- 6 陈洪亮, 曹跃勇, 刁显明, 唐光才, 黄新文, 兰永树. CT扫描对十二指肠壁血肿的诊断价值. 实用医学影像杂志 2010; 11: 24-26
- 7 李健壮, 周新德, 余茂福. 屈氏韧带畸形致慢性十二指肠梗阻1例. 新疆医学 2004; 34: 132

编辑 李薇 电编 何基才

### ■同行评价

本文对于提高小儿外伤诊断水平有一定帮助, 但新颖性一般.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

### • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCES权威、核心期刊排行榜与指南》和

中国知识资源总库收录。2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。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。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文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, 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). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 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, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃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P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如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检验和概率P, 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)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如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),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (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),  $T_{\max}$ ,  $C_{\max}$ , Vd,  $T_{1/2}$  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 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 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}$ /L, WBC数用 $1 \times 10^9$ /L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L.  $M_r$ 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, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、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; 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. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)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.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2010年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 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, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) $t$ 检验用小写 $t$ ; (2) $F$ 检验用英文大写 $F$ ; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (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 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 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 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995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  $\pm$  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 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 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  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  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. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可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  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  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 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 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1486800.475 65. 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 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 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, 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. 作者标准为: (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, 并对文章的重要的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, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志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 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所.

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

3.8 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

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

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: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 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, 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、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(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 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:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版. 北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262.

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 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: 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.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28 d. 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, 否则将退稿或修改后再审. 接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬).

## 6 修回稿须知

6.1 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、职称、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出版权转让给本刊编辑部.

6.2 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、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

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

## 《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: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

## 2011年国内国际会议预告

2011-08-20/22

第十五次全国中西医结合儿科学术会议

会议地点: 兰州市

联系方式: zxyek@sina.com

2011-08-26/27

第四届福瑞肝纤维化论坛

会议地点: 上海市

联系方式: bstract@cosoman.com

2011-08-31/09-02

腹腔间室综合征的护理进展

会议地点: 延吉市

联系方式: qiyan68@126.com

2011-09

中华医学会超声医学分会第十一次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: <http://www.nccsum.org/>

2011-09-14/17

第六届全国疑难及重症肝病大会

会议地点: 兰州市

联系方式: office@cnsld.org

2011-09-14/18

第十四届全国临床肿瘤学大会暨2011年CSCO学术年会

会议地点: 福州市

联系方式: 010-67726451

2011-09-16/18

第七届全国消化系统中晚期恶性肿瘤学术年会

会议地点: 济南市

联系方式: xiaohuahuiyi@126.com

2011-09-24

2011中国消化病学大会

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-09-25/26

2011北京消化内镜节

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-10-07/09

第八届亚太肝病学会主题会议

会议地点: 北京市

联系方式: info@apaslstc.org

2011-10-13/16

2011年亚太地区国际肿瘤生物学和医学学术会议

会议地点: 上海市

联系方式: clinimmunchina@yahoo.com

2011-10-14/16

中华医学会第五次全国艾滋病、病毒性丙型肝炎暨全国

热带病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: www.nccsid.org

2011-10-21/23

中华医学会病理学分会第十七次学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: leighdai@cma.org.cn

2011-10-22/26

第19届欧洲肠胃病学联合组织(UEG)会议周

会议地点: 斯德哥尔摩

联系方式: uegw2011@cpo-hanser.de

2011-10-28/11-02

2011美国胃肠病学会年度科学会议

会议地点: 华盛顿

联系方式: annualmeeting@acg.gi.org

2011-11-04/08

第62届美国肝病研究学会(AASLD)年会

会议地点: 旧金山

联系方式: medical\_conference@263.net

2011-11-18/23

第十一届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会暨2011全

国内镜/介入/放疗新技术国际论坛

会议地点: 北京市

联系方式: doctor302@163.com

2011-11-25/27

2011年全国消化道静脉曲张及其伴发消化疾病内镜诊治研讨会

会议地点: 西安市

联系方式: 2011varices@sina.com

2011-12-08/11

第11次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: csgdabstract@126.com

2011-12-09/11

江苏省第四次胃肠外科学术会议

会议地点: 南京市

联系方式: jswwk@yahoo.com.cn

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈建杰 主任医师

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

陈汝福 教授

中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

陈治水 主任医师

中国人民解放军解放军第211医院中医科

陈钟 主任医师

南通大学附属医院普外科

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

范小玲 主任医师

北京地坛医院综合科

高英堂 研究员

天津市第三中心医院 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

关玉盘 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

郭晓钟 教授

中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郝建宇 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

黄志勇 教授

华中科技大学同济医院普外科

姜春萌 教授

大连医科大学附属第二医院消化科

李康 副教授

广东药学院药科学院药物分析教研室

李胜 研究员

山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李晓波 教授

上海交通大学药学院

李瑜元 教授

广州市第一人民医院内科

倪润洲 教授

南通大学附属医院消化内科

潘兴华 副主任医师

中国人民解放军成都军区昆明总医院病理实验科

沈薇 教授

重庆医科大学附属第二医院消化内科

王鲁平 主任医师

中国人民解放军北京军区总医院病理科

王蒙 副教授

中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王文跃 主任医师

中日友好医院普通外科

徐庆 教授

桂林医学院药理教研室

徐泱 副教授

上海复旦大学附属中山医院肝肿瘤外科

许玲 副教授

中国人民解放军第二军医大学长征医院中医科

杨江华 副教授

安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

禹正杨 副教授

南华大学附属第一医院肿瘤外科

张志坚 教授

福州总医院消化内科

朱传武 教授

苏州大学附属传染病医院肝病科

邹小明 教授

哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科