

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

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2016 年 4 月 8 日 第 24 卷 第 10 期 (Volume 24 Number 10)



10/2016

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 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)》数据库收录.

编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》2015-2017年度编辑委员会，由1040位专家组成。其中，上海市146位、北京市130位、江苏省81位、广东省69位、湖北省53位、辽宁省48位、山东省45位、浙江省42位、陕西省40位、黑龙江省34位、福建省29位、四川省30位、河北省28位、天津市28位、广西壮族自治区21位、贵州省22位、湖南省21位、安徽省20位、河南省20位、吉林省20位、甘肃省18位、江西省18位、云南省17位、重庆市17位、新疆维吾尔自治区15位、山西省11位、海南省8位、内蒙古自治区3位、宁夏回族自治区2位、青海省2位、香港特别行政区1位及美国1位。

总顾问

陈可冀教授
纪小龙教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王俊平教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
柏愚副教授
蔡全才副教授
柴宁莉主任医师
常丽丽主任医师
陈国忠主任医师
陈洪教授
陈明锴教授
陈其奎教授
陈伟副主任医师
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
陈源副教授
程斌教授

池肇春教授
迟宝荣教授
迟雁副教授
褚传莲副教授
崔立红教授
戴菲副主任医师
丁浩主治医师
丁士刚教授
丁雯瑾主治医师
丁震副主任医师
董蕾教授
董卫国教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇教授
段志军教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
范一宏主任医师
冯百岁教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关晓辉主任医师
郭津生主任医师
郭晓钟教授
韩双印主任医师
韩英教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
郝微微主任医师
郝英霞主任医师
何继满教授
黄杰安主任医师
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授

黄志刚主任医师
霍丽娟主任医师
季光教授
季国忠教授
贾国葆副教授
贾林教授
菅向东主任医师
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
蒋波涛副主任医师
蒋益主任医师
金博主任医师
金海燕教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
梁洁副教授
林军教授
林琳教授
林志辉教授
刘爱群副主任医师
刘冰熔教授
刘德良教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘亮明副教授
刘鹏飞主任医师
刘平教授
刘文天教授
龙云主治医师
芦永福副教授
罗和生教授
罗素霞主任医师
吕农华教授

吕小平教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
毛华教授
孟庆华教授
孟祥军主任医师
缪应雷主任医师
宁守斌主任医师
牛春燕教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
钦丹萍教授
曲宝戈主任医师
任粉玉教授
沙杰副主任医师
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
沈卫东副主任医师
施瑞华教授
石定主任医师
石振东副主任医师
时永全教授
宋军副教授
孙自勤教授
汤绍辉教授
唐世刚教授
唐映梅副主任医师
田德安教授
田宇彬教授
虞必光教授
宛新建副教授
汪安江副主任医师
汪余勤副主任医师
王承党教授

王江滨教授
王良静研究员
王蓉主任医师
王甦副教授
王蔚虹教授
王晓娣主任医师
王志荣教授
王忠莉主任医师
吴晓玲副主任医师
夏金荣主任医师
夏时海教授
向晓星主任医师
谢会忠教授
辛永宁副教授
徐灿副教授
徐辉主任医师
徐可树教授
徐萍教授
许翠萍主任医师
许钟副主任医师
薛博瑜教授
阳学风教授
杨建民教授
杨长青教授
姚定康教授
叶丽萍教授
于珮主任医师
展玉涛主任医师
张福奎主任医师
张国顺主任医师
张国主任医师
张海蓉教授
张锦华主任医师
张明鑫主治医师
张庆瑜教授
张秋瓚主任医师
张涛副主任医师
张伟副主任医师

张炜副教授
张小晋主任医师
张雅丽主任医师
张艳丽副主任医师
张燕主任医师
张志宏副主任医师
郑家驹主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑盛副教授
郑素军主任医师
郑敏副教授
钟碧慧教授
钟捷教授
钟卫一副主任医师
钟英强教授
周国雄主任医师
周力主任医师
周新民教授
周莹群副主任医师
朱强教授
朱小三主治医师
朱元民主任医师
左秀丽主任医师

消化外科学

白日星主任医师
白松主任医师
白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
白玉奎主任医师
卜献民副教授
蔡建春教授
蔡建辉教授
蔡金贞教授
柴新群主任医师
陈炳官教授
陈大伟主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏主任医师
陈凇教授
陈龙奇主任医师
陈平教授
陈汝福教授
陈思曾教授
陈晓鹏教授
陈孝平教授
陈钟教授
程树群副教授
迟天毅副教授
仇毓东教授
褚海波主任医师
崔清波副教授
崔彦主任医师
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁健华主任医师
丁义涛教授
丁永斌主任医师
杜国盛主任医师
杜顺达副教授
杜潇副教授

范应方主任医师
范跃祖教授
方哲平主任医师
房学东教授
傅红副教授
傅廷亮教授
傅小云副主任医师
傅晓辉副教授
高军副主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
耿庆教授
耿智敏主任医师
宫轲教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
管小青教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
何裕隆教授
侯纯升主任医师
胡安斌教授
黄成副主任医师
黄耿文 副主任医师
计勇教授
姜卫东教授
贾云鹤教授
江艺主任医师
姜波健教授
姜洪伟主任医师
蒋小华副教授
焦作义教授
金黑鹰教授
金山主任医师
靖昌庆主任医师
鞠少卿教授
康春博副主任医师
克力木·阿不都热
依木教授
孔静副教授
兰平教授
李德宇主任医师
李富宇教授
李革副教授
李海民教授
李华教授
李华山主任医师
李江涛主任医师
李靖教授
李宁主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗副教授
李小荣教授
李晓武教授
李徐奇副教授
李旭副教授
李汛教授
李勇教授
李幼生教授
李玉民教授
李元新教授
李云龙副教授
李哲夫主任医师

李正荣副教授
李宗芳教授
梁道明副教授
梁建教授
梁廷波主任医师
刘宝林教授
刘超教授
刘飞德副主任医师
刘刚主任医师
刘宏斌主任医师
刘宏鸣副教授
刘厚宝主任医师
刘江文主任医师
刘金钢教授
刘金华副主任医师
刘亮副主任医师
刘权焰教授
刘三光副教授
刘尚国副教授
刘逸副主任医师
刘作金主任医师
卢实春教授
陆才德主任医师
禄韶英副教授
骆成玉教授
吕云福教授
麻勇副研究员
孟繁杰教授
孟庆成副教授
牟一平教授
倪俊副主任医师
牛伟新教授
潘光栋主任医师
潘明新主任医师
彭利教授
彭南海教授
彭松林副教授
齐清会教授
乔世峰主任医师
秦华东教授
秦建民主任医师
秦仁义教授
邱成志教授
邱江锋主任医师
邱伟华主任医师
邱云峰主任医师
曲兴龙主任医师
任宁主任医师
阮翊主任医师
尚东主任医师
邵万金主任医师
申占龙副教授
沈世强教授
沈志勇主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
帅晓明副教授
宋京海主任医师
宋武教授
宋新明教授
宋振顺教授
苏松副教授
孙诚谊教授
孙光副主任医师
孙文兵教授
孙象军副主任医师

孙星副教授
孙学英教授
孙勇副主任医师
孙勇伟主任医师
孙昀副主任医师
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授
唐哲教授
陶凯雄教授
田虎主任医师
佟立权主任医师
万赤丹教授
汪波主任医师
汪昱主任医师
王从俊副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王宏副主任医师
王坚教授
王健生教授
王蒙副教授
王巍主任医师
王卫东主任医师
王小明主任医师
王晓锋副主任医师
王晓鹏副主任医师
王雪峰主任医师
王毅军教授
王永兵主任医师
王悦华主任医师
王长森教授
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王志明教授
王忠裕教授
尉继伟教授
魏东主任医师
魏益平副主任医师
邬林泉教授
吴德全教授
吴帆副主任医师
吴立胜副主任医师
吴硕东主任医师
吴伟顶副主任医师
吴文川副主任医师
吴文溪教授
吴晓峰副主任医师
吴学东教授
伍晓汀主任医师
向国安主任医师
向进见副主任医师
肖江卫主任医师
肖卫东副教授
谢斌辉主任医师
谢敏主任医师
谢义民副主任医师
谢于副主任医师
徐阿曼教授
徐锋副教授
徐进副教授
徐迅迪教授
徐泱副教授

许洪卫主任医师
许建新副主任医师
许剑民教授
许庆文主任医师
薛东波教授
薛英威教授
闫峰副教授
杨柏霖主任医师
杨家和主任医师
杨晓军副主任医师
姚英民教授
殷佩浩副主任医师
殷正丰教授
于则利教授
俞富祥副教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
元海成主治医师
袁周副主任医师
臧璐副主任医师
翟博副主任医师
张安平副教授
张丰深主任医师
张宏教授
张建文主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张连阳教授
张鹏副研究员
张万广副教授
张西波副教授
张新晨教授
张振海副主任医师
赵宝生主任医师
赵礼金主任医师
赵青川主任医师
郑虹主任医师
郑建勇副教授
郑民华教授
支巧明主治医师
智绪亭教授
周进学副教授
周平红教授
周彤教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱海宏副主任医师
朱继业教授
朱建平主任医师
朱建伟教授
朱世凯副主任医师
朱小朝副主任医师
朱正钢教授
朱志军教授
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈良主任医师
陈茂伟教授
程明亮教授
程书权教授

戴二黑教授
丁惠国教授
丁向春副教授
范学工教授
冯金生教授
高润平教授
高泽立副教授
龚作炯教授
顾生旺主任医师
管世鹤教授
郭永红副主任医师
郭国信主任医师
胡康洪教授
靳雪源主任医师
卡世全主任医师
兰英华副教授
梁跃东副教授
林潮双主任医师
林世德教授
刘纯杰研究员
刘妍副教授
刘正稳教授
楼宏强副教授
卢秉久教授
伦永志副教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
孟忠吉教授
缪梓萍主任医师
聂青和教授
彭亮副主任医师
钱福初副主任技师
钱林学主任医师
秦波教授
裘云庆教授
盛吉芳主任医师
施光峰教授
孙明瑜研究员
孙维会副主任医师
谭华炳教授
童巧霞主任医师
涂相林主任医师
王春荣副主任技师
王多春研究员
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
邢卉春教授
胥婕主任医师
宣世英教授
颜学兵教授
杨东亮教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
于建武教授
张明辉主任医师
张婷副主任技师
张一教授
张占卿主任医师
赵春华副主任技师
赵秀英副教授
郑瑞丹副教授
周陶友副教授
朱传武教授
朱新宇教授
庄林主任医师

庄英杰主任医师

消化中医药学

陈涛教授
杜群研究员
郭湘潭教授
黄培副主任医师
贾永森副教授
李军祥教授
李康副教授
李卫强副教授
李锐波教授
李勇副教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
马赟副教授
马增春研究员
南极星教授
牛英才研究员
秦冬梅副教授
任路教授
司富春教授
斯拉甫·艾白教授
孙学刚教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
唐勇研究员
王兵主任医师
王富春教授
王晶副教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
谢春娥主任医师
谢胜主任医师
徐庆教授
许玲教授
严兴科教授
杨宗保副教授
袁红霞研究员
张永生研究员
周本杰主任药师
祝晨陈教授

消化肿瘤学

曹巍教授
曹秀峰教授
曹志成院士
常树建副主任医师
陈锦飞主任医师
陈绍勤副教授
陈淑珍研究员
陈思宇主任医师
陈主初教授
崔杰峰研究员
代智副教授
戴益琛教授
丁克峰教授
董稚明教授
范辉副教授
冯继红副教授
冯茂辉副教授
符兆英教授
傅剑华教授
高林波研究员
关泉林教授
何帮顺讲师
侯凤刚副教授

胡冰教授
胡兵研究员
胡国清教授
华东教授
华海清教授
江家骥教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
蒋晓东教授
金晶主任医师
靖大道教授
李成刚副教授
李杰主任医师
李苏宜教授
李伟华教授
李子禹教授
梁国刚教授
梁后杰教授
梁颖讲师
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘国龙教授
刘云鹏教授
柳长柏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
孟立娜教授
聂飏副主任医师
朴龙镇副教授
曲春枫教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
隋红副教授
谭煌英主任医师
谭宁研究员
谭盛葵教授
谭诗云教授
唐景峰副教授
唐亚雄研究员
田华研究员
田艳涛主任医师
王成锋主任医师
王阁教授
王凯峰副主任医师
王凯娟教授
王伟主治医师
魏国副主任医师
吴健雄主任医师
向邦德主任医师
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
徐克成教授
颜兵主治医师
杨宏强副教授
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔·夏合丁教授
袁媛教授
张德奎主任医师
张方信主任医师
张凤春教授
张静姝研究员
张佃主任医师
张晓丽副教授
张毅教授
张钰研究员
郑丽端副教授

周福有教授
周建奖教授
朱永良研究员

消化影像学

白彬主任医师
曾宪春主任医师
陈天武教授
管樛主任医师
郭顺林教授
郭万亮副教授
胡红杰主任医师
季倩副主任医师
李德春主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
吕维富教授
马立恒副主任医师
马苏美主任医师
饶圣祥副主任医师
任刚副主任医师
任小军副主任医师
沈君教授
唐磊主任医师
王劲主任医师
王军主任医师
王荣福教授
王学梅教授
王雅棣教授
危安主任医师
文碧秀教授
吴晶涛主任医师
肖恩华教授
肖文波主任医师
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授

消化内镜及介入治疗学

陈凤媛副教授
陈素钻主任医师
陈小勇主任医师
陈鑫副主任医师
丁西平主任医师
冯对平副主任医师
高道健副教授
高峰主任医师
郭强主任医师
孔德润教授
李家平教授
李鹏教授
刘杰民主任医师
刘展主任医师
茅爱武教授
施宏主任医师
孙冬林主任医师
孙明军教授
田锦林副主任医师
万军教授
王艳红主治医师
王跃东主任医师
吴杰主任医师
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
张立玮教授
钟良主任医师
诸葛宇征主任医师

消化中西医结合学

陈泽雄主任医师
邓晶晶副主任医师
杜业勤主任医师
高月求教授
郭卉主任医师
霍介格主任医师
孔桂美讲师
梅武轩教授
南月敏主任医师
唐文富教授
王宪波教授
王学美研究员
魏睦新教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

安增梅副主任医师
蔡文品副主任技师
曾涛副教授
曾柱教授
陈杰副主任药师
陈敬贤教授
陈晓教授
崔莲花教授
崔梅花主任医师
邓安梅教授
邓庆副研究员
邓益斌教授
邱阜生主任医师
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
顾兵副研究员
郭澄教授
郭俊明教授
郭长江研究员
哈小琴主任医师
黄辰教授
黄河副教授
黄坚副主任医师
黄昆教授
黄维亮主任检验师
黄文林教授
姜宏教授
蒋炜副教授
雷招宝主任药师
黎观红教授
李东辉教授
李刚教授
李瀚旻教授
李君文研究员
李玲副教授
李孟森教授
李妹副主任医师
李树德副教授
李文贵副教授
李夏青教授
李欣副教授
李欣教授
李焱副研究员
李增山副教授
李铮教授
刘克辛教授
刘起胜副教授
刘树业主任技师
刘松林教授

刘旭东副主任医师
刘长征副教授
柳增善教授
陆伦根主任医师
罗茂副研究员
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
乔明琦教授
秦雪教授
曲芬教授
任浩副教授
沈东炎副教授
沈美龙主任医师
沈涛副教授
石松林副教授
宋景春副主任医师
苏兆亮副教授
孙同文教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静副主任药师
田文静副教授
汪海峰教授
汪思应教授
王改平副教授
王健教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王晓东主任医师
王秀伶教授
王勇教授
王友亮副研究员
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴巧凤副研究员

吴志强副教授
伍义行教授
夏敏教授
胥萍主任医师
秧茂盛教授
杨金娥副教授
姚继红教授
阴赓宏研究员
岳昌武副教授
张达矜副研究员
张红杰教授
张丽军研究员
张利生教授
张淑坤副研究员
张卓副教授
赵海梅副教授
赵鹏伟讲师
赵铁建教授
郑曙云副教授
周春祥教授
周南进研究员
周晓武副主任医师
朱益民教授
朱争艳研究员
庄园副研究员

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
耿明主任医师
郭炜教授
韩安家教授
何清主任医师
季菊玲副教授
李慧副教授
李忠武副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授

陆建波主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
齐晓薇主任医师
秦阳华主治医师
石雪迎主任医师
孙青主任医师
王宝根副主任医师
王金胜教授
王莉主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
杨勤教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
郑建明教授
朱亮副教授

消化护理学

安力彬教授
成杰副主任护师
崔岩副主任护师
单信芝副主任护师
丁焕娟副主任护师
方英副主任护师
房辉副教授
高薇副主任护师
葛淑芝副主任护师
谷敏副主任护师
郭会敏主管护师
郭巧珍主管护师
赫玲玲主任护师
黄砚萍副主任护师
惠娜主管护师
吉建华副主任护师
江丽萍副主任护师
江萍主任护师

金凤娟副主任护师
金爽主任护师
靳雁副主任护师
孔德玲副主任护师
李金娜主任护师
李俊玲主任护师
李卡副主任护师
李丽副主任护师
李连红主任护师
李琬主任护师
李敏香副主任护师
李雯副主任护师
李秀芬副主任护师
李淳副主任护师
廖培娇副主任护师
林征教授
刘慧萍主任护师
刘永宁副主任护师
龙晓英主任护师
卢根娣主任护师
罗凝香副主任护师
马久红副主任护师
马燕兰主任护师
孟志新副主任护师
潘爱红副主任护师
潘玉凤副主任护师
齐向秀主管护师
齐艳副主任护师
乔晓斐副主任护师
乔筱玲副主任护师
任珍主任护师
史铁英主任护师
宋江美副主任护师
宋艳燕副主任护师
孙丽娟副主任护师
孙莉副主任护师
孙晓美副主任护师
唐碧云副主任护师
唐鲁主管护师

陶然主管护师
滕莉副主任护师
田银娣主管护师
王春英副主任护师
王红副主任护师
王家香主任护师
王庆华副教授
王晓春副主任护师
王琇副主任护师
王宇副主任护师
王玉娟主任护师
韦健主管护师
席惠君副主任护师
谢晓芬主管护师
许璧瑜副主任护师
薛海燕副主任护师
薛素梅主任护师
杨会副主任护师
杨云英主任护师
姚丽文副主任护师
叶海丹副主任护师
尹安春主任护师
俞静娴副主任护师
袁晓青副主任护师
张彩云主任护师
张洁副主任护师
张丽副主任护师
张丽燕主管护师
张琳琳副教授
张敏副主任护师
张善红副主任护师
张咏梅教授
赵艳伟副主任护师
郑粉善副主任护师
郑思琳主任护师
郑雪梅副主任护师
周文琴副主任护师
周霞霞副教授
朱秀琴副主任护师
朱颖副主任护师

目次

2016年4月8日 第24卷 第10期 (总第522期)

述评

- 1469 食管癌分期及放化疗疗效的磁共振定量评价进展
陈艳丽, 陈繁, 张小明, 陈天武
- 1477 HBx在肿瘤微环境中的作用及其对肝癌发生发展的影响
付沙, 范学工

基础研究

- 1485 内质网应激对胃癌细胞迁移与侵袭的影响
董凯楠, 黄忻, 邢文英, 郭文文, 冯若
- 1492 沉默MCM7基因后肝癌SMMC-7721细胞差异表达基因的筛选
罗旺, 曹骥, 杨香娣, 邓玲, 王谷洋, 杨春, 李科志, 李瑗
- 1501 溴结构域蛋白4抑制剂JQ1对肝癌细胞活性的影响
张婷, 乔雪, 杨纯

临床研究

- 1511 胃癌组织中HER2基因扩增与化疗药物敏感性标志物的联合检测及意义
朱超亚, 王仰坤, 李芳, 王苏南, 李滢滢, 负田, 潘治宇
- 1520 miR-143在胰腺癌组织中的表达及临床意义
王志红, 周琳, 王春峰, 张连峰

文献综述

- 1526 胃肠道菌群与慢性萎缩性胃炎的关系概述
王圆圆, 刘雅楠, 唐天瀛, 祁琴, 吴焕淦, 黄任佳, 王晓梅
- 1532 肝纤维化的影像学评价方法及研究进展
袁宇
- 1539 肝癌射频消融术后残余癌影像学评估的研究进展
栾新伟, 马秀现, 朱荣涛, 李健
- 1545 粪菌移植治疗炎症性肠病的现状
温红珠, 郝微微, 刘玉婷, 邵兰君

研究快报

- 1552 艾灸足三里穴对孤束核损毁术后大鼠胃黏膜损伤修复作用的影响
向娟, 陈果, 欧阳里知, 李飞, 向丽婷, 陈英, 于隽, 杨舟, 李铁浪, 彭亮

1557 细胞培养过程中支原体污染的防治与检测方法

邢龙彬, 刘长政, 焦晓磊, 刘彤, 杜智, 高英堂

临床经验

1565 食管癌患者放化疗期间实施综合心理护理干预的效果评价

滕亚莉

1570 胃部幽门螺杆菌感染对口腔异味患者的临床意义

胡玉姿, 叶月琴, 王昌雄

1575 瘦素和脂联素在老年结直肠腺瘤合并非酒精性脂肪肝患者中的表达及意义

张新星, 顾清, 张璐, 代小松, 陈和平

1581 脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性

陈美慧, 袁瑜, 李兰, 钟豪杰, 何兴祥

1587 胸腺法新为基础的药物治疗对肝移植术后肿瘤复发及相关细胞因子的影响

索龙龙, 杜国盛, 周林, 宋继勇, 朱志东, 封立魁, 杨绍臻

1593 内镜超声引导引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿70例

严豪杰, 崔乃强, 赵二鹏, 崔云峰, 么国旺

1597 早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的临床效果

唐宇涛, 俞宁, 沈印

1602 急性重症胰腺炎合并腹腔高压时压力监测的临床价值及预后影响因素

朱晓雯, 汤展宏, 潘光栋

1608 奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿幽门螺杆菌感染的根除效果评价

熊真

1613 冠状动脉粥样硬化性心脏病与幽门螺杆菌感染的相关性

赵燕颖, 程海涛, 王志军, 秦国涛, 徐涛, 王阳, 孙远杰

病例报告

1618 克罗恩病合并3次发作带状疱疹1例

王林, 曹燕, 顾海萍, 任禾, 杨雪源, 贾虹

1621 多环黏膜套扎切除手术治疗巨大结肠侧向发育型肿瘤1例

贾爱芹, 尚瑞莲, 魏志, 孙自勤

附录

I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知

I 2016年国内国际会议预告

志谢

I - II 志谢《世界华人消化杂志》编委

消 息

- 1510 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1564 《世界华人消化杂志》正文要求
1574 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1592 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
1601 《世界华人消化杂志》外文字符标准
1607 《世界华人消化杂志》参考文献要求
1617 《世界华人消化杂志》栏目设置
1624 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 陈天武, 教授, 临床医学博士, 硕士生导师, 637000, 四川省南充市文化路63号, 川北医学院附属医院放射科, 医学影像四川省重点实验室. 主要从事消化系统影像学方向的研究. 现为四川省卫计委学术技术带头人、有突出贡献中青年专家, 省学术技术带头人后备人选, 中华医学会放射学分会腹部专委会委员, 四川省医师协会放射医师分会常委及医学会放射专委会青委副主委、MRI学组副组长. 担任8本SCI期刊审稿专家, 3本核心期刊编委. 主持国家级、省级科研项目7项, 获四川省科技进步二、三等奖各1项. 发表论文120余篇, 其中SCI论文60余篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 于明茜; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2016-04-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部

郭鹏, 主任

《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: 010-59080035

手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 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)》数据库收录.

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

Contents

Volume 24 Number 10 April 8, 2016

EDITORIAL

- 1469 Magnetic resonance imaging for quantitative staging and evaluation of chemoradiotherapeutic effect in esophageal carcinoma
Chen YL, Chen F, Zhang XM, Chen TW
- 1477 Pathophysiological implications of hepatitis B X protein in tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma
Fu S, Fan XG

BASIC RESEARCH

- 1485 Effect of endoplasmic reticulum stress on gastric cancer cell migration and invasion
Dong KN, Huang X, Xing WY, Guo WW, Feng R
- 1492 Screening of differentially expressed genes after silencing *MCM7* in liver cancer cell line SMMC-7721
Luo W, Cao J, Yang XD, Deng L, Wang GY, Yang C, Li KZ, Li Y
- 1501 BRD4 inhibitor JQ1 inhibits viability of hepatocellular carcinoma cells
Zhang T, Qiao X, Yang C

CLINICAL RESEARCH

- 1511 Significance of combined detection of *HER2* gene amplification and markers of chemosensitivity in gastric cancer
Zhu CY, Wang YK, Li F, Wang SN, Li YY, Yun T, Pan ZY
- 1520 Clinical significance of expression of miR-143 in pancreatic carcinoma
Wang ZH, Zhou L, Wang CF, Zhang LF

REVIEW

- 1526 Relationship between gastrointestinal flora and chronic atrophic gastritis
Wang YY, Liu YN, Tang TY, Qi Q, Wu HG, Huang RJ, Wang XM
- 1532 Imaging methods for evaluation of liver fibrosis
Yuan Y
- 1539 Imaging evaluation of residual cancer after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma
Chang XW, Ma XX, Zhu RT, Li J
- 1545 Fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease
Wen HZ, Hao WW, Liu YT, Shao LJ

RAPID COMMUNICATION

- 1552 Effect of moxibustion stimulation at Zusanli (ST36) on repair of gastric mucosal injury in rats after damage to the nucleus of solitary tract
Xiang J, Chen G, Ou-Yang LZ, Li F, Xiang LT, Chen Y, Yu J, Yang Z, Li TL, Peng L

- 1557 Treatment and detection of mycoplasma contamination during cell culture

Xing LB, Liu CZ, Jiao XL, Liu T, Du Z, Gao YT

CLINICAL PRACTICE

- 1565 Efficacy of comprehensive mental nursing in patients with esophageal cancer during concurrent chemo-radiotherapy

Teng YL

- 1570 Correlation between bad breath and *Helicobacter pylori* infection

Hu YZ, Ye YQ, Wang CX

- 1575 Significance of plasma levels of adiponectin and leptin in elderly patients with colorectal adenomas and non-alcoholic fatty liver disease

Zhang XX, Gu Q, Zhang L, Dai XS, Chen HP

- 1581 Association between fatty liver and small intestinal mucosal lesions

Chen MH, Yuan Y, Li L, Zhong HJ, He XX

- 1587 Influence of thymosin α -1 based anti-tumor therapy on tumor recurrence and cytokine expression in patients after liver transplantation

Suo LL, Du GS, Zhou L, Song JY, Zhu ZD, Feng LK, Yang SZ

- 1593 Comparison of endoscopic ultrasound-guided drainage with surgery for treatment of pancreatic pseudocysts: Analysis of 70 cases

Yan HJ, Cui NQ, Zhao EP, Cui YF, Yao GW

- 1597 Clinical effects of early bedside blood filtration in treatment of acute severe pancreatitis

Tang YT, Yu N, Shen Y

- 1602 Clinical value of intra-abdominal pressure monitoring and prognosis in severe acute pancreatitis patients with intra-abdominal hypertension

Zhu XW, Tang ZH, Pan GD

- 1608 Clinical effects of triple therapy with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin in children with *Helicobacter pylori* infection

Xiong Z

- 1613 Correlation between coronary atherosclerotic heart disease and *Helicobacter pylori* infection

Zhao YY, Cheng HT, Wang ZJ, Qin GT, Xu T, Wang Y, Sun YJ

CASE REPORT

- 1618 Crohn's disease with recurrent herpes zoster: A case report

Wang L, Cao Y, Gu HP, Ren H, Yang XY, Jia H

- 1621 Multi-band mucosectomy for resection of a giant colorectal laterally spreading tumor: A case report

Jia AQ, Shang RL, Wei Z, Sun ZQ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 24 Number 10 April 8, 2016

APPENDIX

I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2016

ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Tian-Wu Chen, Professor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; Sichuan Key Laboratory of Medical Imaging, 63 Wenhua Road, Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Editor: *Jin-Li Yan*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ming-Xi Yu* Proof Editor: *Peng Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 8, 2016

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Peng Guo, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

食管癌分期及放化疗疗效的磁共振定量评价进展

陈艳丽, 陈繁, 张小明, 陈天武

陈艳丽, 陈繁, 张小明, 陈天武, 川北医学院附属医院放射科 医学影像四川省重点实验室 四川省南充市 637000

陈天武, 教授, 临床医学博士, 硕士生导师, 主要从事腹部CT/MRI研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81571645
四川省青年科技创新研究团队专项计划基金资助项目, No. 2015TD0029
四川省省属高校科研创新团队建设计划基金资助项目, No. 15TD0023

作者贡献分布: 本研究由陈天武与张小明设计、修改论文; 由陈艳丽与陈繁写作完成。

通讯作者: 陈天武, 教授, 临床医学博士, 硕士生导师, 637000, 四川省南充市文化路63号, 川北医学院附属医院放射科, 医学影像四川省重点实验室。chentw@aliyun.com
电话: 0817-2262236

收稿日期: 2016-01-05
修回日期: 2016-01-19
接受日期: 2016-01-23
在线出版日期: 2016-04-08

Magnetic resonance imaging for quantitative staging and evaluation of chemoradiotherapeutic effect in esophageal carcinoma

Yan-Li Chen, Fan Chen, Xiao-Ming Zhang, Tian-Wu Chen

Yan-Li Chen, Fan Chen, Xiao-Ming Zhang, Tian-Wu Chen, Department of Radiology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; Sichuan Key Laboratory of Medical Imaging, Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81571645; Sichuan Provincial Special Project for Youth Science and Technology Innovation Team, No. 2015TD0029; the Construction Plan for Scientific Research Team of Sichuan Provincial Colleges and Universities, No. 15TD0023

Correspondence to: Tian-Wu Chen, Professor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; Sichuan Key Laboratory of Medical Imaging, 63 Wenhua Road, Nanchong 637000, Sichuan Province, China. chentw@aliyun.com

Received: 2016-01-05
Revised: 2016-01-19
Accepted: 2016-01-23
Published online: 2016-04-08

Abstract

Esophageal carcinoma is a common digestive malignant tumor. Evaluation of the stage and response to chemoradiotherapy of the carcinoma is very important for the treatment decision making and adjustment of therapeutic protocol. To date, a variety of imaging techniques have been used for staging and monitoring response to therapy, but most of the procedures are invasive or of radiation exposure. Moreover, most of the techniques evaluating esophageal cancer are based on morphologic changes. As a non-invasive and non-ionising examination technique, magnetic resonance imaging can quantitatively evaluate this cancer. Nowadays magnetic resonance quantitative technique has progressed greatly in staging and monitoring response to therapy of esophageal carcinoma. This paper focuses on the quantitative evaluation of stage and chemoradiotherapeutic effect in esophageal carcinoma using magnetic resonance imaging.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal carcinoma; Stage; Chemoradiotherapy; Magnetic resonance imaging

Chen YL, Chen F, Zhang XM, Chen TW. Magnetic

背景资料

虽然目前已有多种影像学技术应用用于食管癌分期及放化疗疗效评估, 但多为有创性或有辐射损伤, 且多以形态学改变为基础。近年来的研究表明, 磁共振定量技术作为无创性新技术, 可对食管癌分期及放化疗疗效进行定量评估, 有助于食管癌的精准治疗及治疗方案的调整。

同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科; 李苏宜, 教授, 主任医师, 安徽省肿瘤医院肿瘤营养与代谢治疗科 (肿瘤内三科)

■ 研发前沿

磁共振新序列、快速成像技术、心电门控技术及更完善的数据分析模型在食管癌分期及放化疗疗效评估方面的应用是该领域亟待研究的问题。

resonance imaging for quantitative staging and evaluation of chemoradiotherapeutic effect in esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1469-1476 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1469.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1469>

摘要

食管癌是消化系常见的恶性肿瘤, 其分期有助于临床治疗方案的制定, 放化疗疗效评估对治疗方案的调整起着至关重要的作用。目前已有多种影像学技术应用于食管癌术前分期及疗效评估, 但多为有创性或辐射, 并且多以形态学改变为基础。磁共振定量技术作为一种无创伤、无辐射新检查技术, 可以通过量化的参数对病变进行评价。磁共振定量技术目前在评价食管癌分期及放化疗疗效方面取得了较大进展, 本文就食管癌分期及放化疗疗效的磁共振定量评价进行系统阐述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; 分期; 放化疗; 磁共振成像

核心提示: 在食管癌发生、进展及放化疗过程中, 肿瘤组织结构、生化代谢及微循环不断发生变化, 这些变化通过磁共振定量技术如磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging)、磁共振波谱成像(magnetic resonance spectroscopy)、动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced MRI)进行检测, 对食管癌分期及放化疗疗效进行定量评估, 帮助临床制定更有效的个体化治疗方案, 并及时调整治疗方案。

陈艳丽, 陈繁, 张小明, 陈天武. 食管癌分期及放化疗疗效的磁共振定量评价进展. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1469-1476 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1469.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1469>

0 引言

食管癌是全球常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率分别占世界恶性肿瘤的第9位和第6位^[1]。随着食管癌早期诊断和个体化、综合化治疗方案的应用, 其5年生存率由15%提高到了25%^[2]。早期患者可通过手术根治, 但多数患者就诊时已达中晚期, 多以根治性手术辅以放、化疗为主要治疗方案, 因此治疗前准确分期, 治疗后及时进行疗效评估, 对于个体化治疗方案的制定及调整至关重要。超声内镜是食管癌治疗前分期常用的影像检查技术, 但其

操作复杂, 具有探测范围小、不易通过狭窄食管腔、诊断结果受操作者个人经验影响大等缺点, 使其在食管癌准确分期方面应用受限^[3]。CT检查软组织分辨率低, 不能准确显示食管癌对食管壁的浸润深度, 并且主要通过粗略测量肿瘤最大径变化进行疗效评估, 但肿瘤的最大径变化多出现在治疗后期; 随着分子靶向药物及生物基因等治疗技术的出现, 其早期疗效通常不体现在肿瘤大小的变化上^[4,5], 表明CT难以对食管癌治疗早期效果作出评价。PET-CT广泛应用于肿瘤分期及疗效评价^[6], 但其很难鉴别某些良恶性氟脱氧葡萄糖(flucoseoxyglucose, FDG)异常积聚, 且有辐射损伤, 导致其应用受限^[7]。磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)具有软组织分辨率高、多方位、多序列、多参数成像等优点, 并且是一种无创伤、无辐射的检查, 但常规MRI在食管癌的应用多局限于形态学方面。随着高场强核磁体的应用及各种新技术的快速发展, MRI对食管癌的定量研究越来越多, 而且主要集中在用磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)、磁共振波谱成像(magnetic resonance spectroscopy, MRS)及灌注成像或动态增强扫描对食管癌分期及放化疗疗效进行评估, 其应用价值日益凸显, 本文就食管癌分期及放化疗疗效的磁共振定量评价研究进展进行评述。

1 DWI

1.1 基本概念

1.1.1 原理: DWI是通过MRI控制活体组织中水分子的磁化状态, 却不影响其扩散过程, 来检测活体组织中水分子的扩散运动, 从而间接反应细胞密度、组织结构等方面信息的无创性磁共振功能成像。

1.1.2 b值: 扩散敏感因子, MR各成像序列对扩散运动表现的敏感程度, 是对扩散运动能力检测的指标。b值较小时, 可获得较高信噪比的DWI图像, 但对水分子扩散运动的检测不敏感, 受其他运动的影响较大, 如组织血流灌注造成的水分子运动等。b值越大, 对水分子扩散运动越敏感, 但DWI图像信噪比降低, 磁敏感伪影和图像变形也逐渐加重。因此b值的选择对DWI非常重要, 但实际上b值的合理选择较困难, 目前用于评价人体内病变的b值一般介于0-1000 s/mm²^[8]。

1.1.3 表观扩散系数值计算: DWI图像通过量化

的表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)来进行分析^[9]. ADC值计算公式: $ADC = (\ln S_1/S_2)/(b_2-b_1)$, b_1 、 b_2 分别为施加的两个扩散敏感因子, S_1 、 S_2 分别为施加扩散敏感梯度场后同一部位的组织信号强度. 选取病变部位显示最大最清楚的层面作为感兴趣区(region of interest, ROI), 每个ROI反复测量ADC值多次, 取其平均值^[10].

1.2 DWI在食管癌诊断中的应用 在肿瘤特别是恶性肿瘤中, 由于肿瘤细胞生长、增殖迅速导致局部组织密度增加, 其内水分子扩散受限, 在DWI呈高信号, ADC值降低, 这是扩散加权成像在肿瘤应用中的生物学基础^[11,12]. Aoyagi等^[13,14]研究发现, 食管鳞癌组织的ADC值较正常食管壁明显降低, 并且食管鳞癌组织的ADC值与肿瘤直径、鳞状细胞癌抗原、细胞角化蛋白、肿瘤胶原基质、肿瘤血管内皮生长因子均呈负相关, 从而得出结论: 通过量化的ADC值可以对食管鳞癌进行诊断. Weber等^[15]研究, 发现食管腺癌组织的ADC值较正常食管壁明显降低, 表明量化的ADC值也可以对食管腺癌进行诊断. Sakurada等^[16]对24例食管癌患者进行研究, 发现原发性食管癌平均ADC值为 $1.26 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 0.29 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; 但其中仅有1例为食管腺癌(4.2%), 23例为食管鳞癌(23/24), 这是因为在亚洲、日本食管鳞癌占大多数. 这些研究表明, DWI有助于食管癌的检测.

1.3 DWI在食管癌分期中的应用 Aoyagi等^[13]研究, 发现食管鳞癌组织的ADC值与其临床分期呈负相关, T1期食管鳞癌组织ADC值明显高于T3和T4期, T2期食管鳞癌组织ADC值也高于T3和T4期; N0期食管鳞癌组织ADC值高于N1期; 进展期食管鳞癌组织ADC值明显低于早期食管鳞癌组织, 并且I期食管鳞癌组织ADC值与III期和IV期具有明显差异, II期与III期和IV期食管鳞癌组织ADC值也存在明显差异. 这为临床制定合理的治疗方案提供了有效信息.

Vandecaveye等^[17]研究, 发现良性淋巴结的 $ADC_{b0-1000}$ 值(即通过 $b=0 \text{ s/mm}^2$ 和 $b=1000 \text{ s/mm}^2$ 图像的平均信号值所计算出的ADC值)为 $1.19 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 0.22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 恶性淋巴结的 $ADC_{b0-1000}$ 值为 $0.85 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 0.27 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 并且以 $ADC_{b0-1000}$ 值等于 $0.94 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 为最佳界限值, 对良恶性淋巴结鉴别的敏感

度、特异性、准确率分别为84%、94%、91%; 对颈部淋巴结良恶性鉴别的敏感度、特异性、准确率分别为94%、97%、97%. 从而得出结论: 相对于快速自旋回波, DWI在淋巴结分期和发现黏膜下淋巴结转移方面具有优越性. Sakurada等^[16]报道, 转移性淋巴结的平均ADC值为 $1.46 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s} \pm 0.35 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 比非转移性淋巴结显著增高. 但Abdel Razek等^[18]研究却发现, 转移性淋巴结ADC值显著低于炎性及正常淋巴结ADC值, 并且与二者之间无重叠. 这可能与研究者所选择的成像参数及ADC数据分析模式不同有关.

1.4 DWI在食管癌放化疗疗效评估中的应用 经过有效的抗肿瘤治疗, 使肿瘤细胞凋亡、破裂、溶解, 细胞外间隙增宽, 水分子扩散增加, ADC值升高. 在许多动物实验中, 放疗或化疗后ADC值升高早于形态学改变, 对疗效评估及预后判断都有极为重要的参考价值^[19,20]. 有研究报道, 在食管癌放疗早、中、晚期, 对放疗有应答的肿瘤的ADC值变化率与无应答者的ADC值变化率均存在明显差异, 而两者的肿瘤大小变化率在放疗早期无明显差异^[21]. Imanishi等^[22]研究也发现, 对于中晚期食管鳞癌, 在放射治疗剂量达20 Gy的早期放疗, 疗效好的食管癌组织ADC变化值明显高于无应答者; 并且将 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 作为ADC变化值的临界值时, 其预测治疗疗效的敏感度、准确率分别为79%、74%. van Rossum等^[23]也曾报道放化疗疗效好的食管癌ADC变化值比疗效较差、无应答者均高. De Cobelli等^[24]研究还发现, 食管癌治疗前后ADC变化值与肿瘤萎缩分级密切相关. 而肿瘤萎缩分级, 是根据放化疗后残余肿瘤细胞的百分比进行的, 肿瘤萎缩分级越高, 则其残余肿瘤细胞百分比越高^[25]. 另外, Aoyagi等^[26]对食管鳞癌研究发现, 治疗前食管鳞癌组织ADC值较高者比ADC值较低者放化疗疗效好, 并且食管鳞癌组织ADC值较高组比ADC值较低组生存率高. Wang等^[27]也对食管鳞癌研究, 发现治疗后食管鳞癌ADC值较治疗前明显升高. 因此, 量化的ADC值不仅可用于食管鳞癌的疗效评估, 还可用于其疗效预测. Weber等^[15]对食管腺癌进行研究, 发现治疗前腺癌组织ADC值较正常食管壁低, 治疗后其ADC值增加, 得出结论: 量化的ADC值也可应用于食管腺癌的放化疗疗效评估.

■ 相关报道

通过食管鳞癌组织表观扩散系数数值的检测, 对食管鳞癌进行分期的应用价值, Aoyagi等进行了较详细的研究. 在治疗过程中, 食管癌肿瘤组织体积变化之前, 利用动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced MRI, DCE-MRI)可对食管癌放化疗疗效进行评估.

■ 创新盘点

本文重点阐述了磁共振扩散加权成像、磁共振波谱成像、DCE-MRI在食管癌分期及放化疗疗效评估方面的研究进展, 可以更系统的了解磁共振定量技术在食管癌分期及放化疗疗效评估方面的应用价值。

不同的研究者选择的成像参数及ADC数据分析模式不同, 得出的结论存在差异. 但随着MRI技术的不断发展、成像参数及数据分析模式的不断完善, DWI作为一种无创性功能成像技术, 在食管癌分期及放化疗疗效评估, 特别是疗效评估方面的应用前景将越来越广阔。

2 MRS

2.1 原理 MRS是利用磁共振基本成像原理和化学位移作用, 对特定原子核及其化合物进行定量分析, 反映肿瘤和正常组织不同生化代谢信息的无创性检查. 化学位移是MRS的基础, 在特定的均匀外加静磁场中, 同一原子核位于不同的化学结构中, 其进动频率也有差别. 因为环绕原子核运动的电子云的结构及运动方式不同, 产生不同的局部磁场强度, 引起该原子核的进动频率发生变化, MRS可探测得到这种变化. 在相同环境条件下, 由于所处的分子结构不同所致的同一原子核进动频率出现差异的现象被称为化学位移现象. MRS技术, 是在磁共振技术的基础上发展起来的, 其功能比磁共振更强, 能在分子水平反映人体内病变信息^[28].

2.2 MRS在食管癌诊断中的应用

2.2.1 食管癌组织标本波谱成像: 在肿瘤发生、发展及转移过程中, 由于癌基因的激活及抑癌基因的失活, 导致细胞中的糖、蛋白质、脂类及核酸等物质的含量及结构发生变化, 从而导致细胞功能、结构发生改变. 而这些物质基本上都由¹H、¹³C、¹⁵N和¹⁷O等组成, 因此这些具有奇数质子或奇数中子且具有磁矩的原子核的小分子在特定的磁场中便可产生特定的核磁共振波谱^[29]. Yang等^[30]研究报道, 利用高分辨率魔角旋转¹H-NMR对食管鳞癌及邻近正常食管组织标本进行代谢组学分析, 不仅可以鉴别食管鳞癌与正常食管组织, 还可鉴别中、高分化的食管鳞癌. Mukherji等^[31]研究发现, 食管鳞癌组织胆碱复合物(choline-containing compounds, Cho)含量较正常食管平滑肌明显增高, 且胆碱复合物与肌酸(creatine, Cr)的比值也明显高于正常食管平滑肌, 但仅在长回波时间有明显区别. 研究^[32,33]表明, MRS对鉴别正常食管与Barrett食管及食管腺癌有很高精度, 并且癌变的Barrett食管黏膜上皮与未癌变

的Barrett食管黏膜上皮MRS谱线特征也有明显区别. 研究^[34]还发现, MRS成像可从癌组织代谢物的早期改变对食管癌进行早期诊断.

2.2.2 食管癌组织血清、血浆及尿液标本波谱成像: 血清、血浆代谢物是潜在的肿瘤生物标志物, 一些代谢物浓度的改变是由信号传导通路、蛋白质表达及其他分子机制的改变所致, 这是机体在癌变过程中根据环境变化做出的生物化学适应, 从而为肿瘤的发展提供适宜的条件^[35,36]. 这些代谢物的变化随着血液流动至全身各系统. Zhang等^[37]通过对食管癌和健康人血清标本进行¹H-NMR检测, 发现有12种生化代谢物与食管癌密切相关. 与健康对照组相比, 食管癌患者血清乳酸、乙酸乙酯、 β -羟丁酸、谷氨酰胺、谷氨酸含量增加, 而酪氨酸、脂类、乙酸盐类及葡萄糖类含量则降低. 另有研究发现, 进行血浆¹H-NMR检测是鉴别食管腺癌患者与健康人的一种无创且有效的方法, 并得出8种对鉴别食管癌患者与健康人具有较高敏感度与选择性的代谢标志物, 这8种代谢标志物分别为葡萄糖、乳酸、柠檬酸、 β -羟基丁酸、赖氨酸、谷氨酰胺、肌酐及一种不知名的代谢物; 并且还指出通过¹H-NMR检测的8种代谢物与液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)检测的代谢物相结合对于区分食管癌与健康人更具有优势^[38,39]. 食管癌患者微量代谢物既存在于血液, 也存在于排泄物中. 研究^[40,41]发现, 尿液标本进行¹H-NMR检测对鉴别食管癌患者与健康人具有较高敏感度与特异性, 并可作为一种非侵入性检查技术, 该检查在鉴别食管癌患者与健康人方面的应用具有很大潜能.

2.3 MRS在食管癌分期中的应用 目前利用MRS对食管癌分期的研究主要局限于体外标本研究. 随着食管癌的进展, 为了给肿瘤细胞提供适宜的生存条件, 肿瘤细胞的各种代谢物也随之改变. Wang等^[42]对食管癌及正常食管黏膜标本进行体外¹H-NMR研究, 共鉴定出45种代谢物, 其中12种与食管癌分期密切相关, 12种代谢物分别为葡萄糖、甲酸、腺苷一磷酸(adenosine monophosphate, AMP)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)、肌酸、肌酐、二甲胺(dimethylglycine, DMG)、二甲基甘氨酸(dimethylamine, DMA)、三甲胺(trimethylamine, TMA)、

短链脂肪酸、乙酸盐、 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA). 而这12种代谢物分别参与了能量、脂肪及胆碱代谢; 并且通过正交偏最小二乘判别分析方法(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)还能很好地鉴别不同期别的食管癌组织及正常食管黏膜. Merchant等^[43]研究还发现, 随着食管癌T分期的增加, 食管癌组织中双氢神经鞘磷脂(4,5-dihydrosphingomyelin, DHSM)含量逐渐增加, 而溶烷酰卵磷脂(lysoalkylacylphosphatidylcholine, LAAPC)含量逐渐减少; 随着食管癌分级的增加, 食管癌组织中磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol, PG)和溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC1)含量逐渐减少; 有淋巴管浸润者PG含量比无淋巴管浸润者低, 差异均具有统计学意义.

虽然目前对食管癌MRS的研究多局限于体外研究, 但其可通过食管癌标本、血清、血浆及尿液等多种途径进行, 并且随着技术的快速发展, MRS作为肿瘤诊断新技术, 其研究及临床应用前景广阔.

3 动态增强磁共振成像

3.1 原理 动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced MRI, DCE-MRI)是利用顺磁性对比剂能缩短组织 T_1 和 T_2 值的原理, 团注顺磁性对比剂, 动态监测正常组织和肿瘤微血管的血流灌注特性, 并对其进行半定量或定量分析. 目前多采用定量分析法, 运用药物动力学模型技术, 对时间-浓度曲线进行数学拟合, 演算出各种能反映肿瘤血管结构和功能的各种定量参数, 其中 K^{trans} 值(对比剂容积转换常数)作为肿瘤血流的标志物已经获得公认^[44-47].

3.2 DCE-MRI在食管癌诊断中的应用 正常情况下, 血管生成是由促血管生成因子与抗血管生成因子很好地控制着, 只有在月经周期、怀孕、伤口的愈合及修复时才会促血管生成^[48]. 然而, 在肿瘤中, 这种促血管生成与抗血管生成的平衡被打破, 形成所谓的“血管生成开关”. 肿瘤细胞内隐藏的促血管生成因子刺激上皮细胞的生成及转移, 最终形成肿瘤的新生血管, 导致肿瘤血管密度较正常组织增加^[49]. 有研究表明, 肿瘤血容量及表面通透性与肿瘤微血管密度呈正相关^[50]. Lei等^[51]研究表明, 早期食管癌组织的 K^{trans} 值、Kep值(速率常数)

均较正常食管增加, 并指出 K^{trans} 值及Kep值在ROC曲线下的面积分别为0.98和0.92, 其对早期食管癌有较高的诊断价值, 可为临床提供早期病灶的信息, 从而提高食管癌治愈率. Chang等^[52]研究表明, 通过量化的 K^{trans} 值还可以准确鉴别食管腺癌与正常组织, 为食管癌诊疗提供信息. 另外, 有研究^[53]报道, 量化的 K^{trans} 值对食管癌病理类型(鳞癌和腺癌)也有一定的鉴别价值, 鳞癌对比剂的摄取率比腺癌低, 但其对比剂血管壁交换率较高. 但有研究^[54]指出, DCE-MRI对于肿瘤分型的主要指标与空间分辨率密切相关, 选择合适范围内的空间分辨率更有助于肿瘤的分型.

3.3 DCE-MRI在食管癌放疗疗效评估中的应用 放射治疗的辐射损伤, 使肿瘤毛细血管壁肿胀、变性、坏死, 管腔变窄, 血栓形成, 导致血流灌注减少及血管渗漏性降低, 甚至局部纤维化, 从而降低 K^{trans} 值, 因此通过测量、计算 K^{trans} 值对于放疗疗效评估具有一定的价值^[55]. Oberholzer等^[53]研究发现, 食管癌放化疗后进行DCE-MRI检查, 其通过血管壁的对对比剂的量相对治疗前减少, 通过DCE-MRI检查定量分析可对食管癌治疗过程进行管理与管理. Chang等^[52]也报道, 对放疗有应答者治疗后 K^{trans} 值较治疗前明显降低, 而无应答者治疗前后无明显变化.

目前对DCE-MRI在食管癌诊断及放化疗疗效定量评估方面的研究较少, 对食管癌分期更是鲜有报道, 但作为新的无创性、功能性检查技术, 其对食管癌研究具有很高的价值.

4 其他MRI序列在食管癌转移淋巴结定量评价中的应用

除了以上所述的利用DWI、MRS、DCE-MRI成像对食管癌进行分期及放化疗疗效的定量评价外, Alper等^[56]报道, 发现采用心电触发短时间反转恢复(short time inversion recovery, STIR)可对食管癌患者淋巴结进行定量分析; 良性淋巴结与正常食管信号值比为 0.73 ± 0.30 , 而恶性淋巴结与正常食管信号值比为 2.03 ± 0.40 , 明显高于前者, 通过这些数据得出STIR检出转移性淋巴结的敏感度和特异性分别为81.3%和98.3%. Alper等还指出, 该研究中超过63%的阳性淋巴结短径均 <1 cm. 得出结论: STIR在食管癌N分期方面有一定的应用价值.

应用要点

本文阐述了磁共振定量技术在食管癌分期及放化疗疗效评估方面的研究进展, 为临床制定个体化治疗方案、及时调整治疗方案提供客观的定量影像学依据.

■名词解释

正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA): 一种代谢组学数据分析技术, 通过对偏最小二乘判别分析模型进行正交矫正处理, 得出的新的数据分析模型, 可以直接显示代谢组内哪些代谢物升高或降低。

5 结论

目前对于食管癌分期及放化疗疗效评估的DWI、MRS及灌注成像或动态增强扫描研究, 不同研究者所采用的磁共振成像参数、数据分析方法等不同, 所得出的结论也存在差异; 一些新序列, 还未用于食管癌的研究。在食管癌分期及放化疗疗效评估方面, 磁共振定量分析技术显示出了很大的优势, 特别是在放化疗疗效评估方面。磁共振对食管的成像受呼吸运动及心脏、大血管脉动影响较大, 相应数据分析受限。随着心电呼吸门控的应用、快速扫描技术等技术的发展, 磁共振在食管癌的定量分期及疗效评估方面将发挥越来越高的研究与应用价值。

6 参考文献

- 1 Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C, Hansen G, Woodbrook R, Wolfe C, Hamadeh RR, Moore A, Werdecker A, Gessner BD, Te Ao B, McMahon B, Karimkhani C, Yu C, Cooke GS, Schwebel DC, Carpenter DO, Pereira DM, Nash D, Kazi DS, De Leo D, Plass D, Ukwaja KN, Thurston GD, Yun Jin K, Simard EP, Mills E, Park EK, Catalá-López F, deVeber G, Gotay C, Khan G, Hosgood HD, Santos IS, Leasher JL, Singh J, Leigh J, Jonas J, Sanabria J, Beardsley J, Jacobsen KH, Takahashi K, Franklin RC, Ronfani L, Montico M, Naldi L, Tonelli M, Geleijnse J, Petzold M, Shrimel MG, Younis M, Yonemoto N, Breitborde N, Yip P, Pourmalek F, Lotufo PA, Esteghamati A, Hankey GJ, Ali R, Lunevicius R, Malekzadeh R, Dellavalle R, Weintraub R, Lucas R, Hay R, Rojas-Rueda D, Westerman R, Sepanlou SG, Nolte S, Patten S, Weichenthal S, Abera SF, Fereshtehnejad SM, Shiue I, Driscoll T, Vasankari T, Alsharif U, Rahimi-Movaghar V, Vlassov VV, Marcenes WS, Mekonnen W, Melaku YA, Yano Y, Artaman A, Campos I, MacLachlan J, Mueller U, Kim D, Trillini M, Eshrati B, Williams HC, Shibuya K, Dandona R, Murthy K, Cowie B, Amare AT, Antonio CA, Castañeda-Orjuela C, van Gool CH, Violante F, Oh IH, Deribe K, Soreide K, Knibbs L, Kereselidze M, Green M, Cardenas R, Roy N, Tillman T, Li Y, Krueger H, Monasta L, Dey S, Sheikhbahaei S, Hafezi-Nejad N, Kumar GA, Sreeramareddy CT, Dandona L, Wang H, Vollset SE, Mokdad A, Salomon JA, Lozano R, Vos T, Forouzanfar M, Lopez A, Murray C, Naghavi M. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol* 2015; 1: 505-527 [PMID: 26181261]
- 2 Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, Luketich JD. Oesophageal carcinoma. *Lancet* 2013; 381: 400-412 [PMID: 23374478 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60643-6]
- 3 van Zoonen M, van Oijen MG, van Leeuwen MS, van Hillegersberg R, Siersema PD, Vleggaar FP. Low impact of staging EUS for determining surgical resectability in esophageal cancer. *Surg*

- Endosc* 2012; 26: 2828-2834 [PMID: 22692460 DOI: 10.1007/s00464-012-2254-z]
- 4 Subasinghe D, Samarasekera DN. A study comparing endoscopic ultrasound (EUS) and computed tomography (CT) in staging oesophageal cancer and their role in clinical decision making. *J Gastrointest Cancer* 2010; 41: 38-42 [PMID: 19946764 DOI: 10.1007/s12029-009-9105-8]
- 5 Harry VN, Semple SI, Parkin DE, Gilbert FJ. Use of new imaging techniques to predict tumour response to therapy. *Lancet Oncol* 2010; 11: 92-102 [PMID: 20129132 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70190-1]
- 6 Kwee TC, Kwee RM, Nievelstein RA. Imaging in staging of malignant lymphoma: a systematic review. *Blood* 2008; 111: 504-516 [PMID: 17916746 DOI: 10.1182/blood-2007-07-101899]
- 7 Riad R, Omar W, Kotb M, Hafez M, Sidhom I, Zamzam M, Zaky I, Abdel-Dayem H. Role of PET/CT in malignant pediatric lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37: 319-329 [PMID: 19756591 DOI: 10.1007/s00259-009-1276-9]
- 8 Vandecaveye V, Dirix P, De Keyser F, de Beeck KO, Vander Poorten V, Roebben I, Nuyts S, Hermans R. Predictive value of diffusion-weighted magnetic resonance imaging during chemoradiotherapy for head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Radiol* 2010; 20: 1703-1714 [PMID: 20179939 DOI: 10.1007/s00330-010-1734-6]
- 9 Khoo MM, Tyler PA, Saifuddin A, Padhani AR. Diffusion-weighted imaging (DWI) in musculoskeletal MRI: a critical review. *Skeletal Radiol* 2011; 40: 665-681 [PMID: 21311884 DOI: 10.1007/s00256-011-1106-6]
- 10 刘辉, 时高峰, 邵娴, 许茜, 贾立涛, 翟英敏. 磁共振弥散加权成像在食管癌放疗疗效中的应用以及评价价值. *中国现代医学杂志* 2014; 24: 58-61
- 11 Yao XZ, Yun H, Zeng MS, Wang H, Sun F, Rao SX, Ji Y. Evaluation of ADC measurements among solid pancreatic masses by respiratory-triggered diffusion-weighted MR imaging with inversion-recovery fat-suppression technique at 3.0T. *Magn Reson Imaging* 2013; 31: 524-528 [PMID: 23200681 DOI: 10.1016/j.mri.2012.09.006]
- 12 Wu X, Pertovaara H, Dastidar P, Vornanen M, Paavola L, Marjomäki V, Järvenpää R, Eskola H, Kellokumpu-Lehtinen PL. ADC measurements in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma: a DWI and cellularity study. *Eur J Radiol* 2013; 82: e158-e164 [PMID: 23254159 DOI: 10.1016/j.ejrad.2012.11.021]
- 13 Aoyagi T, Shuto K, Okazumi S, Shimada H, Nabeya Y, Kazama T, Matsubara H. Evaluation of the clinical staging of esophageal cancer by using diffusion-weighted imaging. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2010; 1: 847-851 [DOI: 10.3892/etm.2010.112]
- 14 Aoyagi T, Shuto K, Okazumi S, Hayano K, Satoh A, Saitoh H, Shimada H, Nabeya Y, Kazama T, Matsubara H. Apparent diffusion coefficient correlation with oesophageal tumour stroma and angiogenesis. *Eur Radiol* 2012; 22: 1172-1177 [PMID: 22258519 DOI: 10.1007/s00330-011-2359-0]
- 15 Weber MA, Bender K, von Gall CC, Stange A, Grünberg K, Ott K, Haberkorn U, Kauczor HU, Zechmann C. Assessment of diffusion-weighted MRI and 18F-fluoro-deoxyglucose PET/CT in monitoring early response to neoadjuvant

- chemotherapy in adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *J Gastrointest Liver Dis* 2013; 22: 45-52 [PMID: 23539390]
- 16 Sakurada A, Takahara T, Kwee TC, Yamashita T, Nasu S, Horie T, Van Cauteren M, Imai Y. Diagnostic performance of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in esophageal cancer. *Eur Radiol* 2009; 19: 1461-1469 [PMID: 19172278 DOI: 10.1007/s00330-008-1291-4]
 - 17 Vandecaveye V, De Keyzer F, Vander Poorten V, Dirix P, Verbeken E, Nuyts S, Hermans R. Head and neck squamous cell carcinoma: value of diffusion-weighted MR imaging for nodal staging. *Radiology* 2009; 251: 134-146 [PMID: 19251938 DOI: 10.1148/radiol.2511080128]
 - 18 Abdel Razek AA, Soliman NY, Elkhamary S, Alsharaway MK, Tawfik A. Role of diffusion-weighted MR imaging in cervical lymphadenopathy. *Eur Radiol* 2006; 16: 1468-1477 [PMID: 16557366]
 - 19 Türkbey B, Aras Ö, Karabulut N, Turgut AT, Akpınar E, Alibek S, Pang Y, Ertürk ŞM, El Khoul RH, Bluemke DA, Choyke PL. Diffusion-weighted MRI for detecting and monitoring cancer: a review of current applications in body imaging. *Diagn Interv Radiol* 2012; 18: 46-59 [PMID: 21928189 DOI: 10.4261/1305-3825]
 - 20 Thomas S, Kayhan A, Lakadamyali H, Oto A. Diffusion MRI of acute pancreatitis and comparison with normal individuals using ADC values. *Emerg Radiol* 2012; 19: 5-9 [PMID: 21927794 DOI: 10.1007/s10140-011-0983-2]
 - 21 Sun YS, Cui Y, Tang L, Qi LP, Wang N, Zhang XY, Cao K, Zhang XP. Early evaluation of cancer response by a new functional biomarker: apparent diffusion coefficient. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 197: W23-W29 [PMID: 21700991 DOI: 10.2214/AJR.10.4912]
 - 22 Imanishi S, Shuto K, Aoyagi T, Kono T, Saito H, Matsubara H. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for predicting and detecting the early response to chemoradiotherapy of advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Surg* 2013; 30: 240-248 [PMID: 23880636 DOI: 10.1159/000351435]
 - 23 van Rossum PS, van Lier AL, van Vulpen M, Reerink O, Lagendijk JJ, Lin SH, van Hillegersberg R, Ruurda JP, Meijer GJ, Lips IM. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the prediction of pathologic response to neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal cancer. *Radiother Oncol* 2015; 115: 163-170 [PMID: 26002307 DOI: 10.1016/j.radonc.2015.04.027]
 - 24 De Cobelli F, Giganti F, Orsenigo E, Cellina M, Esposito A, Agostini G, Albarello L, Mazza E, Ambrosi A, Socci C, Staudacher C, Del Maschio A. Apparent diffusion coefficient modifications in assessing gastro-oesophageal cancer response to neoadjuvant treatment: comparison with tumour regression grade at histology. *Eur Radiol* 2013; 23: 2165-2174 [PMID: 23588582 DOI: 10.1007/s00330-013-2807-0]
 - 25 Chao YK, Chang CB, Chuang WY, Wen YW, Chang HK, Tseng CK, Yeh CJ, Liu YH. Correlation Between Tumor Regression Grade and Clinicopathological Parameters in Patients With Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus Who Received Neoadjuvant Chemoradiotherapy. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1407 [PMID: 26313788 DOI: 10.1097/MD.0000000000001407]
 - 26 Aoyagi T, Shuto K, Okazumi S, Shimada H, Kazama T, Matsubara H. Apparent diffusion coefficient values measured by diffusion-weighted imaging predict chemoradiotherapeutic effect for advanced esophageal cancer. *Dig Surg* 2011; 28: 252-257 [PMID: 21654173 DOI: 10.1159/000328770]
 - 27 Wang L, Han C, Zhu S, Shi G, Wang Q, Tian H, Kong J, Zhang A. Investigation of using diffusion-weighted magnetic resonance imaging to evaluate the therapeutic effect of esophageal carcinoma treatment. *Oncol Res Treat* 2014; 37: 112-116 [PMID: 24685914 DOI: 10.1159/000360210]
 - 28 Parra NA, Maudsley AA, Gupta RK, Ishkanian F, Huang K, Walker GR, Padgett K, Roy B, Panoff J, Markoe A, Stoyanova R. Volumetric spectroscopic imaging of glioblastoma multiforme radiation treatment volumes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 90: 376-384 [PMID: 25066215 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.03.049]
 - 29 姜玉章, 孙晓阳, 史昆波, 尹起范. 食管鳞癌患者血清核磁共振氢谱特征研究. *中华全科医师杂志* 2011; 10: 268-270
 - 30 Yang Y, Wang L, Wang S, Liang S, Chen A, Tang H, Chen L, Deng F. Study of metabonomic profiles of human esophageal carcinoma by use of high-resolution magic-angle spinning 1H NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Anal Bioanal Chem* 2013; 405: 3381-3389 [PMID: 23455688 DOI: 10.1007/s00216-013-6774-8]
 - 31 Mukherji SK, Schiro S, Castillo M, Kwock L, Soper R, Blackstock W, Shockley W, Weissler M. Proton MR spectroscopy of squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: in vitro characteristics. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996; 17: 1485-1490 [PMID: 8883645]
 - 32 Clark GW, Smyrk TC, Burdiles P, Hoeft SF, Peters JH, Kiyabu M, Hinder RA, Bremner CG, DeMeester TR. Is Barrett's metaplasia the source of adenocarcinomas of the cardia? *Arch Surg* 1994; 129: 609-614 [PMID: 8204035]
 - 33 Doran ST, Falk GL, Somorjai RL, Lean CL, Himmelreich U, Philips J, Russell P, Dolenko B, Nikulin AE, Mountford CE. Pathology of Barrett's esophagus by proton magnetic resonance spectroscopy and a statistical classification strategy. *Am J Surg* 2003; 185: 232-238 [PMID: 12620562]
 - 34 Yakoub D, Keun HC, Goldin R, Hanna GB. Metabolic profiling detects field effects in nondysplastic tissue from esophageal cancer patients. *Cancer Res* 2010; 70: 9129-9136 [PMID: 20884633 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1566]
 - 35 Vizán P, Mazurek S, Cascante M. Robust metabolic adaptation underlying tumor progression. *Metabolomics* 2008; 4: 11-12 [DOI 10.1007/s11306-007-0101-3]
 - 36 Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009; 324: 1029-1033 [PMID: 19460998 DOI: 10.1126/science.1160809]
 - 37 Zhang X, Xu L, Shen J, Cao B, Cheng T, Zhao T, Liu X, Zhang H. Metabolic signatures of

同行评价

本文选题不仅新颖, 更结合临床实际需求, 文章按照核磁共振技术固有功能进展带来的延伸手法, 逐一论述可能在食管鳞癌的诊断中所起到的独特作用, 具有一定的学术价值。

- esophageal cancer: NMR-based metabolomics and UHPLC-based focused metabolomics of blood serum. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 1207-1216 [PMID: 23524237 DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.03.009]
- 38 Zhang J, Liu L, Wei S, Nagana Gowda GA, Hammoud Z, Kesler KA, Raftery D. Metabolomics study of esophageal adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141: 469-475, 475.e1-e4 [PMID: 20880550 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2010.08.025]
 - 39 Zhang J, Bowers J, Liu L, Wei S, Gowda GA, Hammoud Z, Raftery D. Esophageal cancer metabolite biomarkers detected by LC-MS and NMR methods. *PLoS One* 2012; 7: e30181 [PMID: 22291914 DOI: 10.1371/journal.pone.0030181]
 - 40 Hasim A, Ma H, Mamtimin B, Abudula A, Niyaz M, Zhang LW, Anwer J, Sheyhidin I. Revealing the metabonomic variation of EC using ¹H-NMR spectroscopy and its association with the clinicopathological characteristics. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 8955-8964 [PMID: 22736106 DOI: 10.1007/s11033-012-1764-z]
 - 41 Davis VW, Schiller DE, Eurich D, Sawyer MB. Urinary metabolomic signature of esophageal cancer and Barrett's esophagus. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 271 [PMID: 23241138 DOI: 10.1186/1477-7819-10-271]
 - 42 Wang L, Chen J, Chen L, Deng P, Bu Q, Xiang P, Li M, Lu W, Xu Y, Lin H, Wu T, Wang H, Hu J, Shao X, Cen X, Zhao YL. ¹H-NMR based metabonomic profiling of human esophageal cancer tissue. *Mol Cancer* 2013; 12: 25 [PMID: 23556477 DOI: 10.1186/1476-4598-12-25]
 - 43 Merchant TE, Minsky BD, Lauwers GY, Diamantis PM, Haida T, Glonek T. Esophageal cancer phospholipids correlated with histopathologic findings: a ³¹P NMR study. *NMR Biomed* 1999; 12: 184-188 [PMID: 10421909]
 - 44 O'Connor JP, Jackson A, Parker GJ, Jayson GC. DCE-MRI biomarkers in the clinical evaluation of antiangiogenic and vascular disrupting agents. *Br J Cancer* 2007; 96: 189-195 [PMID: 17211479]
 - 45 Wu X, Jeong EK, Emerson L, Hoffman J, Parker DL, Lu ZR. Noninvasive evaluation of antiangiogenic effect in a mouse tumor model by DCE-MRI with Gd-DTPA cystamine copolymers. *Mol Pharm* 2010; 7: 41-48 [PMID: 19958031 DOI: 10.1021/mp900153f]
 - 46 Jackson A, O'Connor JP, Parker GJ, Jayson GC. Imaging tumor vascular heterogeneity and angiogenesis using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3449-3459 [PMID: 17575207]
 - 47 Zweifel M, Padhani AR. Perfusion MRI in the early clinical development of antivascular drugs: decorations or decision making tools? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37 Suppl 1: S164-S182 [PMID: 20461374 DOI: 10.1007/s00259-010-1451-z]
 - 48 Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-936 [PMID: 16355210]
 - 49 Gotink KJ, Verheul HM. Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: what is their mechanism of action? *Angiogenesis* 2010; 13: 1-14 [PMID: 20012482 DOI: 10.1007/s10456-009-9160-6]
 - 50 Song T, Shen YG, Jiao NN, Li XH, Hu HT, Qu JR, Chen XJ, Feng W, Zhang X, Li HL. Esophageal squamous cell carcinoma: assessing tumor angiogenesis using multi-slice CT perfusion imaging. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2195-2202 [PMID: 22476585 DOI: 10.1007/s10620-012-2149-9]
 - 51 Lei J, Tian Y, Zhu SC, Han Q, Wei Y, Yang S, Shi DP. Preliminary study of IVIM-DWI and DCE-MRI in early diagnosis of esophageal cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 3345-3350 [PMID: 26439027]
 - 52 Chang EY, Li X, Jerosch-Herold M, Priest RA, Enestvedt CK, Xu J, Springer CS, Jobe BA. The evaluation of esophageal adenocarcinoma using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 166-175 [PMID: 17768665]
 - 53 Oberholzer K, Pohlmann A, Schreiber W, Mildenerberger P, Kunz P, Schmidberger H, Junginger T, Düber C. Assessment of tumor microcirculation with dynamic contrast-enhanced MRI in patients with esophageal cancer: initial experience. *J Magn Reson Imaging* 2008; 27: 1296-1301 [PMID: 18504749 DOI: 10.1002/jmri.21305]
 - 54 Aref M, Chaudhari AR, Bailey KL, Aref S, Wiener EC. Comparison of tumor histology to dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging-based physiological estimates. *Magn Reson Imaging* 2008; 26: 1279-1293 [PMID: 18487033 DOI: 10.1016/j.mri.2008.02.015]
 - 55 Juan CJ, Chen CY, Jen YM, Liu HS, Liu YJ, Hsueh CJ, Wang CY, Chou YC, Chai YT, Huang GS, Chung HW. Perfusion characteristics of late radiation injury of parotid glands: quantitative evaluation with dynamic contrast-enhanced MRI. *Eur Radiol* 2009; 19: 94-102 [PMID: 18661135 DOI: 10.1007/s00330-008-1104-9]
 - 56 Alper F, Turkyilmaz A, Kurtcan S, Aydin Y, Onbas O, Acemoglu H, Eroglu A. Effectiveness of the STIR turbo spin-echo sequence MR imaging in evaluation of lymphadenopathy in esophageal cancer. *Eur J Radiol* 2011; 80: 625-628 [PMID: 20800403 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.08.003]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



HBx在肿瘤微环境中的作用及其对肝癌发生发展的影响

付沙, 范学工

付沙, 范学工, 中南大学湘雅医院感染病科 病毒性肝炎湖南省重点实验室 湖南省长沙市 410008

范学工, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事传染病的临床、教学和科研工作以及医学教育管理工作, 目前研究方向为医学教育管理与传染性疾病。

科技部国际合作与交流专项基金资助项目, Nos. OS2015 ZR1028, 2015DFA31490
国家自然科学基金资助项目, No. 81272253
国家重大科学研究计划973计划基金资助项目, No. 2013 CB910502

作者贡献分布: 付沙负责文献查询与论文撰写; 范学工负责文章构思以及修改指导。

通讯作者: 范学工, 教授, 主任医师, 博士生导师, 410008, 湖南省长沙市开福区湘雅路87号, 中南大学湘雅医院感染病科, 病毒性肝炎湖南省重点实验室。xgfan@hotmail.com
电话: 0731-84327332

收稿日期: 2015-12-29
修回日期: 2016-01-19
接受日期: 2016-01-25
在线出版日期: 2016-04-08

Pathophysiological implications of hepatitis B X protein in tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma

Sha Fu, Xue-Gong Fan

Sha Fu, Xue-Gong Fan, Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University; Key Lab of Viral Hepatitis of Hu'nan Province, Changsha 410008, Hu'nan Province, China

Supported by: Special National International Technology Cooperation Foundation of China, Nos. OS2015ZR1028 and 2015DFA31490; National Natural Science Foundation of China, No. 81272253; the National Major Scientific Research Program of China (973 Program), No. 2013CB910502

Correspondence to: Xue-Gong Fan, Professor, Chief

Physician, Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University; Key Lab of Viral Hepatitis of Hu'nan Province, 87 Xiangya Road, Kaifu District, Changsha 410008, Hu'nan Province, China. xgfan@hotmail.com

Received: 2015-12-29
Revised: 2016-01-19
Accepted: 2016-01-25
Published online: 2016-04-08

Abstract

Hepatitis B X protein (HBx), encoded by hepatitis B virus (HBV), is a multifunctional and potentially oncogenic protein that has significant functions during the progression from chronic hepatitis B to cirrhosis and eventually to hepatocellular carcinoma (HCC). Over the past decades, it has been widely established that chronic inflammation orchestrates a tumor-supporting microenvironment. HCC is a typical chronic inflammation-related cancer and inflammation is the main risk factor for the progression of HCC. As a major viral transactivator, HBx is thought to play a pivotal role in the activation and maintenance of hepatic inflammatory process through interaction with various components of the tumor microenvironment including tumor cell and surrounding peritumoral stroma. Complex interactions between HBx and these cell types in this microenvironment will regulate tumor growth, progression, metastasis, and angiogenesis. In this review, we mainly summarize the current understanding of HBx and its contribution to the inflammatory tumor microenvironment of HBV-related HCC.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料

乙型肝炎病毒x蛋白(hepatitis B X protein, HBx)由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)X基因所编码, 具有广泛的反式激活作用, 大量研究表明HBx可通过与肿瘤微环境中的各组分相互作用在肝脏炎症反应的激活及维持中发挥重要作用, 拮抗HBx蛋白在肿瘤微环境中的活性及功能的相关策略可能成为肝癌治疗中的新靶点及方向。

■同行评议者

杨宏强, 副教授, 主任医师, 徐州市中心医院(东南大学附属医院, 徐州医学院徐州临床学院)肿瘤外科; 王魁, 副教授, 副主任医师, 扬州大学临床医学院, 苏北人民医院消化内科

■ 研发前沿

HBx与肝癌的关系一直是近年来研究的热点, 本文对HBx在HBV相关性肝癌肿瘤微环境中的作用进行重点阐述, 今后的研究重点应明确不同情况下HBx在亚细胞定位的调控机制, 找出HBx调控肝脏肿瘤微环境所涉及的具体信号通路, 为拮抗HBx的生物学功能提供新方向。

Key Words: Hepatitis B virus; Hepatitis B X protein; Hepatocellular carcinoma; Tumor microenvironment; Inflammation

Fu S, Fan XG. Pathophysiological implications of hepatitis B X protein in tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1477-1484 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1477.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1477>

摘要

乙型肝炎病毒x蛋白(hepatitis B X protein, HBx)是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)所编码的一种多功能潜在性肿瘤蛋白, 其在慢性乙型肝炎, 肝硬化及肝癌过程中发挥着极其重要的作用。既往研究表明慢性炎症能形成一种有利于肿瘤生存的微环境。肝癌是一种典型的慢性炎症相关性肿瘤, 炎症是肝癌侵袭进展的主要危险因素。作为乙型肝炎病毒的主要激活子, HBx可通过与肿瘤微环境中的肿瘤细胞及肿瘤周围基质成分相互作用在肝脏炎症反应的激活及维持中发挥重要作用。HBx与这些细胞成分之间复杂的相互作用将调控肿瘤的生长、侵袭、转移以及血管形成。本文将就此领域相关内容作一述评。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒x蛋白; 肝细胞癌; 肿瘤微环境; 炎症

核心提示: 乙型肝炎病毒x蛋白(hepatitis B X protein)与肿瘤微环境中的肿瘤细胞及肿瘤周围基质成分相互作用将调控肿瘤的生长、侵袭、转移以及血管形成, 肝脏肿瘤微环境的细胞及非细胞成分有望成为肝癌治疗的新靶点。

付沙, 范学工. HBx在肿瘤微环境中的作用及其对肝癌发生发展的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1477-1484 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1477.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1477>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种常见的消化系恶性肿瘤, 世界范围内, 每年约75万人群发生肝癌^[1]。流行病学资料显示乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝癌发生的主要危险因素之一, 50%以上的肝癌患者归因于持续的HBV感染^[2]。机体感染HBV后

常导致慢性乙型肝炎并最终进展到肝硬化及肝癌。在过去的几十年, 学者们针对肝癌发生发展的相关机制进行了广泛深入的研究, 然而HBV致癌的确切机制仍不清楚。目前学术界认为HBV可通过多种途径发挥其致癌效应, 其中包括诱导长期的慢性炎症以及HBV相关蛋白的直接致癌作用^[3-5]。在众多的致癌因素中, 乙型肝炎病毒x蛋白(hepatitis B X protein, HBx)作为HBV所编码的一种多功能潜在肿瘤蛋白, 其在HBV的整个生命周期中均发挥着举足轻重的作用。众多研究^[6-9]表明HBx可干扰多种细胞信号通道来调控细胞周期、增殖及凋亡进而发挥其致癌效应。

肿瘤微环境主要由肿瘤细胞、炎性细胞、炎性因子等成分构成。研究^[10-12]证实, 肿瘤微环境可通过各种机制在肿瘤的启动、侵袭、转移及血管形成方面发挥重要调控作用, 其中包括形成有利于肿瘤生存的缺氧环境, microRNAs表达谱的改变, 增加干细胞表型等。在肿瘤微环境中炎性成分占据较大比例, 故又称为“炎性肿瘤微环境”^[13-15]。炎症与肿瘤的关系最早在19世纪被首次提出, 研究发现炎性疾病其肿瘤发生的风险性增加, 且炎性介质存在于大部分肿瘤微环境中, 炎性因子的过表达将促进肿瘤的发生发展, 抑制炎性因子可减少肿瘤的侵袭进展^[16-19]。故目前炎症已被作为肿瘤发生发展及侵袭的六大标志之一^[20]。肝癌是典型的炎症相关肿瘤^[21], 大部分肝癌患者既往有长期的慢性肝脏炎症反应, 而HBx被认为在肝脏的慢性炎症反应中发挥重要的调控作用。进一步阐明肝癌发生发展过程中炎性肿瘤微环境的维持及其潜在机制意义重大。本文将对HBx及其在HBV相关性肝癌肿瘤微环境中的作用进行重点阐述。

1 HBx的基本结构及功能

HBx由HBV X基因所编码, X基因是HBV基因组中最小的开放读码框, 所编码的HBx蛋白由154个氨基酸组成, 分子量约为17 kDa。HBx的基因编码区包含4个重要的结构域, 这些结构域对于转录调控、细胞周期、细胞黏附及胞浆信号通路的调节具有重要作用^[22,23]。HBx具有广泛的反式激活作用, 可激活细胞的多种调控基因并促进HBV的复制^[24]。HBx的功能与其细胞定位密切相关, 在细胞浆内, HBx主要通

过与细胞蛋白相互作用并激活胞浆内一系列信号通路来发挥其反式激活作用, 其中包括Wnt/ β -catenin、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、JAK/STAT及Ras-Raf-MAPK等信号通路^[25-28]. 在细胞核内, HBx与HBV的基因调控及病毒复制有关. 此外, HBx还可直接与转录因子相互结合并激活细胞转录从而介导细胞增殖、凋亡、细胞周期进展及DNA修复^[6-9,29]. 在线粒体内, HBx可下调线粒体酶, 促进ROS及过氧化脂质的产生从而影响线粒体的稳定^[30-33]. 在内质网内, HBx通过内质网应激在诱导肝脏慢性炎症反应及细胞增殖中发挥重要作用^[34,35]. 据此, 我们提出如下假设HBx在细胞内的不同定位将介导不同的生物学功能, 并通过与肿瘤炎症微环境中的各种成分相互作用来促进肿瘤细胞生长、活化肝星状细胞、诱导上皮向间质转化、增加基质蛋白酶活性、促进肿瘤血管形成并调控抗肿瘤免疫进而影响肝癌患者的生存及预后.

2 肝脏肿瘤微环境

肝脏肿瘤微环境大体可分为细胞及非细胞成分, 前者包括肝癌细胞、肝星状细胞、成纤维细胞、内皮细胞、间质干细胞及免疫细胞; 非细胞成分主要为炎症因子、生长因子以及细胞外基质. 研究^[36]表明: 上皮细胞在癌基因激活或抑癌基因失活等诱因下可分泌某些细胞因子并招募炎症细胞到达肿瘤部位. 此外, 肿瘤细胞可通过上调蛋白酶、细胞因子、趋化因子等炎症介质从而形成有利于肿瘤生存的炎症微环境. 换言之, 肿瘤细胞本身可触发内源性肿瘤相关性炎症反应. 肿瘤细胞与炎症微环境中的基质成分相互作用将调控肿瘤的存活、生长、增殖以及侵袭和转移. 肝癌作为一种常见的慢性炎症相关性肿瘤, 其肿瘤微环境中的各组分在肝癌炎症微环境的维持中扮演着各自的角色. 研究^[37-39]表明: 活化的肝星状细胞可参与慢性肝脏炎症、肝硬化、肝癌等一系列的生理病理过程并在肝癌的侵袭转移中发挥重要作用. 炎症因子作为肿瘤微环境中的主要信号传递者, 其在肝癌发生发展中的作用逐渐被我们所认识. 大量体内及体外实验证实: 肝癌患者其癌组织及血清中炎症因子水平常升高, 如白介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-1 β 、

IL-10、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)等, 这些炎症因子可促进肿瘤生长、抑制凋亡、诱导上皮向间质转化并最终促进肝癌的侵袭及转移^[40-43]. 这提示我们, 肝脏肿瘤微环境的细胞及非细胞成分有望成为肝癌治疗的新靶点.

3 HBx与肝脏肿瘤微环境

3.1 HBx与肿瘤细胞

在HBV基因所编码的产物中, HBx作为X基因区所编码的一种重要的病毒蛋白, 其在肝癌组织中常高表达, 且在HBV相关性肝癌的发病机制及侵袭转移过程中发挥关键调控作用. 研究^[6-9]表明HBx可通过其转录调控及反式激活作用来调控肿瘤细胞的生物学行为, 如促进肿瘤细胞增殖、抑制凋亡、增加自噬、加快细胞周期进展等从而对肝癌的发生发展.

3.2 HBx与免疫细胞

机体感染HBV后, 肝细胞病变很大程度上取决于机体的免疫应答, 尤其是细胞免疫应答, 免疫应答既可清除病毒亦可导致肝细胞损伤. 肿瘤的发生与机体的免疫状态密切相关, 肿瘤可通过各种机制来逃脱机体的免疫监视功能, 并诱导免疫耐受从而形成有利于肿瘤生长及存活的环境. 肿瘤微环境中的免疫细胞可参与先天及适应性免疫应答来影响肿瘤的侵袭及进展. 在众多的免疫细胞中, CD8⁺ T淋巴细胞所介导的免疫应答被认为在HBV的清除、急性肝衰竭、HBV感染的慢性化等过程中发挥关键性的调控作用^[44-46]. 研究报道^[47]HBx可促进CD8⁺ T淋巴细胞的凋亡并减少干扰素- γ 的产生从而降低宿主特异性免疫应答, 而宿主免疫应答功能不足被认为是导致HBV感染慢性化的主要原因之一, 至此HBV可长期存在于病变肝组织内并通过各种机制最终诱导肝细胞癌变. 此外, HBx还可上调免疫应答相关分子的表达如主要组织相容性复合体分子, ICAM-1和Fas配体等从而介导肝脏的炎症反应及免疫调节^[48,49]. 这提示我们HBx一方面可通过上调免疫应答相关分子的表达来促进肝内的炎症反应, 肝内长期的慢性炎症环境将促进肝癌的发生. 另一方面, HBx又可抑制HBV特异性免疫应答从而促进HBV感染慢性化并通过其免疫调节功能来调控宿主对肿瘤的免疫反应, 促进相关免疫细胞的凋亡, 诱导其免疫耐受从而促进肿瘤的存活.

■ 相关报道

研究表明HBx具有广泛的反式激活功能, 其在HBV的整个生命周期中均发挥举足轻重的作用, 主要侧重HBx在调控HBV复制及肝癌发生发展中的作用, 与本文内容相互补充.

■ 创新盘点

本文首次综述了HBx对炎症肿瘤微环境各组分的调控作用及其对肝癌发生发展的影响, 对HBx在细胞内的不同定位及其作用进行了总结和述评。

3.3 HBx与肝星状细胞 肝星状细胞也称肝贮脂细胞, 主要位于肝细胞与肝窦间隙之间, 故又称窦周细胞。正常情况下肝星状细胞的主要功能为储存维生素A并合成少量细胞外基质成分。在肝脏损伤的情况下, 炎性细胞及枯否细胞分泌的炎性因子可激活肝星状细胞, 并转化为具有增殖、迁移、收缩和蛋白质合成功能的肌纤维母细胞。众所周知, 肝星状细胞在肝脏损伤及肝纤维化过程中扮演着重要的角色。此外, 近年来研究表明肝星状细胞还与肝癌的侵袭及转移有关^[50]。HBx作为HBV生命周期的主要调控蛋白, 其可通过调控肝星状细胞的活化进而在肝脏的慢性炎症、肝纤维化形成及肝癌的发生发展中发挥重要作用。目前关于肝星状细胞活化具体机制的研究主要围绕在TGF- β 与PDGF信号通路, 其中TGF- β 被认为在肝星状细胞的活化过程中发挥关键性调控因子的作用。体外研究结果表明HBx可激活旁分泌, 在基因转录及蛋白翻译水平上均可上调细胞因子TGF- β 1。TGF- β 1进一步活化下游信号通路Smad, 促使其进入细胞核内并与DNA结合蛋白相互作用从而激活肝星状细胞。此外, HBx还可通过血小板来源的生长因子 β 信号通路(PDGF- β /PDGFR- β)来活化肝星状细胞并促进其增殖与迁移。活化的肝星状细胞可进一步上调 α 平滑肌肌动蛋白及基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), 促进细胞外基质胶原的异常沉积及肝细胞结构紊乱, 从而介导一系列肝脏病理过程如细胞外基质的重塑、肝纤维化、肿瘤血管形成、肝癌的侵袭及远处转移^[51,52]。

3.4 HBx与炎性细胞因子

3.4.1 HBx与TGF- β : 细胞因子是一类小分子信号蛋白, 他们促进不同细胞间信号的传递并通过与细胞表面的受体及下游的信号通路发挥其功能。TGF- β 是属于一组新近发现的调节细胞生长和分化的TGF- β 超家族, 其属于一种炎症相关的细胞因子, 主要由肿瘤微环境中肿瘤细胞、肿瘤相关的巨噬细胞、调节性T细胞所分泌。在不同类型的肿瘤及肿瘤形成的不同阶段, TGF- β 可发挥抑癌或促癌作用^[53]。HBx与TGF- β 的关系已被众多研究所报道。Murata等^[54]研究表明在早期慢性乙型肝炎患者中, HBx可使肝内TGF- β 信号通路从抑癌的pSmad3C到促癌的pSmad3L信号通路转变从而直接参与肝癌

的形成。此外, HBx还可激活旁分泌上调TGF- β 来发挥其生物活性。上调的TGF- β 除了参与肝星状细胞的活化, 其作为促侵袭肿瘤微环境中的重要调控子, 还可与干细胞信号通路如Wnt、Ras等相互协同来诱导上皮向间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)或通过改变肿瘤中所浸润的免疫细胞表型来形成一种有利于EMT的肿瘤微环境。EMT形成后, 肿瘤细胞将具有侵袭、转移及干细胞的特性^[55,56]。

3.4.2 HBx与IL家族: IL即是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子, 其种类繁多, 功能复杂, 并在免疫细胞的成熟、活化及免疫调节等一系列过程中均发挥重要作用。在肝脏慢性炎症反应中, 炎性细胞因子可被大量释放, 肝内细胞因子的活化参与了肝脏慢性炎症及肝脏损伤的病理过程。炎性因子的平衡决定了免疫反应的最终结局, 故目前炎性因子已作为肝病患者的潜在治疗靶点, 而HBx可在转录水平诱导促炎细胞因子的产生从而在肝脏慢性炎症过程中发挥重要作用^[57,58]。既往研究结果表明, HBx可通过Toll样受体接头蛋白髓样分化因子88(toll-like Receptor adaptor protein myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖的方式来激活NF- κ B及MAP激酶从而促进IL-6的合成与分泌。IL-6作为肝癌发生发展过程中主要促炎细胞因子之一, 其在HBV相关性肝癌患者的癌组织及血浆中常升高, 且可激活下游转录因子STAT3来促进肝癌的侵袭转移并与肝癌患者的预后差相关^[59,60]。此外, HBx还可在选择性调控其他促炎细胞因子如IL-8、IL-18、IL-23、TNF- α 等并参与调节免疫细胞之间的相互作用^[61,62]。这些细胞因子在肝癌的发生发展中扮演着各自的角色, 其中IL-8可调控肿瘤的生长并与肝细胞恶性转化及肝癌的侵袭转移有关^[63,64]。IL-18作为新型的促炎细胞因子, 其在肝癌患者的血清中常升高, 研究^[65,66]报道其可作为HBV相关性肝癌患者的诊断指标。这提示我们由HBx表达上调的细胞因子在肝癌的形成过程中有可能是一种促肿瘤趋化因子, HBx正是通过调控上述免疫细胞因子的表达来促进肝细胞的恶性转化、肿瘤的增殖并抑制抗肿瘤免疫反应从而促进肝癌的发生发展。

3.4.3 HBx与TNF- α : 如前所述, 肝脏长期的慢性的炎症反应介导了肝癌的发生发展, 肝脏炎症反应启动后, 肿瘤细胞可活跃的招募炎性细

胞浸润, 这些细胞可释放相应的炎症因子及趋化因子^[67]。作为经典的促炎细胞因子, TNF- α 主要由炎症细胞所分泌并可调控细胞的存活、增殖、分化及免疫应答从而参与炎症相关的肿瘤形成。既往体内体外实验模型中均表明TNF- α 在肿瘤发生发展过程中扮演着重要的角色^[68]。HBx与TNF- α 的关系早在1998年即有文献报道HBx可在基因转录水平上调肝细胞内TNF- α 的表达。上调的炎症因子TNF- α 可参与肝脏炎症反应及肝病的进展并与肝癌的发生有关^[69]。此外, TNF- α 还可通过上调血管生成因子、MMPs等从而促进肿瘤血管形成并活化生存信号通路从而介导肿瘤的发生发展^[70]。这表明HBV的病毒蛋白可通过调控某些炎症细胞因子的表达来介导肝内炎症反应及肝病的进展。进一步阐明肝内炎症细胞因子的调控机制有望为我们靶向干预治疗提供新策略。

3.4.4 HBx与环氧合酶-2: 环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸代谢的限速酶, 目前COX有两个亚型, 即COX-1和COX-2, 其中COX-2是一种诱导酶, 在组织损伤、炎症等情况下表达增强且与肿瘤的发生发展、新生血管的形成以及转移密切相关。研究报道^[71-73]COX-2在慢性肝炎、肝硬化及肝癌中常高表达, HBx在肝癌组织中的表达与COX-2相关, HBx可通过激活COX-2/PGE(2)信号通路来阻断P53介导的凋亡从而产生抗凋亡效应, 并可依赖COX-2的活性来上调MT1-MMP的表达从而促进肝癌的侵袭及转移。此外, HBx还可通过与线粒体蛋白COXIII共定位来上调COX-2的表达从而促进肝癌细胞的生长^[74]。总而言之, HBx可通过多种途径来维持COX-2的活性, COX-2作为一种重要的存活因子其可介导HBx一系列的致癌效应。

4 结论

HBx作为HBV所编码的一种多功能潜在肿瘤蛋白, 其可通过激活一系列的细胞信号通路在慢性乙型肝炎、肝硬化及肝癌的疾病进展中均发挥着极其重要的作用。在HBV相关性肝癌的发生发展中, HBx可通过不同的机制与肝癌肿瘤微环境中的肿瘤细胞、免疫细胞、肝星状细胞及炎症因子等成分相互作用并介导肝癌的不同生物学行为, 如增殖、抗凋亡、侵袭

转移、肿瘤血管形成、细胞周期调控等。HBx与肿瘤微环境各组分间的复杂相互作用最终将形成有利于肝癌存活及进展的炎症微环境。HBx已成为肝癌发生发展及预后判断的重要生物学指标, 拮抗HBx蛋白在肿瘤微环境中的活性及功能的相关策略可能成为肝癌治疗中的新靶点及方向。

应用要点

本文揭示了HBx在肝脏炎症性肿瘤微环境中的作用及其对肝癌发生发展的影响, 指出了今后研究的可能方向, 为HBV相关性肝癌的治疗提供了新的靶点。

5 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981; 2: 1129-1133 [PMID: 6118576 DOI: 10.1016/S0140-6736(81)90585-7]
- 3 Jiang Z, Jhunjhunwala S, Liu J, Haverty PM, Kennemer MI, Guan Y, Lee W, Carnevali P, Stinson J, Johnson S, Diao J, Yeung S, Jubb A, Ye W, Wu TD, Kapadia SB, de Sauvage FJ, Gentleman RC, Stern HM, Seshagiri S, Pant KP, Modrusan Z, Ballinger DG, Zhang Z. The effects of hepatitis B virus integration into the genomes of hepatocellular carcinoma patients. *Genome Res* 2012; 22: 593-601 [PMID: 22267523 DOI: 10.1101/gr.133926.111]
- 4 Li M, Zhao H, Zhang X, Wood LD, Anders RA, Choti MA, Pawlik TM, Daniel HD, Kannangai R, Offerhaus GJ, Velculescu VE, Wang L, Zhou S, Vogelstein B, Hruban RH, Papadopoulos N, Cai J, Torbenson MS, Kinzler KW. Inactivating mutations of the chromatin remodeling gene ARID2 in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2011; 43: 828-829 [PMID: 21822264 DOI: 10.1038/ng.903]
- 5 Clevers H. At the crossroads of inflammation and cancer. *Cell* 2004; 118: 671-674 [PMID: 15369667 DOI: 10.1016/j.cell.2004.09.005]
- 6 Park US, Park SK, Lee YI, Park JG, Lee YI. Hepatitis B virus-X protein upregulates the expression of p21waf1/cip1 and prolongs G1-> S transition via a p53-independent pathway in human hepatoma cells. *Oncogene* 2000; 19: 3384-3394 [PMID: 10918595 DOI: 10.1038/sj.onc.1203674]
- 7 Abramovitch R, Tavor E, Jacob-Hirsch J, Zeira E, Amariglio N, Pappo O, Rechavi G, Galun E, Honigman A. A pivotal role of cyclic AMP-responsive element binding protein in tumor progression. *Cancer Res* 2004; 64: 1338-1346 [PMID: 14973073 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2089]
- 8 Marusawa H, Matsuzawa S, Welsh K, Zou H, Armstrong R, Tamm I, Reed JC. HBxIP functions as a cofactor of survivin in apoptosis suppression. *EMBO J* 2003; 22: 2729-2740 [PMID: 12773388 DOI: 10.1093/emboj/cdg263]
- 9 Madden CR, Finegold MJ, Slagle BL. Hepatitis B virus X protein acts as a tumor promoter in development of diethylnitrosamine-induced preneoplastic lesions. *J Virol* 2001; 75: 3851-3858 [PMID: 11264374 DOI: 10.1093/jvi/75.18.3851]

同行评价

本文从HBx的结构、细胞内不同定位的功能展开阐述,重点讨论HBx在炎症肿瘤微环境中的作用及其对肝癌发生发展的影响,并提出了今后研究的可能方向,为读者了解HBx在HBV相关性肝癌肿瘤微环境中的作用的研究进展提供了借鉴。

- 10.1128/JVI.75.8.3851-3858.2001]
- 10 Neviani P, Fabbri M. Exosomal microRNAs in the Tumor Microenvironment. *Front Med* (Lausanne) 2015; 2: 47 [PMID: 26258125 DOI: 10.3389/fmed.2015.00047]
- 11 Nagaraju GP, Bramhachari PV, Raghu G, El-Rayes BF. Hypoxia inducible factor-1 α : Its role in colorectal carcinogenesis and metastasis. *Cancer Lett* 2015; 366: 11-18 [PMID: 26116902 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.06.005]
- 12 Kise K, Kinugasa-Katayama Y, Takakura N. Tumor microenvironment for cancer stem cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2015 Sep 8. [Epub ahead of print] [PMID: 26362921 DOI: 10.1016/j.addr.2015.08.005]
- 13 Capece D, Fischietti M, Verzella D, Gaggiano A, Ciciarelli G, Tessitore A, Zazzeroni F, Alesse E. The inflammatory microenvironment in hepatocellular carcinoma: a pivotal role for tumor-associated macrophages. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 187204 [PMID: 23533994 DOI: 10.1155/2013/187204]
- 14 He XY, Xiang C, Zhang CX, Xie YY, Chen L, Zhang GX, Lu Y, Liu G. p53 in the Myeloid Lineage Modulates an Inflammatory Microenvironment Limiting Initiation and Invasion of Intestinal Tumors. *Cell Rep* 2015; 13: 888-897 [PMID: 26565902 DOI: 10.1016/j.celrep.2015.09.045]
- 15 Guo L, Zhang Y, Zhang L, Huang F, Li J, Wang S. MicroRNAs, TGF- β signaling, and the inflammatory microenvironment in cancer. *Tumour Biol* 2015 Nov 12. [Epub ahead of print] [PMID: 26563372 DOI: 10.1007/s13277-015-4374-2]
- 16 Koehne CH, Dubois RN. COX-2 inhibition and colorectal cancer. *Semin Oncol* 2004; 31: 12-21 [PMID: 15252926 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2004.03.041]
- 17 Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2011; 377: 31-41 [PMID: 21144578 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62110-1]
- 18 Apte RN, Krelin Y, Song X, Dotan S, Recih E, Elkabets M, Carmi Y, Dvorkin T, White RM, Gayvoronsky L, Segal S, Voronov E. Effects of micro-environment- and malignant cell-derived interleukin-1 in carcinogenesis, tumour invasiveness and tumour-host interactions. *Eur J Cancer* 2006; 42: 751-759 [PMID: 16530403 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.010]
- 19 Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444 [PMID: 18650914 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.010]
- 20 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- 21 Galun E. Liver inflammation and cancer: The role of tissue microenvironment in generating the tumor-promoting niche (TPN) in the development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2016; 63: 354-356 [PMID: 26566854 DOI: 10.1002/hep.28344]
- 22 Tang H, Oishi N, Kaneko S, Murakami S. Molecular functions and biological roles of hepatitis B virus x protein. *Cancer Sci* 2006; 97: 977-983 [PMID: 16984372 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00299.x]
- 23 Zhang Z, Torii N, Hu Z, Jacob J, Liang TJ. X-deficient woodchuck hepatitis virus mutants behave like attenuated viruses and induce protective immunity in vivo. *J Clin Invest* 2001; 108: 1523-1531 [PMID: 11714744 DOI: 0.1172/JCI13787]
- 24 Tang H, Delgermaa L, Huang F, Oishi N, Liu L, He F, Zhao L, Murakami S. The transcriptional transactivation function of HBx protein is important for its augmentation role in hepatitis B virus replication. *J Virol* 2005; 79: 5548-5556 [PMID: 15827169 DOI: 10.1128/JVI.79.9.5548-5556.2005]
- 25 Lu B, Guo H, Zhao J, Wang C, Wu G, Pang M, Tong X, Bu F, Liang A, Hou S, Fan X, Dai J, Wang H, Guo Y. Increased expression of iASPP, regulated by hepatitis B virus X protein-mediated NF- κ B activation, in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2010; 139: 2183-2194.e5 [PMID: 20600029 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.049]
- 26 Cha MY, Kim CM, Park YM, Ryu WS. Hepatitis B virus X protein is essential for the activation of Wnt/ β -catenin signaling in hepatoma cells. *Hepatology* 2004; 39: 1683-1693 [PMID: 15185310 DOI: 10.1002/hep.20245]
- 27 Arbuthnot P, Capovilla A, Kew M. Putative role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis: effects on apoptosis, DNA repair, mitogen-activated protein kinase and JAK/STAT pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 357-368 [PMID: 10824878 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2000.02069.x]
- 28 Chin R, Earnest-Silveira L, Koeberlein B, Franz S, Zentgraf H, Dong X, Gowans E, Bock CT, Torresi J. Modulation of MAPK pathways and cell cycle by replicating hepatitis B virus: factors contributing to hepatocarcinogenesis. *J Hepatol* 2007; 47: 325-337 [PMID: 17512084 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.03.025]
- 29 Cheng B, Zheng Y, Guo X, Wang Y, Liu C. Hepatitis B viral X protein alters the biological features and expressions of DNA repair enzymes in LO2 cells. *Liver Int* 2010; 30: 319-326 [PMID: 19968784 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02167.x]
- 30 Rahmani Z, Huh KW, Lasher R, Siddiqui A. Hepatitis B virus X protein colocalizes to mitochondria with a human voltage-dependent anion channel, HVDAC3, and alters its transmembrane potential. *J Virol* 2000; 74: 2840-2846 [PMID: 10684300 DOI: 10.1128/JVI.74.6.2840-2846.2000]
- 31 Lee YI, Hwang JM, Im JH, Lee YI, Kim NS, Kim DG, Yu DY, Moon HB, Park SK. Human hepatitis B virus-X protein alters mitochondrial function and physiology in human liver cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 15460-15471 [PMID: 14724286 DOI: 10.1074/jbc.M309280200]
- 32 Takada S, Shirakata Y, Kaneniwa N, Koike K. Association of hepatitis B virus X protein with mitochondria causes mitochondrial aggregation at the nuclear periphery, leading to cell death. *Oncogene* 1999; 18: 6965-6973 [PMID: 10597295 DOI: 10.1038/sj.onc.1203188]
- 33 Tan C, Guo H, Zheng M, Chen Y, Huang W. Involvement of mitochondrial permeability transition in hepatitis B virus replication. *Virus Res* 2009; 145: 307-311 [PMID: 19682511 DOI: 10.1016/j.virusres.2009.08.001]
- 34 Cho HK, Cheong KJ, Kim HY, Cheong J. Endoplasmic reticulum stress induced by hepatitis

- B virus X protein enhances cyclo-oxygenase 2 expression via activating transcription factor 4. *Biochem J* 2011; 435: 431-439 [PMID: 21244365 DOI: 10.1042/BJ20102071]
- 35 Cho HK, Kim SY, Kyaw YY, Win AA, Koo SH, Kim HH, Cheong J. HBx induces the proliferation of hepatocellular carcinoma cells via AP1 over-expressed as a result of ER stress. *Biochem J* 2015; 466: 115-121 [PMID: 25428452]
 - 36 Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004; 10: 789-799 [PMID: 15286780 DOI: 10.1042/BJ20140819]
 - 37 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
 - 38 Amann T, Bataille F, Spruss T, Mühlbauer M, Gäbele E, Schölmerich J, Kiefer P, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 646-653 [PMID: 19175606 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01087.x]
 - 39 Knittel T, Dinter C, Kobold D, Neubauer K, Mehde M, Eichhorst S, Ramadori G. Expression and regulation of cell adhesion molecules by hepatic stellate cells (HSC) of rat liver: involvement of HSC in recruitment of inflammatory cells during hepatic tissue repair. *Am J Pathol* 1999; 154: 153-167 [PMID: 9916930 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65262-5]
 - 40 Wong VW, Yu J, Cheng AS, Wong GL, Chan HY, Chu ES, Ng EK, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. High serum interleukin-6 level predicts future hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis B. *Int J Cancer* 2009; 124: 2766-2770 [PMID: 19267406 DOI: 10.1002/ijc.24281]
 - 41 Huang YS, Hwang SJ, Chan CY, Wu JC, Chao Y, Chang FY, Lee SD. Serum levels of cytokines in hepatitis C-related liver disease: a longitudinal study. *Zhonghua Yixue Zazhi (Taipei)* 1999; 62: 327-333 [PMID: 10389289]
 - 42 Kakumu S, Okumura A, Ishikawa T, Yano M, Enomoto A, Nishimura H, Yoshioka K, Yoshika Y. Serum levels of IL-10, IL-15 and soluble tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) receptors in type C chronic liver disease. *Clin Exp Immunol* 1997; 109: 458-463 [PMID: 9328122 DOI: 10.1046/j.1365-2249.1997.4861382.x]
 - 43 Massagué J. TGFbeta in Cancer. *Cell* 2008; 134: 215-230 [PMID: 18662538 DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.001]
 - 44 Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghreyeb J, Reimann KA, Purcell RH, Chisari FV. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003; 77: 68-76 [PMID: 12477811 DOI: 10.1128/JVI.77.1.68-76.2003]
 - 45 Rehmann B, Fowler P, Sidney J, Person J, Redeker A, Brown M, Moss B, Sette A, Chisari FV. The cytotoxic T lymphocyte response to multiple hepatitis B virus polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995; 181: 1047-1058 [PMID: 7532675]
 - 46 Peng G, Li S, Wu W, Tan X, Chen Y, Chen Z. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients. *Mol Immunol* 2008; 45: 963-970 [PMID: 17868872 DOI: 10.1016/j.molimm.2007.07.038]
 - 47 Lee MJ, Jin YH, Kim K, Choi Y, Kim HC, Park S. Expression of hepatitis B virus x protein in hepatocytes suppresses CD8 T cell activity. *Immune Netw* 2010; 10: 126-134 [PMID: 20844737 DOI: 10.4110/in.2010.10.4.126]
 - 48 Zhou DX, Taraboulos A, Ou JH, Yen TS. Activation of class I major histocompatibility complex gene expression by hepatitis B virus. *J Virol* 1990; 64: 4025-4028 [PMID: 2164611]
 - 49 Kim SY, Kim JK, Kim HJ, Ahn JK. Hepatitis B virus X protein sensitizes UV-induced apoptosis by transcriptional transactivation of Fas ligand gene expression. *IUBMB Life* 2005; 57: 651-658 [PMID: 16203685 DOI: 10.1080/15216540500239697]
 - 50 Vidal-Vanaclocha F. The prometastatic microenvironment of the liver. *Cancer Microenviron* 2008; 1: 113-129 [PMID: 19308690 DOI: 10.1007/s12307-008-0011-6]
 - 51 Martín-Vílchez S, Sanz-Cameno P, Rodríguez-Muñoz Y, Majano PL, Molina-Jiménez F, López-Cabrera M, Moreno-Otero R, Lara-Pezzi E. The hepatitis B virus X protein induces paracrine activation of human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2008; 47: 1872-1883 [PMID: 18449922 DOI: 10.1002/hep.22265]
 - 52 Bai Q, An J, Wu X, You H, Ma H, Liu T, Gao N, Jia J. HBV promotes the proliferation of hepatic stellate cells via the PDGF-B/PDGFR-β signaling pathway in vitro. *Int J Mol Med* 2012; 30: 1443-1450 [PMID: 23042547 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1148]
 - 53 Wang C, Wang C, Wei Z, Li Y, Wang W, Li X, Zhao J, Zhou X, Qu X, Xiang F. Suppression of motor protein KIF3C expression inhibits tumor growth and metastasis in breast cancer by inhibiting TGF-β signaling. *Cancer Lett* 2015; 368: 105-114 [PMID: 26272184 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.037]
 - 54 Murata M, Matsuzaki K, Yoshida K, Sekimoto G, Tahashi Y, Mori S, Uemura Y, Sakaida N, Fujisawa J, Seki T, Kobayashi K, Yokote K, Koike K, Okazaki K. Hepatitis B virus X protein shifts human hepatic transforming growth factor (TGF)-beta signaling from tumor suppression to oncogenesis in early chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: 1203-1217 [PMID: 19263472 DOI: 10.1002/hep.22765]
 - 55 Chen HY, Chen ZX, Huang RF, Lin N, Wang XZ. Hepatitis B virus X protein activates human hepatic stellate cells through upregulating TGFβ1. *Genet Mol Res* 2014; 13: 8645-8656 [PMID: 25366754 DOI: 10.4238/2014.October.27.4]
 - 56 Fuxe J, Karlsson MC. TGF-β-induced epithelial-mesenchymal transition: a link between cancer and inflammation. *Semin Cancer Biol* 2012; 22: 455-461 [PMID: 22627188 DOI: 10.1016/j.semcancer.2012.05.004]
 - 57 Almajhdi FN, Al-Qudari AY, Hussain Z. Differential expression of transforming growth factor-β1 and HBx enhances hepatitis B virus replication and augments host immune cytokines and chemokines. *Ann Hepatol* 2013; 12: 408-415 [PMID: 23619257]
 - 58 Cho HK, Kim SY, Seong JK, Cheong J. Hepatitis B virus X increases immune cell recruitment by induction of chemokine SDF-1. *FEBS Lett* 2014; 588: 733-739 [PMID: 24462680 DOI: 10.1016/j.febslet.2014.01.017]
 - 59 Wan S, Zhao E, Kryczek I, Vatan L, Sadovskaya

- A, Ludema G, Simeone DM, Zou W, Welling TH. Tumor-associated macrophages produce interleukin 6 and signal via STAT3 to promote expansion of human hepatocellular carcinoma stem cells. *Gastroenterology* 2014; 147: 1393-1404 [PMID: 25181692 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.08.039]
- 60 Sheng T, Wang B, Wang SY, Deng B, Qu L, Qi XS, Wang XL, Deng GL, Sun X. The Relationship Between Serum Interleukin-6 and the Recurrence of Hepatitis B Virus Related Hepatocellular Carcinoma after Curative Resection. *Medicine* (Baltimore) 2015; 94: e941 [PMID: 26091457 DOI: 10.1097/MD.0000000000000941]
- 61 Wang DY, Zou LP, Liu XJ, Zhu HG, Zhu R. Chemokine Expression Profiles of Human Hepatoma Cell Lines Mediated by Hepatitis B Virus X Protein. *Pathol Oncol Res* 2015 Nov 18. [Epub ahead of print] [PMID: 26581611 DOI: 10.1007/s12253-015-0014-9]
- 62 Xia L, Tian D, Huang W, Zhu H, Wang J, Zhang Y, Hu H, Nie Y, Fan D, Wu K. Upregulation of IL-23 expression in patients with chronic hepatitis B is mediated by the HBx/ERK/NF- κ B pathway. *J Immunol* 2012; 188: 753-764 [PMID: 22174449 DOI: 10.4049/jimmunol.1101652]
- 63 Ehling J, Tacke F. Role of chemokine pathways in hepatobiliary cancer. *Cancer Lett* 2015 Jun 26. [Epub ahead of print] [PMID: 26123664 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.06.017]
- 64 Li XP, Yang XY, Biskup E, Zhou J, Li HL, Wu YF, Chen ML, Xu F. Co-expression of CXCL8 and HIF-1 α is associated with metastasis and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 22880-22889 [PMID: 26078356 DOI: 10.18632/oncotarget.4412]
- 65 Tangkijvanich P, Thong-Ngam D, Mahachai V, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Role of serum interleukin-18 as a prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4345-4349 [PMID: 17708609 DOI: 10.3748/wjg.v13.i32.4345]
- 66 Mohran ZY, Ali-Eldin FA, Abdel Aal HA. Serum interleukin-18: does it have a role in the diagnosis of hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma? *Arab J Gastroenterol* 2011; 12: 29-33 [PMID: 21429452 DOI: 10.1016/j.ajg.2010.11.002]
- 67 Brigati C, Noonan DM, Albini A, Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 247-258 [PMID: 12067205]
- 68 Moore RJ, Owens DM, Stamp G, Arnott C, Burke F, East N, Holdsworth H, Turner L, Rollins B, Pasparakis M, Kollias G, Balkwill F. Mice deficient in tumor necrosis factor- α are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med* 1999; 5: 828-831 [PMID: 10395330 DOI: 10.1038/10552]
- 69 Lara-Pezzi E, Majano PL, Gómez-Gonzalo M, García-Monzón C, Moreno-Otero R, Levrero M, López-Cabrera M. The hepatitis B virus X protein up-regulates tumor necrosis factor α gene expression in hepatocytes. *Hepatology* 1998; 28: 1013-1021 [PMID: 9755238 DOI: 10.1002/hep.510280416]
- 70 van Horssen R, Ten Hagen TL, Eggermont AM. TNF- α in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility. *Oncologist* 2006; 11: 397-408 [PMID: 16614236 DOI: 10.1634/theoncologist.11-4-397]
- 71 Liu KG, Shao XL, Xie HH, Xu L, Zhao H, Guo ZH, Li L, Liu J. [The expression of hepatitis B virus X protein and cyclooxygenase-2 in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: correlation with microangiogenesis and metastasis, and what is the possible mechanism]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2010; 18: 831-836 [PMID: 21138631 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.11.010]
- 72 Cheng AS, Yu J, Lai PB, Chan HL, Sung JJ. COX-2 mediates hepatitis B virus X protein abrogation of p53-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374: 175-180 [PMID: 18601905 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.098]
- 73 Lara-Pezzi E, Gómez-Gaviro MV, Gálvez BG, Mira E, Iñiguez MA, Fresno M, Martínez-A C, Arroyo AG, López-Cabrera M. The hepatitis B virus X protein promotes tumor cell invasion by inducing membrane-type matrix metalloproteinase-1 and cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* 2002; 110: 1831-1838 [PMID: 12488433 DOI: 10.1172/JCI15887]
- 74 Zheng BY, Fang XF, Zou LY, Huang YH, Chen ZX, Li D, Zhou LY, Chen H, Wang XZ. The co-localization of HBx and COXIII upregulates COX-2 promoting HepG2 cell growth. *Int J Oncol* 2014; 45: 1143-1150 [PMID: 24938358 DOI: 10.3892/ijo.2014.2499]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



内质网应激对胃癌细胞迁移与侵袭的影响

董凯楠, 黄忻, 邢文英, 郭文文, 冯若

董凯楠, 黄忻, 邢文英, 郭文文, 冯若, 郑州大学基础医学院组织学与胚胎学教研室 河南省郑州市 450001

董凯楠, 郑州大学第三附属医院检验科 河南省郑州市 450052

董凯楠, 住院医师, 主要从事胃癌转移机制方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81401995
河南省基础与前沿技术研究基金资助项目, No. 132300410109

作者贡献分布: 该课题由冯若设计; 实验由董凯楠、黄忻、邢文英及郭文文完成; 数据处理与论文撰写由冯若与董凯楠完成。

通讯作者: 冯若, 副教授, 450001, 河南省郑州市科学大道100号, 郑州大学基础医学院组织学与胚胎学教研室. fr@zzu.edu.cn
电话: 0371-66658905

收稿日期: 2015-11-19
修回日期: 2015-12-14
接受日期: 2015-12-29
在线出版日期: 2016-04-08

Effect of endoplasmic reticulum stress on gastric cancer cell migration and invasion

Kai-Nan Dong, Xin Huang, Wen-Ying Xing, Wen-Wen Guo, Ruo Feng

Kai-Nan Dong, Xin Huang, Wen-Ying Xing, Wen-Wen Guo, Ruo Feng, Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, He'nan Province, China

Kai-Nan Dong, Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81401995; Basic Research & Frontier Technology Project of He'nan Province, No. 132300410109

Correspondence to: Ruo Feng, Associate Professor,

Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, 100 Kexue Avenue, Zhengzhou 450001, He'nan Province, China. fr@zzu.edu.cn

Received: 2015-11-19
Revised: 2015-12-14
Accepted: 2015-12-29
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of endoplasmic reticulum stress (ERS) on gastric cancer cell migration and invasion.

METHODS: Gastric cancer BGC823 or SGC7901 cells were treated with tunicamycin (TM) for 0, 12, 24 and 36 h. The expression of glucose-regulated protein 78 (GRP78), matrix metalloproteinase 9 (MMP9) and vascular endothelial growth factor (VEGF) was analyzed using Western blot. Wound healing assay was used to detect the migrating ability of gastric cancer cells at each time point with or without TM treatment. Transwell assay was employed to examine invasive ability of gastric cancer cells at each time point with or without TM treatment.

RESULTS: Compared with baseline values, the expression of GRP78, MMP9 and VEGF in gastric cancer cells was significantly increased after treatment with TM for 12, 24 or 36 h ($P < 0.05$). Wound healing ability of gastric cancer cells treated with TM for 12, 24 or 36 h was much stronger than that in the 0 h group ($P < 0.05$). The number of gastric cancer cells invading to the lower chamber increased after TM treatment for 12, 24 or 36 h ($P < 0.05$).

CONCLUSION: ERS promotes gastric cancer

■背景资料

转移是胃癌发展的最终阶段,也是引起胃癌患者死亡的主要原因。研究发现内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)普遍存在于肿瘤组织中,参与调控肿瘤的发生发展,与肿瘤转移关系密切。但ERS与胃癌转移的关系尚不清楚。为此,本文探讨了ERS对胃癌转移能力的影响及其可能机制。

■同行评议者

李欣, 教授, 承德医学院基础医学院

■ 研究前沿

本文研究发现ERS可促进胃癌细胞的迁移与侵袭,可能是促进胃癌转移的重要因素。而ERS可通过ERS感受蛋白活化转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)、肌醇需酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)和蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase-like ER kinase, PERK)来启动不同的信号通路,参与调控细胞的生物学行为。关于ERS通过哪条通路来促进胃癌转移的问题,还有待于进一步研究。

cell migration and invasion probably *via* upregulation of MMP9 and VEGF expression.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoplasmic reticulum stress; Gastric cancer; Migration; Invasion

Dong KN, Huang X, Xing WY, Guo WW, Feng R. Effect of endoplasmic reticulum stress on gastric cancer cell migration and invasion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1485-1491 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1485.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1485>

摘要

目的: 探讨内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)对胃癌细胞迁移及侵袭能力的影响及其机制。

方法: 5 μ g/mL衣霉素处理胃癌细胞系SGC7901或BGC823 0、12、24及36 h, Western blot检测各时间点葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、金属基质蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)及血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达; 划痕实验检测衣霉素处理不同时间后对胃癌细胞迁移能力的影响, 各时间点均设未加药对照组; Transwell侵袭实验检测衣霉素处理不同时间后对胃癌细胞侵袭能力的影响, 各时间点均设未加药对照组。

结果: 与相应的0 h组相比, 衣霉素处理胃癌细胞系SGC7901或BGC823 12、24及36 h后, GRP78、MMP9及VEGF的蛋白表达量均明显增加($P<0.05$); 衣霉素处理12、24及36 h后, 胃癌细胞的划痕愈合度及胃癌细胞侵袭到Transwell下室的细胞数均明显高于0 h组($P<0.05$)。

结论: ERS可上调MMP9及VEGF, 促进胃癌细胞的迁移与侵袭。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内质网应激; 胃癌; 迁移; 侵袭

核心提示: 本研究发现内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)可显著增强胃癌细胞的侵袭及迁移能力, 并上调肿瘤转移相关蛋白金属基质蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)及血

管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达, 提示ERS可能通过上调MMP9和VEGF的表达来促进胃癌细胞转移。

董凯楠, 黄析, 邢文英, 郭文文, 冯若. 内质网应激对胃癌细胞迁移与侵袭的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1485-1491 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1485.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1485>

0 引言

胃癌发病率位居全球范围内恶性肿瘤发生率的第4位, 其死亡率高居世界第2位^[1,2]。在我国胃癌患者死亡率则高居恶性肿瘤死亡率之首。其中转移是胃癌发展的最终阶段, 也是引起患者死亡的主要原因^[3]。目前关于胃癌转移的机制尚不清楚, 所以缺乏有效阻止胃癌转移的治疗手段, 使得胃癌死亡率居高不下。多种应激因素如营养剥夺、缺血缺氧及蛋白质糖基化受阻等均可影响蛋白质折叠, 而未折叠蛋白质则堆积于内质网腔内, 引发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)^[4]。研究^[5-8]发现ERS反应普遍存在于肿瘤组织中, 并调控肿瘤的发生发展, 参与肿瘤的浸润与转移。目前尚不清楚ERS在胃癌转移中的作用。本研究拟利用ERS诱导剂衣霉素处理胃癌细胞, 探讨ERS对胃癌转移能力的影响及其可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌细胞系SGC7901及BGC823购自美国模式培养物集存库(American type culture collection, ATCC); 胎牛血清与RPMI 1640培养基购自GIBCO; 衣霉素购自Sigma; 兔抗人葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)抗体、HRP酶标二抗、兔抗人金属基质蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)抗体、兔抗人及血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及ECL发光试剂盒购自Cell Signaling。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 采用RPMI 1640培养基(含10%胎牛血清)贴壁培养BGC823或SGC7901于含50 mL/L CO₂、饱和湿度的37 °C恒温培养箱内。
1.2.2 Western blot技术检测GRP78、MMP9及VEGF的表达: 用ERS诱导剂衣霉素分别处理BGC823及SGC7901 0、12、24及36 h, Western blot技术检测各时间点ERS标志物GRP78及

表 1 衣霉素作用胃癌细胞不同时间后GRP78的相对表达量

时间	GRP78/ β -actin	
	SGC7901	BGC823
0 h	0.3084 \pm 0.0065	0.4898 \pm 0.0218
12 h	0.6238 \pm 0.0029 ^b	1.0564 \pm 0.0294 ^b
24 h	0.6806 \pm 0.0101 ^b	1.2416 \pm 0.0087 ^b
36 h	0.7269 \pm 0.0037 ^b	1.4853 \pm 0.0971 ^b

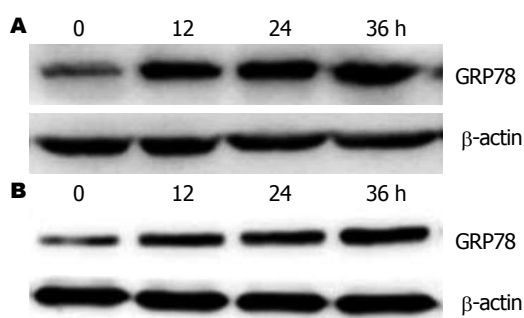
^b $P < 0.01$ vs 0 h组.

图 1 衣霉素作用胃癌细胞不同时间后GRP78的表达情况. A: 衣霉素处理SGC7901不同时间后GRP78的表达情况; B: 衣霉素处理BGC823不同时间后GRP78的表达情况.

肿瘤侵袭与转移相关指标MMP9和VEGF的表达, 以明确衣霉素是否诱导胃癌细胞发生ERS, 以及ERS是否上调肿瘤侵袭与转移相关指标MMP9和VEGF的表达. 结果用Image J软件对蛋白含量进行定量分析. GRP78、MMP-9和VEGF蛋白表达相对含量以条带密度比值表示, 即GRP78/ β -actin、MMP-9/ β -actin、VEGF/ β -actin.

1.2.3 划痕实验: 以每孔 1×10^6 个细胞将BGC823或SGC7901接种于6孔板中, 待细胞汇合成单层后, 用灭菌枪头在细胞单层上小心地做划痕, 用PBS洗去细胞碎片, 加入含5 μ g/mL衣霉素的培养基, 未加药组作为对照. 于衣霉素处理0、12、24及36 h用倒置显微镜拍照测量划痕宽度, 在照片选取3个不同位置计算划痕宽度平均值. 细胞的迁移能力以划痕修复率表示(划痕修复率 = 细胞迁移距离/原始划痕宽度).

1.2.4 细胞侵袭能力检测: 用5 μ g/mL衣霉素处理BGC823或SGC7901 12、24及36 h, 各时间点均设未加药对照组. 胰酶消化各组细胞并用无血清RMPI 1640培养基制成浓度为 5×10^5 /mL单细胞悬液. 将150 μ L细胞悬液加至用

Matrigel预处理的Transwell上室中, 于下室中加入600 μ L含10%胎牛血清的RMPI 1640培养基. 继续培养24 h后, 擦掉上室细胞, PBS洗2次, 于甲醇中固定30 min, 置于0.5%结晶紫溶液中, 染色10 min, 用三蒸水洗3遍. 风干后置于显微镜下观察, 随机选取5个视野, 统计侵袭至下室的细胞数目并取其平均值.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件分析, 数据均采用mean \pm SD表示, 组间比较采用单因素方差分析. 检验水准 $\alpha = 0.05$. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 衣霉素可诱导胃癌细胞SGC7901和BGC823发生ERS 与0 h相比, 衣霉素处理胃癌细胞系SGC7901或BGC823, 12、24、36 h后, GRP78在蛋白水平的表达量均明显提高($P < 0.05$)(表1, 图1).

2.2 ERS促进胃癌细胞SGC7901和BGC823的迁移 与对照组相比, 衣霉素处理SGC7901和BGC823 12、24及36 h后, 各衣霉素处理组的划痕愈合率均明显高于对照组($P < 0.05$)(表2, 图2).

2.3 ERS促进胃癌细胞SGC7901和BGC823的侵袭 与对照组相比, 衣霉素处理SGC7901和BGC823 12、24及36 h后, 各衣霉素处理组侵袭至下室的细胞数均明显多于对照组($P < 0.05$)(表3, 图3).

2.4 衣霉素可上调胃癌细胞SGC7901和BGC823 MMP9及VEGF-A的表达 与0 h相比, 衣霉素处理胃癌细胞SGC7901或BGC823 12、24、36 h后, 肿瘤侵袭与转移相关MMP9及VEGF-A的表达均明显提高($P < 0.05$)(表4, 图4).

3 讨论

胃癌是我国常见的消化系肿瘤, 死亡率很高^[1]. 若能及早做出诊断, 胃癌患者则可通过以手术为主的综合治疗达到较好的治疗效果, 可有效提高其生存率. 然而, 在我国约2/3的胃癌患者在确诊时已属中晚期, 预后较差. 绝大部分胃癌患者, 尤其是中晚期患者在接受临床各种治疗后, 仍然会出现肿瘤的复发、侵袭与转移^[9,10]. 目前尚无药物可有效防治胃癌转移, 这也是引起胃癌患者死亡的主要原因. 因此, 深入探讨胃癌转移机制以期找到新的药物靶点十分必要. 本研究发现ERS可借助上调MMPs及VEGF-A促进胃癌细胞的侵袭与迁移, 参

■ 相关报道

Moon等研究发现ERS可诱导肿瘤细胞发生上皮-间质化转变; Li等发现下调乙酰肝素酶能逆转由ERS介导乳腺癌细胞的转移及侵袭能力. Liu等发现, 敲低ERS的指标蛋白GRP78的表达可通过抑制PI3K/Akt信号通路, 显著降低肿瘤细胞的转移能力. 这些研究表明ERS可能是肿瘤细胞发生浸润转移的重要诱因, 在肿瘤转移过程中发挥重要作用.

■创新盘点

本文研究揭示了ERS可能通过上调MMP9和VEGF的表达来促进胃癌细胞转移,为阐明胃癌转移机制注入了新内容.



图 2 伊曲康唑处理胃癌细胞不同时间后划痕愈合程度.

表 2 伊曲康唑处理胃癌细胞不同时间后划痕愈合率(%)

时间	SGC7901		BGC823	
	对照组	伊曲康唑组	对照组	伊曲康唑组
12 h	6.8 ± 0.17	9.8 ± 0.19 ^b	20.8 ± 0.31	35.7 ± 0.18 ^d
24 h	9.6 ± 0.26	14.8 ± 0.22 ^b	28.3 ± 0.25	64.3 ± 0.35 ^d
36 h	13.7 ± 0.28	21.3 ± 0.15 ^b	37.8 ± 0.34	67.9 ± 0.26 ^d

^bP<0.01 vs SGC7901对照组; ^dP<0.01 vs BGC823对照组.

与胃癌转移,为阐明胃癌转移机制注入了新的内容.

内质网是蛋白质的加工厂,多种病理生理因素可破坏内质网稳态,引发蛋白质合成障碍,而错误折叠和未折叠的蛋白质在内质网腔内堆积,细胞为此将做出一系列的反应,即ERS反应^[4].哺乳动物细胞的ERS反应由活化转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)、肌醇需酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)和

蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase-like ER kinase, PERK)三种内质网跨膜蛋白启动,他们是ERS的感受器.在稳定状态下,3种ERS感受蛋白均与GRP78结合以复合物的形式存在,处于失活状态;ERS状态下,他们则与GRP78解离^[11,12].解离后ERS感受蛋白分别通过不同的信号转导途径来减缓内质网腔内未折叠蛋白质的堆积,进行自我挽救^[11,12].ERS反应实际上是细胞为适应环境变化而做出的保护性

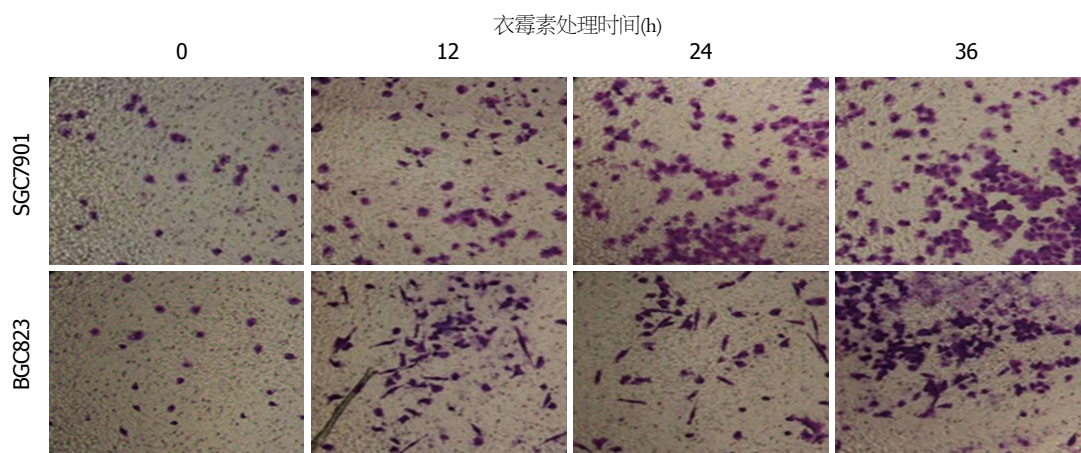


图 3 衣霉素处理胃癌细胞不同时间后侵袭至下室的细胞。

表 3 衣霉素处理胃癌细胞不同时间后侵袭至下室的细胞数

时间	细胞数(个)	
	SGC7901	BGC823
0 h	40 ± 2.2	55 ± 1.3
12 h	65 ± 3.1 ^b	85 ± 2.2 ^b
24 h	96 ± 1.2 ^b	95 ± 2.4 ^b
36 h	115 ± 2.3 ^b	102 ± 3.3 ^b

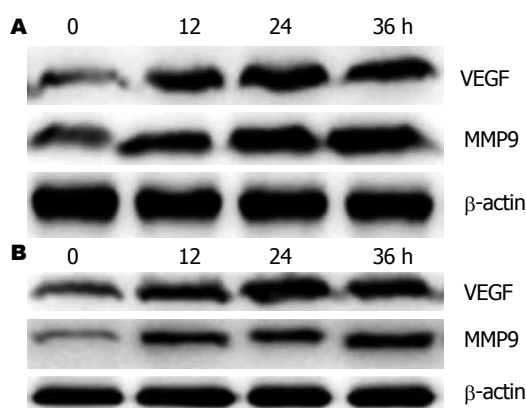
^b*P* < 0.01 vs 0 h组。

图 4 衣霉素作用胃癌细胞不同时间后MMP9及VEGF的表达情况。A: 衣霉素处理SGC7901不同时间后MMP9及VEGF的表达情况; B: 衣霉素处理BGC823不同时间后MMP9及VEGF的表达情况。VEGF: 血管内皮细胞生长因子; MMP9: 金属基质蛋白酶9。

反应。GRP78是一种分子伴侣, 协助蛋白质折叠, ERS状态下, 其表达量显著升高, 而GRP78的高表达常被用作检测ERS存在的标准^[12]。衣霉素为N-糖链抑制剂, 可抑制糖蛋白N-糖链的合成, 使蛋白质糖基化受阻, 进而影响蛋白质的折叠能力, 导致未折叠蛋白质的堆积, 诱发ERS^[13,14]。本研究用ERS诱导剂衣霉素处理不同分化程度的胃癌细胞SGC7901和BGC823后, GRP78的表达量显著升高, 提示衣霉素可诱导上述两种胃癌细胞发生ERS。

作为ERS的强诱导剂, 缺血缺氧现象在实体瘤组织中普遍存在, 且与肿瘤转移关系密切^[15-17]。研究^[8,18]发现, ERS亦普遍存在于肿瘤组织内, 且ERS程度与肿瘤的浸润深度及转移程度成正相关。Li等^[19]发现, 下调乙酰肝素酶能逆转由ERS介导乳腺癌细胞的转移及侵袭能力。Liu等^[20]发现, 敲低ERS的指标蛋白GRP78的表达可通过抑制PI3K/Akt信号通路, 显著降低肿瘤细胞的转移能力。这些研究表明ERS可能是肿瘤细胞发生浸润转移的重要诱因, 在肿瘤转移过程中发挥重要作用。但关于ERS与胃癌转移

的关系尚不明了。因此, 从ERS着手研究可为探讨胃癌转移机制提供一个新思路。本研究结果显示, 衣霉素处理胃癌细胞后, 其侵袭及迁移能力明显增强, 说明ERS参与并促进了胃癌细胞的侵袭与迁移, 提示ERS可能是胃癌转移的重要调控机制。

肿瘤转移是涉及多个步骤, 需要多因素共同参与的复杂过程。在此过程中, 肿瘤细胞要脱离原发灶, 侵袭并播散到其他部位形成转移灶, 该过程需要许多分子参与, 如黏附分子、基质降解酶及多种生长因子等。不同因素诱导下, 肿瘤转移的机制不尽相同^[21-23]。为进一步探讨ERS调控胃癌转移的可能机制, 本课题检测了ERS对肿瘤转移相关指标MMP9和VEGF-A的影响。MMPs, 尤其是MMP-9可降解细胞外基质, 促进胃癌细胞向外迁移^[24-26]; 而VEGF则

应用要点

GRP78高表达作为ERS检测指标, 可能是检测胃癌转移的潜在指标, 对临床监测胃癌转移具有一定的参考价值。

■名词解释

内质网应激反应: 多种应激因素如营养剥夺、缺血缺氧及蛋白质糖基化受阻等均可影响蛋白质折叠, 而未折叠蛋白质则堆积于内质网腔内, 引发对此做出一系列的代偿反应, 称为ERS反应。

表 4 衣霉素作用胃癌细胞不同时间后MMP9及VEGF的相对表达量

时间	MMP9/ β -actin		VEGF/ β -actin	
	SGC7901	BGC823	SGC7901	BGC823
0 h	0.3128 \pm 0.0130	0.2863 \pm 0.0149	0.2786 \pm 0.0126	0.3197 \pm 0.0203
12 h	0.6453 \pm 0.0095 ^b	0.6280 \pm 0.0227 ^b	0.5048 \pm 0.0136 ^b	0.5925 \pm 0.0209 ^b
24 h	0.7160 \pm 0.0095 ^b	0.5821 \pm 0.0093 ^b	0.6640 \pm 0.0174 ^b	0.8224 \pm 0.0136 ^b
36 h	0.8699 \pm 0.0107 ^b	0.7699 \pm 0.0169 ^b	0.5696 \pm 0.0159 ^b	0.7311 \pm 0.0111 ^b

^b*P*<0.01 vs 0 h组。MMP9: 金属基质蛋白酶9; VEGF: 血管内皮细胞生长因子。

是肿瘤组织中的促血管生长因子, 促进肿瘤组织中新生血管的生成, 参与肿瘤转移^[27,28]。研究^[29,30]表明胃癌组织内VEGF高表达与其血管生成及胃癌转移密切相关。肿瘤细胞为适应其周围微环境, 可以通过激活ERS反应, 来创造更为有利的微环境, 增强一些生长因子和血管生成因子等的分泌能力, 促进肿瘤细胞的迁移和侵袭^[24-31]。其中VEGF信号通路是淋巴管形成的基础, 通过转基因小鼠模型证实, 经过VEGF信号途径可以诱导淋巴管生成。并在小鼠肿瘤模型上观察到VEGF过表达可诱导肿瘤淋巴管生长, 证实了淋巴管是肿瘤细胞转移播散到局部淋巴结的主要通路^[31]。本研究结果显示ERS可显著上调MMP9及VEGF-A的表达。该结果表明ERS可能借助肿瘤转移相关蛋白MMP9来降解细胞外基质成分, 增强胃癌细胞向外侵袭的能力; 同时, ERS亦可通过VEGF-A诱导胃癌细胞向外迁移。提示ERS可通过MMP9及VEGF-A调控胃癌细胞的侵袭与迁移能力。

作为实体瘤, 胃癌组织内存在缺血缺氧等应激因素; 作为ERS的诱导剂, 缺血缺氧可诱发胃癌细胞发生ERS反应。本实验结果提示ERS可促进胃癌细胞的迁移与侵袭, 可能是促进胃癌转移的重要因素。研究显示ERS可通过ERS感受蛋白ATF6、IRE1和 PERK来启动不同的信号通路, 参与调控细胞的生物学行为。关于ERS通过哪条通路来促进胃癌转移的问题, 目前尚不清楚, 还有待于进一步研究。

4 参考文献

1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]
2 Park JY, von Karsa L, Herrero R. Prevention strategies for gastric cancer: a global perspective. *Clin Endosc* 2014; 47: 478-489 [PMID: 25505712 DOI:

10.5946/ce.2014.47.6.478]
3 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2014; 26: 4-9
4 Yadav RK, Chae SW, Kim HR, Chae HJ. Endoplasmic reticulum stress and cancer. *J Cancer Prev* 2014; 19: 75-88 [PMID: 25337575 DOI: 10.15430/JCP.2014.19.2.75]
5 Kaira K, Toyoda M, Shimizu A, Shino M, Sakakura K, Takayasu Y, Takahashi K, Asao T, Chikamatsu K. Expression of ER stress markers (GRP78/BiP and PERK) in adenoid cystic carcinoma. *Acta Otolaryngol* 2016; 136: 1-7 [PMID: 26366837 DOI: 10.3109/00016489.2015.1083120]
6 Zheng YZ, Cao ZG, Hu X, Shao ZM. The endoplasmic reticulum stress markers GRP78 and CHOP predict disease-free survival and responsiveness to chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 145: 349-358 [PMID: 24781973 DOI: 10.1007/s10549-014-2967-x]
7 Nagelkerke A, Bussink J, Sweep FC, Span PN. The unfolded protein response as a target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1846: 277-284 [PMID: 25069067 DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.07.006]
8 Moon SY, Kim HS, Nho KW, Jang YJ, Lee SK. Endoplasmic reticulum stress induces epithelial-mesenchymal transition through autophagy via activation of c-Src kinase. *Nephron Exp Nephrol* 2014; 126: 127-140 [PMID: 24863135 DOI: 10.1159/000362457]
9 邹文斌, 李兆申. 中国胃癌发病率及死亡率研究进展. *中国实用内科杂志* 2014; 34: 408-415
10 Oditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, Andreozzi F, Ventriglia J, Savastano B, Mabilia A, Lieto E, Ciardiello F, De Vita F. Treatment of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1635-1649 [PMID: 24587643 DOI: 10.3748/wjg.v20.i7.1635]
11 Lee AS. GRP78 induction in cancer: therapeutic and prognostic implications. *Cancer Res* 2007; 67: 3496-3499 [PMID: 17440054 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0325]
12 Mollereau B, Manié S, Napoletano F. Getting the better of ER stress. *J Cell Commun Signal* 2014; 8: 311-321 [PMID: 25354560 DOI: 10.1007/s12079-014-0251-9]
13 Chen Q, Miller LJ, Dong M. Role of N-linked glycosylation in biosynthesis, trafficking, and function of the human glucagon-like peptide 1 receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299: E62-E68 [PMID: 20407008 DOI: 10.1152/

- ajpendo.00067.2010]
- 14 Seo M, Ryou HJ, Yun EY, Goo TW. Molecular Characterization of Endoplasmic Reticulum Oxidoreductin 1 from *Bombyx mori*. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 26520-26529 [PMID: 26556347 DOI: 10.3390/ijms161125977]
 - 15 Mujcic H, Hill RP, Koritzinsky M, Wouters BG. Hypoxia signaling and the metastatic phenotype. *Curr Mol Med* 2014; 14: 565-579 [PMID: 24894165]
 - 16 Mujcic H, Nagelkerke A, Rouschop KM, Chung S, Chaudary N, Span PN, Clarke B, Milosevic M, Sykes J, Hill RP, Koritzinsky M, Wouters BG. Hypoxic activation of the PERK/eIF2 α arm of the unfolded protein response promotes metastasis through induction of LAMP3. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 6126-6137 [PMID: 24045183 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0526]
 - 17 Nagelkerke A, Bussink J, Mujcic H, Wouters BG, Lehmann S, Sweep FC, Span PN. Hypoxia stimulates migration of breast cancer cells via the PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response. *Breast Cancer Res* 2013; 15: R2 [PMID: 23294542 DOI: 10.1186/bcr3373]
 - 18 Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 581-597 [PMID: 25145482 DOI: 10.1038/nrc3800]
 - 19 Li Y, Liu H, Huang YY, Pu LJ, Zhang XD, Jiang CC, Jiang ZW. Suppression of endoplasmic reticulum stress-induced invasion and migration of breast cancer cells through the downregulation of heparanase. *Int J Mol Med* 2013; 31: 1234-1242 [PMID: 23467544 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1292]
 - 20 Liu R, Li X, Gao W, Zhou Y, Wey S, Mitra SK, Krasnoperov V, Dong D, Liu S, Li D, Zhu G, Louie S, Conti PS, Li Z, Lee AS, Gill PS. Monoclonal antibody against cell surface GRP78 as a novel agent in suppressing PI3K/AKT signaling, tumor growth, and metastasis. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 6802-6811 [PMID: 24048331 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1106]
 - 21 Stivarou T, Patsavoudi E. Extracellular molecules involved in cancer cell invasion. *Cancers (Basel)* 2015; 7: 238-265 [PMID: 25629807 DOI: 10.3390/cancers7010238]
 - 22 Fu QF, Liu Y, Fan Y, Hua SN, Qu HY, Dong SW, Li RL, Zhao MY, Zhen Y, Yu XL, Chen YY, Luo RC, Li R, Li LB, Deng XJ, Fang WY, Liu Z, Song X. Alpha-enolase promotes cell glycolysis, growth, migration, and invasion in non-small cell lung cancer through FAK-mediated PI3K/AKT pathway. *J Hematol Oncol* 2015; 8: 22 [PMID: 25887760 DOI: 10.1186/s13045-015-0117-5]
 - 23 Hao NB, Tang B, Wang GZ, Xie R, Hu CJ, Wang SM, Wu YY, Liu E, Xie X, Yang SM. Hepatocyte growth factor (HGF) upregulates heparanase expression via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway for gastric cancer metastasis. *Cancer Lett* 2015; 361: 57-66 [PMID: 25727320 DOI: 10.1016/j.canlet.2015]
 - 24 Jacob A, Jing J, Lee J, Schedin P, Gilbert SM, Peden AA, Junutula JR, Prekeris R. Rab40b regulates trafficking of MMP2 and MMP9 during invadopodia formation and invasion of breast cancer cells. *J Cell Sci* 2013; 126: 4647-4658 [PMID: 23902685 DOI: 10.1242/jcs.126573]
 - 25 Li X, Yang Z, Song W, Zhou L, Li Q, Tao K, Zhou J, Wang X, Zheng Z, You N, Dou K, Li H. Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway. *Int J Oncol* 2013; 43: 793-802 [PMID: 23807724 DOI: 10.3892/ijo.2013.1992]
 - 26 Jia W, Gao XJ, Zhang ZD, Yang ZX, Zhang G. S100A4 silencing suppresses proliferation, angiogenesis and invasion of thyroid cancer cells through downregulation of MMP-9 and VEGF. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 1495-1508 [PMID: 23771538]
 - 27 Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257 [PMID: 11001068 DOI: 10.1038/35025220]
 - 28 Liu W, Xu J, Wang M, Wang Q, Bi Y, Han M. Tumor-derived vascular endothelial growth factor (VEGF)-a facilitates tumor metastasis through the VEGF-VEGFR1 signaling pathway. *Int J Oncol* 2011; 39: 1213-1220 [PMID: 21785819 DOI: 10.3892/ijo.2011.1138]
 - 29 Oommen S, Gupta SK, Vlahakis NE. Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) induces endothelial and cancer cell migration through direct binding to integrin α 9 β 1: identification of a specific α 9 β 1 binding site. *J Biol Chem* 2011; 286: 1083-1092 [PMID: 21071450 DOI: 10.1074/jbc.M110.175158]
 - 30 Wang X, Chen X, Fang J, Yang C. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 586-597 [PMID: 23573305]
 - 31 Zhao YC, Ni XJ, Li Y, Dai M, Yuan ZX, Zhu YY, Luo CY. Peritumoral lymphangiogenesis induced by vascular endothelial growth factor C and D promotes lymph node metastasis in breast cancer patients. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 165 [PMID: 22906075 DOI: 10.1186/1477-7819-10-165]

同行评价

本文采用衣霉素处理胃癌细胞后, GRP78表达显著增高, 证实了ERS的发生; 发现了ERS可上调MMP-9和VEGF的表达, 促进胃癌细胞的迁移和侵袭。文章整体表述清楚, 思路清晰, 讨论部分条理性较强, 具有一定的学术价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



沉默MCM7基因后肝癌SMMC-7721细胞差异表达基因的筛选

罗旺, 曹骥, 杨香娣, 邓玲, 王谷洋, 杨春, 李科志, 李媛

背景资料

MCM7基因的高表达与肝癌等多种肿瘤的发生及预后有关, 但目前关于MCM7基因具体调控机制仍未完全清楚。本研究通过Affymetrix芯片分别对沉默和未沉默MCM7基因的人肝癌SMMC-7721细胞进行检测, 寻找差异表达基因, 探讨MCM7基因在肝癌发生发展中的作用机制。

罗旺, 曹骥, 杨香娣, 邓玲, 王谷洋, 杨春, 李科志, 李媛, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021

罗旺, 杨香娣, 邓玲, 王谷洋, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021

罗旺, 主要从事肝癌病因学、发病机制方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81260080
 广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFAA019210

作者贡献分布: 此课题由曹骥设计; 研究过程由罗旺、杨香娣、邓玲、王谷洋、杨春、李科志及李媛操作完成; 数据分析和论文写作由罗旺与曹骥共同完成。

通讯作者: 曹骥, 研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路22号, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部。
 caojicn@163.com
 电话: 0771-5310593

收稿日期: 2016-01-11
 修回日期: 2016-02-23
 接受日期: 2016-02-29
 在线出版日期: 2016-04-08

Screening of differentially expressed genes after silencing MCM7 in liver cancer cell line SMMC-7721

Wang Luo, Ji Cao, Xiang-Di Yang, Ling Deng, Gu-Yang Wang, Chun Yang, Ke-Zhi Li, Yuan Li

Wang Luo, Ji Cao, Xiang-Di Yang, Ling Deng, Gu-Yang Wang, Chun Yang, Ke-Zhi Li, Yuan Li, Research Department, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Wang Luo, Xiang-Di Yang, Ling Deng, Gu-Yang Wang, Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

同行评议者

高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院; 伦永志, 副教授, 大连大学医学院; 赵鹏伟, 讲师, 内蒙古医科大学基础医学院

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260080; Guangxi Natural Science Foundation, No. 2013GXNSFAA019210

Correspondence to: Ji Cao, Researcher, Research Department, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. caojicn@163.com

Received: 2016-01-11

Revised: 2016-02-23

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To explore the mechanisms of mini-chromosome maintenance protein 7 (MCM7) for regulating the growth of liver cancer cells.

METHODS: The expression of MCM7 gene in SMMC-7721 cells was silenced with small interfering RNA (siRNA). Human genome-wide expression profile chip was then employed to screen the differentially expressed genes, and bioinformatics analysis of the differentially expressed genes was performed. Finally, part of these differentially expressed genes were confirmed by Western blot assay.

RESULTS: In total there were 1010 genes that were differentially expressed in SMMC-7721 cells after the expression of MCM7 was silenced, including 391 up-regulated and 619 down-regulated ones. Bioinformatics analysis showed that these differentially expressed genes are involved in many cellular biological processes such as macromolecular metabolism, cell cycle regulation, cell proliferation regulation,

apoptosis, endocytosis, P53 and mTOR signaling pathways. The down-regulation of CCND1, SKP2 and JUP was confirmed by Western blot, which was consistent with the results of the genome-wide expression profile chip.

CONCLUSION: The differentially expressed genes after silencing the gene *MCM7* in liver cancer cells SMMC-7721 might provide some clues for understanding the mechanism by which *MCM7* affects the growth of liver cancer cells.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer; *MCM7*; siRNA; Genome-wide expression profile chip

Luo W, Cao J, Yang XD, Deng L, Wang GY, Yang C, Li KZ, Li Y. Screening of differentially expressed genes after silencing *MCM7* in liver cancer cell line SMMC-7721. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1492-1500 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1492.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1492>

摘要

目的: 探究微小染色体维持蛋白7(mini-chromosome maintenance protein 7, *MCM7*)基因在调节肝癌细胞生长的相关机制。

方法: 通过siRNA干扰技术沉默人肝癌SMMC-7721细胞中的*MCM7*基因表达, 采用人全基因组表达谱芯片, 筛查*MCM7*沉默后差异表达基因, 进行生物信息学分析, 并对部分差异表达基因进行蛋白免疫印迹法(Western blot)验证。

结果: 芯片筛选出在人肝癌SMMC-7721细胞中沉默*MCM7*基因后差异表达基因1010个, 其中上调基因391个, 下调基因619个。这些基因主要涉及生物大分子代谢、细胞周期调控、细胞增殖、细胞凋亡等方面, 参与胞吞、肿瘤相关通路、P53信号通路、mTOR信号通路等通路的改变。Western blot对部分差异基因表达验证的结果显示CCND1、SKP2和JUP蛋白表达均下调, 与芯片检测结果一致。

结论: 应用人基因表达谱芯片, 成功筛选出沉默*MCM7*基因后人肝癌细胞SMMC-7721差异表达基因, 为探究*MCM7*基因影响肝癌细胞生长提供了有效线索。

© 2016版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; *MCM7*; RNA干扰; 人基因表达谱芯片

核心提示: 本研究通过筛选沉默*MCM7*基因后人肝癌细胞SMMC-7721中差异表达的基因, 发现差异表达基因涉及肿瘤相关通路、细胞周期通路等信号通路, 经Western blot证实了CCND1、SKP2、JUP等蛋白差异表达, 为揭示*MCM7*基因影响肝癌细胞生长的作用机制提供了新的思路。

罗旺, 曹骥, 杨香娣, 邓玲, 王谷洋, 杨春, 李科志, 李媛. 沉默*MCM7*基因后肝癌SMMC-7721细胞差异表达基因的筛选. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1492-1500 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1492.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1492>

0 引言

微小染色体维持蛋白7(mini-chromosome maintenance protein 7, *MCM7*)在细胞周期中作为DNA复制的准许因子, 可启动和参与DNA复制, 确保DNA的复制在每个细胞周期仅发生1次, 参与调节细胞增殖^[1]。研究发现*MCM7*基因的扩增和高表达与肝癌^[2]、前列腺癌^[3]、结直肠癌^[4]、霍奇金淋巴瘤^[5]等多种肿瘤的发生及预后有关。本课题组前期实验采用RNA干扰技术沉默人肝癌SMMC-7721细胞中*MCM7*基因后, 发现SMMC-7721细胞周期进程得到明显阻滞, 凋亡大幅增加, 其生长增殖功能明显受到抑制^[6]。沉默*MCM7*基因后, SMMC-7721细胞裸鼠移植瘤的生长速度明显低于对照组移植瘤的生长速度^[7]。研究表明*MCM7*基因与肝癌细胞周期相关, 而目前关于*MCM7*基因影响肿瘤细胞周期的具体调控机制仍未完全清楚。本研究通过Affymetrix芯片分别对沉默和未沉默*MCM7*基因的人肝癌SMMC-7721细胞进行检测, 寻找差异表达基因, 初步探究*MCM7*基因对肿瘤细胞周期的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌SMMC-7721细胞购自中国科学院细胞研究所, 同时带有绿色荧光标记蛋白和嘌呤霉素抗性筛选标记的*MCM7*基因沉默重组慢病毒颗粒LV-shRNA-MCM7及对照慢病毒颗粒LV-shRNA-NC由上海吉

■ 研究前沿

*MCM7*基因如何通过调控肿瘤细胞周期, 从而影响肿瘤的发生发展, 成为目前研究的热点。

■ 相关报道

本课题组前期实验结果表明, *MCM7*在人肝癌组织中呈高表达, 且与患者肝癌分期、转移、复发相关。在沉默*MCM7*基因后, 人肝癌细胞周期进程受阻, 凋亡大幅增加, 裸鼠移植瘤模型也证实沉默组瘤体生长速度明显减慢, 提示*MCM7*基因与肝癌发生有关。

凯基因公司构建提供, 其中shRNA靶点已在前期试验中验证^[6]。DMEM、胎牛血清、PBS粉剂购自Hyclone公司; 总RNA提取试剂TRIzol购自Invitrogen公司; 逆转录试剂盒购自Fermentas公司; 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)试剂盒购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司; GeneChip[®] PrimeView[™] Human Gene Expression Array由Affymetrix提供; RIPA细胞裂解液、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)、BCA蛋白浓度测试试剂盒(增强型)、20×TBS缓冲液等均购自江苏碧云天生物技术研究; 蛋白质预染Marker购自美国Fermentas(MBI)公司; PVDF膜购自美国Millipore公司; 兔抗人CCND1单克隆抗体、鼠抗人JUP单克隆抗体、鼠抗人SKP2单克隆抗体购自美国Abcam公司; Anti-rabbit IgG及Anti-mouse IgG二抗购自Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与慢病毒转染: 人肝癌细胞株SMMC-7721在37℃、50 mL/L CO₂的条件下, 置于10%胎牛血清的DMEM培养基中培养。随机分成2组, 即实验组(LV-shRNA-MCM7慢病毒沉默组)和对照组(LV-shNC-NC空载慢病毒组)。转染过程如前期实验操作^[6]。

1.2.2 总RNA提取: 在25 cm²培养瓶中常规培养实验组和对照组细胞, 按照Invitrogen公司TRIzol试剂使用说明书抽提总RNA, 采用Thermo NanoDrop 2000检测其浓度和纯度, 并采用凝胶电泳系统Agilent-2100检测总RNA的完整性。

1.2.3 qRT-PCR: 应用软件Primer5.0设计引物。*MCM7*基因上游引物序列为: 5'-ACATCACAGCAGCATACG-3', 下游引物序列为5'-TCCACCACATCCACCATT-3', 扩增片段为139 bp, 内参*GAPDH*基因上游引物序列: 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物序列为: 5'-CACCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 扩增片段大小为121 bp。引物由TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司合成。将TRIzol法分别提取得到的2组细胞总RNA, 逆转录成cDNA。设置反应条件为: 95℃预变性30 s, 95℃变性5 s, 60℃退火30 s, 共45个循环, 同时扩增各个样本的目的基因和内参基因, 每组细胞设计3个

重复孔。通过*GAPDH*基因水平校正, 采用2^{-△△Ct}分析法验证*MCM7* mRNA的相对表达量。

1.2.4 基因芯片检测及分析: 本研究采用Affymetrix公司GeneChip[®] PrimeView[™] Human Gene Expression Array, 包含36000多个转录本。首先将抽提到的实验组和对照组(每组包含3个重复样本)的总RNA通过GeneChip 3' IVT Expression Kit制备成aRNA, 然后用试剂盒内的纯化试剂将aRNA纯化, 配置aRNA片段化反应液, 加入纯化的aRNA进行片段化。然后将片段化后的aRNA与Affymetrix芯片探针杂交, 杂交完成后, 取出芯片, 用GeneChip Fluidics Station450仪器对芯片进行自动洗染, 最后采用GeneChip Scanner 3000扫描芯片, 并采用Expression console软件对扫描结果进行解析获得注释结果, 根据Ration值筛选出差异表达基因(上调或下调倍数>1.5, *P*<0.05), 采用GSEA软件对差异基因进行GO-Analysis(基于Gene Ontology数据库)和Pathway-Analysis(基于KEGG数据库)分析基因相关功能及生物学通路。对根据分析结果选取显著通路中的差异表达基因采用IPA软件进行网络调控分析, 使用R-Project软件中的gplots包对差异基因进行聚类分析。

1.2.5 Western blot验证部分差异表达基因: 提取实验组和对照组各组细胞总蛋白, 采用BCA法测定蛋白浓度, -80℃保存备用。蛋白变性后每孔上样20 μg, 经10%SDS-PAGE胶上电泳, 经300 mA, 150 min将蛋白转移到PVDF膜上。用含5%脱脂牛奶的TBST溶液室温封闭PVDF膜1 h。用封闭液稀释一抗(差异蛋白: CCND1为1:200, JUP为1:1000, SKP2为1:200; 内参蛋白: *GAPDH*为1:750), 然后与封闭好的PVDF膜4℃孵育过夜, 再用TBST洗膜4次, 每次8 min。室温下孵育相应的二抗(稀释浓度均为1:2000)1.5 h, 再用TBST洗膜4次, 每次8 min。采用Thermo公司Pierce[™] ECL Western blot Substrate试剂盒进行X光显影。

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 结果以mean±SD表示。计量资料两组之间比较采用独立样本*t*检验, *P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 总RNA质量分析 实验组与对照组细胞提

表 1 MCM7基因相关部分基因

基因名称	基因ID	基因描述	变化倍数	P值
上调基因				
CCL20	6364	CC亚族趋化因子配体20	3.63	0.000
FABP4	2167	脂肪酸结合蛋白4	2.90	0.000
IL8	3576	白介素8	2.55	0.000
MET	4233	MET原癌基因, 酪氨酸激酶受体	2.48	0.019
RAB5A	5868	Ras致癌基因家族成员	1.82	0.007
CDK6	1021	周期蛋白依赖激酶6	1.78	0.002
IL6	3569	白介素6	1.71	0.007
PTEN	5728	同源性磷酸酶张力蛋白	1.64	0.000
CDC25A	993	细胞分裂周期25A	1.59	0.023
CDC42	998	细胞分裂周期蛋白42	1.52	0.001
下调基因				
PPP6C	5537	蛋白磷酸酶6, 催化亚单位	-3.63	0.003
JUP	3728/3872	盘状球蛋白	-2.64	0.000
WARS	7453	色氨酸转移核糖体合成酶	-2.45	0.000
FAS	355	细胞表面死亡受体	-1.83	0.006
SKP2	6502	S期激酶相关蛋白2	-1.81	0.003
CCND1	595	细胞周期蛋白D1	-1.77	0.000
SUFU	51684	抑制基因的融合同旋体	-1.75	0.003
MAPK9	5601	有丝分裂原激活蛋白激酶	-1.66	0.001
TP53	7157	肿瘤蛋白p53	-1.54	0.002
CDC45	8318	细胞周期分裂蛋白45	-1.51	0.001

■ 创新亮点

本文利用siRNA干扰技术结合人基因表达谱芯片, 通过高通量数据分析研究MCM7基因表达下调后, 对肝癌细胞基因表达谱及信号通路的影响, 探讨MCM7基因对人肝癌细胞生长的可能调控机制。

取总RNA, 其 $A_{260-280}$ 介于2.01-2.09之间, 浓度 $>153.0\text{ ng}/\mu\text{L}$ 。Agilent 2100 Bioanalyzer检测实验组RIN值 >6.7 , 阴性对照组RIN值 >7.0 , 总RNA质量符合实验要求。

2.2 MCM7基因干扰效率 qRT-PCR检测MCM7 mRNA表达情况, 结果显示, 相对于对照组, 实验组细胞的MCM7 mRNA表达水平明显下降(0.414 ± 0.077 vs 1.001 ± 0.057 , $P<0.01$), 与前期实验结果一致^[6]。

2.3 基因表达谱变化 通过siRNA干扰技术使MCM7基因表达下调后, 发现显著差异表达基因1010个, 其中上调391个, 下调619个, 涉及蛋白质代谢、氧化应激、细胞周期调控、细胞增殖、细胞凋亡等重要功能。其中部分肿瘤相关的重要基因的差异表达情况如表1。

2.4 GO、Pathway富集分析 基于Gene Ontology数据库富集生物学过程、分子功能、细胞组分, 按富集指数(enrichment score, ES)由高到低排列出部分显著富集条目及富集差异表达基因数目(图1A), 其中, 生物学过程富集条目涉及生物大分子代谢过程、细胞周期、应激反应、生物过程的正性调节、分子聚合物的修

饰等; 分子功能富集条目主要涉及氧化还原酶活性、RNA结合、酶调节活性、离子结合、腺嘌呤核苷酸结合等; 细胞组分富集条目主要涉及细胞质组分、细胞核、细胞内细胞器、线粒体、大分子复合物等。

基于KEGG数据库富集信号通路, 按ES由高到低排列出部分显著富集的信号通路及各通路所富集差异表达基因数目(图1B), 富集到的通路涉及胞吞、肿瘤相关通路、P53信号通路、小细胞肺癌、PPAR信号通路等。

2.5 调控网络图分析 根据Pathway分析结果, 选取Pathways in cancer富集所得的基因, 绘制基因关系网络图(图2), 从预测关系网络图中, 未发现与MCM7直接作用的差异表达基因。MCM7基因有可能是通过人泛素启动子UBB调节肿瘤相关通路中部分差异蛋白的表达, 如下调CCND1、JUP、SUFU等。

2.6 差异表达基因的分层聚类结果及Western blot验证部分差异表达基因 对所有差异表达基因进行分层聚类分析(图3), 其中实验组样本与对照组样本分别聚类在一起, 说明聚类结果可靠, 样本组内基因表达差异小, 组间基因表达差异

应用要点

本文揭示了人肝癌中沉默MCM7基因后差异表达的基因, 探讨相关的信号通路和调控基因, 为肝癌的发病机制研究提供新的思路。

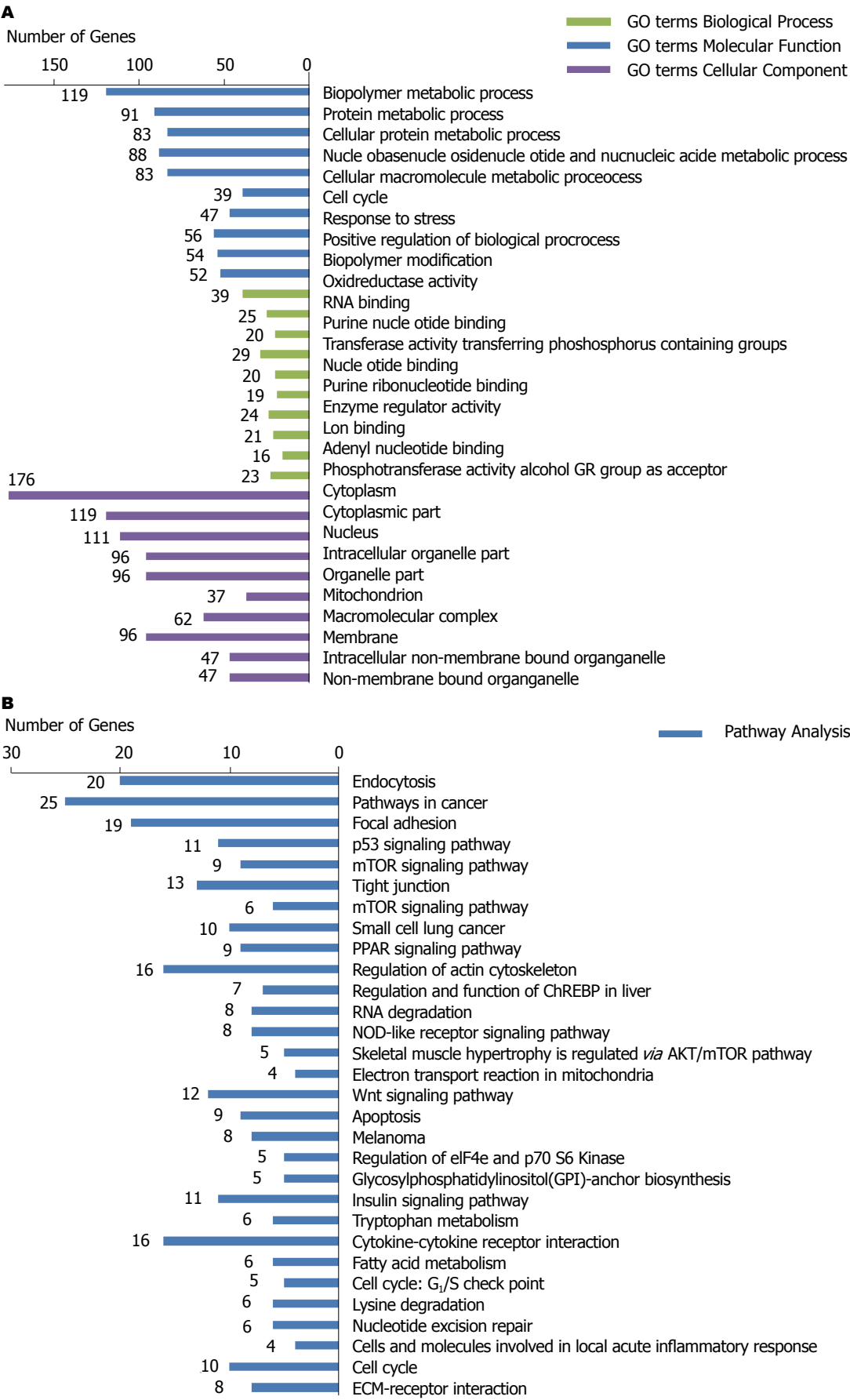


图 1 MCM7基因下调后差异表达基因。A: GO富集分析部分条目。蓝色表示生物学过程富集结果; 绿色表示分子功能富集结果; 紫色表示细胞组分富集结果; B: Pathway富集条目。

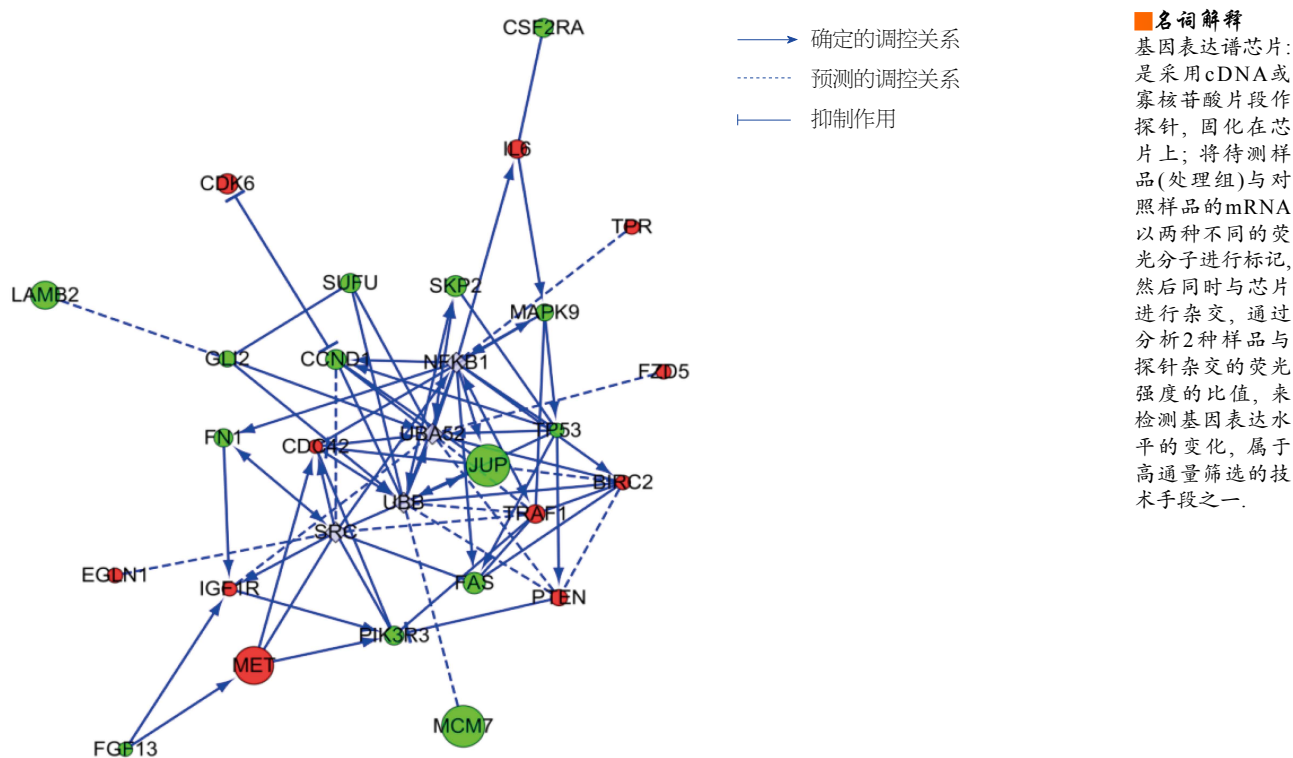


图 2 富集于Pathways in cancer的差异表达基因关系网络预测图。绿色代表基因芯片下调基因; 红色代表基因芯片上调基因; 灰色代表系统添加的关联基因; 圆点大小和实验组中基因表达差异相关, 圆点越大, 实验组和对照组中的表达差异越大。

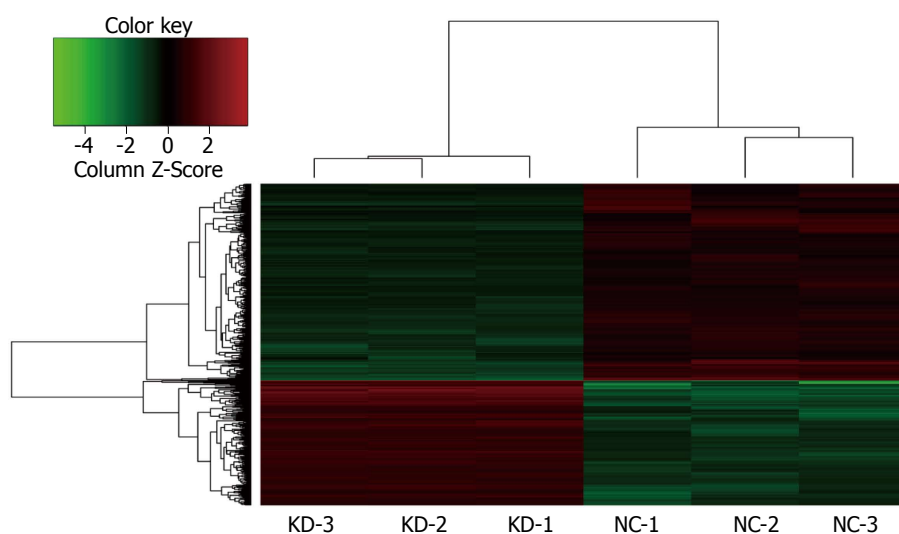


图 3 差异基因聚类图。KD: *MCM7*基因沉默组; NC: *MCM7*基因未沉默组。红色表示上调基因, 绿色表示下调基因。

大。采取Western blot技术对部分差异基因进行验证, 结果(图4)显示: CCND1、SKP2、JUP蛋白表达均下调。与芯片检测结果一致。

3 讨论

MCM7是MCM蛋白家族的成员之一, 也是DNA复制的关键蛋白。研究^[8,9]表明, MCM4,6,7形成的复合物具有DNA解旋酶活性。在真核

生物细胞周期的G₁期MCM2-7形成多聚复合物, 进入S期, 与CDC45和GINS蛋白结合, 形成CMG复制叉解旋酶, 启动DNA复制^[10]。而在S期末期, MCM7蛋白泛素化促使CMG复制叉解旋酶复合体解离^[11]。MCM7在保证细胞周期中DNA仅发生1次复制起到非常重要的作用。相关研究^[6,12]已经证实干扰*MCM7*基因后, 能明显抑制人肝癌细胞的增殖, 使细胞停滞在G₁期,

同行评价

本文选题新颖, 技术路线清晰, 研究方法可靠, 结果合理, 讨论深入, 对相关基础研究有较高的科学意义, 尤其基于大数据分析思维对于基础及临床研究具有明显的指导意义。

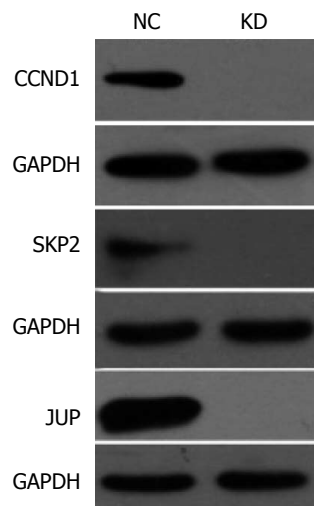


图4 Western blot验证部分差异表达基因。NC: *MCM7* 基因未沉默组; KD: *MCM7* 基因沉默组; CCND1: 细胞周期蛋白D1; SKP2: S期激酶相关蛋白, 泛素蛋白连接酶; JUP: 盘状球蛋白; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

并且诱导细胞的凋亡。

为更加系统全面探究*MCM7*基因在影响细胞周期进程和肿瘤发病中的作用机制, 本研究通过Affymetrix人类基因表达谱芯片筛选经RNA干扰技术沉默和未沉默*MCM7*的SMMC-7721细胞的差异表达基因, 并对其进行生物信息学分析。在筛选出的1010个差异表达基因中, 上调基因391个, 下调基因619个, 通过GO分析发现这些差异基因主要涉及生物大分子代谢、细胞周期、应激反应等生物学过程, 其中富集到细胞周期相关的差异表达基因39个, 包含*CCND1*、*SKP2*、*CDC45*等关键基因。在KEGG通路分析中发现所筛选出的差异表达基因主要参与肿瘤相关通路、P53信号通路、mTOR信号通路、WNT信号通路、细胞周期通路等通路的改变。其中, P53信号通路、mTOR信号通路、WNT信号通路及细胞周期均已被认定与肝癌的发生密切相关^[13,14]。在诸通路中, 以Pathways in cancer所富集的差异表达基因数最多, 也是与肿瘤相关变化最显著的信号通路。

我们选取了部分差异变化较明显的基因做了Western blot验证, 发现*CCND1*、*SKP2*蛋白表达下调, 这些基因均是细胞周期通路中重要的参与者, 其对于肿瘤发生的影响机制, 均有相关研究报道证实。*CCND1*是细胞周期蛋白(cyclins)的重要成员, 可与CDK4、CDK6形成cyclinD1/CDK4/6复合物, 使Rb蛋白磷酸化, 诱导

E2F1表达, 从而诱导细胞从G₁期向S期转化, 促进细胞周期的进展^[15,16]。*CCND1*基因在肝癌^[17]、小细胞肺癌^[18]、乳腺癌^[19]、浆细胞性骨髓瘤^[20]等多种肿瘤组织中的存在过表达现象, 该基因通过对细胞周期的影响在多种肿瘤的发生中起到重要的作用。*SKP2*基因被称作S期激酶相关蛋白基因, 其表达的SKP2蛋白参与形成SCF-SKP2复合物及Myc-SKP2-Miz1复合物, 参与细胞周期进程的调节、肿瘤的转移等过程^[21,22]。*SKP2*基因在肝癌^[23]、非小细胞肺癌^[24]、胆管癌^[25]、卵巢癌^[26]、结直肠癌^[27]中均呈现高表达。本研究发现在沉默*MCM7*基因的人肝癌SMMC-7721细胞中*CCND1*、*SKP2*蛋白表达下调, *MCM7*与*CCND1*、*SKP2*之间有可能存在某种调控关系, 通过影响细胞周期而干扰肝癌细胞的生长和增殖。

本研究针对Pathways in cancer通路所富集到的差异基因进行相互作用网络图绘制, 未发现与*MCM7*直接作用的差异表达基因, 预测出*MCM7*基因可能通过人泛素启动子*UBB*与其他基因发生间接调控关系, 尤其是与*JUP*基因的显著差异表达相关。*UBB*是泛素编码基因之一, 其与*UBC*基因编码多聚泛素前体, 与蛋白质结合, 参与蛋白质的泛素化修饰^[28]。泛素分子通过泛素-蛋白酶体系参与几乎所有细胞调控过程, 包括细胞周期进程的重要环节^[29]。*JUP*是细胞内糖蛋白catenin家族成员, 与β-catenin具有高度同源性, 但其作用机制或与之不同。*JUP*可通过激活*c-myc*基因的高表达而参与肿瘤的发生发展^[30]。有研究^[31]报道称, 在人肝癌组织中检测到*JUP*的异常表达, 并发现其高表达与肿瘤的包膜转移和卫星结节相关。而有研究^[32]报道, *JUP*的蓄积受泛素-蛋白酶体途径的调控。本研究发现下调*MCM7*基因后, 人肝癌SMMC-7721细胞中*JUP*呈明显低表达。*MCM7*与*JUP*在肝癌细胞中的具体调控机制有待进一步探究。

本研究发现下调*MCM7*基因后, 人肝癌细胞出现细胞周期阻滞, 凋亡增加, 其作用机制可能是: 通过影响CMG复制叉解旋酶复合体的形成, 阻滞细胞周期G₁/S期的转换; 通过影响*CCND1*、*SKP2*等细胞周期关键基因的表达, 进而阻滞细胞周期的进程; 而*MCM7*基因对于相关基因的调控则可能是通过人泛素启动子*UBB*而间接实现的, 具体过程和机制仍需进一步研究。

4 参考文献

- Walters AD, Chong JP. Methanococcus maripaludis: an archaeon with multiple functional MCM proteins? *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 1-6 [PMID: 19143592 DOI: 10.1042/BST0370001]
- 朱伶群, 杨春, 秦虹, 卢晓旭, 李媛, 欧超, 苏建家, 曹骥. MCM7蛋白在人大鼠树鼩肝癌组织中的表达和意义. *中国肿瘤临床* 2013; 40: 951-955
- Ren B, Yu G, Tseng GC, Cieply K, Gavel T, Nelson J, Michalopoulos G, Yu YP, Luo JH. MCM7 amplification and overexpression are associated with prostate cancer progression. *Oncogene* 2006; 25: 1090-1098 [PMID: 16247466 DOI: 10.1038/sj.onc.1209134]
- Nishihara K, Shomori K, Fujioka S, Tokuyasu N, Inaba A, Osaki M, Ogawa T, Ito H. Minichromosome maintenance protein 7 in colorectal cancer: implication of prognostic significance. *Int J Oncol* 2008; 33: 245-251 [PMID: 18636144]
- Marnerides A, Vassilakopoulos TP, Boltetsou E, Levidou G, Angelopoulou MK, Thymara I, Kyrtsonis MC, Pappi V, Tsopra O, Panayiotidis P, Pangalis GA, Beris P, Patsouris E, Korkolopoulou P. Immunohistochemical expression and prognostic significance of CCND3, MCM2 and MCM7 in Hodgkin lymphoma. *Anticancer Res* 2011; 31: 3585-3594 [PMID: 21965782]
- 孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李媛, 苏建家. RNA干扰技术沉默MCM7基因对人肝癌SMMC-7721细胞生物学行为的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 553-562
- 孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李媛, 苏建家. RNAi沉默MCM7基因对人肝癌细胞SMMC-7721裸鼠移植瘤影响研究. *中华肿瘤防治杂志* 2015; 22: 7-12
- Kanter DM, Bruck I, Kaplan DL. Mcm subunits can assemble into two different active unwinding complexes. *J Biol Chem* 2008; 283: 31172-31182 [PMID: 18801730 DOI: 10.1074/jbc.M804686200]
- You Z, Ishimi Y, Masai H, Hanaoka F. Roles of Mcm7 and Mcm4 subunits in the DNA helicase activity of the mouse Mcm4/6/7 complex. *J Biol Chem* 2002; 277: 42471-42479 [PMID: 12207017 DOI: 10.1074/jbc.M205769200]
- Bruck I, Perez-Arnaiz P, Colbert MK, Kaplan DL. Insights into the Initiation of Eukaryotic DNA Replication. *Nucleus* 2015; 6: 449-454 [PMID: 26710261 DOI: 10.1080/19491034.2015.1115938]
- Maric M, Maculins T, De Piccoli G, Labib K. Cdc48 and a ubiquitin ligase drive disassembly of the CMG helicase at the end of DNA replication. *Science* 2014; 346: 1253596 [PMID: 25342810 DOI: 10.1126/science.1253596]
- Liu J, Tian L, Chen BA, Xia JR. Biological effects of lentivirus-mediated silencing of minichromosome maintenance protein 7 with shRNA on the liver cancer MHCC-97H cells. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 8433-8441 [PMID: 26309496]
- Zender L, Villanueva A, Tovar V, Sia D, Chiang DY, Llovet JM. Cancer gene discovery in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2010; 52: 921-929 [PMID: 20385424 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.034]
- Lu X, Sun W, Tang Y, Zhu L, Li Y, Ou C, Yang C, Su J, Luo C, Hu Y, Cao J. Identification of key genes in hepatocellular carcinoma and validation of the candidate gene, cdc25a, using gene set enrichment analysis, meta-analysis and cross-species comparison. *Mol Med Rep* 2016; 13: 1172-1178 [PMID: 26647881 DOI: 10.3892/mmr.2015.4646]
- Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994; 79: 551-555 [PMID: 7954821 DOI: 10.1016/0092-8674(94)90540-1]
- Imoto M, Doki Y, Jiang W, Han EK, Weinstein IB. Effects of cyclin D1 overexpression on G1 progression-related events. *Exp Cell Res* 1997; 236: 173-180 [PMID: 9344597]
- Xu JM, Wen JM, Zhang M, Lü GL, Wu LZ, Wang WS. [A study of gene amplification and expression of cyclin D1 in hepatocellular carcinoma]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2004; 33: 26-30 [PMID: 14989924]
- George J, Lim JS, Jang SJ, Cun Y, Ozretić L, Kong G, Leenders F, Lu X, Fernández-Cuesta L, Bosco G, Müller C, Dahmen I, Jahchan NS, Park KS, Yang D, Karnezis AN, Vaka D, Torres A, Wang MS, Korbel JO, Menon R, Chun SM, Kim D, Wilkerson M, Hayes N, Engelmann D, Pützer B, Bos M, Michels S, Vlasic I, Seidel D, Pinther B, Schaub P, Becker C, Altmüller J, Yokota J, Kohno T, Iwakawa R, Tsuta K, Noguchi M, Muley T, Hoffmann H, Schnabel PA, Petersen I, Chen Y, Soltermann A, Tischler V, Choi CM, Kim YH, Massion PP, Zou Y, Jovanovic D, Kontic M, Wright GM, Russell PA, Solomon B, Koch I, Lindner M, Muscarella LA, la Torre A, Field JK, Jakopovic M, Knezevic J, Castaños-Vélez E, Roz L, Pastorino U, Brustugun OT, Lund-Iversen M, Thunnissen E, Köhler J, Schuler M, Botling J, Sandelin M, Sanchez-Cespedes M, Salvesen HB, Achter V, Lang U, Bogus M, Schneider PM, Zander T, Ansén S, Hallek M, Wolf J, Vingron M, Yatabe Y, Travis WD, Nürnberg P, Reinhardt C, Perner S, Heukamp L, Büttner R, Haas SA, Brambilla E, Peifer M, Sage J, Thomas RK. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature* 2015; 524: 47-53 [PMID: 26168399 DOI: 10.1038/nature14664]
- Vranic S, Marchiò C, Castellano I, Botta C, Scalzo MS, Bender RP, Payan-Gomez C, di Cantogno LV, Gugliotta P, Tondat F, di Celle PF, Mariani S, Gatalica Z, Sapino A. Immunohistochemical and molecular profiling of histologically defined apocrine carcinomas of the breast. *Hum Pathol* 2015; 46: 1350-1359 [PMID: 26208846 DOI: 10.1016/j.humpath.2015.05.017]
- Sun Q, An G, Liu E, Li Z, Zhang H, Yang Q, Sun F, Ma Y, Xian M, Zhang P, Ru K. [The clinic and pathologic significance of plasma cell myeloma with CCND1]. *Zhonghua Xueyexue Zazhi* 2015; 36: 775-779 [PMID: 26462780 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.09.012]
- Chan CH, Lee SW, Li CF, Wang J, Yang WL, Wu CY, Wu J, Nakayama KI, Kang HY, Huang HY, Hung MC, Pandolfi PP, Lin HK. Deciphering the transcriptional complex critical for RhoA gene expression and cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 457-467 [PMID: 20383141 DOI: 10.1038/ncb2047]
- Nakayama K, Nagahama H, Minamishima YA, Miyake S, Ishida N, Hatakeyama S, Kitagawa M, Iemura S, Natsume T, Nakayama KI. Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression

- into mitosis. *Dev Cell* 2004; 6: 661-672 [PMID: 15130491]
- 23 Lee SW, Li CF, Jin G, Cai Z, Han F, Chan CH, Yang WL, Li BK, Rezaeian AH, Li HY, Huang HY, Lin HK. Skp2-dependent ubiquitination and activation of LKB1 is essential for cancer cell survival under energy stress. *Mol Cell* 2015; 57: 1022-1033 [PMID: 25728766 DOI: 10.1016/j.molcel.2015.01.015]
 - 24 Ding M, Li X, Qiu T. Combination of multiple gene markers to detect circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer using real-time PCR. *Genet Mol Res* 2015; 14: 13033-13040 [PMID: 26505456 DOI: 10.4238/2015.October.21.24]
 - 25 Sanada T, Yokoi S, Arii S, Yasui K, Imoto I, Inazawa J. Skp2 overexpression is a p27Kip1-independent predictor of poor prognosis in patients with biliary tract cancers. *Cancer Sci* 2004; 95: 969-976 [PMID: 15596046 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb03185.x]
 - 26 Hafez MM, Alhoshani AR, Al-Hosaini KA, Alsharari SD, Al Rejaie SS, Sayed-Ahmed MM, Al-Shabanah OA. SKP2/P27Kip1 pathway is associated with Advanced Ovarian Cancer in Saudi Patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 5807-5815 [PMID: 26320455]
 - 27 Bochs OV, Irimie A, Pichler M, Berindan-Neagoe I. The role of Skp2 and its substrate CDKN1B (p27) in colorectal cancer. *J Gastrointest Liver Dis* 2015; 24: 225-234 [PMID: 26114183 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.242.skp2]
 - 28 Hicke L. Protein regulation by monoubiquitin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 195-201 [PMID: 11265249 DOI: 10.1038/35056583]
 - 29 McBride WH, Iwamoto KS, Syljuasen R, Pervan M, Pajonk F. The role of the ubiquitin/proteasome system in cellular responses to radiation. *Oncogene* 2003; 22: 5755-5773 [PMID: 12947384 DOI: 10.1038/sj.onc.1206676]
 - 30 Zhurinsky J, Shtutman M, Ben-Ze'ev A. Plakoglobin and beta-catenin: protein interactions, regulation and biological roles. *J Cell Sci* 2000; 113 (Pt 18): 3127-3139 [PMID: 10954412]
 - 31 Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565 [PMID: 10836294 DOI: 10.1053/hp.2000.6683]
 - 32 Salomon D, Sacco PA, Roy SG, Simcha I, Johnson KR, Wheelock MJ, Ben-Ze'ev A. Regulation of beta-catenin levels and localization by overexpression of plakoglobin and inhibition of the ubiquitin-proteasome system. *J Cell Biol* 1997; 139: 1325-1335 [PMID: 9382877 DOI: 10.1083/jcb.139.5.1325]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



溴结构域蛋白4抑制剂JQ1对肝癌细胞活性的影响

张婷, 乔雪, 杨纯

张婷, 乔雪, 杨纯, 镇江市第一人民医院化疗科 江苏省镇江市 212000

张婷, 住院医师, 主要从事肿瘤学方面的研究。

作者贡献分布: 张婷完成研究过程与论文写作; 乔雪进行数据分析; 杨纯负责课题设计与试剂提供。

通讯作者: 张婷, 住院医师, 212000, 江苏省镇江市电力路8号, 镇江市第一人民医院化疗科. zt0831ye@163.com

收稿日期: 2016-01-11

修回日期: 2016-02-18

接受日期: 2016-02-29

在线出版日期: 2016-04-08

BRD4 inhibitor JQ1 inhibits viability of hepatocellular carcinoma cells

Ting Zhang, Xue Qiao, Chun Yang

Ting Zhang, Xue Qiao, Chun Yang, Department of Chemotherapy, Zhenjiang First People's Hospital, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ting Zhang, Resident Physician, Department of Chemotherapy, Zhenjiang First People's Hospital, 8 Dianli Road, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China. zt0831ye@163.com

Received: 2016-01-11

Revised: 2016-02-18

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To explore the effect of bromodomain-containing protein 4 (BRD4) inhibitor (JQ1) on the proliferation and apoptosis of two hepatocellular carcinoma cell lines.

METHODS: We used JQ1 to treat HepG2 and

Bel-7402 cell lines. Cell viability was investigated by sulforhodamine B (SRB) staining. EdU incorporation assay and Hoechst 33342 staining were used to detect cell proliferation. Alteration of cell cycle and cell apoptosis were measured by flow cytometry. Early apoptosis was detected by Annexin V-FITC/propidium iodide double staining assay. Western blot was used to observe the level change of C-myc protein, because JQ1 mediates antiproliferative effect mainly by lowering its expression.

RESULTS: JQ1 significantly inhibited the viability of HCC cell lines HepG2 and Bel-7402. The inhibition was dose-dependent within a certain range. JQ1 inhibited cell proliferation as revealed by EdU incorporation assay. Annexin V-FITC/PI double staining analysis revealed that JQ1 can promote the cell apoptosis. JQ1 treatment significantly suppressed C-myc protein expression. Compared with JQ1 or sorafenib alone, sorafenib in combination with small dose of JQ1 more significantly inhibited HCC cell growth and increased apoptosis, suggesting that JQ1 and sorafenib have a synergistic effect.

CONCLUSION: BRD4 inhibitor JQ1 may be a potential new drug to treat hepatocellular carcinoma.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bromodomain-containing protein 4; JQ1; Hepatocellular carcinoma; Proliferation; Apoptosis; C-myc; Sorafenib

Zhang T, Qiao X, Yang C. BRD4 inhibitor JQ1 inhibits

背景资料

肝细胞肝癌的死亡率居所有肿瘤的第三位。溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)在肿瘤发生、发展中起着重要作用。BET家族蛋白抑制剂JQ1已有研究证明其可抑制多种肿瘤生长, 目前尚未出现BRD4抑制剂JQ1对肝癌发病进程影响的研究。

同行评议者

李晓武, 教授, 主任医师, 中国人民解放军第三军医大学西南医院肝胆外科研究所; 江建新, 教授, 主任医师, 湖北省肿瘤医院肝胆胰腺外科

■ 研发前沿

虽然目前临床上甲苯磺酸索拉非尼片(索拉非尼片)对肝癌有一定的治疗效果,但尚未达到令人满意的程度。因此新的更有效的治疗药物仍然具有很大的研究和探索价值。

viability of hepatocellular carcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(10): 1501-1510 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1501.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1501>

摘要

目的: 探讨溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)抑制剂JQ1对两种不同肝癌细胞系增殖、凋亡的影响。

方法: 用BRD4抑制剂JQ1处理HepG2, Bel-7402细胞株, 磺酰罗丹明B(sulforhodamine B, SRB)染色检测细胞活力; EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine)嵌入和Hoechst 33342染色法检测细胞增殖; 以流式细胞术和Annexin V-FITC/PI双染法分别分析细胞周期、细胞凋亡; 最后用Western blot法观察JQ1介导抗增殖作用主要下调蛋白C-myc在蛋白水平上的变化, 进一步验证JQ1抑制肝癌细胞增殖的作用。同时探讨JQ1与目前肝癌细胞治疗药物甲苯磺酸索拉非尼片对肝癌细胞的比较和联合作用。

结果: BRD4抑制剂JQ1可以以剂量依赖的方式显著抑制HCC细胞系: HepG2细胞和Bel-7402细胞的活力, 具体表现为: 抑制其细胞增殖; Annexin V-FITC/PI双染法分析发现能促进其凋亡; 同时C-myc蛋白表达的也被显著抑制。与JQ1、索拉非尼片单药应用相比, 小剂量的JQ1与索拉非尼片联合应用, HCC细胞的生长抑制率增加, 凋亡率也增加, 提示BRD4抑制剂JQ1联合索拉非尼片对细胞生长的抑制作用要强于JQ1或索拉非尼片单独用药。

结论: BRD4抑制剂JQ1可能是一种潜在的可治疗肝细胞癌的新型药物。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溴结构域蛋白4; JQ1; 肝细胞肝癌; 增殖; 凋亡; C-myc; 甲苯磺酸索拉非尼片

核心提示: 溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4)抑制剂JQ1可显著抑制肝癌细胞活性, 此外与甲苯磺酸索拉非尼片(索拉非尼片)还具有联合作用, 我们首次发现JQ1可能是一种潜在的可治疗肝细胞癌的新型药物。

张婷, 乔雪, 杨纯. 溴结构域蛋白4抑制剂JQ1对肝癌细胞活性的影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1501-1510 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1501.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1501>

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1501.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1501>

0 引言

肝细胞肝癌是原发性肝癌中最常见的类型, 平均生存期在6-20 mo^[1,2]。虽然人们投入了大量人力物力对其发生、发展及转移机制进行研究, 但在世界范围内, 目前肝细胞肝癌的发生率居第6位, 而死亡率则居所有肿瘤的第3位^[3,4]。

溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)属于溴化结构和BET家族蛋白, 与染色质乙酰化有关, 组蛋白乙酰化必须募集含有一个/多个乙酰基-赖氨酸结合模板/溴化结构域的蛋白, 即BET蛋白^[5,6]。BRD4通过结合组蛋白诱导细胞的靶基因活化或抑制, 还可以结合乙酰化的非组蛋白, 来调控DNA复制、细胞周期及基因转录等其他细胞活动^[7]。因此, BRD4在肿瘤发生、发展中起着重要作用。

JQ1是一种小分子化合物, 是BET家族蛋白抑制剂, 可以竞争性结合于BRD4溴化结构, 阻止BRD4与乙酰化的赖氨酸结合。已有研究^[8-12]证明JQ1可抑制多发性骨髓瘤、卵巢癌、脑胶质瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、中线癌等多种肿瘤生长。C-myc基因与肿瘤的发生、发展密切相关, 他通过易位、扩增和突变、参与许多肿瘤癌变过程。如多发性骨髓瘤、结肠癌、神经细胞瘤等^[13,14]。在淋巴瘤和白血病中, JQ1介导抗增殖作用的主要机制就是下调C-myc及其靶基因的表达^[15,16]。有研究^[17]表明, 在急性髓样白血病, 用RNA干扰BRD4表达, 会导致C-myc表达下降。因此, 我们想探究在肝癌细胞中JQ1的抗肿瘤效应是否与C-myc相关。

虽然目前临床上甲苯磺酸索拉非尼片对肝癌虽有一定的治疗效果, 但尚未达到令人满意的程度。而截至目前, 尚未出现BRD4抑制剂JQ1对肝癌发病进程影响的研究, 因此本研究拟从JQ1对肝癌细胞的影响入手, 检测其对肝癌细胞活力的影响, 并观察了下游基因C-myc表达水平的改变, 同时探讨比较其跟索拉非尼片的联合和单独使用效果。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2、Bel-7402购自中科院上海细胞所; 索拉非尼片、JQ1购自美国Cayman公司; 小牛、胎牛血清购自南京凯

基生物科技有限公司; DMEM液体培养基购自Hyclone公司; DMSO购自南京凯基生物科技有限公司; L-谷氨酰胺、磺酰罗丹明B蛋白染色法(SRB)、Hoechst 33342、TEMED购自Sigma公司; 胰蛋白酶购自GIBCO公司; 兔来源抗人C-myc多克隆抗体购自ABcam公司; 鼠来源抗人Actin抗体、细胞总蛋白抽提试剂盒、细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; BCA蛋白浓度测定试剂盒购自Pierce; PVDF膜购自Bio-Rad; Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自美国Roche公司; EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine)增殖检测试剂购自广州锐博。

1.2 方法

1.2.1 Western blot检测细胞C-myc蛋白: 按蛋白抽提试剂盒说明书提取贴壁培养细胞总蛋白。用每个样本取 1.0×10^6 个细胞提取蛋白, 得到细胞总蛋白, 然后按照BCA蛋白浓度测定试剂盒中的操作步骤进行蛋白浓度测定。配置10%SDS-PAGE, 上样, 电压积层胶90 V、分离胶110 V, 电泳。电泳结束后采用湿转法将样品转移至PVDF膜, 电压30 V, 4 °C, 12 h。转膜结束后, 将PVDF膜放入含有5%脱脂奶粉的TBS中室温下封闭2 h。加入含有5%脱脂奶粉的TBS配置的加兔抗人C-MYC(1:1000), 4 °C过夜。TBS-T漂洗15 min \times 3次, TBS漂洗15 min \times 1次。加入用含有5%脱脂奶粉TBS配置的HRP标记羊抗兔 IgG(1:1000)的二抗, 室温2 h。TBS-T漂洗15 min \times 3次, TBS漂洗15 min \times 1次, 将膜置于ECL显色液中(临用前A、B液等体积混匀), 室温1 min。压片、曝光、显影。

1.2.2 磺酰罗丹明B蛋白染色法(SRB): 将处于对数生长期的细胞接种到96孔板中。细胞于细胞培养箱内稳定培养24 h后, 按下述方案加入药物孵育: 一组实验加入不同浓度(0、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0和2.0 $\mu\text{mol/L}$)JQ1处理细胞; 另一组实验用索拉非尼片(10 $\mu\text{mol/L}$)、JQ1(1 $\mu\text{mol/L}$)、JQ1+索拉非尼片处理细胞; 同时设空白对照组。所有处理均设三复孔。细胞在培养箱培养72 h后弃去培养液, 每孔加入10%冷TCA 200 μL 固定细胞, 在4 °C放置1 h, 蒸馏水洗3次, 于空气中自然干燥。在每孔中加入由1%冰醋酸配制的SRB溶液100 μL , 室温染色30 min, 弃去上清, 随后用蒸馏水洗3次, 放置在空气中自然干燥。加入10 mmol/L Tris水溶

液150 μL /孔, 在酶标仪 = 515 nm波长下测A值。计算平均值和标准差, 此实验重复3次以上。细胞生长抑制率 = (对照组A值-给药组A值)/对照组A值 \times 100%。

1.2.3 细胞增殖: 将HepG2细胞种入96孔板(2.0×10^4 个/孔), 于培养箱中培养过夜。实验组用BRD4抑制剂JQ1(2 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞24 h, 对照组细胞仅加入0.1% DMSO培养24 h。药物孵育结束后, 加入50 $\mu\text{mol/L}$ 的EdU在37 °C继续孵育2 h。40 g/L多聚甲醛在室温固定15 min, 使用0.5%曲拉通打孔15 min, Hoechst 33342染色10 min。荧光显微镜观察, 随机计数5个高倍镜视野中细胞总数及EdU阳性细胞数, EdU(红), DNA合成; Hoechst33342(蓝), 核染色。取平均值, 计算标记指数(增殖率 = EdU阳性细胞数/Hoechst33342染色细胞总数 \times 100%)。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期: 将Bel-7402细胞分为实验组和对照组, 实验组加入2 $\mu\text{mol/L}$ JQ1分别处理24 h、48 h, 对照组只加0.1% DMSO培养48 h, 而HepG2细胞实验组(加入2 $\mu\text{mol/L}$ JQ1)和对照组(0.1% DMSO)均培养24 h。倒去培养液, 胰酶适度消化细胞, 加入冰冷的PBS缓冲液将细胞轻轻吹打成单个细胞。离心, PBS洗2遍, 用PBS重悬细胞, 一边振荡一边加入预冷的700 mL/L乙醇, 4 °C固定过夜。染色前细胞用PBS洗2遍, 沉淀重悬于PI染液中(50 $\mu\text{g/mL}$ PI+200 $\mu\text{g/mL}$ RNase A), 37 °C避光染色30 min。细胞经300目尼龙网过滤后, 上机检测; 样品分析测定及打印。

1.2.5 Annexin V和PI双染检测细胞凋亡: 取指数生长期细胞消化计数后按 4×10^5 个/孔接种于6孔细胞培养板中。24 h后加入索拉非尼片(20 $\mu\text{mol/L}$)、JQ1(2 $\mu\text{mol/L}$)、索拉非尼片+JQ1分别处理HepG2细胞, 并设置对照组(0.1% DMSO)。72 h后用0.25%胰酶: 0.02% EDTA(1:1)消化, 加入冰冷的PBS缓冲液将细胞轻轻吹打成单个细胞, 与漂浮细胞混合, 离心待用。用去离子水以4:1稀释结合缓冲液, 以结合缓冲液重悬细胞, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。用前瞬时离心Annexin V-FITC。取100 μL 细胞悬液于流式管中, 加入5 μL Annexin V-FITC和10 μL 20 $\mu\text{g/mL}$ PI, 混匀。混匀后于室温避光抚育15 min。在反应管中加400 μL PBS, 用流式细胞仪检测, Annexin V+/PI-是早期凋亡细胞。

统计学处理 数据主要以mean \pm SD表示,

■ 相关报道

JQ1可抑制多发性骨髓瘤、卵巢癌、脑胶质瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、中线瘤等多种肿瘤生长。C-myc基因与肿瘤的发生、发展密切相关。在淋巴瘤和白血病中, JQ1介导抗增殖作用的主要机制是下调C-myc及其靶基因的表达。

创新亮点

本文发现并初步证实了JQ1可抑制肝癌细胞增殖, 促进细胞凋亡. JQ1和索拉非尼片可能存在协同作用, 在肝癌治疗中也许能获得更好治疗效果. BRD4抑制剂JQ1可能是一种潜在的可治疗肝细胞癌的新型药物.

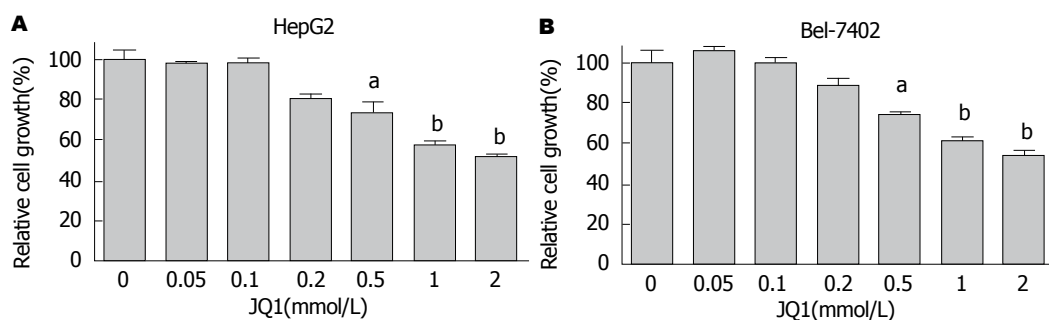


图1 JQ1对HCC细胞生长的影响. A: JQ1显著抑制了HepG2细胞的生长; B: JQ1显著抑制了Bel-7402细胞的生长. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空白对照组.

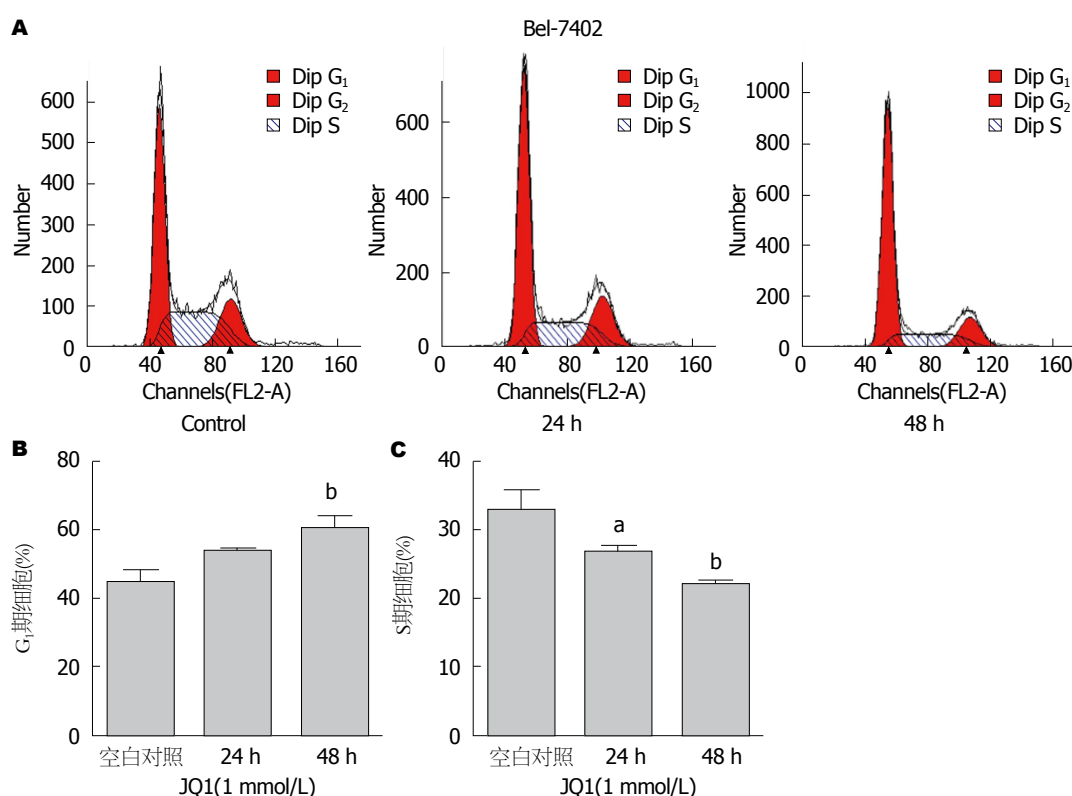


图2 JQ1对Bel-7402细胞周期影响. A: 流式检测BRD4抑制剂JQ1对Bel-7402周期分布的影响; B: BRD4抑制剂JQ1使Bel-7402细胞停滞于G₁期; C: BRD4抑制剂JQ1抑制Bel-7402细胞进入S期. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空白对照组.

使用Graphpad InStat3.0和Graphpad Prism5.01软件进行统计分析和绘图, 用方差齐性检验进行样本均数间的比较, 方差相等时则采用 t 检验或One-way ANOVA分析. $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 JQ1对两种HCC细胞系生长的影响 使用不同浓度的JQ1(0.05、0.1、0.2、0.5、1.0和2.0 $\mu\text{mol/L}$)处理HCC细胞72 h后检测细胞活力, 发现JQ1可以抑制HepG2细胞生长, 当JQ1剂量达到2 $\mu\text{mol/L}$ 时, HepG2细胞的生长抑制率为

48.91% \pm 1.17%, 统计分析显示, 在一定范围内JQ1对HepG2细胞的抑制作用具有剂量依赖性($P < 0.0001$)(图1A); 此外, JQ1对HCC细胞生长抑制作用也发生在Bel-7402细胞(图1B), JQ1剂量达到2 $\mu\text{mol/L}$ 时, Bel-7402细胞的生长抑制率为47.77% \pm 2.80%, JQ1对Bel-7402细胞的抑制作用也具有剂量依赖性($P < 0.0001$).

2.2 JQ1对两种HCC细胞系细胞周期分布的影响 流式细胞仪分析BRD4抑制剂JQ1对Bel-7402细胞周期分布的影响如图2A. 对照组G₁期细胞占44.01% \pm 4.04%, JQ1处理24 h后, G₁期细胞占53.33% \pm 1.07%, 而JQ1处理

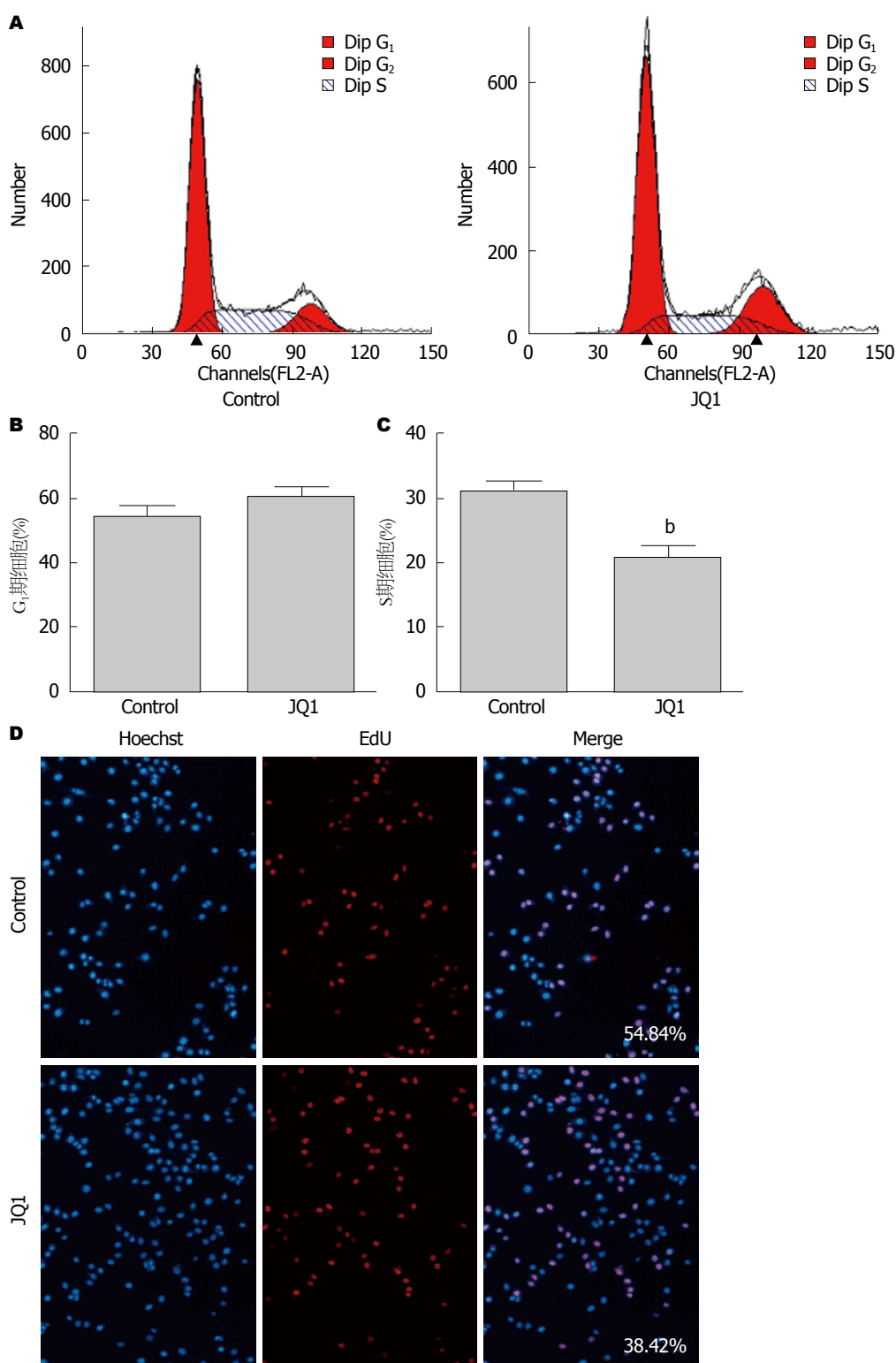


图 3 JQ1对HepG2细胞周期影响. A: 流式检测BRD4抑制剂JQ1对HepG2周期分布的影响; B: BRD4抑制剂JQ1抑制HepG2细胞进入G₁期; C: BRD4抑制剂JQ1抑制HepG2细胞进入S期; D: BRD4抑制剂JQ1处理HepG2细胞24 h后进行EdU和Hoechst 33342染色. ^b*P*<0.01 vs 空白对照组.

48 h后则占60.51%±3.18%, JQ1使细胞阻滞在G₁期(*P*<0.05). 单因素方差分析显示, JQ1对G₁期的阻滞作用具有时间依赖性(*P* = 0.0017, *P*<0.01)(图2B). 对照组S期细胞占32.71%±

2.80%, JQ1处理24、48 h后, 分别为26.54%±0.94%, 21.69%±0.68%, JQ1抑制细胞进入S期(*P*<0.05), 且具有时间依赖性(*P* = 0.0008, *P*<0.01)(图2C).

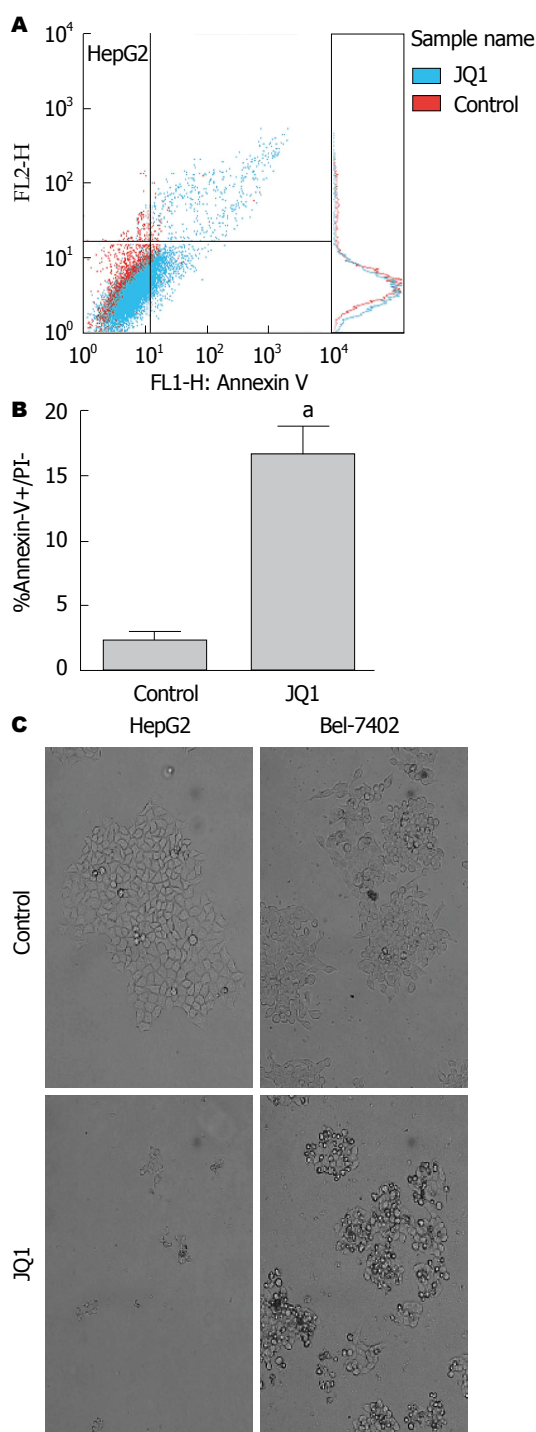


图 4 JQ1对HCC细胞凋亡的影响. A: AnnexinV-FITC/PI双染法测定细胞凋亡率; B: 细胞凋亡率; C: BRD4抑制剂JQ1(2 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞14 d后, 在显微镜下观察细胞形态变化($\times 200$). $^*P < 0.05$ vs 空白对照组.

流式细胞仪分析BRD4抑制剂JQ1对HepG2细胞周期分布的影响如图3A. 经JQ1处理24 h后, G₁期细胞占60.20% \pm 2.98%, S期细胞占20.75% \pm 1.94%, 而对照组G₁%占53.90% \pm 3.59%, S%占31.0% \pm 1.65%, JQ1能抑制细胞进入S期($t = 6.970$, $P < 0.01$)(图3B, C). EdU

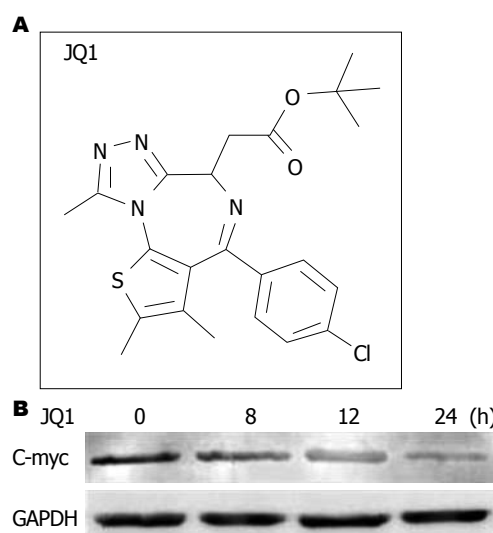


图 5 JQ1对HepG2细胞C-myc蛋白表达的影响. A: BRD4抑制剂JQ1的化学结构; B: JQ1可以时间依赖的方式显著抑制HepG2细胞C-myc蛋白表达.

能在细胞增殖时期代替胸腺嘧啶(T)渗入正在复制的DNA分子中, 通过检测EdU标记便能准确地反映细胞的增殖情况. 与阴性组(增殖率54.84%)相比, 实验组增殖率为38.42%, JQ1处理组可以抑制细胞增殖(图3D).

2.3 JQ1对HCC细胞凋亡的影响 BRD4抑制剂JQ1对HCC细胞凋亡的影响如图4. 在JQ1(2 $\mu\text{mol/L}$)作用于HepG2细胞72 h后, 通过Annexin V-FITC/PI双染法测定细胞的凋亡率. 与对照组相比, 凋亡率有明显的增高, 两两比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 说明JQ1诱导HepG2细胞凋亡(图4A, B). 选取HepG2和Bel-7402两种细胞, 用JQ1处理14 d, 显微镜下观察发现, 未加入JQ1的对照组细胞克隆性增殖形成细胞球, 而实验组HepG2细胞未形成细胞球, Bel-7402细胞虽形成细胞球, 但是体积较小, 且细胞出现变圆、甚至不贴壁而悬浮等凋亡样形态学改变(图4C).

2.4 JQ1对HepG2细胞C-myc蛋白表达的影响 BRD4抑制剂对HepG2细胞C-myc蛋白表达水平的影响如图5. BRD4抑制剂JQ1化学结构如图5A所示, 使用2 $\mu\text{mol/L}$ JQ1处理HepG2细胞不同时间(0、8、12、24 h), 发现JQ1处理8、12和24 h, 均可以抑制HepG2细胞C-myc蛋白表达; 并且这种抑制作用表现出时间依赖性, JQ1处理24 h后HepG2细胞仅表达极低水平的C-myc(图5B).

2.5 JQ1联合索拉非尼片对HCC细胞的效应

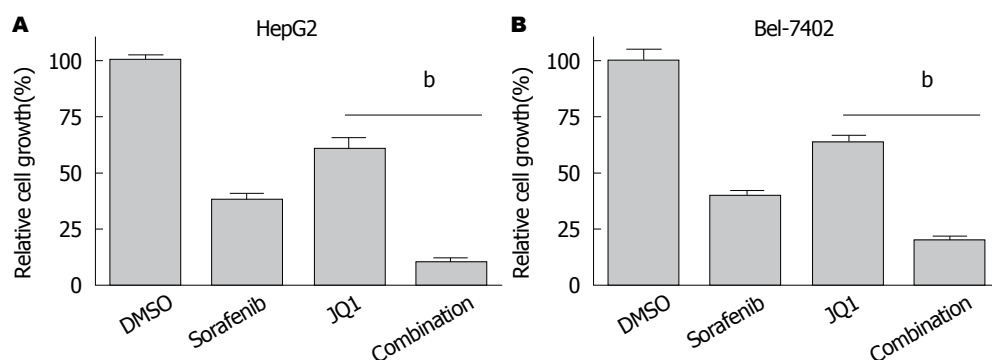


图6 JQ1联合索拉非尼片对HCC细胞生长的影响。A: 处理HepG2细胞72 h后SRB染色检测细胞活力; B: 处理Bel-7402细胞72 h后SRB染色检测细胞活力。* $P < 0.01$ vs DMSO组。

分别使用索拉非尼片(10 $\mu\text{mol/L}$)、JQ1(1 $\mu\text{mol/L}$)、JQ1+索拉非尼片处理HCC细胞72 h后检测细胞活力,发现HepG2细胞对应的生长抑制率分别为 $60.45\% \pm 1.95\%$, $37.87\% \pm 2.81\%$, $79.49\% \pm 1.95\%$ ($P < 0.05$),而Bel-7402细胞对应的生长抑制率分别为 $61.42\% \pm 2.44\%$, $35.53\% \pm 3.54\%$, $81.83\% \pm 2.28\%$ ($P < 0.001$)(图6),提示JQ1增强索拉非尼片对HCC细胞的生长抑制作用; Annexin V-FITC/PI双染流式分析显示, JQ1(2 $\mu\text{mol/L}$)和索拉非尼片(20 $\mu\text{mol/L}$)单独用药72 h, HepG2细胞凋亡率(Annexin V+/PI-)分别为16.8%, 35.4%, 联合用药凋亡率则为50.3%(图7),提示JQ1增强索拉非尼片对HepG2细胞的凋亡作用。JQ1联合索拉非尼片可以更显著的抑制HCC细胞生长,促进其凋亡。

3 讨论

肝细胞肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一。手术、化疗和放疗是目前治疗肝癌的三大常规方法。由于肝癌起病隐匿,早期缺乏特异性症状,且病情发展快,恶性程度高,确诊时大多数患者已是局部晚期或已出现了远处转移^[18-20],不适合手术切除,因此,肝癌的药物治疗仍然不可或缺。索拉非尼片是一种口服的多靶点、多激酶抑制剂,已被临床证实具有明确疗效^[18,21,22],但总体疗效还不令人满意,因此新的更有效的靶向药物仍有待进一步开发。

BRD4蛋白属于溴化结构和BET家族,其结构包含两个溴化结构域,可识别组蛋白氨基端(N端)的乙酰化赖氨酸残基,调控一系列生物学行为: DNA复制、DNA修复、染色质重塑和转录调控^[23-26]。最近的研究^[26-28]表明BRD4

的表达水平失调或功能紊乱与急性髓系白血病、黑色素瘤、结肠癌、乳腺癌等肿瘤的发生有关, BET抑制剂或BRD4 shRNA可以诱导上述肿瘤发生细胞周期阻滞及凋亡等细胞生物学行为改变,显示出强大的抗肿瘤活性。因此BET蛋白有望成为上述肿瘤或其他肿瘤的治疗靶点,那么, BET蛋白能否成为肝细胞肝癌的治疗新靶点值得研究。

JQ1是BRD4溴化结构的小分子抑制剂,是一种硫二氮杂草类似物,可竞争性结合于BRD4溴化结构域,使BRD4蛋白从乙酰化的赖氨酸结合位点分离,抑制染色质活化,从而抑制相应基因转录^[29]。有研究^[8,10]称, JQ1对血液系统恶性肿瘤细胞活性有明显的抑制作用,如多发性骨髓瘤、急性髓样白血病、Burkitt淋巴瘤和混合性白血病等。而JQ1对肝癌的细胞的影响尚未明确。在本实验中我们发现并初步证实了JQ1可抑制肝癌细胞增殖,促进细胞凋亡。

*C-myc*基因通过易位、扩增和突变参与许多肿瘤癌变过程,如多发性骨髓瘤、结肠癌、神经细胞瘤等^[13,14]。在淋巴瘤和白血病中, JQ1介导抗增殖作用的主要机制就是下调*C-myc*及其靶基因的表达^[15,16]。因此,我们检测了经JQ1处理后肝癌细胞*C-myc*蛋白水平的表达。本研究发现,在肝癌细胞中, JQ1也可以下调*C-myc*蛋白及其DNA表达,我们推测这可能是其抑制肝癌细胞生长的作用机制之一,但更多具体机制还有待进一步研究。

同时在我们的体外实验可见,索拉非尼片亦能显著抑制HepG2和Bel-7402细胞增殖,促使其凋亡,而JQ1联合索拉非尼片能增强这一抑制效应。这一研究结果提示我们JQ1和索拉

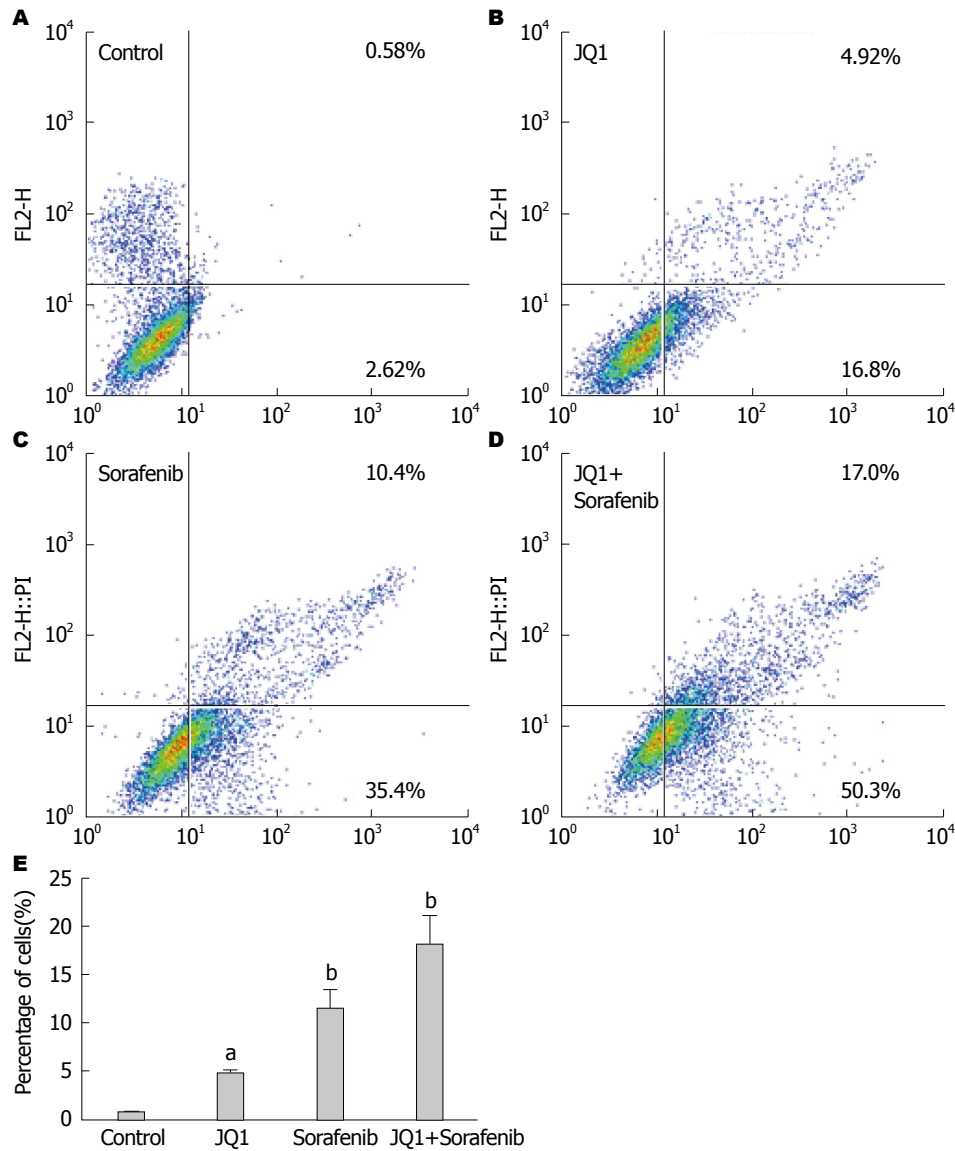


图 7 JQ1与索拉非尼片对HepG2细胞凋亡的影响. A: 空白对照组; B: JQ1对HepG2细胞凋亡的影响; C: 索拉非尼片对HepG2细胞凋亡的影响; D: JQ1联合索拉非尼片对HepG2细胞凋亡的影响; E: JQ1联合索拉非尼片HepG2细胞的凋亡率. ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 空白对照组.

非尼片可能存在协同作用, 在肝癌治疗中也许能获得更好疗效. 但是本研究只要是在细胞水平的初步探讨, 在实体瘤中是否有效, 还有待进一步验证. 另外还需要大量的动物和临床试验进一步证明.

4 参考文献

- 1 Byam J, Renz J, Millis JM. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2013; 2: 22-30 [PMID: 24570911]
- 2 Franceschet I, Cazzagon N, Del Ross T, D'Inca R, Buja A, Floreani A. Primary sclerosing cholangitis associated with inflammatory bowel disease: an observational study in a Southern Europe population focusing on new therapeutic options. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016 Feb 11. [Epub ahead of print] [PMID: 26872110 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000596]
- 3 Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Gallus S, La Vecchia C. Coffee reduces risk for hepatocellular carcinoma: an updated meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1413-1421.e1 [PMID: 23660416 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.04.039]
- 4 Qiao W, Yu F, Wu L, Li B, Zhou Y. Surgical outcomes of hepatocellular carcinoma with biliary tumor thrombus: a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2016; 16: 11 [PMID: 26822229 DOI: 10.1186/s12876-016-0427-2]
- 5 Rahman S, Sowa ME, Ottinger M, Smith JA, Shi Y, Harper JW, Howley PM. The Brd4 extraterminal domain confers transcription activation independent of pTEFb by recruiting multiple proteins, including NSD3. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 2641-2652 [PMID: 21555454 DOI: 10.1128/MCB.01341-10]

- 6 Jeng MY, Ali I, Ott M. Manipulation of the host protein acetylation network by human immunodeficiency virus type 1. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2015; 50: 314-325 [PMID: 26329395]
- 7 刘忠, 杨飞, 程吉. BRD4抑制剂对鼻咽癌CNE-2细胞增殖、凋亡和侵袭的影响. *临床肿瘤学杂志* 2015; 20: 501-505
- 8 Delmore JE, Issa GC, Lemieux ME, Rahl PB, Shi J, Jacobs HM, Kastiris E, Gilpatrick T, Paranal RM, Qi J, Chesi M, Schinzel AC, McKeown MR, Heffernan TP, Vakoc CR, Bergsagel PL, Ghobrial IM, Richardson PG, Young RA, Hahn WC, Anderson KC, Kung AL, Bradner JE, Mitsiades CS. BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc. *Cell* 2011; 146: 904-917 [PMID: 21889194 DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.017]
- 9 Cheng Z, Gong Y, Ma Y, Lu K, Lu X, Pierce LA, Thompson RC, Muller S, Knapp S, Wang J. Inhibition of BET bromodomain targets genetically diverse glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1748-1759 [PMID: 23403638 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3066]
- 10 Mertz JA, Conery AR, Bryant BM, Sandy P, Balasubramanian S, Mele DA, Bergeron L, Sims RJ. Targeting MYC dependence in cancer by inhibiting BET bromodomains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 16669-16674 [PMID: 21949397 DOI: 10.1073/pnas.1108190108]
- 11 Li Z, Guo J, Wu Y, Zhou Q. The BET bromodomain inhibitor JQ1 activates HIV latency through antagonizing Brd4 inhibition of Tat-transactivation. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: 277-287 [PMID: 23087374 DOI: 10.1093/nar/gks976]
- 12 Baratta MG, Schinzel AC, Zwang Y, Bandopadhyay P, Bowman-Colin C, Kutt J, Curtis J, Piao H, Wong LC, Kung AL, Beroukhi R, Bradner JE, Drapkin R, Hahn WC, Liu JF, Livingston DM. An in-tumor genetic screen reveals that the BET bromodomain protein, BRD4, is a potential therapeutic target in ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112: 232-237 [PMID: 25535366 DOI: 10.1073/pnas.1422165112]
- 13 Yao W, Yue P, Khuri FR, Sun SY. The BET bromodomain inhibitor, JQ1, facilitates c-FLIP degradation and enhances TRAIL-induced apoptosis independent of BRD4 and c-Myc inhibition. *Oncotarget* 2015; 6: 34669-34679 [PMID: 26415225]
- 14 Fowler J, Ghatak P, Price DH, Conaway R, Conaway T, Chiang CM, Bradner JE, Shilatifard A, Roy AL. Regulation of MYC expression and differential JQ1 sensitivity in cancer cells. *PLoS One* 2014; 9: e87003 [PMID: 24466310 DOI: 10.1371/journal.pone.0087003]
- 15 Belkina AC, Denis GV. BET domain co-regulators in obesity, inflammation and cancer. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 465-477 [PMID: 22722403 DOI: 10.1038/nrc3256]
- 16 Coudé MM, Braun T, Berrou J, Dupont M, Bertrand S, Masse A, Raffoux E, Itzykson R, Delord M, Riveiro ME, Herait P, Baruchel A, Dombret H, Gardin C. BET inhibitor OTX015 targets BRD2 and BRD4 and decreases c-MYC in acute leukemia cells. *Oncotarget* 2015; 6: 17698-17712 [PMID: 25989842 DOI: 10.18632/oncotarget.4131]
- 17 Zuber J, Shi J, Wang E, Rappaport AR, Herrmann H, Sison EA, Magoon D, Qi J, Blatt K, Wunderlich M, Taylor MJ, Johns C, Chicas A, Mulloy JC, Kogan SC, Brown P, Valent P, Bradner JE, Lowe SW, Vakoc CR. RNAi screen identifies Brd4 as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia. *Nature* 2011; 478: 524-528 [PMID: 21814200 DOI: 10.1038/nature10334]
- 18 Brade AM, Ng S, Brierley J, Kim J, Dinniwel R, Ringash J, Wong RR, Cho C, Knox J, Dawson LA. Phase 1 Trial of Sorafenib and Stereotactic Body Radiation Therapy for Hepatocellular Carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016; 94: 580-587 [PMID: 26867886]
- 19 Hato T, Zhu AX, Duda DG. Rationally combining anti-VEGF therapy with checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma. *Immunotherapy* 2016; 8: 299-313 [PMID: 26865127]
- 20 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-E386 [PMID: 25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210]
- 21 El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1118-1127 [PMID: 21992124 DOI: 10.1056/NEJMra1001683]
- 22 Wang G, Liu Y, Zhou SF, Qiu P, Xu L, Wen P, Wen J, Xiao X. Sorafenib combined with transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis and systematic review. *Hepatol Int* 2016 Feb 8. [Epub ahead of print] [PMID: 26856326 DOI: 10.1007/s12072-015-9700-7]
- 23 Muller S, Filippakopoulos P, Knapp S. Bromodomains as therapeutic targets. *Expert Rev Mol Med* 2011; 13: e29 [PMID: 21933453 DOI: 10.1017/S1462399411001992]
- 24 Dawson MA, Kouzarides T, Huntly BJ. Targeting epigenetic readers in cancer. *N Engl J Med* 2012; 367: 647-657 [PMID: 22894577 DOI: 10.1056/NEJMra1112635]
- 25 Crowe BL, Larue RC, Yuan C, Hess S, Kvaratskhelia M, Foster MP. Structure of the Brd4 ET domain bound to a C-terminal motif from γ -retroviral integrases reveals a conserved mechanism of interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 2086-2091 [PMID: 26858406 DOI: 10.1073/pnas.1516813113]
- 26 Nakagawa A, Adams CE, Huang Y, Hamarneh SR, Liu W, Von Alt KN, Mino-Kenudson M, Hodin RA, Lillemoe KD, Fernández-Del Castillo C, Warshaw AL, Liss AS. Selective and reversible suppression of intestinal stem cell differentiation by pharmacological inhibition of BET bromodomains. *Sci Rep* 2016; 6: 20390 [PMID: 26856877 DOI: 10.1038/srep20390]
- 27 全营营, 丁文评, 张莲. 溴结构域蛋白4在肿瘤中的研究进展. *癌症进展* 2015; 13: 44-49
- 28 Ferri E, Petosa C, McKenna CE. Bromodomains: Structure, function and pharmacology of inhibition. *Biochem Pharmacol* 2015 Dec 18. [Epub ahead of print] [PMID: 26707800 DOI: 10.1016/j.bcp.2015.12.005]
- 29 Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, Shen Y, Smith

WB, Fedorov O, Morse EM, Keates T, Hickman TT, Felletar I, Philpott M, Munro S, McKeown MR, Wang Y, Christie AL, West N, Cameron MJ, Schwartz B, Heightman TD, La Thangue N,

French CA, Wiest O, Kung AL, Knapp S, Bradner JE. Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature* 2010; 468: 1067-1073 [PMID: 20871596 DOI: 10.1038/nature09504]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、特别行政区和美国的1040位胃肠病学和肝病学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学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、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学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

胃癌组织中HER2基因扩增与化疗药物敏感性标志物的联合检测及意义

朱超亚, 王仰坤, 李芳, 王苏南, 李滢滢, 负田, 潘治宇

朱超亚, 新乡医学院 河南省新乡市 453000

王仰坤, 李芳, 潘治宇, 河南天佑中西医结合肿瘤医院病理科 河南省新乡市 451100

王苏南, 李滢滢, 深圳职业技术学院电子与通信工程学院图像分析室 广东省深圳市 518055

负田, 中国人民解放军第150医院病理科 河南省洛阳市 471000

河南省重点科技攻关计划基金资助项目, No. 132102310008

作者贡献分布: 此课题由朱超亚与王仰坤共同设计; 研究过程由李芳、王苏南及李滢滢操作完成; 数据分析由负田、王苏南及潘治宇完成; 论文写作由朱超亚与王仰坤完成。

通讯作者: 王仰坤, 主任医师, 硕士生导师, 451100, 河南省新乡市解放北路, 河南天佑中西医结合肿瘤医院病理科。

dr.wyk@163.com

电话: 0371-56565105

收稿日期: 2016-02-06

修回日期: 2016-02-24

接受日期: 2016-02-29

在线出版日期: 2016-04-08

Significance of combined detection of *HER2* gene amplification and markers of chemosensitivity in gastric cancer

Chao-Ya Zhu, Yang-Kun Wang, Fang Li, Su-Nan Wang, Ying-Ying Li, Tian Yun, Zhi-Yu Pan

Chao-Ya Zhu, Graduate School of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000, He'nan Province, China

Yang-Kun Wang, Fang Li, Zhi-Yu Pan, Department of Pathology, He'nan Tianyou Cancer Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Xinzhen 451100, He'nan Province, China

Su-Nan Wang, Ying-Ying Li, Department of Image

Analysis, Shenzhen Polytechnic Institute of Electronics and Communication Engineering, Shenzhen 518055, Guangdong Province, China

Tian Yun, Department of Pathology, People's Liberation Army No. 150 Hospital, Luoyang 471000, He'nan Province, China

Supported by: Key Scientific and Technological Projects of He'nan Province, No. 132102310008

Correspondence to: Yang-Kun Wang, Chief Physician, Department of Pathology, He'nan Tianyou Cancer Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Jiefang North Road, Xinzhen 451100, He'nan Province, China. dr.wyk@163.com

Received: 2016-02-06

Revised: 2016-02-24

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the significance of combined detection of *HER2* gene amplification and markers of chemosensitivity in gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemistry (IHC), fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and fluorescence RT-PCR were used to detect *HER2* protein expression in 120 cases of gastric cancer, *HER2* gene amplification, and *ERCC1*, *TUBB3*, and *TYMS* mRNA expression, respectively.

RESULTS: The positive rate of *HER2* expression was 40.8% (49/120), and the rates of strong positivity (+++), moderate positivity (++), and weak positivity (+) were 10.8% (13/120), 14.2% (17/120), and 15.8% (19/120), respectively. The

背景资料

近年来,随着分子病理的发展,使每个患者能精准分型、精准治疗。因此,规范胃癌 $HER2$ 和化疗药物的检测是正确指导用药的保证。通过检测化疗药物敏感性标志物来选择化疗方案,进行胃癌个体化治疗将成为必然趋势。

同行评议者

孟繁杰,教授,主任医师,上海中医药大学附属第七人民医院普外一科

■ 研究前沿

由于临床上化疗药物的选择存在盲目性, 导致患者在接受化疗后未能受益, 反而因诸多不良反应影响生活质量, 并延误治疗时机。免疫组织化学法和实时定量PCR检测技术检测胃癌判断标准, 以便更好地为抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标。

rate of $HER2$ gene amplification was 38.8% (19/49). With regards to $ERCC1$, $TUBB3$, and $TYMS$ mRNA expression, 41 cases showed moderate or low expression of only one gene, 45 cases showed moderate or low expression of two genes, 19 cases showed moderate or low expression of three genes, and 15 cases showed no moderate or low expression of the genes. Of 19 cases showing moderate or low expression of the three genes, 11 cases received chemotherapy combined with trastuzumab treatment. Follow-up results showed that $HER2$ gene status and $ERCC1$, $TUBB3$, and $TYMS$ gene expression were positively related to treatment response. In 5 cases with strong $HER2$ expression, $HER2$ gene amplification, and low expression of $ERCC1$, $TUBB3$, and $TYMS$, overall survival was 19.1 mo.

CONCLUSION: $HER2$ testing in gastric cancer has great heterogeneity, and simultaneous detection of $HER2$ protein expression, $HER2$ gene amplification and markers of chemosensitivity provides an important reference index for antitumor drug therapy.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Neoplasms; $HER2$ gene; $HER2$ protein; Fluoresce *in situ* hybridization; Immunohistochemistry

Zhu CY, Wang YK, Li F, Wang SN, Li YY, Yun T, Pan ZY. Significance of combined detection of $HER2$ gene amplification and markers of chemosensitivity in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1511-1519 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1511.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1511>

摘要

目的: 探讨胃癌 $HER2$ 基因扩增与化疗药物敏感性标志物的联合检测及意义。

方法: 采用免疫组织化学、荧光原位杂交和实时定量PCR检测技术对120例胃癌 $HER2$ 蛋白表达、 $HER2$ 基因扩增与 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因mRNA表达水平。

结果: $HER2$ 蛋白表达率40.8%(49/120), 其中 $HER2$ 蛋白3+, 占10.8%(13/120)。 $HER2$ 蛋白2+, 占14.2%(17/120)。 $HER2$ 蛋白1+, 占15.8%(19/120)。 $HER2$ 基因扩增率38.8%(19/49)。 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因mRNA表达检测, 其中单基因中、低表达

41例、双基因中、低表达45例, $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因均中、低表达19例、均无中、低表达15例。 $HER2$ 基因扩增49例和 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因中、低表达19例的患者中有11例接受了化疗联合曲妥珠单抗治疗, 随访结果显示 $HER2$ 基因状态与 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因低表达联合治疗效果呈正相关, 其中本组5例 $HER2$ 蛋白3+广泛型又是 $HER2$ 基因簇状扩增、 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因低表达的患者总生存期长达19.1 mo。

结论: 胃癌 $HER2$ 检测有很大的异质性, 同时检测 $HER2$ 蛋白表达、 $HER2$ 基因扩增和化疗药物敏感性标志物联合检测, 能更好地为抗肿瘤药物治疗过程中受益提供重要的参考指标; 胃癌靶向与化疗药物的联合检测来选择个体化方案有推广价值。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肿瘤; $HER2$ 基因; $HER2$ 蛋白; 免疫组织化学; 荧光原位杂交

核心提示: 由于胃癌有很大的异质性, 治疗前同时检测 $HER2$ 蛋白表达、 $HER2$ 基因扩增和化疗药物敏感性标志物联合检测, 能更好地为抗肿瘤药物治疗过程中受益提供重要的参考指标。

朱超亚, 王仰坤, 李芳, 王苏南, 李滢滢, 负田, 潘治宇. 胃癌组织中 $HER2$ 基因扩增与化疗药物敏感性标志物的联合检测及意义. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1511-1519 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1511.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1511>

0 引言

“精准医学”火热, 提倡异病同治, 一个患者在不同阶段需要调整方案, 随着分子病理的发展, 使每个患者能精准分型、精准治疗^[1,2]。近年来, 针对信号转导、生长因子及其受体, 人们研发几种新型药物, 并且已取得了重要成果, 其表达的蛋白产物为人表皮生长因子受体2, 后者的高表达可活化细胞信号转导系统, 导致细胞转化、增殖^[3,4]。乳腺癌中 $HER2$ 是一种广泛采用的治疗靶点^[5-7], 越来越多的证据表明, $HER2$ 是胃癌的重要标志物, 高 $HER2$ 表达的肿瘤患者最为受益^[8-11]。与乳腺癌相比, 胃癌表现出独特的免疫染色特性, $HER2$ 阳性病例中有较高的肿瘤异质性, 因此, 规范胃癌 $HER2$

是正确指导用药的保证. 另外, 化疗又是中晚期胃癌患者的主要治疗选择, 由于临床上化疗药物的选择存在盲目性, 导致患者在接受化疗后未能受益, 反而因诸多不良反应影响生活质量, 并延误治疗时机. 胃癌常见的化疗药物包括氟尿嘧啶类、铂类和紫杉类. 我们采用免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)技术检测胃癌HER2蛋白表达、荧光原位杂交(fluoresce *in situ* hybridization, FISH)技术检测胃癌HER2基因状态, 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)技术检测氟尿嘧啶类、铂类和紫杉类胃癌常用药物表达, 探讨FISH、IHC和qRT-PCR技术检测胃癌判断标准, 以便更好地为抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标, 来指导个体化的选择.

1 材料和方法

1.1 材料 收集洛阳市第150中心医院于2011-02/2013-09外科手术切除的胃及食管胃连接部根治标本120例, 组织学诊断标准按照文献胃癌病理学^[12]和2010年版世界卫生组织(World Health Organization, WHO)消化系肿瘤胃癌组织学分类^[13]. 本组年龄25-74岁, 平均年龄62.4岁. 手术离体后标本均在30 min内固定, 经新鲜配置的40 g/L甲醛固定8-48 h, 固定液与组织体积比为10:1. 切取肿瘤组织4-6块(常规切取近端、远端切缘, 肿瘤及临近胃黏膜等处组织标本块不包括在内), 包括最深浸润点及最邻近浆膜层. 分别进行HE、IHC、FISH和qRT-PCR技术检测. 试剂: 美国美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的HER2免疫组织化学染色试剂盒, HER2 Hercep Test™ Kit pharmDx™ Kit均购自Dako Cytomation公司. 试剂、探针Paraffin Pretreatment Kit II 试剂盒, 其中主要含有预处理溶液和蛋白酶溶液; Path Vysion™ HER2探针试剂盒; 人ERCC1、TUBB3、TYMS基因表达相对定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法), ERCC1、TUBB3、TYMS PCR反应液、引物探针混合液、阳性质控品、阴性质控品, 以及内参PCR反应液、内参引物探针混合液、内参阳性质控品、内参阴性质控品. 不同批次之间同一组分不可以相互替换.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 染色阳性强度的结

果判读: 每例4-6张切片中肿瘤细胞的细胞膜均无染色, 结果为0; 肿瘤细胞微弱或隐约可见膜染色者, 结果为1+; 肿瘤细胞的基底膜、侧面膜或完整性的膜有弱至中度染色者, 结果为2+; 肿瘤细胞的基底膜、侧面膜或完整性的膜有强阳性染色者, 结果为3+. 染色阳性面积的结果判读: 每例4-6张切片中肿瘤细胞的细胞膜均无着色为阴性, $\geq 80\%$ 为广泛型、79%-21%为部分型、 $\leq 20\%$ 为局灶型.

1.2.2 FISH技术检测: 试剂、探针及FISH操作步骤: 石蜡包埋胃癌组织切片的预处理程序、操作步骤按照文献及试剂盒说明进行^[9]. FISH结果判断: 主要是根据IHC检测切片的HER2阳性区域, 进行FISH技术检测. 首先在HE染色切片上确认癌细胞阳性区域, 然后在 $\times 10$ 物镜下, 于FISH切片上找到HE的同一视野, 在 $\times 40$ 物镜下观察整张切片, 75%以上癌细胞核中都有杂交信号视为结果满意, 然后换成 $\times 100$ 物镜, 计数至少30个边界完整、孤立无重叠的癌细胞. HER2基因状态评价标准: 随机计数30个癌细胞核中HER2基因拷贝数与17号染色体数量的比值, 17号染色体比值 > 2.2 为阳性结果, 提示样本中HER2基因发生扩增, 比值 < 1.8 为阴性结果, 提示该样本无HER2基因扩增. 如果HER2基因拷贝数在1.8-2.2之间时, 可选择其他肿瘤组织区域再进行30个肿瘤细胞计数.

1.2.3 qRT-PCR技术: 石蜡切片样品应含有足够比例的肿瘤细胞, 样品无蛋白或DNA污染, 商品化的RNA提取试剂盒处理样本, 操作步骤按照试剂盒说明书进行. ERCC1、TUBB3、TYMS阳性质控品和内参阳性质控品、校准RNA质控品无需抽提, 使用前室温融化, 涡旋振荡10 s, 2000 r/min离心15 s. 确定反应数(待检样本数1加质控品数; 待检样本数2加质控品数). 将阴性质控品、已处理样本、校准RNA质控品和阳性质控品分别取6 μ L加入到ERCC1 PCR反应管和内参PCR反应管中, 盖紧管盖, 2000 r/min离心15 s, 将管壁上的液体全部甩至管底, 避免产生气泡, 再次2000 r/min离心15 s, 然后立即进行PCR扩增反应. 高、中、低划分为, 低表达为 $< 37.5\%$; 中表达为37.5%-62.5%之间; 高表达为 $> 62.5\%$. ERCC1低表达和中表达选用DDP(C), TUBB3低表达和中表达选用Docetaxel(D), TYMS低表达和中表达选用5-氟胞嘧啶(F)组成敏感的化疗方案.

■ 相关报道

胃癌HER2检测与乳腺癌不同, 其检测结果受到诸多因素的影响, HER2检测规范和细化便于用药效果的指导, HER2检测的范围和强度划分为广泛、部分和灶性, 能提示指导、评估靶向药物的受益情况.

■ 创新盘点

$HER2$ 是胃癌的重要标志物, 高 $HER2$ 表达的肿瘤患者最为受益, 在胃癌靶向治疗中还必须同时化疗药物敏感性标志物的检测, 通过检测化疗药物敏感性标志物来选择化疗方案, 进行胃癌个体化治疗将成为必然趋势.

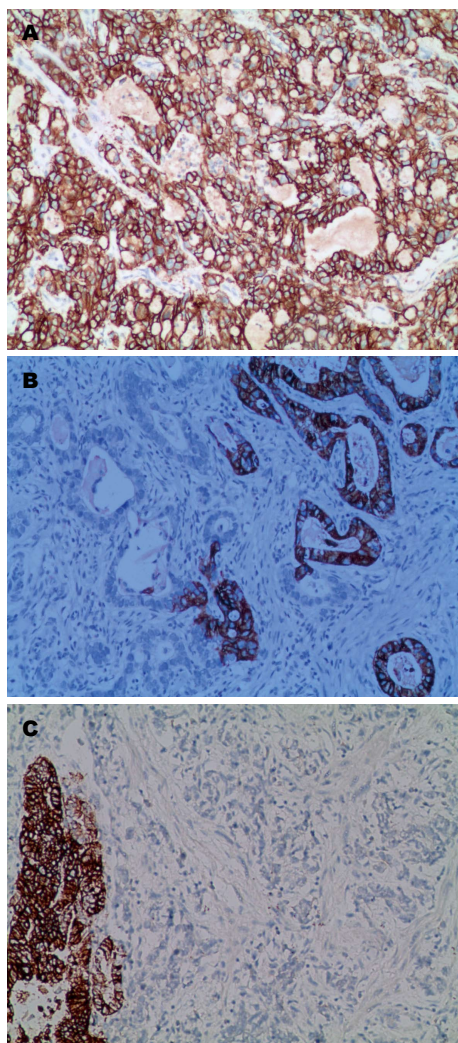


图 1 胃管状腺癌 $HER2$ 蛋白阳性3+(En Vision $\times 40$). A: 广泛型; B: 部分型; C: 局灶型.

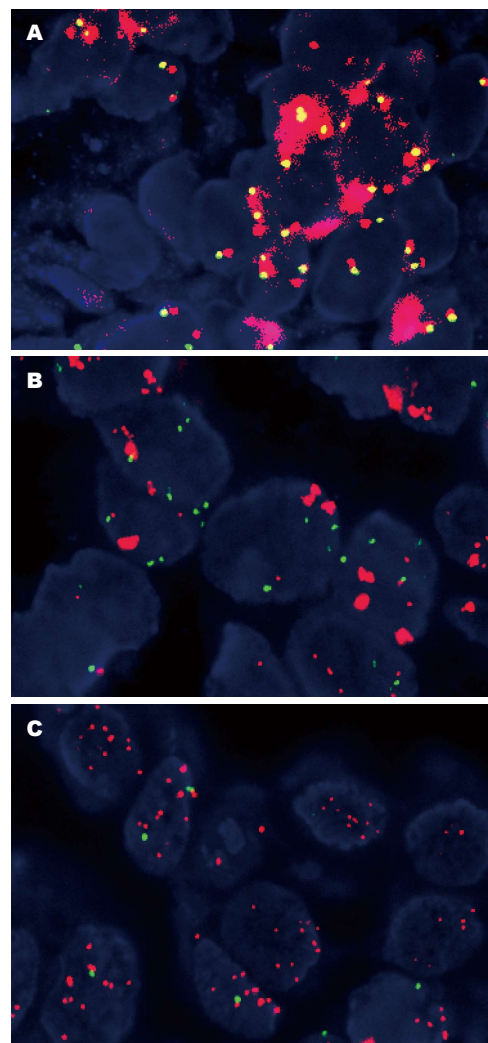


图 2 FISH法检测 $HER2$ 基因($\times 1000$). A: 胃乳头状腺癌, $HER2$ 基因簇状扩增; B: 胃低分化腺癌, $HER2$ 基因大颗粒扩增; C: 胃低分化腺癌, $HER2$ 基因点状扩增. 红色为探针信号, 绿色为17号染色体.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件分析, 应用 t 检验和 χ^2 检验比较两组 $HER2$ 基因状态; $HER2$ 基因扩增与 $ERCC1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因mRNA表达水平. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃癌组织形态学 胃癌120例, 其中乳头状腺癌24例(19.0%)、腺管状腺31例(22.9%)、黏液腺癌19例(16.1%)、低黏附性腺癌11例(12.4%)、混合性腺癌35例(29.6%). 混合性腺癌包括乳头状腺癌、腺管状腺、黏液腺癌和低黏附性腺癌等不同组织学结构混合. 本组病例均为pT2-4期.

2.2 胃癌 $HER2$ 蛋白表达率及其表达特点 胃癌 $HER2$ 蛋白表达率与组织学类型的关系如表1. $HER2$ 蛋白阳性表达定位在细胞膜, 表达率40.8%(49/120), 其中 $HER2$ 阳性3+广泛型3例(图

1A)、部分型7例(图1B)、局灶型3例(图1C), 占10.8%(13/120). $HER2$ 蛋白2+广泛型5例、部分型7例、局灶型5例, 占14.2%(17/120). $HER2$ 阳性1+广泛型7例、部分型8例、局灶型4例, 占15.8%(19/120). 胃癌 $HER2$ 蛋白表达的显著特点是异质性, 每例4-6张切片中只有广泛型、部分型、局灶型和阴性的任何一种类型者, 称为单信号型, 占63.3%(31/49), 每例4-6张切片中同时有 $HER2$ 阳性3+、 $HER2$ 阳性2+、 $HER2$ 阳性1+和阴性的2种或2种以上者称为多信号型, 占36.7%(18/49)(表2).

2.3 17号染色体高拷贝数和 $HER2$ 基因扩增及其特点 $HER2$ 基因扩增率38.8%(19/49)(表3). $HER2$ 蛋白3+者占92.3%(12/13)、 $HER2$ 蛋白2+者占35.3%(6/17)和 $HER2$ 蛋白1+者占5.3%(1/19). 19

表 1 120例胃癌HER2基因蛋白表达与组织学类型的关系

类型	n	IHC				
		面积/强度	-	1+	2+	3+
乳头状腺癌	24	≥80%		1	1	2
		21%–79%		1	2	2
		≤20%		0	1	1
		阴性	13			
管状腺癌	31	≥80%		2	2	1
		21%–79%		3	1	2
		≤20%		0	2	1
		阴性	17			
黏液腺癌	19	≥80%		0	1	0
		21%–79%		1	1	1
		≤20%		1	1	0
		阴性	13			
低黏附性癌	11	≥80%		0	1	0
		21%–79%		0	1	1
		≤20%		1	0	0
		阴性	7			
混合性腺癌	35	≥80%		4	0	0
		21%–79%		3	2	1
		≤20%		2	1	1
		阴性	21			
合计	120		71(59.2)	19(15.8)	17(14.2)	13(10.8)
						49(40.8)

应用要点

胃癌在所有的实体瘤中是预后较差, 异质性很强, 药物敏感性较差, 是对个体化要求较强的肿瘤, 在临床研究和临床实践中必须关注这些患者以及肿瘤特征合理的个体化的选择药物, 才有可能使患者真正获益, 并延长生存。

表 2 HER2蛋白阳性强度和面积分布的特点

类型	广泛型	部分型	局灶性	合计n(%)
单信号型 ¹	11	13	7	31(63.3)
多信号型 ²	4	9	5	18(36.7)
合计n(%)	15(30.6)	22(44.9)	12(24.5)	49(100.0)

¹每例4–6张切片中只有广泛型、部分型、局灶性的任何一种类型; ²每例患者的4–6张切片中有阴性, 同时又有HER2阳性3+、HER2阳性2+、HER2阳性1+的广泛型、部分型和局灶型的2种或2种以上者。

例HER2基因扩增中的形态类型: HER2基因簇状扩增(图2A)14.3%(7/19)、大颗粒状扩增(图2B)10.2%(5/19)、点状扩增(图2C)6.1%(3/19)和高多体8.2%(4/19)。

2.4 ERCC1、TUBB3、TYMS基因mRNA表达结果及其与HER2基因扩增的关系 ERCC1、TUBB3、TYMS三种基因中单基因中、低表达41例(图3A); 双基因中、低表达45例(图3B); 三基因均为中、低表达19例(图3C); 三基因均无中、低表达15例(13.3%)。HER2基因扩增与ERCC1、TUBB3、TYMS基因mRNA表达的关系(表4)。

2.5 HER2基因扩增联合ERCC1、TUBB3、

TYMS基因mRNA表达水平方案与单纯化疗方案比较 HER2基因扩增联合ERCC1、TUBB3、TYMS基因mRNA表达水平方案称联合方案, 仅用化疗药的称单纯化疗(DCF方案化疗)。HER2基因扩增49例和ERCC1、TUBB3、TYMS基因中、低表达19例的患者中有11例接受了化疗联合曲妥珠单抗治疗(表5)。

3 讨论

近年来, 靶向HER2蛋白的单克隆抗体: 曲妥珠单抗(trastuzumab; 商品名赫赛汀, Herceptin)被证实能提高原发性和转移性HER2阳性乳腺癌患者的生存率^[14,15]。为准确挑选最适宜的患

同行评价

本文设计新颖, 临床思路和分组设计合理, 统计处理较好, 有一定的临床意义.

表 3 HER2蛋白阳性与HER2基因扩增结果比较

HER2强度(n)	HER2蛋白表达		HER2基因扩增状态				扩增n(%)
	范围	n	簇状	大颗粒状	点状	高多体	
3+(13)	广泛型	3	2	1	1	1	12(92.3)
	部分型	7	2	1	1	1	
	局灶型	3	0	0	0	0	
2+(17)	广泛型	5	1	1	1	1	6(35.3)
	部分型	7	1	1	0	1	
	局灶型	5	0	0	0	0	
1+(19)	广泛型	7	0	1	0	0	1(5.3)
	部分型	8	1	0	0	0	
	局灶型	4	0	0	0	0	
总计		49	7(14.3)	5(10.2)	3(6.1)	4(8.2)	19(38.8)

表 4 HER2基因扩增与ERCC1、TUBB3、TYMS基因mRNA表达水平的关系

表达水平	n	HER2基因状态			
		簇状	大颗粒状	点状	高多体
单基因中、低表达	41	2	2	1	1
双基因中、低表达	45	3	2	1	2
三基因均为中、低表达	19	1	0	1	1
三基因均无中、低表达	15	1	1	0	0
合计	120	7	5	3	4

表 5 11例HER2基因扩增接受单纯化疗与化疗联合曲妥珠单抗治疗的结果对比

分组	HER2基因 状态49例	三基因均为 中、低表达	PFS和OS的平均值(mo)	
			中位PFS	中位OS
联合方案	11	11	9.1	16.7
DCFf方案	38	8	5.6	12.1

OS: 整体生存期; PFS: 无进展生存期.

者接受治疗, 同时避免某些患者不必要的用药, 2007年美国临床肿瘤协会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)/美国病理医师学院(College of American Pathologist, CAP)公布了在2007年版ASCO/CAP HER2检测指南^[16]基础上的更新版^[17], 对乳腺癌HER2检测的技术路线、结果判读标准、质量控制等多方面提出了新要求, 是具有循证医学意义的参考, 标志着HER2的检测向标准化迈进了一大步. 而在胃癌中, 相关研究起步稍晚. 新近一项包括中国在内的24个国家参与的全球多中心III期临床试验(ToGA)揭示了曲妥珠单抗对HER2阳性晚期胃癌和胃食管交界癌患者的疗效^[16,18,19], 随后FDA批准了该药联合化疗治疗HER2阳性转移性胃

癌和胃食管交界癌患者^[16,17]. 目前, 国内外一般采用IHC法检测HER2蛋白表达状态. 在胃癌中, 不同研究^[20-22]报道的HER2蛋白过表达率不一致, 大部分集中在6.8%-34.0%. 胃癌HER2检测与乳腺癌不同, 其检测结果受到诸多因素的影响, 包括标本的术前处理、固定、检测的试剂及方法、实验室的质量控制、染色结果的判读等^[23-26]. 本研究采用IHC和FISH技术联合检测120例胃癌, HER2蛋白表达率40.8%(49/120), 其中HER2蛋白3+, 占10.8%(13/120). HER2蛋白2+, 占14.2%(17/120). HER2蛋白1+, 占15.8%(19/120). HER2基因扩增率38.8%(19/49)(表3). HER2蛋白3+者占92.3%(12/13)、HER2蛋白2+者占35.3%(6/17)

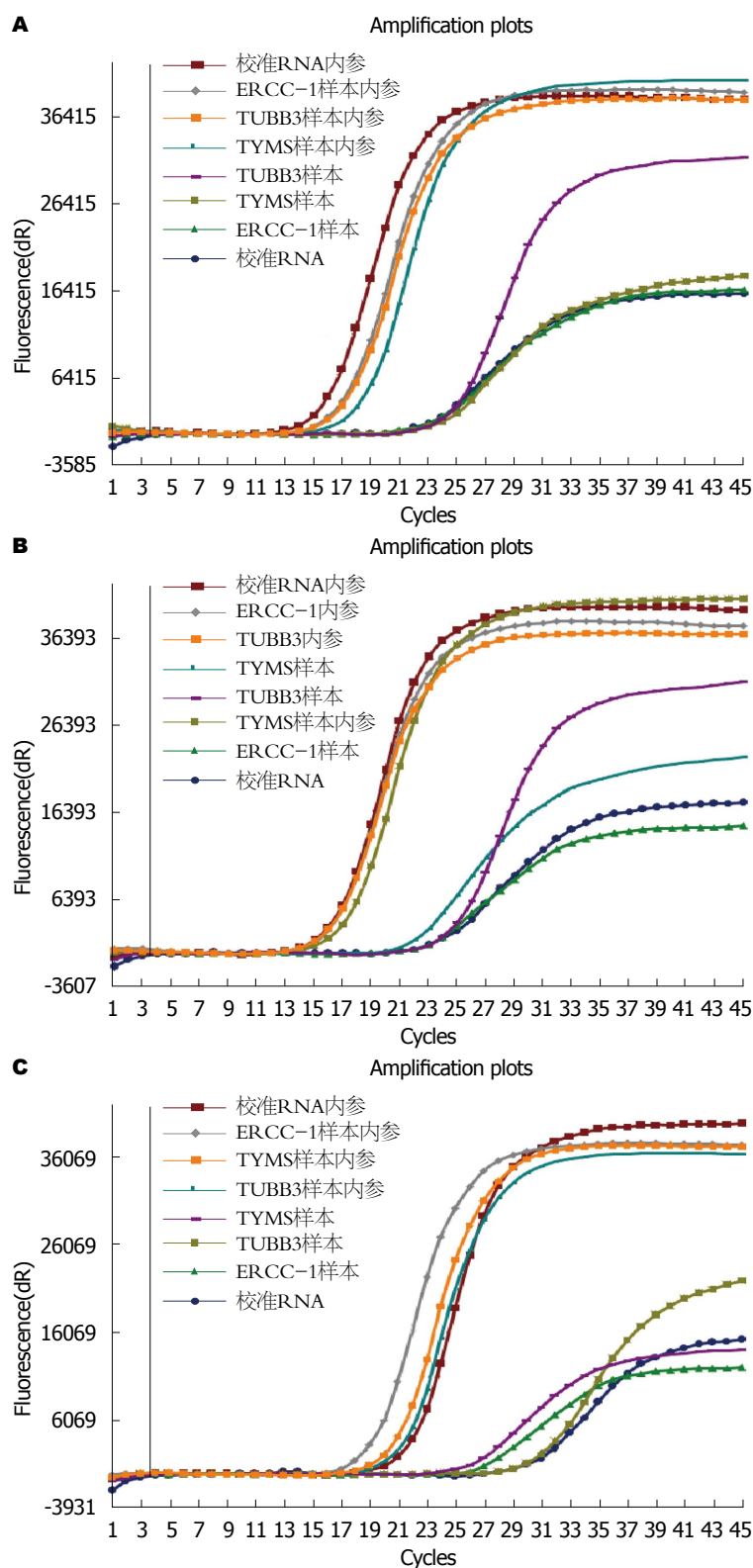


图3 $ERCC-1$ 、 $TUBB3$ 、 $TYMS$ 基因mRNA表达结果。A: 单基因低表达, 显示 $ERCC-1$ 基因低表达, $TUBB3$ 和 $TYMS$ 基因高表达; B: 双基因低表达, 显示 $ERCC-1$ 和 $TYMS$ 基因低表达, $TUBB3$ 基因高表达; C: 三基因低表达, 显示 $ERCC-1$ 、 $TYMS$ 和 $TUBB3$ 基因低表达。

和 $HER2$ 蛋白1+者占5.3%(1/19)。19例 $HER2$ 基因扩增中的形态类型: $HER2$ 基因簇状扩增(图2A)14.3%(7/19)、大颗粒状扩增(图

2B)10.2%(5/19)、点状扩增(图2C)6.1%(3/19)和高多体8.2%(4/19)。由此, 我们提出检测 $HER2$ 蛋白结果划分为广泛型、部分型和局灶

型和HER2基因扩增结果划分为簇状、大颗粒状、点状和高多体性,能更好地为靶点的抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标。只有提供检测报告的完整性,临床才有可能实施有效的个体化治疗。

目前,胃癌的化疗多采用联合方案,通常采用氟尿嘧啶类、铂类和紫杉类常用药。三药联合的化疗方案属于较为强烈的化疗方案;而单药或两药联合的化疗属于非强烈的方案。三药联合的生存优势明显,但不良反应较大^[27,28]。由于胃癌在所有的实体瘤中是预后较差,异质性很强,药物敏感性较差,是对个体化要求较强的肿瘤,在临床研究和临床实践中必须关注这些患者以及肿瘤特征合理的个体化的选择药物,才有可能使患者真正获益,并延长生存。使得人们更加关注胃癌的高度异质性,如何实现细胞毒药物和靶向药物在进展期胃癌中的个体化治疗成为大家讨论的热点^[28,29]。本研究采用IHC、FISH和qRT-PCR技术联合对胃癌靶向和化疗药物的检测,对HER2基因扩增的49例和ERCC1、TUBB3、TYMS基因中、低表达的19例患者中的11例,采用西妥昔单抗联合奥沙利铂、亚叶酸钙、氟尿嘧啶方案;并进行了27 mo随访。随访结果显示HER2基因状态与ERCC1、TUBB3、TYMS基因低表达联合治疗效果呈正相关,其中本组5例HER2蛋白3+广泛型又是HER2基因簇状扩增、ERCC1、TUBB3、TYMS基因低表达的患者总生存期长达19.1 mo。采用了靶向药物的维持治疗,无进展生存期9.1 mo;客观缓解率显著改善;疾病控制率。胃癌HER2检测有很大的异质性,同时检测HER2蛋白表达、HER2基因扩增和化疗药物敏感性标志物联合检测,能更好地为抗肿瘤药物治疗过程中受益提供重要的参考指标;胃癌靶向与化疗药物的联合检测来选择个体化方案有推广价值。

总之,规范胃癌HER2检测与化疗药物敏感性标志物检测标准的判别是正确指导用药的保证。胃癌组织中HER2检测有很大的异质性,HER2检测规范和细化便于用药效果的指导,HER2检测的范围和强度的广泛、部分和灶性的划分提示指导、评估靶向药物的受益情况。在胃癌靶向治疗中还必须同时化疗药物敏感性标志物的检测,通过检测化疗药物敏感性标志物来选择化疗方案,进行胃癌个体化治疗将成为必然趋势。

4 参考文献

- 王巧凤, 李国庆, 王照飞. 胃癌的分子靶向治疗. 世界华人消化杂志 2015; 23: 4982-4989
- Yk W, Cf G, T Y, Z C, Xw Z, Xx L, Nl M, Wz Z. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Mol Cytogenet* 2011; 4: 14 [PMID: 21689422 DOI: 10.1186/1755-8166-4-14]
- García-García E, Gómez-Martín C, Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, Adrados M, Perna C, Rodríguez-Peralto JL, Hidalgo M, López-Ríos F. Hybridization for human epidermal growth factor receptor 2 testing in gastric carcinoma: a comparison of fluorescence in-situ hybridization with a novel fully automated dual-colour silver in-situ hybridization method. *Histopathology* 2011; 59: 8-17 [PMID: 21771023 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03894.x]
- Wadhwa R, Song S, Lee JS, Yao Y, Wei Q, Ajani JA. Gastric cancer-molecular and clinical dimensions. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 10: 643-655 [PMID: 24061039 DOI: 10.1038/nrclinonc.2013.170]
- Rieck LD, Pottala JV, Eliason SL, Koch MR, Egland PG, Egland KA. Status of HER-2 gene amplification in breast cancers from Native American women. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 187: 54-56 [PMID: 18992644 DOI: 10.1016/j.cancer.2008.08.004]
- English DP, Roque DM, Santin AD. HER2 expression beyond breast cancer: therapeutic implications for gynecologic malignancies. *Mol Diagn Ther* 2013; 17: 85-99 [PMID: 23529353 DOI: 10.1007/s40291-013-0024-9]
- Kim Y, Kim J, Lee HD, Jeong J, Lee W, Lee KA. Spectrum of EGFR gene copy number changes and KRAS gene mutation status in Korean triple negative breast cancer patients. *PLoS One* 2013; 8: e79014 [PMID: 24205362 DOI: 10.1371/journal.pone.0079014]
- Berezowska S, Novotny A, Bauer K, Feuchtinger A, Slotta-Huspenina J, Becker K, Langer R, Walch A. Association between HSP90 and Her2 in gastric and gastroesophageal carcinomas. *PLoS One* 2013; 8: e69098 [PMID: 23874879 DOI: 10.1371/journal.pone.0069098]
- Matsuoka T, Yashiro M. Recent advances in the HER2 targeted therapy of gastric cancer. *World J Clin Cases* 2015; 3: 42-51 [PMID: 25610849 DOI: 10.12998/wjcc.v3.i1.42]
- 王仰坤, 高春芳, 贡田, 张现伟, 赵文召, 郑国宝, 刘广洛. HER2和EGFR基因在胃癌组织中的状态及其与临床病理的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2642-2647
- 王仰坤, 高春芳, 张现伟, 贡田, 李富林, 赵元珍, 赵文召, 蒙念龙. 利用FISH技术检测胃癌组织中HER2基因及其与p53蛋白表达的相关性. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 126-129
- 哈米霍恩, 虞积耀. WHO肿瘤分类及诊断标准: 消化系统肿瘤病理学和遗传学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 45-79
- 王仰坤. 胃肿瘤病理学. 北京: 人民军医出版社, 2012: 296-404
- Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke

- CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of HER2 gene amplification in adenocarcinomas of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]
- 15 李滢滢, 王苏南, 徐正顺, 王建军, 王仰坤. 胃混合性癌组织中HER2蛋白表达的判读要点. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 4627-4633
 - 16 Roa I, de Toro G, Schalper K, de Aretxabala X, Churi C, Javle M. Overexpression of the HER2/neu Gene: A New Therapeutic Possibility for Patients With Advanced Gallbladder Cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2014; 7: 42-48 [PMID: 24799970]
 - 17 Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138: 241-256 [PMID: 24099077 DOI: 10.5858/arpa.2013-0953-SA]
 - 18 田磊, 肖秀英, 叶明. 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 773-781
 - 19 林晓琳, 肖秀英. 胃癌的组织学和分子分型与药物个体化治疗. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 4141-4149
 - 20 Dahle-Smith Å, Stevenson D, Massie D, Murray GI, Dutton SJ, Roberts C, Ferry D, Osborne A, Clark C, Petty RD, Miedzybrodzka Z. Epidermal Growth Factor (EGFR) copy number aberrations in esophageal and gastro-esophageal junctional carcinoma. *Mol Cytogenet* 2015; 8: 78 [PMID: 26478746 DOI: 10.1186/s13039-015-0181-0]
 - 21 Wang YK, Chen Z, Yun T, Li CY, Jiang B, Lv XX, Chu GH, Wang SN, Yan H, Shi LF. Human epidermal growth factor receptor 2 expression in mixed gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4680-4687 [PMID: 25914479]
 - 22 Somlo G, Chu P, Frankel P, Ye W, Groshen S, Doroshow JH, Danenberg K, Danenberg P. Molecular profiling including epidermal growth factor receptor and p21 expression in high-risk breast cancer patients as indicators of outcome. *Ann Oncol* 2008; 19: 1853-1859 [PMID: 18641005 DOI: 10.1093/annonc/mdn402]
 - 23 Wang SN, Li YY, Xu ZS, Zhao WZ, Yun T, Zhu WL, Wang YK. Study on the protein expression and amplification of HER2 gene in gastric cancer. *Chinese-German J Clin Oncol* 2014; 13: 267-272
 - 24 Zhang F, Yang X, Li L, Sun L, Wang BO, Yu X. Epidermal growth factor receptor expression and gene copy number analysis in gastric carcinoma samples from Chinese patients. *Oncol Lett* 2016; 11: 173-181 [PMID: 26870185]
 - 25 Tang D, Liu CY, Shen D, Fan S, Su X, Ye P, Gavine PR, Yin X. Assessment and prognostic analysis of EGFR, HER2, and HER3 protein expression in surgically resected gastric adenocarcinomas. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 7-14 [PMID: 25565860 DOI: 10.2147/OTT.S70922]
 - 26 Stahl P, Seeschaaf C, Lebok P, Kutup A, Bockhorn M, Izbicki JR, Bokemeyer C, Simon R, Sauter G, Marx AH. Heterogeneity of amplification of HER2, EGFR, CCND1 and MYC in gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2015; 15: 7 [PMID: 25649416 DOI: 10.1186/s12876-015-0231-4]
 - 27 Luo Y, Li Z, Cui S, Shen C, Zhao J, Wu M, Li Y, Wang M, Chen R, Liu Z, Ri-Li G. Joint detection of ERCC1, TUBB3, and TYMS guidance selection of docetaxel, 5-fluorouracil and cisplatin (DDP) individual chemotherapy in advanced gastric cancer patients. *Eur J Med Res* 2014; 19: 50 [PMID: 25223338 DOI: 10.1186/s40001-014-0050-z]
 - 28 Li Y, Liu Z, Liu H, Wang LE, Tan D, Ajani JA, Wei QY. ERCC1 and ERCC2 variants predict survival in gastric cancer patients. *PLoS One* 2013; 8: e71994 [PMID: 24023723 DOI: 10.1371/journal.pone.0071994]
 - 29 Baek SK, Kim SY, Lee JJ, Kim YW, Yoon HJ, Cho KS. Increased ERCC expression correlates with improved outcome of patients treated with cisplatin as an adjuvant therapy for curatively resected gastric cancer. *Cancer Res Treat* 2006; 38: 19-24 [PMID: 19771254 DOI: 10.4143/crt.2006.38.1.19]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



miR-143在胰腺癌组织中的表达及临床意义

王志红, 周琳, 王春峰, 张连峰

■背景资料

MicroRNA(miRNA)是一种内源性非编码单链RNA分子, 基于与靶mRNA的3'非编码区以互补配对的方式进行结合, 从而造成靶mRNA翻译的抑制和/或导致靶mRNA降解, 进而抑制基因的表达。大量研究表明, miRNA参与肿瘤的发生发展。

王志红, 周琳, 王春峰, 张连峰, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

王志红, 在读硕士, 主要从事胰腺疾病的临床与基础研究。

作者贡献分布: 此课题立题由王志红、周琳、王春峰及张连峰完成; 设计由王志红、周琳、王春峰及张连峰完成; 研究过程由王志红与张连峰完成; 数据分析与论文撰写由王志红完成; 实验指导及论文修改由张连峰完成。

通讯作者: 张连峰, 教授, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。
zhanglf3366@163.com
电话: 0371-66862062

收稿日期: 2016-01-16
修回日期: 2016-02-13
接受日期: 2016-02-29
在线出版日期: 2016-04-08

Clinical significance of expression of miR-143 in pancreatic carcinoma

Zhi-Hong Wang, Lin Zhou, Chun-Feng Wang, Lian-Feng Zhang

Zhi-Hong Wang, Lin Zhou, Chun-Feng Wang, Lian-Feng Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Correspondence to: Lian-Feng Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. zhanglf3366@163.com

Received: 2016-01-16
Revised: 2016-02-13
Accepted: 2016-02-29
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of miR-143

in human pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) and to explore the relation between miRNA-143 expression and prognosis of patients with PDAC.

METHODS: We collected 70 PDAC specimens from patients treated at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, including cancer tissues and paired cancer-adjacent tissues. The expression of miR-143 was examined by locked nucleic acids-*in situ* hybridization (LNA-ISH). Then the relation between the expression of miR-143 and clinical parameters was analyzed with SPSS16.0.

RESULTS: The expression rate of miR-143 was lower in cancerous tissues than in paired non-cancerous pancreatic tissues (25.71% *vs* 68.57%, $P = 0.001$). The expression of miR-143 in cancerous tissues was associated with lymph node metastasis ($P = 0.045$). The median survival of patients with low miR-143 expression was significantly shorter than that of patients with high miR-143 expression ($P = 0.026$).

CONCLUSION: The expression of miR143 is low in cancer tissue, and its low expression is associated with poor prognosis in patients with PDAC.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; miR-143; Locked nucleic acids-*in situ* hybridization; Prognosis

Wang ZH, Zhou L, Wang CF, Zhang LF. Clinical significance of expression of miR-143 in pancreatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016;

■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科; 张海蓉, 教授, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

24(10): 1520-1525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1520.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1520>

摘要

目的: 探究miR-143在胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)组织中的表达与临床参数、预后的相关性。

方法: 收集70例PDAC患者的癌组织及配对癌旁组织石蜡切片, 应用锁定核酸原位杂交(locked nucleic acids-*in situ* hybridization, LNA-ISH)法检测组织中miR-143的表达水平, 收集相关临床资料, 并对患者的预后进行随访, 采用SPSS16.0进行统计学分析。

结果: PDAC癌组织中miR-143阳性表达率明显低于癌旁组织(25.71% vs 68.57%, $P = 0.001$), miR-143的表达与淋巴结转移相关, 差异有统计学意义($P = 0.045$)。生存分析结果显示, miR-143阳性者的预后较好($P = 0.026$)。

结论: PDAC患者癌组织中miR-143呈低表达, 且与不良预后相关。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺癌; miR-143; 锁定核酸原位杂交; 预后

核心提示: 本研究采用锁定核酸原位杂交的方法, 检测出人胰腺癌组织中miR-143低表达, 且其表达与胰腺癌的淋巴结转移相关, miR-143阳性者的预后较好。提示胰腺导管腺癌患者癌组织中miR-143呈低表达, 且与不良预后相关。

王志红, 周琳, 王春峰, 张连峰. miR-143在胰腺癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1520-1525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1520.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1520>

0 引言

胰腺癌是一种常见的严重威胁人类健康的消化系统恶性肿瘤, 约90%为起源于腺管上皮的导管腺癌, 其恶性程度极高、发展快、预后差, 尽管临床上手术和各种综合治疗方法有所改进, 但患者的5年生存率仍只有5%左右^[1]。而且, 胰腺癌早期诊断及治疗效果不理想, 多数患者确诊时已伴有局部和/或远处的侵袭、转移, 而

错失最佳手术时机^[2]。因此, 探讨胰腺癌的发生发展机制有利于提高胰腺癌的临床防治水平。miRNA由于性质稳定, 易于检测, 可能成为更加敏感的肿瘤标志物^[3]。既往研究^[4-9]显示miRNA-143在多种肿瘤中表达均明显下调, 包括结肠癌、胃癌、前列腺癌、膀胱癌、宫颈癌等, 其通过调节一系列肿瘤相关基因参与肿瘤的发生发展。有研究^[10]表明miR-143的低表达影响了胰腺癌的组织学特性及生物学行为。但目前尚无其在人体胰腺癌组织中的相关研究, 因此本研究旨在探讨人体胰腺癌组织中miR-143的表达特点, 并分析其与临床指标、预后的关系, 为胰腺癌的诊断提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2014-12在郑州大学第一附属医院初治的胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)患者70例(均有病理学诊断), 收集石蜡包埋癌组织及癌旁组织, 其中27例为细针穿刺抽吸(fine needle aspiration, FNA)获取, 余43例为手术切除标本。70例PDAC患者均具有完整临床资料和随访资料。经郑州大学第一附属医院道德伦理委员会批准, 患者均签署知情同意书。通过电话进行随访, 最终时间为2015-05-01。记录每例患者的总生存时间(overall survival, OS), OS定义为确诊胰腺癌至死亡时间。杂交has-mir-143探针购自Exiqon公司; 抗地高辛碱性磷酸酶标记二抗anti-DIG-AP Fab来自Panpath公司; 酵母RNA购自美国Ambion公司; 兔抗人KRAS单克隆抗体、SP试剂盒、DAB、苏木素、甲酰胺、柠檬酸盐、肝素、DEPC、核固红NBT/BCIP等购自北京中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 锁定核酸原位杂交(locked nucleic acids-*in situ* hybridization, LNA-ISH)检测miR-143的表达: 所有实验步骤按照制造商(Exiqon)的说明进行。将厚度约为3 μm 的石蜡包埋标本在二甲苯中脱蜡, 梯度乙醇脱蜡至水, 切片用蛋白酶K在37 $^{\circ}\text{C}$ 下消化10 min, 在40 g/L多聚甲醛中固定切片10 min; 在不含探针的杂交缓冲液中预杂交2 h, 再加入含探针的杂交液, 专用盖玻片封闭过夜, 严格洗涤切片, 用含2%山羊血清的地高辛封闭试剂室温封闭1 h, 加入封闭液稀释的anti-DIG-AP Fab抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; 加高敏感显色底物(NBT/BCIP)显色1-48 h, 核固红复染

■ 研究前沿

胰腺癌恶性程度极高、发展快、预后差, 且其早期诊断及治疗效果不理想。miRNA由于性质稳定, 易于检测, 可能成为更加敏感的肿瘤标志物。然而miRNAs的种类众多, 寻找出与胰腺癌密切相关的miRNA, 并通过此靶点早期诊断及治疗胰腺癌是亟待研究的问题。

■ 相关报道

miR-143可能通过抑制靶基因KRAS的表达, 间接作用于miR-143所在序列的启动子, 减少miR-143的转录, 从而调控KRAS蛋白的表达; 而在KRAS突变的细胞中, miR-143的表达减少, 这减少了对靶基因KRAS的抑制作用, 从而通过调节下游的一系列反应而促进胰腺癌的发生。但胰腺癌的发生机制错综复杂, 且miR-143的靶基因种类较多, 具体的机制有待进一步的深入研究。

■ 创新盘点

miR-143在胰腺癌组织中的研究鲜有报道, 本文采用锁定核酸原位杂交的方法检测胰腺癌组织中的miR-143的表达情况, 该方法不仅可以提供miRNA在细胞和组织中表达的丰度以及定位信息, 且探针与靶miRNA有较好的亲和力, 敏感性、特异性较强, 能较真实的反映组织中的miR-143水平. 本文还通过生存分析发现miR-143与胰腺癌患者的预后相关.

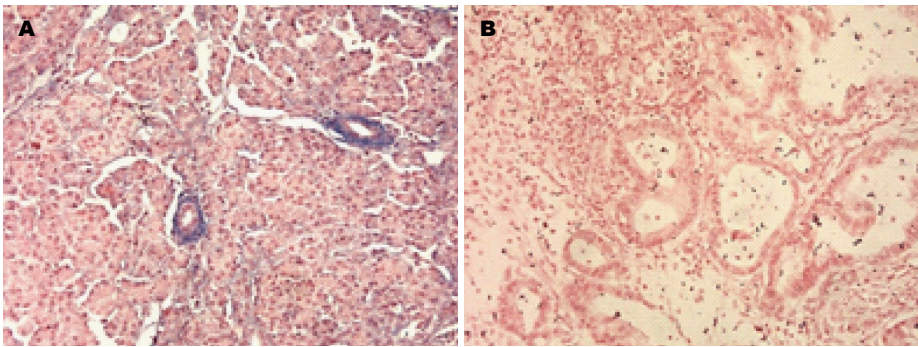


图 1 miR-143在癌旁组织和癌组织中的表达(×200). A: 癌旁组织; B: 癌组织. 蓝色为miR143阳性表达.

表 1 PDAC组织中miR-143的表达与肿瘤临床病理特征关系

临床参数	n	miR-143表达情况		χ^2 值	P值
		阴性表达	阳性表达		
性别				0.833	0.362
男	24	18	6		
女	46	34	12		
年龄(岁)				2.382	0.123
>60	42	30	12		
≤60	28	22	6		
肿瘤部位				0.962	0.327
体尾部	46	36	10		
胰头部	24	16	8		
病理分级				0.321	0.571
高中分化	48	36	12		
低分化	22	16	6		
TNM分期				1.361	0.243
I, II期	44	30	14		
III, IV期	26	22	4		
淋巴转移				4.024	0.045
有	32	28	4		
无	38	24	14		
远处转移				0.033	0.855
有	16	14	2		
无	54	38	16		

5-10 min, 梯度乙醇脱水、二甲苯透明后封片。
1.2.2 结果判定: 结果由2位病理科医师独立评分: 以胞浆蓝染为阳性细胞的判断标准, 每张片子在200倍显微镜下随机选取5个视野, 计算阳性细胞数的百分比及染色强度. 按照阳性细胞数百分比, 阴性即阳性细胞<5%, 阳性即阳性细胞数≥5%.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 阳性率的比较采用配对 χ^2 检验, 相关性采用Spearman相关分析, 生存情况以Kaplan-Meier曲线表示, 生存率比较采用Log-rank检

验. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 PDAC和癌旁组织中miR-143原位杂交结果 miR-143染色定位于细胞的胞浆中, 呈蓝色(图1). 结果显示, 癌组织中miR143的表达阳性率(25.71%, 18/70)低于癌旁组织(68.57%, 48/70), 差异有统计学意义($\chi^2 = 18.283, P = 0.001$).

2.2 PDAC中miR-143的表达与临床指标的关系 表1显示, 70例PDAC中miR-143的表达在年

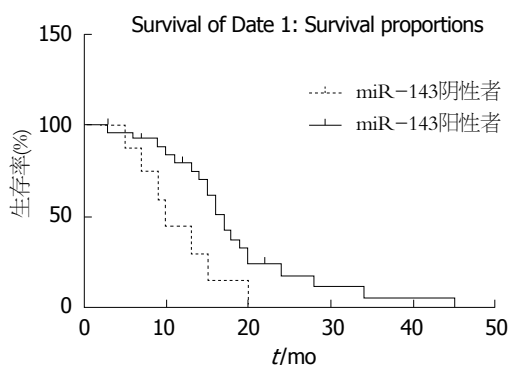


图2 miR-143的表达与胰腺癌患者生存时间的关系。

龄、性别、肿瘤部位、病理分级、TNM分期、远处转移均无显著相关性($P>0.05$), 但在是否有淋巴结转移间有显著差异($\chi^2 = 4.024$, $P = 0.045$).

2.3 miR-143表达与患者生存期的关系 将PDAC患者分为miR-143阴性组和阳性组, 进行生存分析显示, 癌组织中miR-143阳性组患者的预后优于阴性组(中位生存时间17 mo vs 10 mo, $P = 0.026$, 图2)。

3 讨论

MicroRNA(miRNA)是一种长度约22个核苷酸的内源性非编码单链RNA分子, 他们基于与靶mRNA的3'非编码区以互补配对的方式进行结合, 从而造成靶mRNA翻译的抑制和/或导致靶mRNA降解, 进而抑制基因的表达^[11]。大量研究^[12]显示, miRNA在细胞增殖、分化、发育和凋亡等方面起着重要的作用, 并参与肿瘤的发生发展。miRNAs的表达有很强的组织特异性, 表达谱与肿瘤类型相关, 不同种类的肿瘤具有不同的miRNAs表达谱。miRNA的表达水平及活性在不同组织及不同时间内表现出差异, 且肿瘤细胞的侵犯、转移以及血管生成等同样受miRNA调控^[13]。miRNA常以“一对多”的方式, 同时调控多条肿瘤进展相关分子通道, 所以从理论上讲, 靶向miRNA比传统肿瘤相关蛋白更能有效地控制、反转涉及多基因改变的肿瘤表型^[14]。

miR-143在多种肿瘤中的表达降低, Michael等^[15]首先报道了miR-143在结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌、淋巴瘤等恶性肿瘤细胞中低表达。更有研究者^[16]认为miR-143表达的降低很有可能是腺癌本身的特征。Chen等^[5]通过生物信息学筛选出miR-143的靶基

因*KRAS*, 并通过实验证实, miR-143和*KRAS*蛋白的表达与结肠癌的转移和预后相关。miR-143在结直肠癌Lovo细胞中的过表达可降低*KRAS*蛋白的表达, 从而抑制细胞的增殖; 相反, miR-143的低表达可使*KRAS*的表达增强, 从而促进细胞增殖。Kulda等^[17]对46例结直肠癌样本肿瘤和周围邻近正常组织中miR-143表达的研究发现, 肿瘤中miR-143表达下降; 同时, 这些患者中28例在术后进行了以氟尿嘧啶为基础联合其他化疗药物的规范化疗后发现, miR-143低表达的患者无病生存时间较短。过表达miR-143可降低结直肠癌HCT116细胞活性约60%, 联合应用抗肿瘤药物5-氟尿嘧啶可增加Caspase3、Caspase8、Caspase9活性和细胞核碎裂, 引起细胞死亡, 这一过程由细胞外调节蛋白激酶5/核因子- κ B(extracellular regulated protein kinases 5/nuclear factor- κ B, ERK5/NF- κ B)信号通路调控。以上研究结果提示, 单独使用或者联合应用miR-143和抗肿瘤药物有望成为未来新的肿瘤化疗方案。Clapé等^[18]报道miR-143在前列腺癌中表达亦明显下调, 此表达量与肿瘤类型呈负相关。miR-143的靶基因涉及抑癌基因*ERK5*^[18]、*Bcl-2*^[19]、*KRAS*^[5]、DNA甲基转移酶A2^[20]、大肠癌转移相关基因(metastasis-associated in colon cancer-1, *MACC1*)^[21]、*hexokinase*己糖激酶^[21]。

miR-143的失表达在许多类型的癌症中被报道, 包括胰腺癌, 而恢复miR-143的表达已被证明能阻止肿瘤再生^[22,23]。研究^[24]发现, 胰腺癌细胞系BXPC-3以及HPAF-II中miR-143呈低表达, 恢复miR-143的表达可抑制胰腺癌细胞系中环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 从而进一步阻止胰腺癌细胞的增殖。基础研究显示, *KRAS*基因突变的胰腺癌组织中miR-143的表达缺失或降低, 若恢复miR-143的表达, 肿瘤的形成可受到抑制^[25]。在胰腺癌中, miR-143的靶基因为*EGF1*、*EGF2*和*KRAS*, 其与肿瘤的侵袭和转移相关, 这提示miR143可能成为胰腺癌治疗的靶点^[26]。有研究者通过静脉注射含有miR-143的载体可减缓小鼠皮下胰腺癌MiaPaCa-2细胞移植物的生长, 若胰内注射, 则产生的减缓效应更为明显; 伴随着肿瘤生长的减慢还有凋亡的增加和增殖的抑制, 这一作用通过其靶基因*KRAS2*和RAS反应元件结合蛋白1(RREB1)实现^[4]。该研究结果为胰腺癌

应用要点

本研究通过锁定核酸原位杂交的方法检测出胰腺癌组织中的miR-143低表达, 且与不良预后相关, 为临床提供一种新的胰腺癌预后指标。另外, miR-143有可能成为治疗胰腺癌的一种新的辅助治疗靶点。

■名词解释

锁定核酸原位杂交(LNA-ISH): 是一种原位杂交的方法, 可以提供miRNA在细胞和组织中表达的定位信息以及miRNA表达的丰度。LNA单体是一个二环的高亲和RNA类似物, 其中核糖磷酸骨架的呋喃糖环由于引入了2'-O, 4'-O次亚基桥而被锁定在N构型, 从而增加了碱基的堆积及磷酸骨架的重组, 与靶分子杂交时可以提高杂化双链热稳定性, 与传统的DNA探针相比, 其检测成熟体miRNAs在有效性上至少提高了十倍。

的发病机制提供了新的认识。另有研究^[27]表明miR-143对人胰腺癌PANC-1细胞的迁移能力有抑制作用。

然而, 这些研究多从细胞或动物水平证实miR-143参与胰腺癌的发生发展, 关于miR-143在人胰腺癌组织中的研究鲜有报道, 因此本研究通过人PDAC癌组织和癌旁组织以研究胰腺癌患者中miR143的表达特点。miRNA能耐受核糖核酸酶的降解, 石蜡包埋组织中的miRNA水平基本不变, LNA-ISH不仅可以提供miRNA在细胞和组织中表达的丰度以及定位信息^[28], 且探针与靶miRNA有较好的亲和力, 敏感性及特异性较强。本研究应用LNA-ISH法检测人胰腺癌蜡块组织中miR-143的表达, 结果显示miR-143定位于胰腺癌及癌旁组织的细胞胞浆中, 胰腺癌组织中的miR-143的阳性率明显低于癌旁组织; 临床资料分析显示, 淋巴结转移者的miR-143阳性表达率降低, 无淋巴结转移者miR-143阳性表达率高, 这提示miR-143的表达缺失或下调与胰腺癌恶性生物学行为相关; 结合随访资料, 胰腺癌组织中miR-143的表达与患者术后的生存期呈正相关, 即阴性表达者, 平均生存期短, 阳性表达者, 平均生存期长, 这间接证实miR-143的表达水平可作为胰腺癌预后判断的指标。

*KRAS*突变的胰腺癌组织^[29]和胰腺癌细胞系^[30]中miR-143无表达或低表达, 若恢复miR-143的表达可抑制肿瘤的形成。我们推测miR-143可能通过抑制靶基因*KRAS*的表达, 间接作用于miR-143所在序列的启动子, 减少miR-143的转录, 从而调控*KRAS*蛋白的表达; 而在*KRAS*突变的细胞中, miR-143的表达减少, 这减少了对靶基因的抑制作用, 从而通过调节下游的一系列反应而促进胰腺癌的发生。但胰腺癌的发生机制错综复杂, 且miR-143的靶基因种类较多, 具体的机制有待进一步的深入研究。

总之, PDAC患者癌组织中miR-143呈低表达, 且与不良预后相关, 可能通过调节靶基因发挥功能, 这提示miR-143可成为研究胰腺癌发病机制的切入点之一, 且可能成为进行胰腺癌诊断、判断预后的新指标。

4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 5-29 [PMID: 25559415 DOI: 10.3322/caac.21254]

- 2 Tuveson DA, Neoptolemos JP. Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches. *Cell* 2012; 148: 21-23 [PMID: 22265397 DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.021]
- 3 Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2009; 7: 147-154 [PMID: 20172487 DOI: 10.1016/S1672-0229(08)60044-3]
- 4 Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
- 5 Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392 [PMID: 19137007 DOI: 10.1038/onc.2008.474]
- 6 Borralho PM, Simões AE, Gomes SE, Lima RT, Carvalho T, Ferreira DM, Vasconcelos MH, Castro RE, Rodrigues CM. miR-143 overexpression impairs growth of human colon carcinoma xenografts in mice with induction of apoptosis and inhibition of proliferation. *PLoS One* 2011; 6: e23787 [PMID: 21901135 DOI: 10.1371/journal.pone.0023787]
- 7 Xu B, Niu X, Zhang X, Tao J, Wu D, Wang Z, Li P, Zhang W, Wu H, Feng N, Wang Z, Hua L, Wang X. miR-143 decreases prostate cancer cells proliferation and migration and enhances their sensitivity to docetaxel through suppression of KRAS. *Mol Cell Biochem* 2011; 350: 207-213 [PMID: 21197560 DOI: 10.1007/s11010-010-0700-6]
- 8 Song T, Zhang X, Wang C, Wu Y, Dong J, Gao J, Cai W, Hong B. Expression of miR-143 reduces growth and migration of human bladder carcinoma cells by targeting cyclooxygenase-2. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 929-933 [PMID: 21790228]
- 9 Deftereos G, Corrie SR, Feng Q, Morihara J, Stern J, Hawes SE, Kiviat NB. Expression of mir-21 and mir-143 in cervical specimens ranging from histologically normal through to invasive cervical cancer. *PLoS One* 2011; 6: e28423 [PMID: 22194833 DOI: 10.1371/journal.pone.0028423]
- 10 Tavano F, di Mola FF, Piepoli A, Panza A, Copetti M, Burbaci FP, Latiano T, Pellegrini F, Maiello E, Andriulli A, di Sebastiano P. Changes in miR-143 and miR-21 expression and clinicopathological correlations in pancreatic cancers. *Pancreas* 2012; 41: 1280-1284 [PMID: 22836856 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31824c11f4]
- 11 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]
- 12 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460]
- 13 聂伟伟, 唐林, 韦凤, 陈龙邦, 张辰宇, 朱琳, 李冬海, 管晓翔. miR-144/451基因簇调控网络的生物信息学分析. *医学研究生学报* 2012; 25: 229-233
- 14 Kitade Y, Akao Y. MicroRNAs and their

- therapeutic potential for human diseases: microRNAs, miR-143 and -145, function as anti-oncomirs and the application of chemically modified miR-143 as an anti-cancer drug. *J Pharmacol Sci* 2010; 114: 276-280 [PMID: 20953119]
- 15 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]
 - 16 Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common onco-microRNAs in human cancers. *Oncol Rep* 2006; 16: 845-850 [PMID: 16969504]
 - 17 Kulda V, Pesta M, Topolcan O, Liska V, Treska V, Sutnar A, Rupert K, Ludvikova M, Babuska V, Holubec L, Cerny R. Relevance of miR-21 and miR-143 expression in tissue samples of colorectal carcinoma and its liver metastases. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 200: 154-160 [PMID: 20620599 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.01.015]
 - 18 Clapé C, Fritz V, Henriquet C, Apparailly F, Fernandez PL, Iborra F, Avancès C, Villalba M, Culine S, Fajas L. miR-143 interferes with ERK5 signaling, and abrogates prostate cancer progression in mice. *PLoS One* 2009; 4: e7542 [PMID: 19855844 DOI: 10.1371/journal.pone.0007542]
 - 19 Liu L, Yu X, Guo X, Tian Z, Su M, Long Y, Huang C, Zhou F, Liu M, Wu X, Wang X. miR-143 is downregulated in cervical cancer and promotes apoptosis and inhibits tumor formation by targeting Bcl-2. *Mol Med Rep* 2012; 5: 753-760 [PMID: 22160209 DOI: 10.3892/mmr.2011.696]
 - 20 Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J, Li JJ, Röcken C, Ebert MP, Kwok TT, Sung JJ. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 699-706 [PMID: 19638978 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605195]
 - 21 Zhang Y, Wang Z, Chen M, Peng L, Wang X, Ma Q, Ma F, Jiang B. MicroRNA-143 targets MACC1 to inhibit cell invasion and migration in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012; 11: 23 [PMID: 22533346 DOI: 10.1186/1476-4598-11-23]
 - 22 Fang R, Xiao T, Fang Z, Sun Y, Li F, Gao Y, Feng Y, Li L, Wang Y, Liu X, Chen H, Liu XY, Ji H. MicroRNA-143 (miR-143) regulates cancer glycolysis via targeting hexokinase 2 gene. *J Biol Chem* 2012; 287: 23227-23235 [PMID: 22593586 DOI: 10.1074/jbc.M112.373084]
 - 23 Yang Y, Chaerkady R, Kandasamy K, Huang TC, Selvan LD, Dwivedi SB, Kent OA, Mendell JT, Pandey A. Identifying targets of miR-143 using a SILAC-based proteomic approach. *Mol Biosyst* 2010; 6: 1873-1882 [PMID: 20544124 DOI: 10.1039/c00401f]
 - 24 Pham H, Rodriguez CE, Donald GW, Hertzner KM, Jung XS, Chang HH, Moro A, Reber HA, Hines OJ, Eibl G. miR-143 decreases COX-2 mRNA stability and expression in pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 439: 6-11 [PMID: 23973710 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.042]
 - 25 Kent OA, Chivukula RR, Mullendore M, Wentzel EA, Feldmann G, Lee KH, Liu S, Leach SD, Maitra A, Mendell JT. Repression of the miR-143/145 cluster by oncogenic Ras initiates a tumor-promoting feed-forward pathway. *Genes Dev* 2010; 24: 2754-2759 [PMID: 21159816 DOI: 10.1101/gad.1950610]
 - 26 Hu Y, Ou Y, Wu K, Chen Y, Sun W. miR-143 inhibits the metastasis of pancreatic cancer and an associated signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 1863-1870 [PMID: 23070684 DOI: 10.1007/s13277-012-0446-8]
 - 27 程文捷, 唐健, 黄凤婷, 庄燕妍, 陈文博, 张世能. 微小RNA-143对人胰腺癌PANC-1细胞迁移的抑制作用及其机制的探讨. *肿瘤* 2012; 32: 855-861
 - 28 Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E, Horvitz HR, Kauppinen S, Plasterk RH. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science* 2005; 309: 310-311 [PMID: 15919954]
 - 29 Sakahara H, Endo K, Nakajima K, Nakashima T, Koizumi M, Ohta H, Hidaka A, Kohno S, Nakano Y, Naito A. Serum CA 19-9 concentrations and computed tomography findings in patients with pancreatic carcinoma. *Cancer* 1986; 57: 1324-1326 [PMID: 3456252]
 - 30 Montgomery RC, Hoffman JP, Riley LB, Rogatko A, Ridge JA, Eisenberg BL. Prediction of recurrence and survival by post-resection CA 19-9 values in patients with adenocarcinoma of the pancreas. *Ann Surg Oncol* 1997; 4: 551-556 [PMID: 9367020]

同行评价

本文研究了miR-143在胰腺癌中的表达,并分析了miR-143与胰腺癌淋巴结转移、预后等临床特征参数间的相关性,具有一定的意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



胃肠道菌群与慢性萎缩性胃炎的关系概述

王圆圆, 刘雅楠, 唐天瀛, 祁琴, 吴焕淦, 黄任佳, 王晓梅

■背景资料

自1982年澳大利亚学者从慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)患者的胃黏膜中分离出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)开始, *H. pylori*一直成为研究CAG病因病机和治疗方法的关键因素。近年来越来越多的研究发现*H. pylori*的根除率受耐药性的影响已逐渐降低, 因此寻求新的治疗方法和药物已成为热点, 有益菌(乳酸杆菌和双歧杆菌)及其生物制剂能够有效的抑制*H. pylori*的增殖, 发挥抗炎作用。

王圆圆, 刘雅楠, 唐天瀛, 祁琴, 上海中医药大学岳阳临床医学院 上海市 201203

吴焕淦, 黄任佳, 王晓梅, 上海市针灸经络研究所 上海市 200030

王圆圆, 在读硕士, 主要从事针灸治疗胃肠疾病的临床与基础研究。

上海市卫计委中医药科研基金资助项目, No. 2014LP066A
国家自然科学基金资助项目, No. 81473758
上海市人才发展基金资助项目, No. 2014068
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2015CB554500

作者贡献分布: 论文写作由王圆圆完成; 文献检索由王圆圆与刘雅楠完成; 资料筛选与整理由唐天瀛、祁琴及黄任佳完成; 吴焕淦与王晓梅指导、审校。

通讯作者: 王晓梅, 副教授, 博士后, 硕士生导师, 200030, 上海市徐汇区宛平南路650号, 上海市针灸经络研究所。
wxm123@vip.sina.com
电话: 021-64381106

收稿日期: 2016-01-18
修回日期: 2016-01-29
接受日期: 2016-02-29
在线出版日期: 2016-04-08

Relationship between gastrointestinal flora and chronic atrophic gastritis

Yuan-Yuan Wang, Ya-Nan Liu, Tian-Ying Tang, Qin Qi, Huan-Gan Wu, Ren-Jia Huang, Xiao-Mei Wang

Yuan-Yuan Wang, Ya-Nan Liu, Tian-Ying Tang, Qin Qi, Yueyang Clinical Medical College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Huan-Gan Wu, Ren-Jia Huang, Xiao-Mei Wang, Shanghai Research Institute of Acupuncture-Moxibustion and Meridian, Shanghai 200030, China

Supported by: Scientific Research Fund of Traditional

Chinese Medicine of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, No. 2014LP066A; National Natural Science Foundation of China, No. 81473758; Shanghai Talent Development Fund, No. 2014068; National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2015CB554500

Correspondence to: Xiao-Mei Wang, Associate Professor, Shanghai Research Institute of Acupuncture-Moxibustion and Meridian, 650 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200030, China. wxm123@vip.sina.com

Received: 2016-01-18
Revised: 2016-01-29
Accepted: 2016-02-29
Published online: 2016-04-08

Abstract

Large amounts of intestinal flora are living in the gastrointestinal tract and have a close relationship with human health. The imbalance of gastrointestinal flora can lead to various gastrointestinal diseases, including chronic atrophic gastritis (CAG). CAG is a common gastrointestinal disease caused by a combination of many factors. In recent years, more and more studies have been performed to investigate the relationship between gastrointestinal flora and CAG. This paper summarizes their relationship in terms of the pathogenic mechanism and eradication of *Helicobacter pylori*, and the physiological function and anti-inflammatory mechanism of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, with an aim to help better understand the pathogenesis and clinical treatment of CAG.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal flora; Chronic atrophic gastritis; *Helicobacter pylori*; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*

■同行评议者

严兴科, 教授, 甘肃中医药大学针灸推拿学院, 甘肃省针灸推拿临床医学中心

Wang YY, Liu YN, Tang TY, Qi Q, Wu HG, Huang RJ, Wang XM. Relationship between gastrointestinal flora and chronic atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1526-1531 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1526>

摘要

胃肠道菌群寄居在人体胃肠道内, 数量较大、种类繁多, 与机体健康有着不可分割的联系, 当胃肠道菌群失调时, 就会引发各种胃肠道疾病。慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是一种常见的胃肠道疾病, 其发生发展是多种因素的综合作用所致, 近年来越来越多的学者研究胃肠道菌群与CAG的关系。本文拟从幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)的致病机制及其根除治疗, 以及乳酸杆菌和双歧杆菌的生理作用和抗炎机制等方面对胃肠道菌群与CAG的关系作一简要概述, 以期对CAG的发病机制和临床治疗有进一步的认识。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道菌群; 慢性萎缩性胃炎; 幽门螺杆菌; 乳酸杆菌; 双歧杆菌

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)的主要致病因素, *H. pylori*能破坏黏液层而定居在胃上皮细胞表面, 破坏胃上皮细胞而成为致病因子, 引发各种急慢性胃炎; 而乳酸杆菌和双歧杆菌能及其分泌物能有效的抑制*H. pylori*的增殖, 降低炎症反应, 从而起到抗炎的作用。本文就*H. pylori*的致病机制及其根除治疗, 乳酸杆菌和双歧杆菌的抗炎机制进行重点阐述。

王圆圆, 刘雅楠, 唐天瀛, 祁琴, 吴焯淦, 黄任佳, 王晓梅. 胃肠道菌群与慢性萎缩性胃炎的关系概述. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1526-1531 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1526>

0 引言

胃肠道菌群种类庞大, 数量繁多, 是人体细胞总数的10倍^[1], 他们帮助机体消化食物, 分解毒素, 合成多种人体生长发育必须的一些维生素和必需氨基酸, 并参与糖类和蛋白质的代谢, 抵御入侵者, 调节机体免疫功能, 对人类

的健康有着极其重要作用。胃肠道菌群大致可分为有益菌、有害菌和中性菌。有益菌, 也称为益生菌, 主要是各种双歧杆菌、乳酸杆菌等, 是人体健康不可缺少的要素, 可以合成各种维生素, 参与食物的消化, 促进肠道蠕动, 抑制有害菌和致病菌群的生长, 分解有害、有毒物质等。中性菌, 即具有双重作用的细菌, 如大肠杆菌、肠球菌等, 在正常情况下对健康有益, 一旦增殖失控, 或从肠道转移到身体其他部位, 就可能引发许多健康问题。菌群平衡遭到破坏会引起慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)等各种胃肠道疾病。其发生发展与饮食、自身免疫、胆汁反流、家族遗传及幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染等多种因素有关, 其中*H. pylori*感染是主要致病因素^[2]。*H. pylori*是CAG相关的常见的有害菌, 他主要寄生在胃黏膜组织, 是导致萎缩性胃炎的主要致病因素, 有益菌为双歧杆菌和乳酸杆菌, 可以抑制*H. pylori*的增殖, 降低炎症反应, 发挥抗炎作用。本文拟对*H. pylori*的致病机制及其根除治疗, 以及乳酸杆菌和双歧杆菌的生理作用和抗炎机制等方面对胃肠道菌群与CAG的关系作一简要概述, 以期对CAG的发病机制和临床治疗有更进一步的认识。

1 *H. pylori*与CAG

1.1 *H. pylori*的致病机制 *H. pylori*是由澳大利亚学者1982年从慢性胃炎患者的胃黏膜中分离出来, *H. pylori*是一种寄居在胃黏膜上皮表面的革兰氏阴性菌, 电镜下观察有4-6条带鞘鞭毛, 光镜下呈S型, 其鞭毛首先和胃黏膜表面的黏液层发生亲和性吸附作用, 然后再借助螺旋状结构的自由活动, 最后通过表面的网状结构与胃黏膜上皮细胞密切结合。*H. pylori*可与胃黏膜上皮特异性受体结合, 使之受到刺激而兴奋, 钙离子由细胞膜外进入膜内, 激发细胞内的微丝等结构, 使黏液与细胞接近并融合, 将分泌物排出, 黏液颗粒遂排放并逐渐减少, 使黏液屏障功能减弱^[3]。另外, 有研究^[4]表明, *H. pylori*能破坏黏液层而定居在胃上皮细胞表面, 破坏胃上皮细胞而成为致病因子, 从而引起各种急慢性胃炎。据调查显示^[5-7], 正常人群中*H. pylori*的感染率在50%以上, *H. pylori*的感染率与年龄、饮食及家族胃病史有关, 18-25年龄阶段的成人*H. pylori*的感染率较低, 而46-55

■ 研究前沿

近年来很多学者研究发现胃肠道菌群在CAG的发生发展中起着重要的作用, *H. pylori*是CAG最主要的致病因素, 乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌能抑制*H. pylori*的增殖, 有很好的抗炎作用, 但其抗炎机制尚不完全清楚, 仍需进一步研究。

■ 相关报道

苏国娟等认为CAG的发病机制之一为*H. pylori*感染后可诱导高表达叉头蛋白3的调节性T细胞, 肿瘤生长因子- β 1与白介素-10的表达上调, 使胃黏膜局部的免疫力下降, 从而更有利于*H. pylori*感染, 使胃酸分泌发生变化。赵东等研究发现益生菌可以降低炎症因子如白介素-8和干扰素-1的水平。

岁中老年人的感染率较高; 高盐饮食, 饮食偏私嗜, 长期饮用不洁净水以及有胃炎及慢性胃炎家族史的人感染率较高。谢洋均等^[8]研究认为在胃黏膜病变组织中随病变的进展*H. pylori*感染阳性率呈逐渐增高的趋势。苏国娟等^[9]认为*H. pylori*感染后, 可诱导高表达叉头蛋白3(fork head3, Foxp3)的调节性T细胞(regulatory cell, Treg), 肿瘤生长因子- β 1(tumor growth factor- β 1, TGF- β 1)与白介素-10(interleukin-10, IL-10)的表达上调而使机体胃黏膜局部的免疫力下降, 从而更有利于*H. pylori*的感染。研究^[10,11]表明,*H. pylori*感染可抑制壁细胞的泌酸功能,*H. pylori*感染后胃酸分泌发生变化也可能是其中机制之一。李凤斐等^[12]认为*H. pylori*对细胞泌酸功能的抑制作用是通过下调壁细胞 H^+-K^+-ATP 酶的基因表达实现的。还有研究显示^[13,14], 人体血清生长激素素(ghrelin)的水平受*H. pylori*感染程度的影响, 但*H. pylori*对CAG患者ghrelin水平的影响研究结果尚不一致, 张颖等^[15]认为慢性胃炎患者中*H. pylori*感染者的ghrelin水平较非*H. pylori*感染者的显著降低; 而Cindoruk等^[16]的研究则认为*H. pylori*感染对CAG患者的ghrelin水平没有明显影响。

1.2 根除*H. pylori*治疗 根除*H. pylori*的首选方案是标准三联疗法(质子泵抑制剂联合阿莫西林、克拉霉素或甲硝唑), 但近年来由于克拉霉素和甲硝唑的耐药性不断升高, 从而导致治疗效果明显下降, 寻求新的治疗方法及药物成为研究的热点。孙月梅^[17]研究发现, 采用洛赛克联合标准三疗法治疗CAG的*H. pylori*的根除率优于标准三联疗法。徐杲等^[18]采用标准三联疗法+益生菌治疗CAG的总有效率明显优于单纯的标准三联疗法。序贯疗法也是CAG的新疗法之一, 陈羽等^[19]和刘秋香等^[20]采用序贯疗法治疗CAG, 结果发现CAG治疗组的总有效率明显高于对照组传统三联疗法。郭广英等^[21]采用标准三联疗法加服三仁汤合连朴饮加减的方法, 研究表明CAG治疗组的总有效率明显高于对照组。张万岱^[22]认为常用的铋剂二联、三联治疗CAG, 虽然效果不错, 但治疗时间长, 抗生素易产生不良反应, 故选用克拉霉素, 甲硝唑或替硝唑和奥拉美唑三联疗法治疗1 wk, *H. pylori*的根除率可达90%-100%。

菌科, 菌体通常呈细长杆状, 无芽孢和荚膜, 适合生存于30℃-43℃的环境中。乳酸杆菌耐酸性强, 可在酸性环境下正常生长, 是目前公认的益生菌, 也是人和动物口腔、消化道和阴道的正常菌群的重要组成成员^[23-25]。乳酸菌对人体的作用包括: (1)调节人体的微生态平衡, 抑制病原菌的生长^[26]; (2)提高机体的免疫力; (3)合成多种维生素, 促进营养物质的吸收^[27]; (4)参与肠膜菌群的构成, 乳酸杆菌自身的某些特殊结构能够与肠乳膜细胞的受体发生紧密结合, 致使外来致病菌不能定植和入侵^[28]; (5)代谢产生大量的有机酸, 可以减少毒素和代谢产物的吸收。

2.2 乳酸杆菌的抗炎作用机制 乳酸杆菌是目前研究最为广泛的一种益生菌, 大量研究表明乳酸杆菌可以抑制*H. pylori*的增殖, 抑制特性呈菌株依赖性, 即不同菌种的乳酸杆菌对*H. pylori*的抑制活性不同^[29,30]。Maassen等^[31]观察肠系膜中的8种不同的乳酸菌菌株水平与炎症因子表达的关系, 发现致炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)和IL-2的表达随着肠黏膜乳酸杆菌水平的升高而下降。另外, 研究^[32]发现乳酸杆菌的某些菌株, 如嗜酸乳杆菌CRL639、LB、NAS和DDS-1株以及*L. johnsonii* La1、*L. salivarius* WB 1004株及其代谢产物能抑制或杀灭*H. pylori*。目前对乳酸杆菌在人体内抑制*H. pylori*增殖的机制并不是完全清楚, 分析其可能的机制如下: (1)乳酸杆菌分泌的代谢产物有机酸可通过三羧酸循环使*H. pylori*失去生长繁殖所必需的能量, 从而抑制*H. pylori*的增殖^[33]; (2)*H. pylori*可通过黏附于胃黏膜上皮细胞对胃黏膜层造成损害, 而乳酸杆菌对胃上皮细胞有高度亲和力, 通过阻碍或抑制*H. pylori*对胃上皮细胞的黏附作用^[34], 减弱*H. pylori*对人体的炎性作用^[35]; (3)致病因子氨和二氧化碳是由尿素酶分解尿素产生的, 而乳酸杆菌可抑制尿素酶的活性。但王传芳等^[36]研究结果发现, 胃内自然存在的乳酸杆菌对体内*H. pylori*感染无明显作用。其原因可能为: (1)由于胃内自然存在的乳酸杆菌数量很少, 其代谢产物还不足以使*H. pylori*在体内的生长得到抑制^[37,38]; (2)并不是所有种类的乳酸杆菌及其菌株对*H. pylori*的生长都起抑制作用。

2 乳酸杆菌与CAG

2.1 乳酸杆菌的益生作用 乳酸杆菌属于乳酸杆

3 双歧杆菌与CAG

3.1 双歧杆菌的益生作用 双歧杆菌(*Bifidobacterium*)

是由法国学者于1899年从母乳营养儿的粪便中分离出来的, 厌氧的革兰氏阳性菌, 呈现L形、V形和Y形等多种^[39]。在胃肠道的数量随着年龄的增长而减少, 婴儿体内的双歧杆菌占肠道菌群总数的60%, 而60岁以上老人体内的双歧杆菌只占7.9%。

双歧杆菌的主要生理功能: (1)能够改善胃肠道菌群。菌群失调尤其是双歧杆菌大量减少可以导致肠道功能减退, 引起持续性和复发性感染, 肠道内适宜的双歧杆菌可以抑制病原体的致病作用, 一方面双歧杆菌能够阻止长期定居的侵入性病原体的影响; 另一方面双歧杆菌具有广谱抗菌物质, 对普通沙门菌属、李斯特菌属、志贺菌属都有抑制作用^[40]; (2)能够促进消化吸收。双歧杆菌合成的维生素和氨基酸, 提高钙离子的吸收, 促进胃肠道的消化吸收功能。其主要的原因为双歧杆菌和其他厌氧菌能够使被寄居体部位的pH和氧化还原电势(Eh)下降, 有利于二价铁和维生素D及钙的吸收^[41]; (3)润肠通便的作用。双歧杆菌产生的醋酸和乳酸能够促进肠道蠕动, 从而起到润肠通便的作用; (4)免疫调节作用。双歧杆菌可以使贴壁细胞激活分化, 分泌一种可溶性的因子, 刺激机体的免疫系统, 使B淋巴细胞的增殖分化, 参与免疫调节反应^[41]; (5)抗肿瘤的作用。人体肠道内的拟杆菌、梭状芽胞杆菌等腐生菌在代谢的过程中可产生致癌物质, 而益生菌如双歧杆菌可以通过使致癌物质失活、调节免疫等途径起到抑制肿瘤的功效^[42]。另外, 双歧杆菌可与胃肠上皮细胞密切接触, 构成胃肠道的定植抗力, 有序地定植在胃肠黏膜表面, 形成生物屏障, 从而阻止了致病菌和条件致病菌的定植和入侵。

3.2 双歧杆菌的抗炎作用 双歧杆菌的抗炎机制可能: (1)通过产生有机酸来阻碍*H. pylori*与胃黏膜的黏附作用, 从而可以起到抑制*H. pylori*生长繁殖的作用^[43]; (2)可以抑制*H. pylori*感染后的炎症反应, 徐桂芳等^[44]研究发现益生菌可以降低炎症因子如IL-8和干扰素(interferon, IFN)-1的水平。双歧杆菌四联活菌片具有黏附胃黏膜上皮细胞的能力, 对胃肠道微生态平衡至关重要。有研究^[45]表明CAG患者服用双歧杆菌四联活菌片后, ¹³C呼吸实验检验其*H. pylori*指数呈持续下降的趋势。唐捷等^[46]研究表明传统的三联疗法的*H. pylori*根除率不理想, 而联

合双歧杆菌三联活菌胶囊时, 根除率显著增高。双歧杆菌三联活菌胶囊复方制剂的主要成分为肠道益生菌, 这些益生菌主要包括长型双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和粪肠球菌, 其中嗜酸性乳杆菌具有较强的耐酸性、对多种抗生素有耐药性。现代药理研究表明双歧杆菌三联活菌片具有改善肠道菌群失调引起的腹泻、便秘、胃部疾病、厌食、消化不良等症状的作用, 还可以提高机体免疫力和合成维生素^[47-49]。金花善等^[50]实验中的B1组用单纯的四联疗法, B2组在四联疗法的基础上加用双歧杆菌, 治疗结果发现两者的*H. pylori*根除率分别为76.7%和94.7%, 两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。莫雅娴^[51]将临床患者按奇偶数随机分为对照组和治疗组, 对照组用单纯的三联疗法进行治疗, 治疗组则在对照组治疗的基础上联合双歧杆菌乳杆菌三联活菌片, 结果对照组的总有效率为84.0%, 治疗组的为96.7%, 两者差异显著有统计学意义($P<0.05$)。

近年来双歧杆菌活菌制剂日益增多, 而有关双歧杆菌的基础研究仍相对薄弱。国内外对双歧杆菌正进行着更深入的研究, 定植机制是其热点之一。双歧杆菌黏附于肠道细胞上后通过改变肠道微环境而发挥定植作用^[52], 这是双歧杆菌定植的前提条件。双歧杆菌是通过黏附素发挥黏附作用的, 黏附作用受菌种、宿主自身条件的影响^[53], 而目前关于黏附素的认知尚不统一, 主要有脂磷壁酸说、黏附蛋白说和表面分子说等^[52]。

4 结论

正常情况下胃肠道菌群维系着人体的健康, 但当菌群失调时则会引发CAG等胃肠道疾病。*H. pylori*感染是最主要的致病因素, 因此提高*H. pylori*的根除率在临床治疗中尤为重要, 由于耐药性不断增强, 传统三联疗法的治疗效果明显下降, 而益生菌及其生物制剂能够有效的抑制*H. pylori*的生长增殖, 降低炎症反应, 且无耐药性, 可为CAG的防治提供一种新的治疗思路。

5 参考文献

- 1 Tomasello G, Bellavia M, Palumbo VD, Gioviale MC, Damiani P, Lo Monte AI. From gut microflora imbalance to mycobacteria infection: is there a relationship with chronic intestinal inflammatory diseases? *Ann Ital Chir* 2011; 82: 361-368 [PMID: 21988043]

■创新盘点

本文从胃肠道菌群与CAG的关系出发, 重点阐述与CAG发病密切相关的*H. pylori*的致病机制和根除治疗, 以及胃肠道常见益生菌乳酸杆菌和双歧杆菌的生理作用和抗炎机制, 对进一步认识CAG的发病机制和临床治疗提供一些新的启示。

应用要点

胃肠道菌群失调在胃肠疾病发生发展中的作用越来越受到关注。近年来有关胃肠道菌群在CAG发病中的作用机制研究也取得了一些进展, 本文重点阐述了*H. pylori*的致病机制及乳酸杆菌和双歧杆菌的抗炎机制, 为进一步开展胃肠道菌群在CAG发病机制和临床治疗中的研究提供新方向。

- 2 林根友, 谢海萍. 慢性萎缩性胃炎胃镜下不同病理改变与幽门螺杆菌感染的关系. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 2400-2402
- 3 李萍, 张玉兰, 王宝西. 儿童幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的研究进展. 医学信息 2003; 16: 97-98
- 4 Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 187-194 [PMID: 14722144]
- 5 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国幽门螺杆菌科研协作组. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 265-270
- 6 Porras C, Nodora J, Sexton R, Ferreccio C, Jimenez S, Dominguez RL, Cook P, Anderson G, Morgan DR, Baker LH, Greenberg ER, Herrero R. Epidemiology of Helicobacter pylori infection in six Latin American countries (SWOG Trial S0701). *Cancer Causes Control* 2013; 24: 209-215 [PMID: 23263777 DOI: 10.1007/s10552-012-0117-5]
- 7 郑奕. 成年体检人群幽门螺杆菌感染的相关因素. 世界华人消化杂志 2015; 23: 5412-5416
- 8 谢洋均, 王昌雄. 胃癌和胃癌病变中幽门螺杆菌及环氧化酶-2和p53的表达及相关性研究. 中国中西医结合消化杂志 2014; 22: 122-123
- 9 苏国娟, 郭彦言. 胃黏膜细胞中FoxP3、TGF- β 1、IL-10的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人杂志 2014; 22: 131-133
- 10 Smolka AJ, Backert S. How Helicobacter pylori infection controls gastric acid secretion. *J Gastroenterol* 2012; 47: 609-618 [PMID: 22565637 DOI: 10.1007/s00535-012-0592-1]
- 11 Saha A, Hammond CE, Beeson C, Peek RM, Smolka AJ. Helicobacter pylori represses proton pump expression and inhibits acid secretion in human gastric mucosa. *Gut* 2010; 59: 874-881 [PMID: 20581234 DOI: 10.1136/gut.2009.194795]
- 12 李凤斐, 度维桓, 杨桂彬. ATP4B在不同程度胃黏膜病变中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 北京医学 2014; 36: 12-14
- 13 Osawa H. Ghrelin and Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6327-6333 [PMID: 19009647 DOI: 10.3748/wjg.14.6327]
- 14 Chuang CH, Sheu BS, Yang HB, Lee SC, Kao AW, Cheng HC, Chang WL, Yao WJ. Gender difference of circulating ghrelin and leptin concentrations in chronic Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2009; 14: 54-60 [PMID: 19191897 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00653.x]
- 15 张颖, 齐凤祥, 张志广. 根除幽门螺杆菌对慢性胃炎患者生长激素调素水平的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2951-2955
- 16 Cindoruk M, Yetkin I, Deger SM, Karakan T, Kan E, Unal S. Influence of H pylori on plasma ghrelin in patients without atrophic gastritis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1595-1598 [PMID: 17461454 DOI: 10.3748/wjg.v13.i10.1595]
- 17 孙月梅. 用洛赛克对合并幽门螺杆菌感染的慢性胃炎患者进行治疗的效果分析. 当代医药论丛 2015; 13: 271-272
- 18 徐杲, 华娴, 华婷琰, 陆雯. 标准三联疗法联合益生菌治疗幽门螺杆菌相关慢性胃炎的疗效. 山西医药杂志 2015; 44: 2470-2472
- 19 陈羽, 吴礼浩, 何兴祥. 中国序贯疗法与三联疗法治疗幽门螺杆菌感染荟萃分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3365-3369
- 20 刘秋香, 牛福玉. 新序贯疗法与三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性萎缩性胃炎的疗效对比. 中国疗养医学 2015; 24: 1194-1195
- 21 郭广英, 郝亚杰, 姜瑞琴, 卢干. 中西医结合治疗幽门螺杆菌感染慢性胃炎. 内蒙古医学杂志 2014; 46: 477-479
- 22 张万岱. 中西医结合提高幽门螺杆菌根除率的探讨. 医学与哲学 2012; 33: 12-13
- 23 吕琼. 乳酸杆菌免疫作用的研究进展. 国际检验医学杂志 2009; 30: 54-56
- 24 Ritchie LE, Steiner JM, Suchodolski JS. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 2008; 66: 590-598 [PMID: 19049654 DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00609.x]
- 25 蒲瑞雪, 郭红, 廖亚玲, 邹全明, 郭刚. 幽门螺杆菌对胃内正常菌群结构的影响. 第三军医大学学报 2010; 32: 450-453
- 26 Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66: 365-378 [PMID: 2666378]
- 27 Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 4573-4580 [PMID: 9797324]
- 28 Coconnier MH, Liévin V, Bernet-Camard MF, Hudault S, Servin AL. Antibacterial effect of the adhering human Lactobacillus acidophilus strain LB. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1046-1052 [PMID: 9145867]
- 29 Boonyaritichai S, Kuwabara K, Nagano J, Kobayashi K, Koga Y. Long-term administration of probiotics to asymptomatic pre-school children for either the eradication or the prevention of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2009; 14: 202-207 [PMID: 19702850 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00675.x]
- 30 Cui Y, Wang CL, Liu XW, Wang XH, Chen LL, Zhao X, Fu N, Lu FG. Two stomach-originated Lactobacillus strains improve Helicobacter pylori infected murine gastritis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 445-452 [PMID: 20101769 DOI: 10.3748/wjg.v16.i4.445]
- 31 Maassen CB, van Holten-Neelen C, Balk F, den Bak-Glashouwer MJ, Leer RJ, Laman JD, Boersma WJ, Claassen E. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered Lactobacillus strains. *Vaccine* 2000; 18: 2613-2623 [PMID: 10775795 DOI: 10.1016/S0264-410X(99)00378-3]
- 32 Hamilton-Miller JM. The role of probiotics in the treatment and prevention of Helicobacter pylori infection. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22: 360-366 [PMID: 14522098]
- 33 Kitahara CM, Platz EA, Beane Freeman LE, Black A, Hsing AW, Linet MS, Park Y, Schairer C, Berrington de González A. Physical activity, diabetes, and thyroid cancer risk: a pooled analysis of five prospective studies. *Cancer Causes Control* 2012 Feb 1. [Epub ahead of print] [PMID: 22294499 DOI: 10.1007/s10552-012-9896-y]
- 34 Kim JE, Kim MS, Yoon YS, Chung MJ, Yum DY. Use of selected lactic acid bacteria in the eradication of Helicobacter pylori infection. *J*

- Microbiol* 2014; 52: 955-962 [PMID: 25277407 DOI: 10.1007/s12275-014-4355-y]
- 35 Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, Takagi A, Koga Y. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2097-2101 [PMID: 9820379 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00600.x]
 - 36 王传芳, 苏艳华, 杨南, 董全江, 王莉莉, 江曼, 战淑惠. 人胃粘膜乳酸杆菌与幽门螺杆菌感染的相关性. *现代生物医学进展* 2012; 12: 2937-2939
 - 37 Lorca GL, Wadström T, Valdez GF, Ljungh A. *Lactobacillus acidophilus* autolysins inhibit *Helicobacter pylori* in vitro. *Curr Microbiol* 2001; 42: 39-44 [PMID: 11116395]
 - 38 Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthésy-Theulaz I. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (johnsonii) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion* 1999; 60: 203-209 [PMID: 10343133 DOI: 10.1159/000007660]
 - 39 Grill JP, Crociani J, Ballongue J. Characterization of fructose 6 phosphate phosphoketolases purified from *Bifidobacterium* species. *Curr Microbiol* 1995; 31: 49-54 [PMID: 7767228]
 - 40 Djouzi Z, Andrieux C, Pelenc V, Somarriba S, Popot F, Paul F, Monsan P, Szylit O. Degradation and fermentation of alpha-gluco-oligosaccharides by bacterial strains from human colon: in vitro and in vivo studies in gnotobiotic rats. *J Appl Bacteriol* 1995; 79: 117-127 [PMID: 7592106]
 - 41 刘辉, 周迪, 刘文波, 张供岭, 柴同杰. 双歧杆菌的研究与应用. *山东家禽* 2002; 3: 36-38
 - 42 吕锡斌, 何腊平, 张汝娇, 李翠芹, 张玲, 朱秋劲. 双歧杆菌生理功能研究进展. *食品工业科技* 2013; 34: 353-358
 - 43 张洪涛, 卞煜锋, 张晓海, 姚敏, 施惠娟. 复方嗜酸乳杆菌片、双歧杆菌三联活菌胶囊配伍四联疗法根除幽门螺杆菌的临床研究. *中国中西医结合消化杂志* 2015; 23: 581-585
 - 44 徐桂芳, 赵东, 邹晓平. 益生菌对幽门螺杆菌感染幽门螺杆菌的C57BL/6小鼠胃粘膜IL-8、IFN-1以及IL-4、IL-10的调节效应. *胃肠病学* 2012; 17: 271-275
 - 45 袁春明. 奥美拉唑联合克拉霉素治疗慢性胃炎临床疗效探讨. *按摩与康复医学* 2012; 3: 94-95.
 - 46 唐捷, 龙云, 苏强, 夏小燕, 张惠. 4种方案治疗幽门螺杆菌感染的疗效比较. *临床医药* 2015; 24: 119-120
 - 47 孙丽群. 双歧杆菌四联活菌片联合埃索美拉唑、阿莫西林、克拉霉素治疗幽门螺杆菌感染的临床研究. *临床消化病杂志* 2012; 24: 101-102
 - 48 余倩, 周蓉, 裴晓方, 刘衡川, 王国庆, 汪川, 林怡伶, 张玲琳, 苗俊杰. 双歧杆菌活菌液对肠道菌群调节效果的研究. *现代预防医学* 2008; 35: 4038-4039
 - 49 林麦连. 三联疗法联合双歧杆菌对幽门螺杆菌感染的消化性溃疡的治疗作用分析. *中国医学创新* 2011; 8: 163-164
 - 50 金花善, 李勋, 蔡英茂. 双歧杆菌四联活菌联合三联及四联疗法对幽门螺杆菌根除率的分析. *中外医疗* 2014; 33: 100-101
 - 51 莫雅娴. 益生菌联合三联疗法治疗幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的临床效果. *中国医药导报* 2015; 12: 122-125
 - 52 李航, 赵国华, 阚建全, 陈宗道. 双歧杆菌在肠道中定植机理的研究进展. *食品与发酵工业* 2004; 30: 67-70
 - 53 王长文, 张岚, 马洪波. 双歧杆菌对肠黏膜粘附及免疫调节功能的研究进展. *吉林医药学院学报* 2010; 31: 42-45

同行评价

本文通过文献分析探讨了胃肠道菌群中比较常见的几种细菌与CAG发病的关系, 认为主要致病因素为 *H. pylori* 感染; 而双歧杆菌和乳酸杆菌均为有益菌, 可以抑制 *H. pylori* 的增殖, 降低炎症反应. 该论文研究资料翔实, 立论充分, 研究结果对认识CAG的发病机制具有较好的科学意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



肝纤维化的影像学评价方法及研究进展

袁宇

■背景资料

我国肝脏疾病高发, 各种慢性肝病都会经过肝纤维化阶段并最终发展成为肝硬化。肝纤维化阶段如采取有效治疗可以延缓病程, 甚至发生逆转。如何准确有效地评估肝纤维化程度对于指导治疗有重要意义。随着各种新技术的应用, 影像学方法在肝纤维化的评价中起到越来越重要的作用。

袁宇, 天津医院超声科 天津市 300211

袁宇, 副主任医师, 主要从事腹部、血管等超声诊断方向的研究。

天津市卫计委基金资助项目, No. 2013KZ068

作者贡献分布: 本文综述由袁宇完成并审核。

通讯作者: 袁宇, 副主任医师, 300211, 天津市河西区解放南路406号, 天津医院超声科. pang5466@sina.com

收稿日期: 2016-02-13

修回日期: 2016-02-27

接受日期: 2016-03-08

在线出版日期: 2016-04-08

Imaging methods for evaluation of liver fibrosis

Yu Yuan

Yu Yuan, Department of Ultrasound, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

Supported by: Tianjin Health Development Planning Commission Funded Projects, No. 2013KZ068

Correspondence to: Yu Yuan, Associate Chief Physician, Department of Ultrasound, Tianjin Hospital, 406 Jiefang South Road, Hexi District, Tianjin 300211, China. pang5466@sina.com

Received: 2016-02-13

Revised: 2016-02-27

Accepted: 2016-03-08

Published online: 2016-04-08

Abstract

Liver fibrosis is a development stage of various chronic liver diseases. Since liver fibrosis is still a reversible process, the development of irreversible cirrhosis can be delayed or prevented

if the patient is early diagnosed and receives timely and effective treatment. Therefore, how to accurately, effectively and easily evaluate the severity of liver fibrosis remains a clinical problem to be solved. Ultrasound, CT and MRI are common examinations for hepatic lesions. Imaging examinations can non-invasively and accurately evaluate the degree of liver fibrosis. With the development and application of new imaging technologies, flexible technology has been widely applied in the assessment of liver fibrosis. This article reviews the application of various imaging modalities, especially elastic technology, for assessment of hepatic fibrosis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Liver stiffness; Elastography; Ultrasonography; Magnetic resonance elastography

Yuan Y. Imaging methods for evaluation of liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1532-1538
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1532.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1532>

摘要

肝纤维化是各种慢性肝病发展的必经阶段。肝纤维化尚属可逆的过程, 早期诊断与及时有效治疗可延缓或避免发展成为不可逆的肝硬化阶段。因此, 如何准确、有效、简便地评价肝纤维化的严重程度成为临床亟待解决的难题。超声、CT、核磁共振成像都是肝脏病变的常用检查手段, 影像学检查可以比较准确的无创性评估肝纤维化程度, 随着新技术的发展与应用, 弹性技术在肝纤维化

■同行评议者

曾宪春, 副主任医师, 贵州省人民医院影像科

评估中得到广泛应用. 本文就影像学评估肝纤维化的方法, 尤其是弹性技术的应用进展进行综述.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝纤维化; 肝脏硬度; 弹性; 超声检查; 磁共振弹性成像

核心提示: 各种影像学检查方法可以比较准确地评估肝纤维化的严重程度. 随着各种新技术的开发应用, 尤其是弹性技术的应用, 丰富了影像学的内涵, 拓展了应用范围, 可以准确地评价肝脏自身硬度的变化, 具有重要的应用价值.

袁宇. 肝纤维化的影像学评价方法及研究进展. 世界华人消化杂志. 2016; 24(10): 1532-1538 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1532>

0 引言

肝纤维化是各种不同病因的慢性肝脏疾病发展的共同病理结局, 继而渐进性地发展为肝硬化. 如能采取有效措施, 肝纤维化可被逆转, 但若诊疗不及时, 则会发展成为不可逆的肝硬化^[1]. 因此, 肝纤维化程度的准确评价对于慢性肝病患者疾病发展程度判断和治疗具有重要意义. 目前国际通用Metavia评分方法将肝纤维化分为F0-F4共五级. 肝脏穿刺活检仍然是临床检测肝纤维化程度的“金标准”, 但作为有创性检查有一定的局限性, 另外肝纤维化是一个动态过程, 反复穿刺来动态观察变化并不可行. 因此, 无创诊断肝纤维化成为许多学者的研究目标, 也是患者和临床的迫切需求. 本文对肝纤维化的影像学评价方法及研究进展进行简要综述.

1 常规超声技术对肝纤维化的评价

普通二维超声主要用于检查肝脏形态学变化, 当早期肝纤维化尚未发展到肝硬化阶段时, 由于没有明确的形态学改变, 声像图不易辨别. 彩色多普勒和频谱多普勒超声可以通过分析肝动脉、门静脉、脾静脉血流流速曲线来反映血流动力学变化, 并在一定程度上反映肝纤维化程度, 但对明确肝纤维化分级不够可靠, 重复性较低. 因此临床工作中普通超声不用于评价肝纤维化.

肝脏纤维化时, 肝内外血流动力学和微循环发生改变. 由于肝内阻力增高, 肝动脉、门静脉血液绕过肝血窦直接进入肝静脉系统. 造影剂微泡可作为示踪剂反映肝脏微循环的这一改变, 主要表现为造影剂通过肝循环的时间缩短. Li等^[2]报道随着肝纤维化的进展, 肝内渡越时间和造影剂在肝实质及门静脉内的达峰强度逐渐减小. 肝动脉-肝静脉渡越时间和门静脉-肝静脉渡越时间预测F2级肝纤维化的准确率分别为89.3%和92.6%; 预测肝硬化的准确率分别为72.1%和87.7%. Sugimoto等^[3]发现超声造影可明确区分F1与F2-4期、F1-2与F3-4期的肝纤维化, 前者灵敏度和特异度分别为87.7%和92.3%, 后者灵敏度和特异度分别为91.4%和91.4%. Ishibashi等^[4]通过对比了多项指标, 认为成像时间和最大峰值时间间隔与纤维化程度之间有明显的相关性, 诊断 \geq F2、 \geq F3及F4期的ROC曲线下面积分别为0.94、0.96和0.98. 由于受心脏功能的影响, 评价参数不一, 造影剂的种类、剂量、推注方式等多种因素影响, 诊断准确性受主观因素影响较大, 且需注射造影剂, 因此超声造影评价肝纤维化分级的价值还有待进一步研究.

2 弹性超声技术对肝纤维化的评价

生物组织体内不同组织结构之间的硬度会存在差异. 弹性成像就是利用这种组织特性, 通过施加一个内部或外部的动态或静态/准静态的刺激, 使组织结构产生一定程度的应变响应, 再利用数字信号或数字图像处理技术评估组织内部的响应情况, 进而反映组织内部的硬度信息. 超声弹性成像是应用较为广泛且比较准确的肝纤维化评估手段.

2.1 瞬时弹性成像技术 瞬时弹性成像(transient elastography, TE)技术是通过探头的超声转换器产生剪切波, 剪切波在不同硬度的组织中传播的速度有差异, 再采用脉冲回波超声捕获装置测定其速度, 通过剪切波速度可以定量计算出相应组织的硬度. 剪切波在组织中的传播速度与硬度呈正比. Chon等^[5]进行了包括2722例慢性乙型肝炎患者的Meta分析, 利用TE测量肝脏硬度与病理比较, 结果显示TE对肝纤维化分期有较好的诊断价值, 诊断 \geq F2、 \geq F3及F4期的ROC曲线下面积分别为0.859、0.887及0.929, 诊断截点分别为7.9、8.8、11.7 kPa. 此外TE在

■ 创新盘点

本文对多种影像学检查工具在评价肝纤维化方面的研究进展进行综述, 尤其对弹性技术应用方面重点突出, 将弹性超声和磁共振弹性成像同时重点综述的文献较少, 结构清楚, 内容全面.

■ 同行评议

本文比较全面的综述了多种影像学检查工具在评价肝纤维化严重程度方面的研究进展,尤其是弹性技术在该领域的应用进展较为详实,对于临床应用和科研具有一定的参考价值 and 借鉴意义。

对肝硬化并发症的预测中也有应用价值^[6-8]。

TE技术具有快速、无创、可定量及重复性好等优点,而且取样体积范围大,较之穿刺活检术更能反映肝脏的整体弹性硬度。但因其测量时不能实时显示肝脏二维声像图,故无法避开肝内管道系统对测量的影响,肋骨、肺气、腹水、皮下脂肪过厚等都会影响结果的准确性^[9],文献报道^[10]测量失败或不可靠的患者比例占16.3%。

2.2 声脉冲辐射力弹性成像技术 声脉冲辐射力弹性成像(acoustic radiation force impulse, ARFI)技术利用声脉冲辐射力成像及剪切波传播原理,通过特定系统测量被测组织与周围组织的剪切波速度,进而用剪切波传播速度来估测组织硬度。剪切波速度越大,组织硬度越大。Friedrich-Rust等^[11]对518例慢性肝炎患者的Meta分析显示,ARFI诊断肝纤维化 \geq F2、 \geq F3期及F4期的平均曲线下面积分别达到0.87、0.91、0.93。Nierhoff等^[12]对3951例肝纤维化患者进行研究显示,ARFI对肝纤维化程度的诊断具有较好的诊断意义,尤其是F4期。

ARFI技术可应用于腹水、肋间隙窄以及重度肥胖患者,可以避开胆囊及肝内管系结构的影响,可使检测的成功率明显增高。ARFI技术也存在一些限制因素,如ARFI技术测量结果直接受检测深度的影响,不同的测量深度会导致结果出现差异^[11],此外取样容积和取样深度还会受到设备本身的限制。

2.3 实时剪切波弹性成像技术 实时剪切波弹性成像(shear wave elastography, SWE)利用超声探头高速发射多点聚焦的脉冲至体内,使沿声束方向不同深度的组织几乎同时发生位移,产生前端类似圆锥形的平面剪切波,即“马赫锥”现象,同时采用超高速的图像处理技术检测剪切波的传播速度并成像,可以得到定量生物组织彩色弹性图,并可定量测量肝脏杨氏模量,杨氏模量值越大,肝纤维化程度越重。国外学者报道^[13]肝脏正常SWE测值为 $5.5 \text{ kPa} \pm 0.7 \text{ kPa}$,国内报道^[14]健康人肝脏杨氏模量为 $5.10 \text{ kPa} \pm 1.02 \text{ kPa}$,较为一致。一项对国内303例慢性乙型肝炎患者进行的较大样本量的研究结果显示SWE判断慢性乙型肝炎肝纤维化程度准确性较高^[15],诊断 \geq F2、 \geq F3及F4期的ROC曲线下面积分别为0.917、0.945及0.945,诊断截点分别为7.2、9.1、11.7 kPa。Jeong等^[16]通过

研究证明SWE准确程度可以与血清学检查相媲美。

SWE诊断效能较高,操作简便、可重复性较好,而且同样可用于腹腔积液患者^[17],与同原理的ARFI技术相比,SWE的生物安全性更高,因取样区域方便调节,取样面积较大,所以能减少取样误差,ROI最好取直径20-30 mm,以使取样更有代表性。

2.4 实时组织弹性成像技术 实时组织弹性成像(real-time tissue elastography, RTE)技术属于压迫性的超声弹性成像,即检查者用探头对组织施加一定的压力使组织受压发生形变,将受压组织的位移信息转化为实时彩色图像,通过可视化的彩色编码反映所测组织的硬度。RTE是二维图像中解剖结构相对弹性的定性的显示,不能进行硬度的定量评估。RTE技术可结合组织弥散定量分析功能,可以通过自身心血管搏动形成的组织形变进行成像,减少了手动加压的人为因素影响,可重复性较好^[18]。

由于不是定量测量组织弹性,通过对两处所选区域的应变程度计算弹性比值可以减少主观影响因素。Ochi等^[19]选用含有小静脉血管的肝实质为参照物,Xie等^[20]选择肋间肌肉作为参照物,结果显示弹性比率越高代表肝实质弹性越低,即纤维化程度越高。Tomeno等^[21]提出肝纤维化指数方法可以转化为定量评估。利用弥散定量分析软件可以比较准确地定量分析弹性图像的参数分级。曾婕等^[22]研究显示以蓝色区域面积百分比与病理分期相关性最高,并具有良好的诊断价值。RTE和TE一样,也会受到肥胖、肋间隙窄、腹水等因素限制^[23],另外弹性图ROI定位时应至少在肝被膜下 10 mm ^[24]。

2.5 几种方法诊断价值的比较 上述几种弹性技术在诊断肝纤维化分期中均有较好的诊断效能,但是不同学者研究的结果并不统一。Sporea等^[25]对332例肝脏分别采用ARFI、TE和SWE技术评估其纤维化程度,发现ARFI技术的可靠性最高,特别是在肥胖人群中,TE和SWE的可靠性近似。Bota等^[26]对13项研究1163例肝纤维化的Meta分析发现,虽然TE检测不成功可能性是ARFI的3倍,但是两者总体诊断效能相当。另有学者通过对SWE、TE和ARFI比较发现,当 \geq F3时SWE诊断优于TE,当 \geq F2时SWE诊断优于ARFI,其余分期三者诊断效能类似^[10]。Chung等^[27]研究表明TE、ARFI、RTE均是评

价肝纤维化的有效方法,但是在显著纤维化时TE、ARFI的诊断效能略高于RTE.

3 CT技术对肝纤维化的评价

肝脏检查中CT也是较为常用的一种影像检查技术,但是与常规超声技术一样,只有肝脏形态学出现明显改变时才有诊断意义,故无法用于评价早期肝纤维化的程度. CT灌注成像是诊断活体组织、器官血流灌注情况新型影像学方式,主要通过同层动态扫描获得该层面内获得每个时间点密度曲线,计算出灌注参数,并根据处理后图像计算血流灌注情况. CT灌注成像可将组织的功能与形态进行结合,反映器官的血流动力学变化,其优势在于可以满足同时测定门静脉和肝动脉的血流灌注情况,且具有空间分辨率高、无创的特点. 在肝纤维化过程中,肝内胶原纤维增生和降解失衡,纤维结缔组织增生等变化,最终导致门静脉分支受压变窄,门静脉灌注减少,在肝脏形态学尚无明显改变时,通过CT灌注成像可以反应出这些血流动力学细微的变化. Wang等^[28]通过对动物实验研究发现在F0和F1之间具有统计学差异的指标只有门静脉灌注量一项指标,随着肝纤维化进展,肝动脉灌注量、肝动脉灌注指数、血流量三项指标也会随之增长,血容量指标无明显变化. Zhan等^[29]报道门静脉灌注、总肝灌注、增强峰值和肝灌注与肝硬化分期呈负相关;肝动脉灌注指数、达峰时间与肝硬化分期呈正相关. 肝动脉灌注指数,尤其是达峰时间对肝硬化具有较高的预测效能. 梁明帮等^[30]报道肝动脉灌注分数在肝纤维化分级中具有较大的诊断价值. CT灌注技术的发展虽然对肝纤维化有一定的应用价值,但是诊断价值有限,并未广泛应用于临床工作. 随着超声弹性技术的发展,国外学者对CT灌注技术的研究逐渐减少.

4 磁共振技术对肝纤维化的评价

与CT相比,磁共振技术不仅具有安全无辐射的优点,而且还具有较高的软组织分辨率,可以清晰地显示肝脏形态学变化,同时其拥有多种成像序列,可以对肝脏的功能和代谢情况做进一步的显示. Balassy等^[31]对磁敏感加权像研究发现肝/肌肉信号强度比值下降与纤维化程度增加明显相关,对F4期纤维化的ROC曲线下面积为0.93. 磁共振扩散加权成像(diffusion-

weighted imaging, DWI)可以检测活体组织水分子的热运动,可以通过水分子的运动状态来反映组织内的结构特点. Tosun等^[32]报道, b值设为1000时肝硬化患者的信号强度明显高于正常人. ADC值是DWI中最常用的指标,肝脏纤维化时肝内纤维细胞增生,胶原纤维沉积在肝脏细胞间质中,水分子活动受到限制,从而引起病变组织ADC值降低, ADC值与肝脏纤维化程度呈负相关^[33]. ADC值在肝硬化期诊断意义比较明确,在早期肝纤维化分期中敏感性稍差^[34]. 磁共振弥散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)是在DWI基础上发展起来的核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)技术. 研究发现运用DWI和DTI重建获得的肝纤维化患者的ADC值均明显减低,但是传统DWI的所获得的ADC值更有助于肝纤维化和炎症的诊断^[32]. DTI所得出的FA值对轻中度的肝纤维化更为敏感^[35]. 但是也有许多学者报道^[36,37]DTI可作为检查肝纤维化较敏感的手段. 磁共振波谱成像技术(magnetic resonance spectrum, MRS)是以MRI基本原理及与化学位移和自旋耦合现象为基础来定量测定活体组织器官生化改变及代谢状态的一种无创性的功能成像技术. ³¹P-MRS能够揭示肝脏病变的生化变化,有学者认为磷酸单脂/磷酸二脂是检测肝硬化的敏感指标,可利用该指标对轻中度肝纤维化与肝硬化进行区分^[38]. 磁共振灌注加权成像(perfusion weighted imaging, PWI)通过测量血流动力学参数从而无创地评价组织的血流灌注状态. Nilsson等^[39]通过定量评估肝组织摄取钆的含量发现肝硬化期肝细胞功能降低且降低情况分布不均匀. Hagiwara等^[40]报道,灌注技术区分F0-2期与F3-4期的敏感性为77%,特异性为79%.

5 磁共振弹性成像对肝纤维化的评价

磁共振弹性成像(magnetic resonance elastography, MRE)1995年首次被报道,近年来在国外得到迅速发展,国内对MRE的研究相对较少. MRE的3个基本步骤是首先由外界的弹力装置产生低频剪切波;再由连接装置将声波传递至肝脏,产生肝脏内质点的微小位移;通过检测质点位移计算剪切波速度,运用特殊的成像序列进行成像,从而得到组织弹性特征^[41].

目前对于MRE诊断肝纤维化的研究中多

数文献报道正常肝脏实质的硬度低于3.0 kPa^[42], 当肝脏硬度大于该数值时诊断肝纤维化的灵敏度为80%-90%, 特异度为90%-100%, 准确率为89%-99%^[43]. Ichikawa等^[44]报告随着肝纤维化的进展, 肝脏的平均硬度值也会增加. Kim等^[45]报道, 诊断肝硬化最佳截断值为4.15 kPa. 王威等^[46]综合1851例患者的Meta分析表明MRE对肝纤维化4个分期的AUC值分别为0.95、0.96、0.96、0.97, 表明MRE对肝纤维化各分期均具有很高的诊断价值. Lee等^[47]对361例乙型肝炎患者进行MRE检查, 成功率为92.5%, 不成功的原因12例机械波传导不良, 12例肝内铁质沉积过多, 3例呼吸运动伪影严重, 与组织学检查相对照, MRE具有较高的诊断准确性.

根据力学方程及波动理论, 肝脏体积大、均质且体表距离近有利于波的传播和计算, 是MRE体内应用最理想的脏器. 与超声弹性成像相比, MRE能反映肝脏的全貌, 无需选择声窗, 且不受皮下脂肪、脂肪肝、腹水、肋间隙过窄、测量范围有限及诊断医生主观性等因素的干扰^[48]. 因此MRE能够得到全肝和肝脏不同区域弹性的量化指标, 相比肝穿刺活检及超声弹性成像更全面, 且对各期肝纤维化分级的准确性更高, 是目前最有前景的无创性肝纤维化定量方法. Ichikawa等^[49]报告对比肝穿刺活检结果, MRE的准确性高于TE. Yoon等^[50]报告虽然MRE和SWE对肝纤维化的诊断结果呈中度相关, 但是MRE所得数据的可靠性要高于SWE. 一项包含了3110例患者的Meta分析表明, MRE对肝纤维化诊断的敏感性和特异性均高于ARFI, 尤其是在 $\leq F2$ 的早期诊断中效果更好^[51]. 另有研究报道^[52,53]MRE区分 $\geq F2$ 、 $\geq F3$ 和 $F4$ 的肝纤维化的能力明显高于DWI, 且具有更高的敏感性和特异性.

MRE同时也具有一定的局限性: (1)肝脏内过高的铁含量会导致信噪比受限; (2)相比于弹性超声检测时间更长; (3)需要专门的设备安装; (4)缺乏不同参数仪器, 如1.5 T和3.0 T MRI机以及不同品牌的产品间的可比性的研究. 因此, 对于肝纤维化诊断和分期绝对截断值并没有定论, 还需要进行更多的研究.

6 结论

肝纤维化是一个动态过程, 定期评价肝纤维化程度可以为治疗提供依据. 影像学检查具有安

全、无创、可重复性强等无可比拟的优势. 超声弹性成像和磁共振弹性成像的不断发展提高了对肝纤维化程度检测的准确性, 是对传统影像检查的一个重要补充. 随着影像技术的不断完善, 将会有更多技术能够在减少患者痛苦基础上为临床提供更多更准确的诊断信息.

7 参考文献

- Ismail MH, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 72-79 [PMID: 19568569 DOI: 10.4103/1319-3767.45072]
- Li N, Ding H, Fan P, Lin X, Xu C, Wang W, Xu Z, Wang J. Intrahepatic transit time predicts liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: quantitative assessment with contrast-enhanced ultrasonography. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1066-1075 [PMID: 20620694 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.04.012]
- Sugimoto K, Shiraiishi J, Moriyasu F, Ichimura S, Metoki R, Doi K. Analysis of intrahepatic vascular morphological changes of chronic liver disease for assessment of liver fibrosis stages by micro-flow imaging with contrast-enhanced ultrasound: preliminary experience. *Eur Radiol* 2010; 20: 2749-2757 [PMID: 20571803 DOI: 10.1007/s00330-010-1852-1]
- Ishibashi H, Maruyama H, Takahashi M, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Assessment of hepatic fibrosis by analysis of the dynamic behaviour of microbubbles during contrast ultrasonography. *Liver Int* 2010; 30: 1355-1363 [PMID: 20704652 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02315.x]
- Chon YE, Choi EH, Song KJ, Park JY, Kim do Y, Han KH, Chon CY, Ahn SH, Kim SU. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e44930 [PMID: 23049764 DOI: 10.1371/journal.pone.0044930]
- Carrión JA, Torres F, Crespo G, Miquel R, García-Valdecasas JC, Navasa M, Forns X. Liver stiffness identifies two different patterns of fibrosis progression in patients with hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *Hepatology* 2010; 51: 23-34 [PMID: 19839063 DOI: 10.1002/hep.23240]
- Robic MA, Procopet B, Métivier S, Péron JM, Selves J, Vinel JP, Bureau C. Liver stiffness accurately predicts portal hypertension related complications in patients with chronic liver disease: a prospective study. *J Hepatol* 2011; 55: 1017-1024 [PMID: 21354450 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.051]
- Shi KQ, Fan YC, Pan ZZ, Lin XF, Liu WY, Chen YP, Zheng MH. Transient elastography: a meta-analysis of diagnostic accuracy in evaluation of portal hypertension in chronic liver disease. *Liver Int* 2013; 33: 62-71 [PMID: 22973991 DOI: 10.1111/liv.12003]
- Kanamoto M, Shimada M, Ikegami T, Uchiyama H, Imura S, Morine Y, Kanemura H, Arakawa Y, Nii A. Real time elastography for noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 463-467 [PMID: 19322509 DOI: 10.1007/s10120-009-0044-9]

- 10.1007/s00534-009-0075-9]
- 10 Cassinotto C, Lapuyade B, Mouries A, Hiriart JB, Vergniol J, Gaye D, Castain C, Le Bail B, Chermak F, Foucher J, Laurent F, Montaudon M, De Ledinghen V. Non-invasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and FibroScan®. *J Hepatol* 2014; 61: 550-557 [PMID: 24815876 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.04.044]
- 11 Friedrich-Rust M, Nierhoff J, Lupsor M, Sporea I, Fierbinteanu-Braticevici C, Strobel D, Takahashi H, Yoneda M, Suda T, Zeuzem S, Herrmann E. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a pooled meta-analysis. *J Viral Hepat* 2012; 19: e212-e219 [PMID: 22239521 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01537.x]
- 12 Nierhoff J, Chávez Ortiz AA, Herrmann E, Zeuzem S, Friedrich-Rust M. The efficiency of acoustic radiation force impulse imaging for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2013; 23: 3040-3053 [PMID: 23801420 DOI: 10.1007/s00330-013-2927-6]
- 13 Leung VY, Shen J, Wong VW, Abrigo J, Wong GL, Chim AM, Chu SH, Chan AW, Choi PC, Ahuja AT, Chan HL, Chu WC. Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave elastography and transient elastography with liver biopsy correlation. *Radiology* 2013; 269: 910-918 [PMID: 23912619 DOI: 10.1148/radiol.13130128]
- 14 Huang Z, Zheng J, Zeng J, Wang X, Wu T, Zheng R. Normal liver stiffness in healthy adults assessed by real-time shear wave elastography and factors that influence this method. *Ultrasound Med Biol* 2014; 40: 2549-2555 [PMID: 25282481 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.05.008]
- 15 Zeng J, Liu GJ, Huang ZP, Zheng J, Wu T, Zheng RQ, Lu MD. Diagnostic accuracy of two-dimensional shear wave elastography for the non-invasive staging of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Eur Radiol* 2014; 24: 2572-2581 [PMID: 25027837 DOI: 10.1007/s00330-014-3292-9]
- 16 Jeong JY, Kim TY, Sohn JH, Kim Y, Jeong WK, Oh YH, Yoo KS. Real time shear wave elastography in chronic liver diseases: accuracy for predicting liver fibrosis, in comparison with serum markers. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 13920-13929 [PMID: 25320528 DOI: 10.3748/wjg.v20.i38.13920]
- 17 Hudson JM, Milot L, Parry C, Williams R, Burns PN. Inter- and intra-operator reliability and repeatability of shear wave elastography in the liver: a study in healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 950-955 [PMID: 23453379 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.12.011]
- 18 Morikawa H, Fukuda K, Kobayashi S, Fujii H, Iwai S, Enomoto M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N. Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2011; 46: 350-358 [PMID: 20697747 DOI: 10.1007/s00535-010-0301-x]
- 19 Ochi H, Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, Tokumoto Y, Soga Y, Tada F, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Real-time tissue elastography for evaluation of hepatic fibrosis and portal hypertension in nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatology* 2012; 56: 1271-1278 [PMID: 22488593 DOI: 10.1002/hep.25756]
- 20 Xie L, Chen X, Guo Q, Dong Y, Guang Y, Zhang X. Real-time elastography for diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 1053-1060 [PMID: 22733854]
- 21 Tomeno W, Yoneda M, Imajo K, Suzuki K, Ogawa Y, Shinohara Y, Mawatari H, Fujita K, Shibata W, Kirikoshi H, Maeda S, Nakajima A, Saito S. Evaluation of the Liver Fibrosis Index calculated by using real-time tissue elastography for the non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver diseases. *Hepatol Res* 2013; 43: 735-742 [PMID: 23216963 DOI: 10.1111/hepr.12023]
- 22 曾婕, 郑荣琴, 苏中振, 任杰. 弹性成像定量分析与肝纤维化分期的相关性研究. *中华超声影像学杂志* 2011; 20: 311-313
- 23 Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol* 2011; 54: 650-659 [PMID: 21146892 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.033]
- 24 Orlacchio A, Bolacchi F, Antonicoli M, Coco I, Costanzo E, Tosti D, Francioso S, Angelico M, Simonetti G. Liver elasticity in NASH patients evaluated with real-time elastography (RTE). *Ultrasound Med Biol* 2012; 38: 537-544 [PMID: 22341049 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2011.12.023]
- 25 Sporea I, Bota S, Jurchis A, Sirli R, Grădinaru-Tascău O, Popescu A, Ratiu I, Szilaski M. Acoustic radiation force impulse and supersonic shear imaging versus transient elastography for liver fibrosis assessment. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 1933-1941 [PMID: 23932281 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.05.003]
- 26 Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, Peck-Radosavljevic M. Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Liver Int* 2013; 33: 1138-1147 [PMID: 23859217 DOI: 10.1111/liv.12240]
- 27 Chung JH, Ahn HS, Kim SG, Lee YN, Kim YS, Jeong SW, Jang JY, Lee SH, Kim HS, Kim BS. The usefulness of transient elastography, acoustic-radiation-force impulse elastography, and real-time elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Clin Mol Hepatol* 2013; 19: 156-164 [PMID: 23837140 DOI: 10.3350/cmh.2013.19.2.156]
- 28 Wang L, Fan J, Ding X, Sun J, Zhang M. Assessment of liver fibrosis in the early stages with perfusion CT. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 15276-15282 [PMID: 26629014]
- 29 Zhan Y, Wu Y, Chen J, Liu F, Han X. [Value of liver perfusion imaging of 256-slice CT in evaluation of the cirrhosis]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2016; 41: 44-50 [PMID: 26819424 DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347]
- 30 梁明帮, 黎进莲, 安玉松, 霍润枝. CT肝灌注成像在肝纤维化诊断中的价值及影像特点分析. *中西医结合肝病杂志* 2015; 25: 295-297
- 31 Balassy C, Feier D, Peck-Radosavljevic M, Wrba F, Witoszynskyj S, Kiefer B, Reiter G, Dai Y, Ba-

- 32 Tosun M, Inan N, Sarisoy HT, Akansel G, Gumustas S, Gürbüz Y, Demirci A. Diagnostic performance of conventional diffusion weighted imaging and diffusion tensor imaging for the liver fibrosis and inflammation. *Eur J Radiol* 2013; 82: 203-207 [PMID: 23122674 DOI: 10.1016/j.ejrad.2012.09.009]
- 33 Cece H, Ercan A, Yıldız S, Karakas E, Karakas O, Boyacı FN, Aydoğan T, Karakas EY, Cullu N, Ulas T. The use of DWI to assess spleen and liver quantitative ADC changes in the detection of liver fibrosis stages in chronic viral hepatitis. *Eur J Radiol* 2013; 82: e307-e312 [PMID: 23518145 DOI: 10.1016/j.ejrad.2013.02.022]
- 34 单崑, 陈思争. ADC在肝纤维化患者诊断中的应用价值研究(附56例报告). *医学影像学杂志* 2014; 24: 1172-1174
- 35 Lee Y, Kim H. Assessment of diffusion tensor MR imaging (DTI) in liver fibrosis with minimal confounding effect of hepatic steatosis. *Magn Reson Med* 2015; 73: 1602-1608 [PMID: 24733754 DOI: 10.1002/mrm.25253]
- 36 章雅琴, 胡跃群, 廖云杰, 容鹏飞, 王维. 犬肝纤维化模型MR弥散张量成像及其与CT灌注参数、VEGF表达的相关性. *中国医学影像技术* 2012; 28: 216-220
- 37 Cheung JS, Fan SJ, Gao DS, Chow AM, Man K, Wu EX. Diffusion tensor imaging of liver fibrosis in an experimental model. *J Magn Reson Imaging* 2010; 32: 1141-1148 [PMID: 21031520 DOI: 10.1002/jmri.22367]
- 38 Lim AK, Patel N, Eckersley RJ, Fitzpatrick J, Crossey MM, Hamilton G, Goldin RD, Thomas HC, Vennart W, Cosgrove DO, Taylor-Robinson SD. A comparison of 31P magnetic resonance spectroscopy and microbubble-enhanced ultrasound for characterizing hepatitis c-related liver disease. *J Viral Hepat* 2011; 18: e530-e534 [PMID: 21914073 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01455.x]
- 39 Nilsson H, Blomqvist L, Douglas L, Nordell A, Janczewska I, Näslund E, Jonas E. Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI for the assessment of liver function and volume in liver cirrhosis. *Br J Radiol* 2013; 86: 20120653 [PMID: 23403453 DOI: 10.1259/bjr.20120653]
- 40 Hagiwara M, Rusinek H, Lee VS, Losada M, Bannan MA, Krinsky GA, Taouli B. Advanced liver fibrosis: diagnosis with 3D whole-liver perfusion MR imaging--initial experience. *J Radiology* 2008; 246: 926-934 [PMID: 18195377]
- 41 Mariappan YK, Glaser KJ, Ehman RL. Magnetic resonance elastography: a review. *Clin Anat* 2010; 23: 497-511 [PMID: 20544947 DOI: 10.1002/ca.21006]
- 42 Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging* 2013; 37: 544-555 [PMID: 23423795 DOI: 10.1002/jmri.23731]
- 43 Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: clinical applications. *J Comput Assist Tomogr* 2013; 37: 887-896 [PMID: 24270110 DOI: 10.1097/RCT.0000000000000032]
- 44 Ichikawa S, Motosugi U, Ichikawa T, Sano K, Morisaka H, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Araki T. Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Magn Reson Med Sci* 2012; 11: 291-297 [PMID: 23269016 DOI: 10.2463/mrms.11.291]
- 45 Kim D, Kim WR, Talwalkar JA, Kim HJ, Ehman RL. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography. *Radiology* 2013; 268: 411-419 [PMID: 23564711 DOI: 10.1148/radiol.13121193]
- 46 王威, 温锋, 赵相轩, 石喻, 王悦人, 郭启勇. 磁共振弹性成像评价肝纤维化分期的Meta分析. *中国临床医学影像杂志* 2015; 26: 329-333
- 47 Lee JE, Lee JM, Lee KB, Yoon JH, Shin CI, Han JK, Choi BI. Noninvasive assessment of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B viral infection using magnetic resonance elastography. *Korean J Radiol* 2014; 15: 210-217 [PMID: 24643284 DOI: 10.3348/kjr.2014.15.2.210]
- 48 Godfrey EM, Mannelli L, Griffin N, Lomas DJ. Magnetic resonance elastography in the diagnosis of hepatic fibrosis. *Semin Ultrasound CT MR* 2013; 34: 81-88 [PMID: 23395320 DOI: 10.1053/j.sult.2012.11.007]
- 49 Ichikawa S, Motosugi U, Morisaka H, Sano K, Ichikawa T, Tatsumi A, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Onishi H. Comparison of the diagnostic accuracies of magnetic resonance elastography and transient elastography for hepatic fibrosis. *Magn Reson Imaging* 2015; 33: 26-30 [PMID: 25308096 DOI: 10.1016/j.mri.2014.10.003]
- 50 Yoon JH, Lee JM, Joo I, Lee ES, Sohn JY, Jang SK, Lee KB, Han JK, Choi BI. Hepatic fibrosis: prospective comparison of MR elastography and US shear-wave elastography for evaluation. *Radiology* 2014; 273: 772-782 [PMID: 25007047 DOI: 10.1148/radiol.14132000]
- 51 Guo Y, Parthasarathy S, Goyal P, McCarthy RJ, Larson AC, Miller FH. Magnetic resonance elastography and acoustic radiation force impulse for staging hepatic fibrosis: a meta-analysis. *Abdom Imaging* 2015; 40: 818-834 [PMID: 24711064 DOI: 10.1007/s00261-014-0137-6]
- 52 Wang QB, Zhu H, Liu HL, Zhang B. Performance of magnetic resonance elastography and diffusion-weighted imaging for the staging of hepatic fibrosis: A meta-analysis. *Hepatology* 2012; 56: 239-247 [PMID: 22278368 DOI: 10.1002/hep.25610]
- 53 Wang Y, Ganger DR, Levitsky J, Sternick LA, McCarthy RJ, Chen ZE, Fasanati CW, Bolster B, Shah S, Zuehltsdorff S, Omary RA, Ehman RL, Miller FH. Assessment of chronic hepatitis and fibrosis: comparison of MR elastography and diffusion-weighted imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 553-561 [PMID: 21343496 DOI: 10.2214/AJR.10.4580]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



肝癌射频消融术后残余癌影像学评估的研究进展

苒新伟, 马秀现, 朱荣涛, 李健

苒新伟, 马秀现, 朱荣涛, 李健, 郑州大学第一附属医院肝胆胰外科 河南省郑州市 450052

苒新伟, 在读硕士, 主要从事肝胆胰疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 苒新伟负责文献检索与论文撰写; 马秀现负责审阅与修改; 朱荣涛与李健查找部分文献。

通讯作者: 马秀现, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院肝胆胰外科。
maxiuxian2013@163.com
电话: 0371-67967127

收稿日期: 2016-01-24

修回日期: 2016-02-19

接受日期: 2016-02-29

在线出版日期: 2016-04-08

Imaging evaluation of residual cancer after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma

Xin-Wei Chang, Xiu-Xian Ma, Rong-Tao Zhu, Jian Li

Xin-Wei Chang, Xiu-Xian Ma, Rong-Tao Zhu, Jian Li, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Correspondence to: Xiu-Xian Ma, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. maxiuxian2013@163.com

Received: 2016-01-24

Revised: 2016-02-19

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

Abstract

Primary liver cancer is one of the most common malignant tumors in the world, and only a few

patients have the chance of surgical resection. Radiofrequency ablation (RFA) is a good treatment for patients with unresectable liver cancer. The existence of residual cancer after radiofrequency ablation has a direct impact on the prognosis of patients, so it is important to accurately determine whether there is residual cancer after RFA treatment in order to reduce the local recurrence and prolong the survival time of patients. In this paper, we discuss the evaluation of residual cancer after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma by ultrasound (US), computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), digital subtraction angiography (DSA) and nuclear medicine modalities.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Radiofrequency ablation; Residual cancer; Evaluation

Chang XW, Ma XX, Zhu RT, Li J. Imaging evaluation of residual cancer after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1539-1544 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1539.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1539>

摘要

原发性肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 只有少部分患者有手术切除的机会。对于无法手术切除的肝癌患者, 射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)是一种较好的治疗方法。射频消融术后残余癌的存在直接影响患者预后, 故如何通过影像学检查准确判断RFA治疗后是否存在残余癌, 以便

背景资料

原发性肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 但只有20%-30%的患者有手术切除的机会。射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)是一种有效的替代疗法, 通过影像学检查技术对RFA治疗后残余癌进行评估, 有助于改善患者预后, 延长患者生存期。

同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

利用超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)和核医学等检查技术对肝癌RFA后残余癌进行评估是研究的热点, 如何选择恰当的影像检查方法及时机是亟待研究的问题。

及时补充治疗, 对于减少术后局部复发, 延长患者生存期具有重要意义。本文就超声(ultrasound, US)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)和核医学等检查技术在肝癌RFA后残余癌的评价作一综述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 射频消融术; 残余癌; 评估

核心提示: 射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)对于不适合手术切除的原发性肝癌患者是一种有效的治疗方法。射频消融术后残余癌的存在直接影响患者预后, 因此通过影像学检查对RFA治疗后残余癌进行评估具有重要意义。

袁新伟, 马秀现, 朱荣涛, 李健. 肝癌射频消融术后残余癌影像学评估的研究进展. 世界华人消化杂志. 2016; 24(10): 1539-1544
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1539.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1539>

0 引言

原发性肝癌是世界上第五大最常见的恶性肿瘤, 位于癌症相关死因的第3位, 手术切除是治疗肝癌的一种传统方式, 但多数肝癌患者出现临床症状时已中晚期, 只有20%-30%的患者有手术切除的机会^[1-5]。对于不适合手术切除的肝癌患者, 射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)是一种可行的替代疗法^[6-10]。众多临床研究报告表明RFA能够对小肝癌起到完全杀灭和根治的作用, 其治疗小肝癌的疗效接近手术切除^[11,12]。然而, 残余肿瘤的存在直接影响患者预后, 由于血管阻止射频热量的传播以及肿瘤的大小、形态和密度的影响, 肿瘤组织并非都能完全消融^[6,13,14]。故如何准确判断RFA治疗后是否存在残留肿瘤, 以便及时补充治疗, 对于减少术后局部复发, 延长患者生存期具有重要意义。

1 超声

1.1 常规超声 常规超声可通过观察病灶大小、回声、有无彩色血流信号来提示肿瘤病灶是否坏死。RFA后坏死的肿瘤组织表现为回声增强, 如果RFA后凝固坏死区明显大于术前肿瘤区, 即有足够的安全边缘, 提示肿瘤坏死完

全^[15]。彩色多普勒血流显像(color doppler flow imaging, CDFI)和彩色多普勒能量图显像(color doppler power imaging, CDPI)显示肿瘤内血流信号消失, 可认为肿瘤完全坏死。肿瘤残留表现为病灶明显增大, 边缘有弱回声结节, CDFI可见动脉样血流信号。由于残留肿瘤组织与凝固性坏死的回声相近, 且彩色多普勒超声对低速血流检出的敏感性较低, 故常规超声很难将消融区域和残余肿瘤区分开, 不能准确反映RFA后肿瘤组织是否消融完全^[16]。

1.2 对比增强超声 对比增强超声(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)是利用微泡造影剂显示肝脏和瘤体内的血流微循环分布状况, 是评价肝癌RFA疗效的有效方法之一^[17-20]。CEUS评价RFA疗效标准如下: (1)CEUS结果阳性: 消融病灶动脉期出现结节状、斑片状增强, 门脉期及延迟期消退; (2)CEUS结果阴性: 消融病灶三期无增强^[21]。Ricci等^[22]研究表明, 评价肝癌RFA疗效方面, CEUS的准确性堪比增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)。Kisaka等^[17]利用虚拟超声(virtual sonographic, VUS)图像与CEUS图像结合来判断消融范围是否达到安全边界, VUS-CEUS评价局部疗效的灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和准确性分别为92.3%、76.9%、80.0%、90.9%和84.6%。但CEUS只能对选定的部位及切面进行观察, 不能一次显示整个肝脏的影像, 可能漏掉病灶。

2 CT

2.1 CT平扫 RFA后CT显示整个靶肿瘤及消融区边缘低密度, 随着术后时间的延长, 低密度消融区体积缩小。有时在消融区域中央, 沿着电极针道出现高密度影, 这是由病灶内出血或细胞明显脱水所致, 通常于术后1 mo消失^[23]。病理学研究表明低密度消融区为组织的凝固性坏死, CT及MRI平扫显示的坏死范围与大体标本的相关性较好, 但其直径一般要比病理标本上的实测值小2 mm左右, 而B超显示的坏死范围与病理标本的相关性较差^[24]。一般情况下, 消融区边缘应该厚达0.5-1.0 cm, 才可认为消融彻底^[25]。

2.2 CT增强扫描 增强CT或MRI是评价RFA疗效的较好标准, RFA后早期, 完全消融表现为增强CT图像上消融区域无强化, 有时在消融

■ 相关报道

随着PET/CT检查技术的不断发展, 采用分子影像学技术可以对恶性肿瘤组织进行早期准确定位。Sham等对原发性肝癌进行PET检查中关于⁸⁹Zr-αGPC3-F(ab')₂的研究有了较新的进展。

区域的边缘出现一环形强化影, 表现为相对同心、均质、内缘光滑无结节, 是肝脏组织短暂充血及炎症反应所致, 一般1 mo后消失; 消融边缘残余肿瘤强化与良性消融边缘强化不同, 表现为分散状、结节状、偏心位^[26]。之后, 完全消融的区域将变得更加清晰、均质, 体积开始缩小, 消融区和正常组织的分界面变得清晰分明; 分界面模糊不清预示肿瘤复发。Passera等^[27]利用CT图像融合技术对8例肝癌患者RFA后进行检查, 结果显示, 6例患者未达到肿瘤完全消融, 残余癌所占的百分比为5.12%-35.92%, 实现了对RFA疗效的精确定量评估。然而, 有学者提出RFA后3 mo内的短期CT随访并非是一种可靠的评价方法, 随访中病灶无强化并不能说明消融完全^[28], 进一步的CT或MRI随访是必要的。

2.3 CT灌注成像 CT灌注成像(computed tomography perfusion imaging, CTPI)是注射对比剂后, 测量组织内像素密度的改变, 来间接反映组织的血管分布; CTPI可以无创地定量重复获取肿瘤新生血管的灌注参数, 残余肿瘤组织高度血管化, 维持肿瘤再生的新生血管灌注增加^[29-31], 由此判断肿瘤是否消融完全。Ippolito等^[30]对14例HCC患者RFA后4 mo进行CTPI检查, 结果显示, 残余肿瘤和完全消融区域之间, 灌注参数、动脉期灌注参数、肝灌注指数具有显著性差异($P<0.05$)。陈涛等^[32]对72个小肝癌病灶RFA后行CT灌注扫描, 认为CT灌注扫描可以鉴别RFA治疗后炎症反应带及肿瘤残留, 有助于早期发现肿瘤残留。

3 MRI

3.1 常规MRI RFA后, 如肿瘤完全坏死, 则肿瘤区域在T1WI表现为等或高信号, 在T2WI表现为从术前的相对高信号转变为均匀一致的等或相对低信号; 如有肿瘤存活, 则该存活区域在T1WI上呈不均匀的等低混杂信号, 在T2WI上呈相对高信号^[33]。Koda等^[34]研究表明, RFA后2-7 h用MRI平扫, 在T1WI上可以准确识别肿瘤周边消融边缘(ablative margin, AM)的存在, 与增强CT相比, MRI平扫能更早、更简便地评估AM。但坏死区域周围水肿、出血、炎症等导致的高信号干扰残存肿瘤的鉴别, T2WI判断肿瘤是否存活比较困难^[33,35]。

3.2 MRI增强扫描 增强MRI是评估肝癌RFA

疗效的常用手段。RFA后, 采用Gd-DTPA动态增强扫描, 动脉期、门脉期和延迟扫描肿瘤无异常强化, 提示肿瘤组织已完全凝固坏死; 当在消融部位出现动脉期明显强化、门脉期迅速消退的结节或弧形影像时, 提示肿瘤残留^[33]。与CT类似, 由于充血和炎症, 消融区周围会出现一强化环, 应用肝脏特异性MRI造影剂ferucarbotran可比增强CT更早地鉴别良性强化环与残余肿瘤^[36]。Kakite等^[37]评估了SPIO(superparamagnetic iron oxide)增强MRI在判断小型猪模型RFA后AM的作用, 结果显示, 增强MRI可以准确显示RFA后AM, 表现为环绕病灶的低信号环。Mori等^[38]对21例患者的研究发现用肝特异性MRI造影剂ferucarbotran增强的MRI能有效地显示RFA后肿瘤周围的AM, 发现残余肿瘤。Makino等^[39]研究表明采用RFA前后Gd-EOB-DTPA增强MRI融合图像, 可以准确评价RFA疗效, 其敏感性高于CT融合图像。

3.3 磁共振弥散加权成像 磁共振弥散加权成像(MR diffusion-weighted imaging, MR-DWI)是检测组织内水分子随机热运动即布朗运动的影像学技术, 是分子水平的MRI^[40,41]。Holzapfel等^[42]研究表明, 使用磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)呼吸触发单次回波平面成像(single-shot echo-planar imaging, SSEPI)序列可以准确鉴别直径<1 cm的肝脏恶性肿瘤, 其敏感性和特异性分别为90.8%、89.9%。Liu等^[43]对新西兰大白兔VX2肝移植瘤模型进行RFA前后DWI检查, 结果显示, RFA后不同组织的表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值具有显著性差异($P<0.001$), 坏死组织的ADC值显著低于存活肿瘤组织。目前应用此技术评价肝癌RFA的临床价值尚未得到充分肯定, 需结合常规和增强MRI扫描。

3.4 磁共振灌注成像 磁共振灌注成像(MR perfusion-weighted imaging, MR-PWI)原理与CTPI类似, 用以反映组织内血流灌注情况及微血管分布, 通过得到感兴趣区(regions of interest, ROIs)的时间-信号强度曲线来定量获取组织血流灌注信息^[44]。郑后军^[45]采用MR-RWI评价3组共21只新西兰大白兔VX2肝癌RFA疗效, 结果显示, 全部新西兰大白兔VX2肝癌RFA前后肿瘤中心的最大增强斜率和阳性增强积分的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),

■创新盘点

本文在传统影像学检查技术上对多种最新影像检查技术的研究做了详实的综述, 全面总结肝癌射频消融术后残余癌的影像学评估。

应用要点

根据患者的个体差异, 选择恰当的影像检查方法及时机, 必要时综合多种影像评估方法, 准确地对肝癌RFA疗效进行评价, 有利于及时补充治疗, 减少术后局部复发, 提高患者的长期生存率。

特别是正性增强积分能准确鉴别肿瘤RFA后坏死区域。目前对MR-PWI的扫描序列、速率、最佳扫描时机等的选择有待进一步探讨。

4 数字减影血管造影

数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)可观察肝内血管的分布和形态, 直观地显示肝癌RFA后肿瘤消融区的变化及边缘征象, 监控肿瘤早期血管改变, 有利于尽早发现残留肿瘤。陈永富等^[46]对35例患者的41个肝癌结节RFA前后行DSA血管造影, 结果显示: (1) 消融区病灶灭活征象: 肿瘤血管和肿瘤染色完全消失, 原肿瘤血管和肿瘤染色区成血管空虚改变和肝实质相染色缺损改变; (2) 肝癌残留征象: 肿瘤血管残留: 动脉期见肝动脉增粗, 分支增多, 病灶内可见不规则的小斑点状血管湖; 肿瘤染色残留: 病灶边缘见不规则的造影剂浓染, 通过导管注入碘油+化疗药时, 肿瘤染色区内可见碘油沉积。但DSA属创伤性检查, 且费用较高, 故不作为RFA后常规影像评估手段。

5 PET/CT

¹⁸F-脱氧葡萄糖(¹⁸F-fluorodeoxy glucose, ¹⁸F-FDG)PET-CT集PET的功能代谢成像与CT的解剖定位成像于一体, 在恶性肿瘤诊断、分期及疗效评价中有独特应用价值^[21,47,48]。RFA后, PET/CT显像上: 肿瘤完全消融表现为病灶呈完全放射性缺损; 病灶范围内局灶性核素浓聚, 提示局部肿瘤残留; 肿瘤边缘正常肝组织受热损伤引起的炎症反应表现为病灶范围外环形均匀的低强度核素浓聚, 与残留肿瘤局灶性、结节性的高强度浓聚有所不同^[49]。Chen等^[50]对28例患者的33个肝癌结节于RFA后行FDG-PET、MRI、CT检查, 结果显示, 检测残余肿瘤方面, FDG-PET、MRI、CT三者的敏感性、特异性、准确性分别为: FDG-PET: 94.1%、66.7%、66.7%; MRI: 81.3%、87.5%、62.5%; CT: 87.9%、75.0%、64.3%, FDG-PET的敏感性和准确性优于MRI和CT。畅智慧等^[51]用Meta分析方法评价¹⁸F-FDG PET、CT及PET/CT对肝癌RFA后残余瘤的诊断价值, 发现导致应用PET/CT的研究间存在明显异质性的主要原因是肿瘤的组织学类型及RFA后PET/CT复查的时间。¹⁸F-FDG PET/CT对原发性肝癌, 特别是高分化的肝细胞癌不够敏感, 可能出现假阴性。RFA后2-3 d, 坏死区域周围

出现组织再生和炎症反应, 引起核素浓聚, 可能掩饰消融区域的残余肿瘤, 研究^[49]表明, RFA后24 h内行PET/CT复查, 可以有效避开术后炎症反应的干扰, 及时、准确地评价RFA疗效, 帮助临床制定进一步治疗方案。Sham等^[52]采用分子影像学技术, 对8 wk雌性裸鼠原发性肝癌进行PET检查, 结果显示, ⁸⁹Zr-αGPC3-F(ab')₂能够清晰地识别肝癌细胞表面特异性受体GPC3, 对肝癌进行早期准确定位。PET/CT具有空间分辨率高和定位准确的特点, 能及时检出治疗后残余病灶, 可观察肝内情况, 还可监控全身各处的代谢水平, 将会越来越普遍地用于评价RFA治疗肝癌的疗效。

6 结论

现在任何单一的一种影像学方法都还不能准确判断RFA后有无少量残存肿瘤, 因此只有根据患者的个体差异, 选择恰当的影像检查方法及时机, 必要时综合多种影像评估方法, 才能更准确地对RFA疗效进行评价, 并做出相应的临床处理, 提高患者的长期生存率。

7 参考文献

- Chen X, Xiao E, Shu D, Yang C, Liang B, He Z, Bian D. Evaluating the therapeutic effect of hepatocellular carcinoma treated with transcatheter arterial chemoembolization by magnetic resonance perfusion imaging. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 109-113 [PMID: 24284371 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328363716e]
- 杨薇. 影像引导射频消融治疗较大肝癌的现状 & 前景. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 4771-4777
- Minami Y, Kudo M. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: a literature review. *Int J Hepatol* 2011; 2011: 104685 [PMID: 21994847 DOI: 10.4061/2011/104685]
- Xu X, Luo L, Chen J, Wang J, Zhou H, Li M, Jin Z, Chen N, Miao H, Lin M, Dai W, Ahuja AT, Wang YX. Acoustic radiation force impulse elastography for efficacy evaluation after hepatocellular carcinoma radiofrequency ablation: a comparative study with contrast-enhanced ultrasound. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 901642 [PMID: 24895624 DOI: 10.1155/2014/901642]
- Lencioni R, Crocetti L. Radiofrequency ablation of liver cancer. *Tech Vasc Interv Radiol* 2007; 10: 38-46 [PMID: 17980317 DOI: 10.1053/j.tvir.2007.08.006]
- McDermott S, Gervais DA. Radiofrequency ablation of liver tumors. *Semin Intervent Radiol* 2013; 30: 49-55 [PMID: 24436517 DOI: 10.1055/s-0033-1333653]
- Minami Y, Kudo M. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: Current status. *World J Radiol* 2010; 2: 417-424 [PMID: 21179308 DOI: 10.4329/wjr.v2.i11.417]
- Vanagas T, Gulbinas A, Pundzius J, Barauskas

- G. Radiofrequency ablation of liver tumors (II): clinical application and outcomes. *Medicina* (Kaunas) 2010; 46: 81-88 [PMID: 20440080]
- 9 Padma S, Martinie JB, Iannitti DA. Liver tumor ablation: percutaneous and open approaches. *J Surg Oncol* 2009; 100: 619-634 [PMID: 20017157 DOI: 10.1002/jso.21364]
- 10 成建萍, 倪雪君, 周国雄, 丁晓凌, 张海峰, 于秀. 超声引导下射频消融治疗原发性肝癌46例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1412-1416
- 11 陈敏山. 肝癌的射频消融治疗评价. *中华普通外科杂志* 2011; 26: 449-451
- 12 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011; 53: 1020-1022 [PMID: 21374666 DOI: 10.1002/hep.24199]
- 13 Smith S, Gillams A. Imaging appearances following thermal ablation. *Clin Radiol* 2008; 63: 1-11 [PMID: 18068784]
- 14 孙兴伟, 靳勇, 白旭明, 程龙, 顾星石, 原强, 荆剑. 术前碘油栓塞对原发性肝癌消融率的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 5859-5863
- 15 Hotta N, Tagaya T, Maeno T, Ayada M, Sato K, Ishikawa T, Okumura A, Fukuzawa Y, Kakumu S. Advanced dynamic flow imaging with contrast-enhanced ultrasonography for the evaluation of tumor vascularity in liver tumors. *Clin Imaging* 2005; 29: 34-41 [PMID: 15859016]
- 16 Meloni MF, Andreano A, Franza E, Passamonti M, Lazzaroni S. Contrast enhanced ultrasound: Should it play a role in immediate evaluation of liver tumors following thermal ablation? *Eur J Radiol* 2012; 81: e897-e902 [PMID: 22658846 DOI: 10.1016/j.ejrad.2012.05.002]
- 17 Kisaka Y, Hirooka M, Koizumi Y, Abe M, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Contrast-enhanced sonography with abdominal virtual sonography in monitoring radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *J Clin Ultrasound* 2010; 38: 138-144 [PMID: 20014137 DOI: 10.1002/jcu.20654]
- 18 Zheng SG, Xu HX, Lu MD, Xie XY, Xu ZF, Liu GJ, Liu LN. Role of contrast-enhanced ultrasound in follow-up assessment after ablation for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 855-865 [PMID: 23430451 DOI: 10.3748/wjg.v19.i6.855]
- 19 Salvatore V, Bolondi L. Clinical impact of ultrasound-related techniques on the diagnosis of focal liver lesions. *Liver Cancer* 2012; 1: 238-246 [PMID: 24159588 DOI: 10.1159/000343838]
- 20 Salvaggio G, Campisi A, Lo Greco V, Cannella I, Meloni MF, Caruso G. Evaluation of posttreatment response of hepatocellular carcinoma: comparison of ultrasonography with second-generation ultrasound contrast agent and multidetector CT. *Abdom Imaging* 2010; 35: 447-453 [PMID: 19562414 DOI: 10.1007/s00261-009-9551-6]
- 21 Wang XY, Chen D, Zhang XS, Chen ZF, Hu AB. Value of 18F-FDG-PET/CT in the detection of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy or radiofrequency ablation: a comparative study with contrast-enhanced ultrasound. *J Dig Dis* 2013; 14: 433-438 [PMID: 23615075 DOI: 10.1111/1751-2980.12064]
- 22 Ricci P, Cantisani V, Drudi F, Pagliara E, Bezzi M, Meloni F, Calliada F, Erturk SM, D'Andrea V, D'Ambrosio U, Passariello R. Is contrast-enhanced US alternative to spiral CT in the assessment of treatment outcome of radiofrequency ablation in hepatocellular carcinoma? *Ultraschall Med* 2009; 30: 252-258 [PMID: 19280552 DOI: 10.1055/s-2008-1027727]
- 23 Park MH, Rhim H, Kim YS, Choi D, Lim HK, Lee WJ. Spectrum of CT findings after radiofrequency ablation of hepatic tumors. *Radiographics* 2008; 28: 379-390; discussion 390-392 [PMID: 18349446 DOI: 10.1148/rg.282075038]
- 24 宋莉, 邹英华. 射频消融治疗肝脏恶性肿瘤影像学随访进展. *当代医学* 2009; 15: 496-499
- 25 Brennan IM, Ahmed M. Imaging features following transarterial chemoembolization and radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Semin Ultrasound CT MR* 2013; 34: 336-351 [PMID: 23895906 DOI: 10.1053/j.sult.2013.04.004]
- 26 Crocetti L, de Baere T, Lencioni R. Quality improvement guidelines for radiofrequency ablation of liver tumours. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 11-17 [PMID: 19924474 DOI: 10.1007/s00270-009-9736-y]
- 27 Passera K, Selvaggi S, Scaramuzza D, Garbagnati F, Vergnaghi D, Mainardi L. Radiofrequency ablation of liver tumors: quantitative assessment of tumor coverage through CT image processing. *BMC Med Imaging* 2013; 13: 3 [PMID: 23324557 DOI: 10.1186/1471-2342-13-3]
- 28 Meijerink MR, van Waesberghe JH, van der Weide L, van den Tol P, Meijer S, Comans EF, Golding RP, van Kuijk C. Early detection of local RFA site recurrence using total liver volume perfusion CT initial experience. *Acad Radiol* 2009; 16: 1215-1222 [PMID: 19524457 DOI: 10.1016/j.acra.2009.03.023]
- 29 Ippolito D, Fior D, Franzesi CT, Capraro C, Casiraghi A, Leni D, Vacirca F, Corso R, Sironi S. Tumour-related neoangiogenesis: functional dynamic perfusion computed tomography for diagnosis and treatment efficacy assessment in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 916-922 [PMID: 25023006 DOI: 10.1016/j.dld.2014.06.002]
- 30 Ippolito D, Bonaffini PA, Capraro C, Leni D, Corso R, Sironi S. Viable residual tumor tissue after radiofrequency ablation treatment in hepatocellular carcinoma: evaluation with CT perfusion. *Abdom Imaging* 2013; 38: 502-510 [PMID: 22743839 DOI: 10.1007/s00261-012-9924-0]
- 31 Wang Y, Hobbs BP, Ng CS. CT Perfusion Characteristics Identify Metastatic Sites in Liver. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 120749 [PMID: 26509144 DOI: 10.1155/2015/120749]
- 32 陈涛, 潘爱珍, 黄慧玲, 周娉英, 余田. CT灌注扫描对小肝癌射频治疗后疗效的评价. *中国CT和MRI杂志* 2014; 12: 99-101
- 33 张智坚, 吴孟超, 刘崎, 陈栋. 不同影像方法对射频消融治疗肝癌疗效的评价. *中华肿瘤杂志* 2005; 27: 616-619
- 34 Koda M, Tokunaga S, Miyoshi K, Kishina M, Fujise Y, Kato J, Matono T, Okamoto K, Murawaki Y, Kakite S. Assessment of ablative margin by unenhanced magnetic resonance imaging after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol* 2012; 81: 2730-2736 [PMID: 22730446 DOI: 10.1016/j.eurrad.2012.05.002]

■名词解释

射频消融术: 通过射频发生器产生热量, 从而使肿瘤细胞达到一定温度发生凝固性坏死的肿瘤治疗方法, 具有疗效确切、并发症少、可重复操作等优点。

同行评价

本文就超声、CT、MRI、DSA和PET-CT等影像检查技术在肝癌射频消融术后残余癌评估做了全面综述。信息量大, 对临床应用有较好的参考作用。

- 22137612 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.11.013]
- 35 Cernicanu A, Lepetit-Coiffé M, Viallon M, Terraz S, Becker CD. New horizons in MR-controlled and monitored radiofrequency ablation of liver tumours. *Cancer Imaging* 2007; 7: 160-166 [PMID: 17981524 DOI: 10.1102/1470-7330.2007.0022]
- 36 Koda M, Tokunaga S, Fujise Y, Kato J, Matono T, Sugihara T, Nagahara T, Ueki M, Murawaki Y, Kakite S, Yamashita E. Assessment of ablative margin after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma; comparison between magnetic resonance imaging with ferucarbotran and enhanced CT with iodized oil deposition. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1400-1404 [PMID: 21440397 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.03.004]
- 37 Kakite S, Fujii S, Nakamatsu S, Kanasaki Y, Yamashita E, Matsusue E, Ouchi Y, Kaminou T, Tokunaga S, Koda M, Ogawa T. Usefulness of administration of SPIO prior to RF ablation for evaluation of the therapeutic effect: an experimental study using miniature pigs. *Eur J Radiol* 2011; 78: 282-286 [PMID: 21296516 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.01.048]
- 38 Mori K, Fukuda K, Asaoka H, Ueda T, Kunimatsu A, Okamoto Y, Nasu K, Fukunaga K, Morishita Y, Minami M. Radiofrequency ablation of the liver: determination of ablative margin at MR imaging with impaired clearance of ferucarbotran--feasibility study. *Radiology* 2009; 251: 557-565 [PMID: 19251941 DOI: 10.1148/radiol.2512081161]
- 39 Makino Y, Imai Y, Igura T, Hori M, Fukuda K, Sawai Y, Kogita S, Fujita N, Takehara T, Murakami T. Comparative evaluation of three-dimensional Gd-EOB-DTPA-enhanced MR fusion imaging with CT fusion imaging in the assessment of treatment effect of radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Abdom Imaging* 2015; 40: 102-111 [PMID: 25052767 DOI: 10.1007/s00261-014-0201-2]
- 40 Türkbey B, Aras Ö, Karabulut N, Turgut AT, Akpınar E, Alibek S, Pang Y, Ertürk ŞM, El Khouli RH, Bluemke DA, Choyke PL. Diffusion-weighted MRI for detecting and monitoring cancer: a review of current applications in body imaging. *Diagn Interv Radiol* 2012; 18: 46-59 [PMID: 21928189 DOI: 10.4261/1305-3825.DIR.4708-11.2]
- 41 O'Flynn EA, Blackledge M, Collins D, Downey K, Doran S, Patel H, Dumonteil S, Mok W, Leach MO, Koh DM. Evaluating the diagnostic sensitivity of computed diffusion-weighted MR imaging in the detection of breast cancer. *J Magn Reson Imaging* 2016 Jan 13. [Epub ahead of print] [PMID: 26762608 DOI: 10.1002/jmri.25131]
- 42 Holzapfel K, Bruegel M, Eiber M, Ganter C, Schuster T, Heinrich P, Rummeny EJ, Gaa J. Characterization of small (≤ 10 mm) focal liver lesions: value of respiratory-triggered echo-planar diffusion-weighted MR imaging. *Eur J Radiol* 2010; 76: 89-95 [PMID: 19501995 DOI: 10.1016/j.ejrad.2009.05.014]
- 43 Liu Y, Lu L, Jin H, Chen X, Zhang Z, Liu Z, Liang C. Radiofrequency ablation of liver VX2 tumor: experimental results with MR diffusion-weighted imaging at 3.0T. *PLoS One* 2014; 9: e104239 [PMID: 25102074 DOI: 10.1371/journal.pone.0104239]
- 44 Chandarana H, Taouli B. Diffusion and perfusion imaging of the liver. *Eur J Radiol* 2010; 76: 348-358 [PMID: 20399054 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.03.016]
- 45 郑后军. 磁共振灌注成像评价肝癌射频消融治疗后疗效的实验研究. 南充: 川北医学院, 2012
- 46 陈永富, 伍筱梅, 商健彪, 赖清. 肝癌射频消融术后的血管改变与疗效及残癌监控. 现代临床医学生物工程杂志 2006; 12: 111-113
- 47 Xia Q, Liu J, Wu C, Song S, Tong L, Huang G, Feng Y, Jiang Y, Liu Y, Yin T, Ni Y. Prognostic significance of (18)FDG PET/CT in colorectal cancer patients with liver metastases: a meta-analysis. *Cancer Imaging* 2015; 15: 19 [PMID: 26589835 DOI: 10.1186/s40644-015-0055-z]
- 48 Notaristefano A, Niccoli Asabella A, Stabile Ianora AA, Merenda N, Moschetta M, Antonica F, Altini C, Ferrari C, Cesarano E, Rubini G. [18F-FDG PET/CT in staging and restaging cholangiocarcinoma]. *Recenti Prog Med* 2013; 104: 328-335 [PMID: 24042402 DOI: 10.1701/1315.14570]
- 49 Purandare NC, Rangarajan V, Shah SA, Sharma AR, Kulkarni SS, Kulkarni AV, Dua SG. Therapeutic response to radiofrequency ablation of neoplastic lesions: FDG PET/CT findings. *Radiographics* 2011; 31: 201-213 [PMID: 21257942 DOI: 10.1148/rg.311105033]
- 50 Chen W, Zhuang H, Cheng G, Torigian DA, Alavi A. Comparison of FDG-PET, MRI and CT for post radiofrequency ablation evaluation of hepatic tumors. *Ann Nucl Med* 2013; 27: 58-64 [PMID: 23054830 DOI: 10.1007/s12149-012-0656-6]
- 51 畅智慧, 刘兆玉, 郑加贺, 单明, 卢再鸣, 郭启勇. 18F-FDG PET、CT及PET/CT对肝脏恶性肿瘤射频消融术后残余癌诊断的Meta分析. 中国临床医学影像杂志 2010; 21: 774-777
- 52 Sham JG, Kievit FM, Grierson JR, Chiarelli PA, Miyaoka RS, Zhang M, Yeung RS, Minoshima S, Park JO. Glypican-3-targeting F(ab')₂ for 89Zr PET of hepatocellular carcinoma. *J Nucl Med* 2014; 55: 2032-2037 [PMID: 25359880 DOI: 10.2967/jnumed.114.145102]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



粪菌移植治疗炎症性肠病的现状

温红珠, 郝微微, 刘玉婷, 邵兰君

温红珠, 邵兰君, 上海中医药大学附属龙华医院消化科 上海市 200032

郝微微, 上海中医药研究院脾胃病研究所 上海市 200032

刘玉婷, 上海光华中西医结合医院 上海市 200052

温红珠, 住院医师, 主要从事中医药防治胃肠道疾病方向的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81403362
国家中医临床研究基地龙医团队基金资助项目, No. LYTD-09
龙华医院2016年度院级科研基金资助项目, No. 2016YR02

作者贡献分布: 本文综述由温红珠、刘玉婷及邵兰君完成; 郝微微负责审校。

通讯作者: 郝微微, 主任医师, 硕士生导师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药研究院脾胃病研究所。
hao2364@hotmail.com

收稿日期: 2016-02-02
修回日期: 2016-02-23
接受日期: 2016-02-29
在线出版日期: 2016-04-08

Fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease

Hong-Zhu Wen, Wei-Wei Hao, Yu-Ting Liu, Lan-Jun Shao

Hong-Zhu Wen, Lan-Jun Shao, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

Wei-Wei Hao, Digestive Disease Institute, Shanghai Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Yu-Ting Liu, Guanghua Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 200052, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81403362; Long-yi Expert and Long-yi Team Fund, No. LYTD-09; Natural Science Foundation of Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, No. 2016YR02

Correspondence to: Wei-Wei Hao, Chief Physician, Digestive Disease Institute, Shanghai Institute of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. hao2364@hotmail.com

Received: 2016-02-02
Revised: 2016-02-23
Accepted: 2016-02-29
Published online: 2016-04-08

Abstract

Fecal microbiota transplantation (FMT) for treatment of inflammatory bowel disease (IBD), a common digestive disease, has attracted great interest in recent years, mainly because of the high prevalence and recurrence of IBD. IBD is difficult to treat, and standard therapy does not always induce remission. FMT is an alternative approach that can induce remission in some patients with active IBD. However, many unanswered questions on the clinical application of FMT in IBD remain. This review discusses the efficacy, adverse events, and optional route of administration of FMT in IBD.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Fecal microbiota transplantation; Inflammatory bowel disease; Intestinal microbiota; Clinical application

Wen HZ, Hao WW, Liu YT, Shao LJ. Fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1545-1551 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1545.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1545>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease,

■背景资料
粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)最早可追溯至1700多年前(公元4世纪)的东晋时期,我国医师葛洪即在《肘后方》中记载使用人粪治病“绞粪汁,饮数合至一二升,谓之黄龙汤,陈久者佳”。近年来, FMT治疗炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)获得研究者的关注,2015年两项RCT研究结果问世,为FMT治疗IBD提供了更客观可靠的数据。

■同行评议者
钟英强,教授,主任医师,中山大学孙逸仙纪念医院消化内科

■ 创新盘点

FMT近年来引起关注, 对经标准治疗方案无法带来临床缓解的IBD显示出一定的疗效; 但现阶段FMT治疗IBD的临床应用和普及仍存在许多问题。本文就FMT治疗IBD的疗效、安全性和给药方案等进行综述, 并指出了现阶段FMT治疗IBD的临床应用和普及仍存在的问题。

IBD)是常见的难治性消化系统疾病之一, 其发病率和复发率逐年升高。IBD的治疗手段有限, 特别是针对标准治疗方案难治的IBD治疗面临诸多棘手的问题。粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)近年来引起关注, 对经标准治疗方案无法带来临床缓解的IBD显示出一定的疗效; 但现阶段FMT治疗IBD的临床应用和普及仍存在许多问题。本文就FMT治疗IBD的疗效、安全性和给药方案等进行综述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 粪菌移植; 炎症性肠病; 肠道微生态; 临床应用

核心提示: 本文系统回顾了粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)治疗炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的适应证、FMT制备方法、FMT给药方案、疗效、安全性、供菌者选择、影响FMT的因素及FMT治疗IBD的可能机制8个方面, 展示本研究领域的研究现状。

温红珠, 郝微微, 刘玉婷, 邵兰君. 粪菌移植治疗炎症性肠病的现状. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1545-1551 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1545.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1545>

0 引言

肠道菌群是指在人体肠道中存在的、与人体共生的复杂微生物, 主要参与维持肠道微生态稳定、机体代谢和免疫功能^[1,2]。粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是指将经处理的来自于健康人(供菌者)的、含有肠道菌群的粪便提取物, 通过灌肠或经口给药的方法、移植到患者肠道内, 通过重建患者肠道菌群治疗疾病的一种方法。FMT历史悠久, 最早可追溯至1700多年前(公元4世纪)的东晋时期, 我国医师葛洪即在《肘后方》中记载使用人粪治病“绞粪汁, 饮数合至一二升, 谓之黄龙汤, 陈久者佳”。FMT适用于患有与肠道菌群紊乱相关的疾病的人群^[3], 如艰难梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI), 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)以及肥胖等; 2013年, FMT治疗被列入美国治疗CDI的临床指南。

IBD是一组病因尚不十分清楚的慢性非

特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD); 其病因和发病机制目前尚不明确, 已知肠道微生态失衡参与了IBD的发病过程; 正常情况下, 人体肠道菌群与宿主处于相互依赖、相互制约的微生态平衡; 而发生IBD时, 机体的肠道微生态平衡被破坏, 菌群结构发生异常改变^[4,5]。主要表现为拟杆菌门和厚壁菌门细菌数量显著减少, 而变形菌门和放线菌门细菌数量增加^[6,7]。因为IBD的肠道微生态紊乱主要表现为菌群多样性的改变, 而非特定菌种的改变, 所以从理论上而言, 使用从健康人粪便提取的含有大量活性菌的物质治疗, 改变IBD患者菌群多样性, 促进其恢复肠道稳态, 从而治疗疾病是切实可行的。而实际上, 早在1988年, 澳大利亚消化病中心即使用FMT治疗UC, 获得了长达23年的临床无症状和组织学缓解^[8]。次年, Bennet等^[9]在《柳叶刀》上首次发表了使用FMT成功治疗1例难治性的UC的病例报告。2003年, Borody等^[10]报道了FMT治疗UC获得临床、内镜及组织学缓解的病例报告。随后FMT治疗IBD开始获得研究者的关注, 尤其是近5年, 迎来了研究热潮^[11-19]; 2015年2项RCT研究^[20,21]结果问世, 为FMT治疗IBD提供了更客观可靠的数据。本文就FMT治疗IBD的适应证、FMT制备方法、FMT给药方案、疗效、安全性、供菌者选择、影响FMT的因素及FMT治疗IBD的可能机制8个方面作综述如下。

1 适应证

IBD属于难治性疾病, 目前用于IBD治疗的药物主要包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂(如硫唑嘌呤)和肿瘤坏死因子拮抗剂(如英夫利昔单抗), 但这些药物并不能为患者带来满意疗效, 许多患者在治疗期间仍处于疾病活动期^[22]; 这部分患者, 不论其疾病严重程度为轻度、中度还是重度, 不论是儿童或老年患者, 均可以尝试使用FMT治疗^[20,21]。Moayyedi等^[20]发现病程≤1年的患者接受FMT的有效率更高(3/4, 75%), 但因为样本量太小, 结果的可靠性有待进一步的研究验证。

2 FMT制备方法

FMT可通过滤纸或无菌纱布逐层过滤获取粪菌液, 可以采用制备后即用于或冰冻保存后融解

使用. 而在新鲜和冰冻样本的疗效比较上, 根据FMT治疗CDI的经验, 两种样本间无差异^[23,24]; 但Moayyedi等^[20]的研究发现冰冻后的粪菌液治疗疗效有增加的趋势, 但作者也注意到这些冰冻样品均来自同一供菌者, 所以尚需要更多的客观数据进一步明确两者疗效是否有差异.

3 FMT给药方案

FMT的给药方案包括上消化道(如鼻胃管、鼻空肠管)和下消化道(如灌肠、结肠镜下给药)给药2种, FMT治疗CDI的经验提示下消化道给药更有效^[25]. UC以直肠及远端结肠受累为主, 故采用FMT治疗建议使用灌肠或结肠镜下给药方法^[20,21]; CD好发于回肠末端和右半结肠, 可累及小肠, 故理论上使用上消化道给药似乎应该更有效, 但目前尚无RCT研究数据. FMT给药频率目前尚无定论, 以多次治疗为主(间断或连续给药), 也有采用单次给药的^[17]; 最新开展的RCT研究均采用多次给药, 如Moayyedi等^[20]的研究采用保留灌肠给药, 1次/wk, 连续治疗6 wk; Rossen等^[21]的研究采用经鼻十二指肠管给药, 每3 wk给药1次, 治疗2次.

4 疗效

近年来涌现了大量FMT治疗IBD的小样本量研究, 2014年, Sha等^[26]对这些研究进行了系统评价, 得出FMT治疗成人IBD的成功率77.8%(80例UC, 1例CD, 3例UC/CD), 儿童患者成功率高达100%(3例UC)的结论. 但需要注意的是, 该系统评价的有效性指标以临床症状缓解为主, 未涉及内镜及组织学检查结果, 因此其结论客观性欠佳; 需进一步的RCT研究印证. 随后, Colman等^[27]再次开展了一项系统评价/Meta分析, 纳入了一项RCT研究^[28]的中期结果, 结果提示FMT治疗IBD的总临床缓解率为45%; 但是, 将病例报告研究剔除后, 总缓解率降至36.2%, CD患者缓解率为60.5%, UC患者为22.0%.

2015年, 两项RCT研究结果在*Gastroenterology*发表, 为FMT治疗IBD提供了更客观的数据. Moayyedi等^[20]的RCT研究表明FMT治疗疗效显著优于安慰剂治疗. 研究纳入75例经治后Mayo评分仍 ≥ 4 分的活动期成人UC患者, 予FMT或饮用水1次/wk保留灌肠治疗6 wk, 治疗期间所有患者均维持其原治疗方案不变. 第

7周时, 采用意向性治疗分析, FMT治疗组有24%(9/38)患者获得临床缓解(定义为Mayo评分 ≤ 2 分, 乙状结肠镜评分 = 0分); 而安慰剂组仅有5%(2/37)患者获得缓解, 差异有统计学意义($P = 0.03$). 而且, 获得临床缓解的9例FMT治疗患者中, 7例患者的直肠、乙状结肠和降结肠活检提示无炎症病变, 其余2例患者仅在直肠遗留轻度炎症. 1年随访时8/9例患者仍维持缓解, 其中4例患者可停药. Rossen等^[21]的RCT研究表明FMT治疗的疗效有优于安慰剂治疗的趋势. 研究纳入了50例经治后、轻中度活动期(4分 \leq SCCAI评分 ≤ 11 分)UC患者, 将其随机分至供菌者粪便或自体粪便移植组, 采用鼻十二指肠给药的方法, 入组研究时给药1次, 3 wk后重复给药1次. 第12周时, 采用意向性治疗分析, FMT治疗组有30.4%(7/23)患者获得临床缓解(定义为SCCAI评分 ≤ 2 分, Mayo内镜评分下降 ≥ 1 分); 而安慰剂组亦有20.0%(5/25)患者获得缓解; 组间差异无统计学意义($P = 0.51$). 而采用符合方案集进行统计分析时, 则FMT治疗组有41.2%(7/17)患者获得临床缓解; 安慰剂组有25.0%(5/20)患者获得缓解; 组间差异亦无统计学意义($P = 0.29$).

在FMT治疗后菌群改变上, 上述2项RCT研究均表明FMT治疗后, 患者肠道菌群多样性与基线相比显著增加, 经治后患者的菌群结构向供菌者的菌群结构靠近. Angelberger等^[18]的研究发现FMT治疗后, 具有抗炎和/或产生短链脂肪酸作用的普拉梭菌、*Rosebura faecis*、卵形拟杆菌等在患者体内成功定植是治疗成功的标志; Kump等^[17]的研究发现FMT治疗后, 患者的变形菌门细菌减少, 而拟杆菌门细菌增多; 但Libertucci等^[29]的研究则发现FMT治疗有效患者的产丁酸盐的瘤胃球菌属、*Blautia*和毛螺菌科细菌增加有关.

值得注意的是, 所有临床试验中FMT的角色均为辅助治疗, 即患者在维持原治疗方案的情况下加用FMT治疗. 而单独使用FMT治疗IBD的疗效如何呢? 目前尚无法确定, 但是, Angelberger等^[18]的研究中1例UC患者在FMT治疗期间未合并使用其他药物, 该患者经治(FMT经鼻空肠管给药+灌肠连续治疗3 d)后未获得临床缓解(Mayo总分 ≤ 2 分, 且无单个分项评分均 > 1 分). Suskind等^[30]的开放性研究中1例CD患者单独使用FMT治疗(FMT经胃管给

■名词解释

粪菌移植(FMT): 是指将经处理的来自于健康人(供菌者)的、含有肠道菌群的粪便提取物, 通过灌肠或经口给药的方法、移植到患者肠道内, 通过重建患者肠道菌群治疗疾病的一种方法.

■同行评价

本文比较客观地描述了FMT治疗IBD的疗效、安全性、供菌者选择和影响FMT的因素等, 对目前的FMT研究有一定的作用。

药单次给药), 未获得临床缓解(PCDAI评分<10分)。未来的临床研究应纳入单独的FMT治疗IBD组, 以明确是否可单独使用FMT治疗IBD。

5 安全性

FMT相关不良事件主要分短期和长期2种, 目前有关FMT治疗IBD的安全性数据有限, 长期安全性数据更少。短期不良事件主要包括FMT给药方法相关(如鼻饲管操作、结肠镜操作和麻醉等)的不良事件, 粪菌液移植相关的不良反应2种。FMT治疗后患者可能出现发热、寒战以及一些消化系症状, 如腹胀、肠鸣音增加、排气多、呕吐、大便次数增加、腹部触痛等; 还有UC患者在FMT治疗后出现疾病加重, 但最新的两项RCT均未发现此类事件。长期安全性主要指的是接受FMT治疗者可能经FMT传染某些病原物, 或因为肠道菌群的变化罹患某些疾病, 如肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化、结肠癌、非酒精性脂肪性肝病和自闭症等已经证实与肠道微生态改变相关的慢性病。Ridaura等^[31]报道予小鼠肥胖者的肠道菌群移植, 可诱导小鼠发生肥胖; 而将瘦者的粪菌移植至患有代谢综合征的肥胖患者, 后者的胰岛素敏感性增加^[32]。因此, 使用FMT治疗IBD的长期安全性应引起我们的重视, 未来应开展更长期的随访研究跟踪观察。

6 供菌者的选择

供菌者首先必须是健康人, 既可选择患者的亲友, 也可选择和患者无关的健康供菌者; 同时考虑到人类肠道菌群受到遗传、生活环境、饮食习惯和抗生素使用等因素的影响, 存在个体差异和地域差别; 因此, 理论上选择患者亲属可能对FMT治疗具有更积极的影响^[33], 而几乎半数研究也采用患者的一级亲属作为供菌者, 但最新的两项RCT研究均采用的是健康供菌者的菌群给药。

不论采用患者健康的配偶、亲友还是健康志愿者作为供菌者, FMT治疗前都应对供菌者进行严格筛选, 这些筛选标准主要源自临床研究, 主要包含以下几个排除标准: (1)近3-6 mo内使用过抗生素或其他可能影响肠道菌群稳态的药物, 如益生菌、益生元等; (2)患有IBD、肠易激综合征、慢性便秘或慢性腹泻, 或有其他消化系症状; (3)患有胃肠道肿瘤

或胃肠道息肉; (4)患有恶性肿瘤; (5)患有免疫系统疾病或自身免疫性疾病; (6)患者糖尿病或代谢综合征等代谢性疾病; (7)患者精神系统疾病; (8)正在使用免疫抑制剂或化疗药物; (9)既往有肝炎、结核等传染病史; (10)毒品或精麻药物使用者; (11)近期有疫区旅游者; (12)有不正当的性生活; (13)过度肥胖者; (14)患有特异性反应性疾病, 如哮喘、湿疹和胃肠道嗜酸性粒细胞相关疾病等^[34]。无上述排除标准的供菌者还需提供粪便进行虫卵、寄生虫、细菌筛查, 如沙门杆菌、志贺菌、霍乱弧菌等; 提供血液进行全血细胞计数、ESR、CRP、HIV、HAV、HBV、HCV、梅毒、结核、EB病毒、巨细胞病毒等筛查。此外, 供菌者在供菌期间一旦使用抗生素, 需至少停止供菌3-6 mo。

7 影响FMT的因素

影响FMT治疗成功与否的因素众多, 而目前可以明确的与FMT有关因素主要包括以下3方面: (1)供菌者, 毛螺菌科和瘤胃球菌属细菌富集的供菌者FMT治疗效果更佳^[20]; (2)疗程, ≤1年, 病程短的肠道菌群更易改变, 更易获得临床缓解^[20]。目前尚不能肯定治疗与粪菌新鲜/冰冻-解冻, IBD的炎症部位, 患者是否吸烟, 患者的联合用药(氨基水杨酸、糖皮质激素、抗TNF治疗)有关。

此外, 联合使用免疫抑制剂的UC患者接受FMT治疗的疗效有增加的趋势, 但无统计学意义^[20]; 而Suskind等^[30]的研究发现, 治疗前菌群结构与供菌者的菌群相似度最高的CD患者, 其接受FMT治疗的疗效低, 提示患者的菌群结构与供菌者的菌群结构相似度对FMT治疗有效性有影响, 但因为其样本量太小, 尚不能得到有力结论, 需要进一步的研究证实。

8 FMT治疗IBD的可能机制

正常情况下, 人体肠道菌群与宿主间存在着相互依赖、相互制约的微生态平衡; 而发生IBD时, 机体的肠道微生态平衡被破坏, 菌群多样性降低; 加上拟杆菌属和芽孢杆菌属细菌可缓解动物结肠炎的发现, 为FMT治疗IBD提供了理论依据^[6,35-37]。因此, 理论上采用健康供菌者的粪菌液治疗可以重建IBD患者受损的肠道微生物群落, 恢复失衡的肠道微生物功能。IBD患者的肠道菌群结构改变主要表现为拟杆菌

门和厚壁菌门细菌数量减少, 变形菌门和放线菌门细菌数量增加; 但在具体菌属或菌种改变上, 目前的研究尚没有统一的结论; 而FMT治疗后患者肠道菌群发生了何种变化目前亦无定论^[6,7,38-46], 随着宏基因组学的广泛应用, 未来有希望能明确IBD的肠道菌群的菌属甚或菌种改变, 进而阐明FMT治疗后患者的肠道菌属菌种改变特征。

近年来, 科学家们针对肠道菌群参与IBD的机制开展了大量研究, 但肠道菌群如何参与IBD的神秘面纱至今仍未被完全揭开。目前主要认为肠道菌群结构的改变可能通过影响宿主的免疫应答, 诱导IBD的发生发展^[47-49]; 而有关FMT治疗IBD的潜在作用机制目前研究甚少, Tian等^[50]的研究发现FMT治疗UC可能与菌群改变及免疫应答均有关, 未来需要更多的研究进一步阐明。

9 结论

IBD属于难治性疾病, 目前的标准治疗方案不能为患者带来满意的治疗效果, FMT为IBD患者带来了一种治疗选择。虽然系统评价结果表明其有效性及安全性均尚不明确, 但其纳入的研究多为病例报告, RCT研究少, 所以其结果的客观性及可靠性尚待进一步的Meta分析验证。虽然最新开展的两项RCT研究表明FMT治疗活动期UC患者的临床有效率仅为24%-30%, 但我们应注意到, 这些研究纳入的均是标准治疗方案不能为其带来临床缓解的、平均病程 ≥ 7 年的患者, 而75%病程 ≤ 1 年的患者可自FMT治疗中获益; 其次, 很多因素可能影响到研究结果, 如患者的IBD病程、供菌者的选择、FMT给药途径及频率、合并用药等。所以, 目前尚不能否定FMT作为IBD治疗的手段之一, 而且可以肯定的一点是: 改变肠道菌群可使IBD患者获益。对于目前标准治疗不能带来缓解的IBD患者, 可尝试使用FMT治疗, 但应充分告知患者治疗可能带来的风险, 签署知情同意书, 治疗前应认真筛查供菌者, 测定供菌者及患者的菌群结构, 详细记录粪菌液的制备方法, 治疗时记录患者的所有症状体征监测治疗安全性, 长期随访患者以监测治疗的长期安全性。未来的临床试验设计时应加入FMT治疗初治的、短疗程的、缓解期IBD患者人群; 应开展更长期的随访以明确FMT治疗的长期安

全性; 应进一步研究FMT起效的作用机制等。现尚无单独应用FMT治疗IBD的临床研究资料, 未来的研究应涉及这方面以明确是否可单独使用FMT治疗IBD。目前FMT采用全粪移植, 未来应对其进一步细化提炼, 希望能获得特定的有效菌或其代谢产物进行治疗。随着DNA测序和代谢组学技术的快速发展, 以及大数据及复杂多维数据的生物计算机技术的进步, 未来将可能为疾病量身定制特定粪菌治疗, 实现精准治疗的目标。

10 参考文献

- 1 Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915-1920 [PMID: 15790844 DOI: 10.1126/science.1104816]
- 2 Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006; 124: 837-848 [PMID: 16497592 DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.017]
- 3 Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A, Moore T, Wu G. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology* 2015; 149: 223-237 [PMID: 25982290 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.008]
- 4 Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology* 2014; 146: 1489-1499 [PMID: 24560869 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.02.009]
- 5 Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 599-608 [PMID: 22907164 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.152]
- 6 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13780-13785 [PMID: 17699621 DOI: 10.1073/pnas.0706625104]
- 7 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16731-16736 [PMID: 18936492 DOI: 10.1073/pnas.0804812105]
- 8 Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation: current status and future directions. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 653-655 [PMID: 22017691 DOI: 10.1586/egh.11.71]
- 9 Bennet JD, Brinkman M. Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *Lancet* 1989; 1: 164 [PMID: 2563083 DOI: 10.1016/S0140-6736(89)91183-5]
- 10 Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal

- bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-47 [PMID: 12811208 DOI: 10.1097/00004836-200307000-00012]
- 11 Zhang FM, Wang HG, Wang M, Cui BT, Fan ZN, Ji GZ. Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7213-7216 [PMID: 24222969 DOI: 10.3748/wjg.v19.i41.7213]
- 12 Damman C, Brittnacher M, Hayden H, Radey M, Hager K, Miller S, Zisman TL. Su1403 Single colonoscopically administered fecal microbiota transplant for ulcerative colitis-a pilot study to determine therapeutic benefit and graft stability. *Gastroenterology* 2014; 146: S-460 [DOI: 10.1016/S0016-5085(14)61646-2]
- 13 Vaughn BP, Gevers D, Ting A, Korzenik JR, Robson SC, Moss AC. Mo1228 Fecal microbiota transplantation induces early improvement in symptoms in patients with active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2014; 146: S-591-S-592 [DOI: 10.1016/S0016-5085(14)62143-0]
- 14 Suskind DL, Singh N, Nielson H, Wahbeh G. Fecal microbial transplant via nasogastric tube for active pediatric ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015; 60: 27-29 [PMID: 25162366 DOI: 10.1097/MPG.0000000000000544]
- 15 Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, Hildebrand F, Machiels K, Van den Broeck K, Van Assche G, J. Rutgeerts P, Raes J. Pilot study on the safety and efficacy of faecal microbiota transplantation in refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2012; 142: S-360 [DOI: 10.1016/S0016-5085(12)61356-0]
- 16 Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, Cloney D, Kugathasan S. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 597-601 [PMID: 23542823 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318292fa0d]
- 17 Kump PK, Gröchenig HP, Lackner S, Trajanoski S, Reicht G, Hoffmann KM, Deutschmann A, Wenzl HH, Petritsch W, Krejs GJ, Gorkiewicz G, Högenauer C. Alteration of intestinal dysbiosis by fecal microbiota transplantation does not induce remission in patients with chronic active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2155-2165 [PMID: 23899544 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31829ea325]
- 18 Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A, Lichtenberger C, Dejaco C, Papay P, Novacek G, Trauner M, Loy A, Berry D. Temporal bacterial community dynamics vary among ulcerative colitis patients after fecal microbiota transplantation. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1620-1630 [PMID: 24060759 DOI: 10.1038/ajg.2013.257]
- 19 Landy J, Al-Hassi HO, Mann ER, et al. A prospective controlled pilot study of fecal microbiota transplantation for chronic refractory pouchitis. *Gut* 2013; 62 Suppl 1: 162 [DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304907.367]
- 20 Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onishi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2015; 149: 102-109.e6 [PMID: 25857665 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.001]
- 21 Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JH, Duflou A, Löwenberg M, van den Brink GR, Mathus-Vliegen EM, de Vos WM, Zoetendal EG, D'Haens GR, Ponsioen CY. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* 2015; 149: 110-118.e4 [PMID: 25836986 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.03.045]
- 22 Talley NJ, Abreu MT, Achkar JP, Bernstein CN, Dubinsky MC, Hanauer SB, Kane SV, Sandborn WJ, Ullman TA, Moayyedi P. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106 Suppl 1: S2-S25; quiz S26 [PMID: 21472012 DOI: 10.1038/ajg.2011.58]
- 23 Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 761-767 [PMID: 22290405 DOI: 10.1038/ajg.2011.482]
- 24 Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA* 2014; 312: 1772-1778 [PMID: 25322359 DOI: 10.1001/jama.2014.13875]
- 25 Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 500-508 [PMID: 23511459 DOI: 10.1038/ajg.2013.59]
- 26 Sha S, Liang J, Chen M, Xu B, Liang C, Wei N, Wu K. Systematic review: faecal microbiota transplantation therapy for digestive and nondigestive disorders in adults and children. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1003-1032 [PMID: 24641570 DOI: 10.1111/apt.12699]
- 27 Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 1569-1581 [PMID: 25223604 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.08.006]
- 28 Moayyedi P, Surette M, Wolfe M, Taraschi R, Kim P, Libertucci J, Armstrong D, Marshall JK, Reinisch W, Le CH. 929c A randomized, placebo controlled trial of fecal microbiota therapy in active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014; 146: S-159 [DOI: 10.1016/S0016-5085(14)60567-9]
- 29 Libertucci J, Whelan FJ, Moayyedi P, Lee CH, Wolfe M, Onishi C, Marshall JK, Armstrong D, Surette M. Tu2033 Investigating the microbiome pre and post fecal microbiota therapy from active ulcerative colitis patients in a randomized placebo controlled trial. *Gastroenterology* 2014; 146: S-902 [DOI: 10.1016/S0016-5085(14)63280-7]
- 30 Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, Shaffer ML, Hayden HS, Qin X, Singh N, Damman CJ, Hager KR, Nielson H, Miller SI. Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 556-563 [PMID: 25647155 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000307]
- 31 Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B,

- Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JL. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 2013; 341: 1241214 [PMID: 24009397 DOI: 10.1126/science.1241214]
- 32 Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druesne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Strees ES, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913-916.e7 [PMID: 22728514 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.031]
- 33 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 994-1002 [PMID: 22002980 DOI: 10.1093/cid/cir632]
- 34 Kao D, Hotte N, Gillevet P, Madsen K. Fecal microbiota transplantation inducing remission in Crohn's colitis and the associated changes in fecal microbial profile. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 625-628 [PMID: 24667590 DOI: 10.1016/j.jmb.2013.06.004]
- 35 Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol* 2015; 37: 47-55 [PMID: 25420450 DOI: 10.1007/s00281-014-0454-4]
- 36 Dalal SR, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *J Clin Invest* 2014; 124: 4190-4196 [PMID: 25083986 DOI: 10.1172/JCI72330]
- 37 Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1452-1459 [PMID: 23034604 DOI: 10.1038/ajg.2012.93]
- 38 Andoh A, Sakata S, Koizumi Y, Mitsuyama K, Fujiyama Y, Benno Y. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the diversity of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 955-962 [PMID: 17455205 DOI: 10.1002/ibd.20151]
- 39 张静, 韩英, 王继恒, 王志红. UC和其他肠道疾病肠道菌丛结构的ERIC-PCR指纹图谱分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2007; 16: 430-433
- 40 Hartley MG, Hudson MJ, Swarbrick ET, Hill MJ, Gent AE, Hellier MD, Grace RH. The rectal mucosa-associated microflora in patients with ulcerative colitis. *J Med Microbiol* 1992; 36: 96-103 [PMID: 1740790 DOI: 10.1099/00222615-36-2-96]
- 41 Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1034-1041 [PMID: 12374228 DOI: 10.1080/003655202320378220]
- 42 Dotan I, Rachmilewitz D. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 426-430 [PMID: 15930982]
- 43 Rowan F, Docherty NG, Murphy M, Murphy B, Calvin Coffey J, O'Connell PR. *Desulfovibrio* bacterial species are increased in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1530-1536 [PMID: 20940602 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f1e620]
- 44 Mukhopadhyay I, Thomson JM, Hansen R, Berry SH, El-Omar EM, Hold GL. Detection of *Campylobacter concisus* and other *Campylobacter* species in colonic biopsies from adults with ulcerative colitis. *PLoS One* 2011; 6: e21490 [PMID: 21738679 DOI: 10.1371/journal.pone.0021490]
- 45 Pilarczyk-Zurek M, Chmielarczyk A, Gosiewski T, Tomusiak A, Adamski P, Zwolinska-Wcislo M, Mach T, Heczko PB, Strus M. Possible role of *Escherichia coli* in propagation and perpetuation of chronic inflammation in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 61 [PMID: 23566070 DOI: 10.1186/1471-230X-13-61]
- 46 Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut* 2003; 52: 79-83 [PMID: 12477765]
- 47 Garrett WS, Gordon JL, Glimcher LH. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell* 2010; 140: 859-870 [PMID: 20303876 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.023]
- 48 Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 159-169 [PMID: 20182457 DOI: 10.1038/nri2710]
- 49 Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 735-744 [PMID: 20865020 DOI: 10.1038/nri2850]
- 50 Tian Z, Liu J, Liao M, Li W, Zou J, Han X, Kuang M, Shen W, Li H. Beneficial Effects of Fecal Microbiota Transplantation on Ulcerative Colitis in Mice. *Dig Dis Sci* 2016 Feb 5. [Epub ahead of print] [PMID: 26846120 DOI: 10.1007/s10620-016-4060-2]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



艾灸足三里穴对孤束核损毁术后大鼠胃黏膜损伤修复作用的影响

向娟, 陈果, 欧阳里知, 李飞, 向丽婷, 陈英, 于隽, 杨舟, 李铁浪, 彭亮

背景资料

目前, 研究已证实艾灸疗法可刺激机体产生一系列细胞因子、蛋白、分子等, 这些内源性保护因子可保护胃黏膜、促进损伤胃黏膜修复, 而其神经相关修复机制尚不明确, 艾灸刺激信号传递途径及与中枢神经系统关系亦不明确。

向娟, 陈果, 欧阳里知, 李飞, 向丽婷, 陈英, 于隽, 杨舟, 李铁浪, 彭亮, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410208

向娟, 在读硕士, 主要从事针灸治疗疾病的机制及临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81303050
湖南省优秀博士论文基金资助项目, No. 2014-2016

作者贡献分布: 课题由彭亮、杨舟、于隽及李铁浪设计; 研究过程由向娟、陈果、李飞、向丽婷、陈英及欧阳里知操作完成; 数据分析由向娟、陈果及欧阳里知完成; 本论文写作由向娟完成。

通讯作者: 彭亮, 副教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园, 湖南中医药大学针灸推拿学院。match7@163.com
电话: 0731-88458187

收稿日期: 2015-12-27
修回日期: 2016-01-18
接受日期: 2016-03-08
在线出版日期: 2016-04-08

Effect of moxibustion stimulation at Zusanli (ST36) on repair of gastric mucosal injury in rats after damage to the nucleus of solitary tract

Juan Xiang, Guo Chen, Li-Zhi Ou-Yang, Fei Li, Li-Ting Xiang, Ying Chen, Jun Yu, Zhou Yang, Tie-Lang Li, Liang Peng

同行评议者

郝微微, 主任医师, 医学博士, 硕士生导师, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院消化内科; 任路, 教授, 辽宁中医药大学学科发展规划处

Juan Xiang, Guo Chen, Li-Zhi Ou-Yang, Fei Li, Li-Ting Xiang, Ying Chen, Jun Yu, Zhou Yang, Tie-Lang Li, Liang Peng, College of Acupuncture, Moxibustion and Tui-na, Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hu'nan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81303050; Hu'nan Provincial Outstanding Doctoral Dissertation Funded Projects, No. 2014-2016

Correspondence to: Liang Peng, Associate Professor, College of Acupuncture, Moxibustion and Tui-na, Hu'nan University of Chinese Medicine, Scientific and Educational Park of Hanpu, Yuelu District, Changsha 410208, Hu'nan Province, China. match7@163.com

Received: 2015-12-27
Revised: 2016-01-18
Accepted: 2016-03-08
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of moxibustion at "Zusanli" (ST36) on the contents of endogenous protective factors such as prostaglandin E₂ (PGE₂) and interleukin 4 (IL-4) in gastric mucosal injury rats after damage to the nucleus of solitary tract (NTS), and to explore the role of the NTS in moxibustion induced repair of gastric mucosal injury.

METHODS: Forty-eight SD rats were randomly divided into 4 groups ($n = 12$): a normal control group (group A), a model group (group B), a moxibustion plus model group (group C), and a moxibustion + model + NTS damaged group (group D). Group D was given 3 d of recovery after NTS damage. Groups B, C, and D were given absolute ethanol and aspirin for 3 d to induce gastric mucosa injury (group A was given saline). After that, moxibustion was applied on "Zusanli" (ST36), twice a day for 3 d, in groups C and D. Ulcer index (UI) was then calculated, and IL-4 and PGE₂ in serum and gastric tissue were detected.

RESULTS: Group B had significant gastric

mucosa injury, which indicated that the model was successfully created ($P < 0.01$). The improvement of UI was significantly better in group C than in group B ($P < 0.01$). Compared with group B, tissue and serum levels of IL-4 and PGE₂ significantly rose in group C ($P < 0.01$), but serum levels of IL-4 and PGE₂ in group D were significantly lower than those of group C ($P < 0.05$, $P < 0.01$), indicating that the repair effect of moxibustion on gastric mucosa was affected after NST damage.

CONCLUSION: Moxibustion at Zusanli (ST 36) has an obvious protective effect on gastric mucosa injury. This protective effect may be related to the increase of IL-4 and PGE₂ contents, but is obviously inhibited after NTS damage. These findings suggest that NTS plays an important part in the protective effect of moxibustion at Zusanli point on gastric mucosal injury.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Moxibustion; Nucleus of solitary tract damage; Gastric mucosal injury

Xiang J, Chen G, Ou-Yang LZ, Li F, Xiang LT, Chen Y, Yu J, Yang Z, Li TL, Peng L. Effect of moxibustion stimulation at Zusanli (ST36) on repair of gastric mucosal injury in rats after damage to the nucleus of solitary tract. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1552-1556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1552.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1552>

摘要

目的: 观察艾灸“足三里”穴对胃黏膜损伤大鼠内源性保护因子白介素(interleukin, IL)-4、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)含量的影响, 探讨孤束核在艾灸对胃黏膜损伤神经通路修复机制中的作用。

方法: 将48只SD大鼠随机分为4组($n = 12$): 正常组(A组); 模型组(B组); 艾灸+模型组(C组); 艾灸+模型+孤束核损毁组(D组)。先将D组大鼠双侧孤束核损毁, 护理3 d; 继之将B、C、D组大鼠无水乙醇及阿司匹林混悬液灌胃造模3 d(A组生理盐水灌胃对照); 再之C、D组大鼠进行艾灸捆绑处理(A、B组只绑不灸), 2次/d, 连续3 d。最后取全胃计算胃黏膜溃疡指数(ulcer index, UI), 并检测血清及胃组织IL-4及PGE₂含量。

结果: B组胃黏膜损伤明显($P < 0.01$), 说明造

模成功; C组UI较B组低($P < 0.01$); 与B组比较, C组大鼠组织及血清IL-4、PGE₂含量显著升高($P < 0.01$), 而D组升高不明显, 并且D组大鼠IL-4、PGE₂含量明显低于C组($P < 0.05$, $P < 0.01$), 说明孤束核损毁后, 艾灸对胃黏膜的修护作用受到影响。

结论: 艾灸足三里穴对胃黏膜损伤有明显修复作用, 其修复作用可能与升高血清及胃组织IL-4及PGE₂含量有关, 而孤束核损毁能明显抑制其修复效应, 证明孤束核可能是艾灸足三里穴产生胃黏膜修复效应信号传导通路中的重要调节部位。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 艾灸; 孤束核损毁; 胃黏膜损伤

核心提示: 本文通过损毁孤束核, 观察并分析艾灸足三里穴对胃黏膜损伤大鼠内源性保护因子前列腺素E₂(prostaglandin E₂)及白介素4(interleukin 4)含量的影响, 从而探讨孤束核在艾灸对胃黏膜损伤神经通路修复机制中的作用。

向娟, 陈果, 欧阳里知, 李飞, 向丽婷, 陈英, 于隽, 杨舟, 李铁浪, 彭亮. 艾灸足三里穴对孤束核损毁术后大鼠胃黏膜损伤修复作用的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1552-1556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1552.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1552>

0 引言

艾灸疗法, 以其温、通之性, 能回绝阳、通经脉、理气血、开郁结、逐寒湿, 广泛应用于临床治疗与试验研究中。胃黏膜损伤是多种胃疾病的始动环节, 保护胃黏膜及其损伤修复可防止多种胃疾病的发生、发展及恶化。艾灸疗法可刺激机体产生一系列细胞因子、蛋白、分子等, 保护胃黏膜, 促进胃黏膜修复^[1,2]。课题组前期实验证实: 艾灸预处理可保护胃黏膜, 并提出神经通路可能是艾灸保护胃黏膜信号的重要传导途径, 而孤束核(nucleus of solitary tract, NTS)、迷走神经和腓总神经是艾灸预处理足三里穴防治胃黏膜损伤信号传导通路中的三个重要部位^[3,4]。为进一步研究艾灸对胃黏膜损伤的修复机制, 以慢性胃黏膜损伤动物模型为受试对象, 进行艾灸处理, 从形态学观察及内源性保护因子含量变化情况等方面探讨该法对胃黏膜损伤修复机制, 现报告如下。

■ 研究前沿

神经通路在胃黏膜细胞损伤和修复过程中起到重要作用。前期艾灸预处理足三里穴对胃黏膜组织中胃黏膜保护因素信号传导主要是通过神经途径实现的, 说明神经通路是艾灸保护胃黏膜信号的重要传导途径。

■ 相关报道

电损毁孤束核(nucleus of solitary tract, NTS)后艾灸预处理足三里穴对胃黏膜损伤大鼠的保护作用减弱, 说明NTS是艾灸保护胃黏膜信号神经通路中的重要部位。

■创新亮点

通过损毁中枢神经系统中的NTS, 探讨其在艾灸对胃黏膜损伤神经通路修复机制中的作用。此外, 该研究在前期基础上改良了胃黏膜损伤大鼠模型, 并增加观察调节免疫应答细胞因子白介素4的表达, 具有一定新颖性。

■应用要点

本文通过观察艾灸足三里穴对胃黏膜损伤大鼠PGE₂及IL-4含量的影响, 探讨NTS在胃黏膜损伤修复作用中的作用, 从而揭示艾灸对胃黏膜损伤的可能修复机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠48只, 雌雄各半, 体质量200-250 g, 月龄3-4 mo, 由湖南中医药大学动物实验中心提供[医学实验动物合格证号: SYXK(湘)2013-0005]。饲养环境温度20℃-25℃, 湿度50%-70%。主要试剂与仪器: 无水乙醇、生理盐水(长沙维尔试剂公司), 阿司匹林泡腾片500 mg×10片/盒(阿斯利康制药有限公司), 40 g/L多聚甲醛溶液、10%水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司), 注射用青霉素(华北制药股份有限公司); 李时珍微烟蕲艾条4 mm×120 mm×70支/盒(蕲春时珍本草科技有限公司), 隔热薄膜、自制艾灸架; STOELTING-56000脑立体定位仪(美国), 手持式牙科钻(韩国), 61-60931/2位万用表(上海申源科技公司), BL-420生物信号处理系统(成都产); TGL-16台式冷冻离心机(湘仪)。

1.2 方法

1.2.1 试验分组: 将大鼠编号、分笼饲养。按随机数字表法随机分为4组($n = 12$): 正常组(A组); 模型组(B组); 艾灸+模型组(C组); 艾灸+模型+NTS损毁组(D组)。

1.2.2 NTS损毁术: (1)大鼠术前禁食不禁水24 h; (2)称质量, 腹腔麻醉(10%水合氯醛, 0.35 mL/100 g), 俯卧固定于脑立体定位仪上, 颅顶剃毛备皮、消毒, 沿正中线切颅, 暴露前囟及颅骨; (3)参照Paxinos和Watson大鼠脑立体定位图谱, 在无菌条件下, 用牙科钻和直刀手术刀在离前囟13-14 mm处左右旁开1 mm各开一个骨窗(1 mm×1 mm); 将不锈钢绝缘损毁电极(直径0.35 mm, 尖端裸露0.5 mm), 插入两侧NTS(坐标: AP 13.2 mm, L/R 0.9 mm, H 7.7-7.8 mm); (4)使用BL-420生物信号处理系统输出端正极接电极, 负极夹于切口黏膜处, 输出阳极直流电, 损毁参数连续单电流: 强度1 mA(损毁插入前, 使用万用表检测核实电流强度)、频率50 Hz、波宽0.5 ms、持续1 min, 按先左后右顺序分别进行两侧NTS损毁; (5)术后, 剖面撒少量青霉素粉, 逐层缝合, 肌肉注射青霉素钠 16×10^4 U/d, 分笼喂养, 室温20℃-25℃, 光线采用12 h/12 h昼夜变化, 自由饮水及摄食; (5)观察3 d后进行造模、艾灸处理^[5,6]。

1.2.3 胃黏膜损伤模型制备: D组大鼠NTS损毁并护理3 d, 禁食不禁水24 h后, 采用无水乙醇及阿司匹林混悬液灌胃法造成大鼠胃黏膜损

伤模型(预实验中已证实其可行性): B、C、D组大鼠首日先予以0.6 mL/100 g无水乙醇灌胃; 再将阿司匹林(aspirin, Asp)泡腾片每2000 mg溶于100 mL生理盐水中配置成阿司匹林混悬液, 1 h后再将配置好的混悬液200 mg/kg灌胃, 此后连续3 d禁食不禁水12 h, 继予阿司匹林混悬液灌胃以维持胃黏膜损伤^[7], 第3日末次灌胃给药后, 从第4日开始艾灸处理; A组采用生理盐水灌胃, 计量、方法均同上。

1.2.4 艾灸治疗: (1)取穴: 参考《实验针灸学》^[8]常用动物穴位定位法定位: 足三里(双侧): 大鼠膝关节后外侧, 在腓骨小头下约5 mm处; (2)治疗: 采用温和灸。所有大鼠俯卧位捆绑于鼠板, 其中A、B组只绑不灸, C、D组大鼠取穴定位、剪毛, 将有孔(直径3 mm)的隔热贴贴于足三里上, 艾条固定于自制小型艾灸支架上, 对准双侧足三里穴, 距离穴位约0.5 cm处点燃, 双侧同时施灸, 灸处局部温度控制在42℃左右, 30 min/次, 2次/d(上午8:00开始, 下午2:00开始), 连续处理3 d。各组每日艾灸处理后松绑, 回笼正常饲养, 直到取材。

1.2.5 标本采集和指标检测: (1)采集血清, 检测白介素(interleukin, IL)-4及前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)含量情况: 大鼠腹腔麻醉(10%水合氯醛, 0.35 mL/100 g), 剖腹后, 用一次性负压采血针从腹主动脉快速采血3 mL, 室温下静置1 h左右, 凝固后, 置4℃冰箱, 过夜(勿冰冻)析出血清, 离心(12000 r/min, 15 min), 取上清液保存于-80度超低温冰箱保存备测。采用酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)严格按照RD公司试盒的要求测定血清中IL-4及PGE₂含量; (2)取胃组织, 检测胃黏膜组织中溃疡指数(ulcer index, UI)、IL-4及PGE₂含量: 摘下全胃并沿胃大弯剖开, 用冰0.9%氯化钠溶液冲洗干净并平展于滤纸上, 按GUTH法^[9]计算胃黏膜UI。取一小块(5 mm²/块×5 mm²/块)胃组织, 用4%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋、切片、HE染色脱水、透明、封固, 光镜下(×40倍、×100倍)观察胃黏膜组织的炎性浸润情况; 一小块做胃组织匀浆, 离心取上清液, -20℃低温保存。采用ELISA严格按照RD公司试盒的要求测定胃黏膜组织中IL-4及PGE₂含量(检测单位: 长沙维尔生物技术有限公司)。

统计学处理 所有数据采用SPSS23.0软

表 1 各组大鼠胃黏膜UI的比较 ($n = 12$, mean \pm SD, 分)

分组	UI(分)
A组	1.75 \pm 1.22
B组	25.67 \pm 12.89 ^b
C组	15.08 \pm 4.12 ^{bd}
D组	22.42 \pm 7.13 ^{be}

^b $P < 0.01$ vs A组; ^d $P < 0.01$ vs B组; ^e $P < 0.05$ vs C组. A组: 正常组; B组: 模型组; C组: 艾灸+模型组; D组: 艾灸+模型+孤束核损毁组. UI: 溃疡指数.

件进行处理. 全部计量资料用样本含量(n)及mean \pm SD表示, 所有数据都进行正态性和方差齐性检验. 符合正态性者, 多组计量资料采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 方差齐时选择LSD法, 方差不齐时选择Tamhane's T2或Dunnett's T3法; 不满足正态性时选择秩和检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠胃黏膜UI比较 与A组比较, B、C、D组大鼠胃黏膜上皮均有不同程度的充血、水肿及溃疡点($P < 0.01$); 与B组相比, C组大鼠胃黏膜损伤明显减轻, 溃疡点明显减少($P < 0.01$), 说明艾灸处理能改善胃黏膜炎性损伤. D组大鼠仍有充血水肿及散在小溃疡点($P < 0.05$), 说明NTS损毁后艾灸对胃黏膜损伤修复作用受到影响(表1).

2.2 艾灸足三里穴对NTS损毁术后胃黏膜损伤大鼠血清及胃组织IL-4、PGE₂含量的影响 实验结果显示: 与A组比较, B、C、D组大鼠血清及胃组织IL-4、PGE₂含量不同程度降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), 说明IL-4、PGE₂的表达受到胃黏膜损伤程度的影响; 与B组比较, 经艾灸处理大鼠组织及血清IL-4、PGE₂含量明显升高($P < 0.01$), 说明艾灸能促进胃黏膜损伤修复; 与C组比较, D组大鼠血清及胃组织IL-4、PGE₂含量降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 说明NTS损毁后, 艾灸对胃黏膜的修护作用受到影响(表2).

3 讨论

胃黏膜损伤是由理、化、细菌、病毒等多种原因引起, 以胃黏膜充血、水肿, 甚至糜烂、溃疡、出血等为特征的胃黏膜病变. 大量研究表明: 胃黏膜损伤部位及其周围有大量细胞因子生成并释放, 这些因子间相互协作又互相

制约, 共同调节着细胞的增殖和凋亡. 艾灸可促使体内各种内源性保护因子的产生, 发挥抗炎、抗氧化、抑制凋亡等抗损伤效应; 同时还促进胃黏膜细胞增殖, 引起胃黏膜重建, 恢复胃黏膜的完整性. 前列腺素和IL作为内源性保护因子中的一部分, 在抗炎、抗损伤中起着重要的作用^[10-12].

前列腺素(prostaglandin, PG)按其结构分为A、B、C、D、E、F等类型. 不同类型的PG具有不同的功能. 研究^[13,14]表明, PGs不仅增加了胃黏膜血流, 促进细胞分裂增殖, 加强黏液-碳酸氢盐屏障作用, 还能有效抑制胃酸、胃蛋白酶分泌, 防治胃黏膜的损害. 此外PGs还可抑制胃运动功能, 从而减少黏液消耗及黏膜的机械性损伤. 有报道指出, PGs可能通过刺激细胞的主动转运、激活AC、稳定溶酶体、维持胃黏膜R-SH含量及刺激胃黏膜表面活性磷脂的分泌等方面来保护胃黏膜^[15]. 周平等^[16]在观察电针足三里对胃黏膜损伤家兔的保护作用中发现, 其保护机制可能与提高胃液、胃组织中的PGE含量相关, 并具有穴位特异性. IL-4是一种具有多种生物学功能的细胞因子, 主要由Th2细胞、肥大细胞和嗜碱性粒细胞产生^[17]. IL-4能调节T淋巴细胞及B淋巴细胞的分化及活化, 并能促进以Th2细胞为特征的免疫应答, 启动细胞免疫机制^[18]. 此外, IL-4还可增加细胞内Bcl-2蛋白的表达, 从而抑制细胞凋亡, 发挥保护黏膜细胞的作用. 大量的实验研究认为, NTS是针灸等对胃黏膜修复作用的初级调控中枢. NTS作为内脏感觉核, 是除盆腔脏器外的内脏初级感觉传入的低级中枢, 接受Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ对脑神经的一般和特殊的内脏传入纤维. NTS不仅是内脏感觉的中继站, 同时也是胃肠反射的初级调节中枢. 杨舟等^[19]在艾灸预处理对胃黏膜保护效应的实验研究中发现, NTS损毁组大鼠胃组织PGE₂含量明显低于脊髓切断组, 说明NTS可能对艾灸诱导胃黏膜PGE₂的产生具有调控作用.

课题组前期实验研究证实^[20], 艾灸预处理足三里穴对胃黏膜损伤有明显保护作用, 而NTS损毁对其保护效应有一定影响, 从而提出NTS是艾灸对胃黏膜损伤与保护因子表达的重要调节途径, 是对胃黏膜保护效应信号通路的一部分. 本实验在课题组前期实验研究基础上, 损毁“脾总-NTS-迷走”神经通路中的

■名词解释

孤束核(NTS): 位于延髓界沟、迷走神经背核外侧及三叉神经脊束核的背内侧. NTS作为内脏感觉核, 是除盆腔脏器外的内脏初级感觉传入的低级中枢. 生理学研究表明: NTS不仅是内脏感觉的中继站, 同时也是心血管反射、吞咽和胃肠反射的初级调节中枢.

同行评价

本文通过观察艾灸“足三里”穴对胃黏膜损伤大鼠内源性保护因子IL-4、PGE₂含量的影响,探讨NTS在艾灸对胃黏膜损伤神经通路修复机制中的作用。对艾灸“足三里”的机制研究具有一定的指导意义。

表 2 各组大鼠血清及胃组织IL-4、PGE₂含量的比较 (n = 12, mean ± SD)

分组	IL-4		PGE ₂	
	血清(pg/mL)	胃窦(ng/mg)	血清(pg/mL)	胃窦(ng/mg)
A组	14.70 ± 1.41	5.66 ± 1.35	13.02 ± 1.75	0.93 ± 0.51
B组	12.81 ± 0.07 ^b	3.66 ± 0.17 ^b	9.42 ± 3.34 ^b	0.39 ± 0.36 ^b
C组	13.92 ± 0.1 ^{ad}	4.68 ± 0.67 ^{bd}	14.56 ± 1.52 ^d	1.20 ± 0.40 ^d
D组	13.21 ± 0.24 ^e	3.84 ± 0.32 ^f	11.89 ± 2.97 ^{af}	0.55 ± 0.32 ^{af}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs A组; ^cP<0.01 vs B组; ^dP<0.05, ^eP<0.01 vs C组。IL-4: 白介素4; PGE₂: 前列腺素E₂。

NTS, 观察艾灸足三里穴对大鼠胃黏膜修复作用, 结果显示: 艾灸+模型组大鼠胃黏膜UI明显低于模型组, 并且其组织及血清IL-4、PGE₂含量与模型组比明显升高(P<0.01), 说明艾灸能促进胃黏膜损伤修复, 并且其修复作用可能与升高血清及胃组织IL-4、PGE₂含量, 促动其内源性保护效应有关; 而NTS损毁后大鼠胃黏膜UI与艾灸+模型组比明显升高, 血清及胃组织IL-4(P<0.05, P<0.01)、PGE₂(P<0.01)含量均下降, 说明NTS损毁后, 艾灸对胃黏膜的修护作用受到影响。因此, NTS可能是艾灸足三里穴促进胃黏膜修复神经通路机制上的重要组成部分。

4 参考文献

1 杜燕, 易受乡, 林亚平, 洪金标, 彭洪, 黄芸, 常小荣, 吴焕淦. 艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠热休克蛋白与相关炎症细胞因子的影响. 上海针灸杂志 2010; 29: 269-272

2 杨宗保, 王晨光, 龚安, 谢宇峰, 刘琼. 艾灸对大鼠胃黏膜损伤修复相关细胞信号蛋白质的影响. 中医杂志 2013; 54: 1945-1948

3 Peng L, Liu M, Chang X, Yang Z, Yi S, Yan J, Peng Y. Effects of pre-moxibustion at Zusanli (ST36) on heat shock protein 70 expression in rats with gastric mucosal lesions after neurotomy. *Neural Regen Res* 2012; 7: 2370-2376 [PMID: 25538762 DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374]

4 彭亮. 艾灸预处理对神经通路切断/损毁术后大鼠胃黏膜保护作用机制的研究. 长沙: 湖南中医药大学, 2012: 4-5

5 黄碧兰, 张博, 余宙. 大鼠孤束核在电针保护应激性胃黏膜损伤中的作用. 咸宁学院学报(医学版) 2008; 22: 1-3

6 王少锦, 孙彦辉, 赵志国, 杨天祝. 大鼠脑立体定手术校正的三种方法. 河北医科大学学报 2001; 22: 75-77

7 陈志峰. 探索理想大鼠慢性溃疡模型的建立方法. 汕

头: 汕头大学, 2012: 6-7

8 郭义. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 415

9 Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76: 88-93 [PMID: 361495]

10 常小荣, 彭娜, 易受乡, 严洁. 艾灸预处理对应激性溃疡大鼠胃黏膜HSP70蛋白及mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1252-1256

11 易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸对应激性胃溃疡大鼠胃黏膜细胞增殖和凋亡的影响及其与热休克蛋白表达关系的研究. 针刺研究 2006; 31: 259-271

12 张爽, 赵海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701

13 Cryer B. Mucosal defense and repair. Role of prostaglandins in the stomach and duodenum. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 877-894, v-vi [PMID: 11764533 DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70218-1]

14 Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *Am J Med* 2001; 110: 19S-23S [PMID: 11165991 DOI: 10.1016/S0002-9343(00)00631-8]

15 给娜, 王玉芬. 前列腺素的细胞保护作用研究进展. 卫生职业教育 2005; 23: 114-115

16 周国平, 严洁, 常小荣, 邓元江, 易受乡, 林亚平. 电针足三里对胃黏膜损伤家兔前列腺素E₂胃泌素水平的影响. 中国中医药科技 2004; 11: 1-2

17 Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 231-237 [PMID: 15738985]

18 娄重章, 杨清, 姜孝芳, 张清全, 穆妮热·穆合塔尔, 高丽. 新疆维、汉族变应性鼻炎患者IL-4与IgE水平检测及相关性研究. 新疆医科大学学报 2012; 35: 439-441, 456

19 杨舟, 张国山, 刘密, 章海风, 雷毅军, 常小荣, 郁保生. 孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE₂与EGF含量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1511-1515

20 彭亮, 刘密, 常小荣. 孤束核损毁对艾灸预处理调节大鼠胃黏膜EGF、SS含量及HSP-70表达作用的影响. 中华中医药杂志 2013; 28: 3688-3689

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



细胞培养过程中支原体污染的防治与检测方法

邢龙彬, 刘长政, 焦晓磊, 刘彤, 杜智, 高英堂

邢龙彬, 刘长政, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300070

焦晓磊, 刘彤, 杜智, 高英堂, 天津市人工细胞重点实验室 天津市肝胆疾病研究所 天津市第三中心医院 天津市 300170

天津市卫计委重点攻关基金资助项目, No. 11KG112
天津市应用基础与前沿技术研究计划青年基金资助项目, No. 15JCQNJC115000

作者贡献分布: 邢龙彬与高英堂对此文所作贡献均等; 此课题由高英堂设计; 研究过程邢龙彬、焦晓磊及刘长政操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由高英堂与杜智提供; 数据分析由邢龙彬与刘彤完成; 本论文写作由邢龙彬与高英堂完成。

通讯作者: 高英堂, 研究员, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市人工细胞重点实验室天津市肝胆疾病研究所; 天津市第三中心医院. gaoyt816@163.com
电话: 022-84112148

收稿日期: 2016-01-29
修回日期: 2016-02-26
接受日期: 2016-03-08
在线出版日期: 2016-04-08

Treatment and detection of mycoplasma contamination during cell culture

Long-Bin Xing, Chang-Zheng Liu, Xiao-Lei Jiao, Tong Liu, Zhi Du, Ying-Tang Gao

Long-Bin Xing, Chang-Zheng Liu, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Xiao-Lei Jiao, Tong Liu, Zhi Du, Ying-Tang Gao, Key Laboratory of Artificial Cell, Institute of Hepatobiliary Disease; the Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China

Supported by: Key Research Project of Tianjin Healthy Bureau, No. 11KG112; Tianjin Research Project on Basic Sciences and Frontier Technology, No. 15JCQNJC115000

Correspondence to: Ying-Tang Gao, Researcher, Key

Laboratory of Artificial Cell, Institute of Hepatobiliary Disease; the Third Central Hospital of Tianjin, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. gaoyt816@163.com

Received: 2016-01-29
Revised: 2016-02-26
Accepted: 2016-03-08
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To eliminate and detect the contamination of mycoplasma during cell culture effectively.

METHODS: Three drugs (plasmocin, BM-Cyclin, and MRA) were used to treat the contaminated cells. CLRAK One Step Test Kit, Biotool Detection Kit and polymerase chain reaction (PCR) were used to detect the degree of contamination.

RESULTS: Plasmocin, BM-Cyclin, and MRA could eliminate the contamination effectively. Assay with the CLARK Kit showed that mycoplasma disappeared completely on 14th day after treatment with plasmocin, the Biotool Detection Kit showed that the contamination disappeared completely on the 21st day after treatment with BM-Cyclin, and PCR showed that mycoplasma disappeared completely on the 14th day after treatment with MRA. The combination of the three drugs was more effective in the eradication of mycoplasma contamination.

CONCLUSION: The combination of three antibiotics and three mycoplasma detection methods can effectively control mycoplasma contamination during cell culture.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料

有报道实验室30%-60%细胞都被支原体污染过, 常见的去除支原体方法包括克隆法、加热去除法以及药物处理方法等, 常见的支原体检测方法有酶联免疫吸附试验法、电镜观察和聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法等。为了彻底清除细胞中的支原体污染, 本实验选取了3种支原体去除和3种检测方法, 最终清除支原体。

■同行评议者

秦阳华, 主治医师, 上海长海医院实验诊断科

■ 研发前沿

目前, 支原体的发现和清除仍然困扰着许多研究者, 各种试剂和方法各有利弊, 并且支原体被清除后, 仍会反复。寻找一种快速简便的方法来清除和检测支原体仍然是很迫切的一个问题, 本文对此问题给出了较好的经验总结。

Key Words: Mycoplasma; Cell culture; Treatment; Detection

Xing LB, Liu CZ, Jiao XL, Liu T, Du Z, Gao YT. Treatment and detection of mycoplasma contamination during cell culture. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1557-1564 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1557>

摘要

目的: 为高效便捷地去除细胞培养过程中支原体污染, 采用多种抗生素和检测方法对污染细胞进行处理和检测。

方法: 分别采用Plasmocin、BM-Cyclin、MRA 3种药物对污染细胞进行处理, 以CLARK的一步法试剂、Biotool的快速检测试剂和自行研制的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等3种方法进行检测。

结果: 一步法试剂检测显示Plasmocin处理14 d后支原体消除, 快速检测试剂检测显示BM-Cyclin处理21 d彻底消灭支原体, 而MRA经PCR检测发现彻底消除支原体需要14 d; 另外, 3种药物交替使用清除支原体的效果更加显著。

结论: 通过使用3种抗生素和3种支原体检测方法, 使细胞培养过程中的支原体污染得到有效控制, 为更好地开展细胞研究奠定基础。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 支原体; 细胞培养; 防治; 检测

核心提示: 在细胞培养过程中易出现支原体污染且不易消除, 对后续科研产生严重影响。本实验用3种抗生素清除支原体及3种方法进行检测, 最终清除支原体, 并且发现3种抗生素交替使用效果更佳, 在用聚合酶链式反应检测支原体时, 对条件加以优化, 并且测序确定支原体类型, 使支原体的检测更加简便、准确。

邢龙彬, 刘长政, 焦晓磊, 刘彤, 杜智, 高英堂. 细胞培养过程中支原体污染的防治与检测方法. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1557-1564 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1557>

0 引言

支原体污染在细胞长期培养过程中经常出

现且不易消除, 据调查及研究显示, 实验室30%-60%细胞都被支原体污染过^[1], 其中95%以上是由口腔支原体(M. orale)等5种造成^[2]。支原体污染初期, 高倍镜下观察细胞无明显变化但有细小黑色颗粒; 随培养时间延长, 尽管培养液不浑浊, 但pH值变化明显、颜色变黄, 在污染后期引起细胞变形, 对后续科研产生严重影响^[3], 因此在细胞培养过程中进行支原体检测与防治十分必要。

细胞被支原体污染后清除工作特别困难, 常见的去除支原体方法包括裸鼠过继法^[4]、克隆法^[5,6]、加热去除法^[5]以及药物处理方法^[7]等。裸鼠过继法操作比较繁琐, 易造成裸鼠细胞污染; 克隆法只适用污染较轻的细胞; 由于支原体对热耐受性较差, 将细胞置于41℃加热5-10 h(依据细胞本身的耐热性确定作用时间)以杀灭支原体。由于上述方法的局限性, 目前实验室大多采用抗生素进行处理并取得较好的效果, 最有效抑制支原体活性的抗生素主要为四环素类、大环内酯类等^[8]。

常见的支原体检测方法有直接培养法^[9]和间接法, 其中间接法包括DNA荧光染色法^[10]、DNA杂交法^[11]、酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫荧光试验、电镜观察^[8]和聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法^[12]等。由于这些方法各自的局限性, 在此基础上相关公司开发了多种快速检测试剂, 如CLARK的一步法支原体检测试剂主要利用恒温扩增与显色技术, 操作简单、结果可靠; Biotool的快速支原体检测试剂利用与支原体分泌的特定代谢物反应而显色, 整个操作过程比较简便。

基于以上对支原体防治及检测方法的了解, 本研究先后采用3种抗生素(Plasmocin、BM-Cyclin、MRA)进行支原体进行清除, Plasmocin含有大环内酯类和喹诺酮类2种有效成分, BM-Cyclin中包含泰妙菌素和二甲基四环素, MRA属于喹啉家族的衍生物。同时利用2种试剂盒以及优化的PCR方法对实验室发生的支原体污染进行检测和控制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验中所用细胞均来自天津市第三中心医院所培养的30例患者的原代肿瘤细胞及传代细胞(对其进行相应的命名, 数字代表患者编号, T代表细胞来源于肝癌组织, N代表细

表 1 2种引物序列比对

名称	引物序列	引物序列(5'-3')	片段大小(bp)
引物对1	MP-1381	F: A(A/C)ACCATGGGAG(C/T)TGGAAT	360-500
	MP-2096	R: TTCATCGACTTTCAGACCCAAGGCAT	
引物对2	MP-1058	F: GTG(C/G)GG(A/CTGGA(T/A)(C/T)ACCTCCT	236-365
	MP-2074	R: GGCATTCCACCA(A/C)A(A/T)AC(C/T)CTT	

胞来源于癌旁组织). 以及实验室购买的HepG2细胞, 每例标本含1-3瓶细胞, 共计80瓶. 所有标本取材均通过天津市第三中心医院伦理委员会审核, 家属知情同意并签字. 细胞培养所用的培养液D-MEM/F-12由美国Invitrogen公司生产, 血清均由以色列Biological Industries公司生产, Liver Digest Medium(肝裂解液)采购于美国Life公司; CLARK支原体一步快速检测试剂盒(One step Mycoplasma test Kit)购自美国CLARK Bioscience公司, 快速支原体检测试剂盒(Mycoplasma Detection Kit-Quick Test)购自美国Biotool公司; Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR购自中国TaKaRa公司; MRA(Mycoplasma Removal Agent)采购于美国Mpbio公司, PlasmocinTMtreatment采购法国InvivoGen公司, BM-Cyclin由瑞士Roche公司生产.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 将肿瘤组织放置培养皿中, 经生理盐水清洗, 将肝裂解液用注射器点状注射消化组织, 用手术剪剪碎, 充分吹打, 将细胞悬液过40 μ m滤网, 1000 r/min离心去上清; 加入5 mL的溶血素37 $^{\circ}$ C静置10 min去红细胞, 1000 r/min离心弃上清获得细胞. 将细胞接种于25 cm²培养瓶中, 加入D-MEM/F-12培养液: 含5%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素, 置于37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO₂培养箱中培养. 通过反复差速消化、差速贴壁的方式不断纯化癌细胞.

1.2.2 3种抗生素的使用: (1)Plasmocin: 将其按照1:1000比例加入细胞培养液中, 培养3-4 d后更换新的含有Plasmocin的培养液, 共处理14 d; (2)BM-Cyclin: 将BM-Cyclin1与BM-Cyclin2中加入10 mL PBS进行溶解, 分装储存在-20 $^{\circ}$ C. 按照1:250比例加入细胞培养液中, BM-Cyclin1工作液处理3 d后更换BM-Cyclin2工作液再处理4 d, 处理周期为2-3个循环(14-21 d); (3)MRA: 按1:1000的比例进行使用, 持续培

养可达7 d, 根据需要更换新的含有MRA的培养液至14 d. 加药前留取细胞培养液, 检测结果即为0 d污染情况.

1.2.3 一步支原体检测试剂盒使用: 取25 μ L一步法检测试剂加入检测管中, 取1 μ L待检测细胞的培养液加入检测管中混匀, 65 $^{\circ}$ C水浴30-60 min, 与阳性对照管进行颜色比较, 显示蓝色时判定支原体阳性.

1.2.4 快速支原体检测试剂盒使用: 首先在每孔中加入40 μ L反应液A, 依此加入10 μ L阴性对照、阳性对照以及待检测样本, 轻轻混匀, 室温孵育5 min; 所有孔中均加入40 μ L反应液B, 轻轻混匀, 室温孵育4 min后立即观察样品颜色的变化, 支原体阳性为蓝绿色, 阴性为浅黄色.

1.2.5 支原体PCR检测: (1)引物设计: 基于常见支原体16S-23S间隔区保守序列设计引物(表1); (2)模板制备: 包括煮沸法与裂解法(Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR). 煮沸法: 取50 μ L细胞培养液, 100 $^{\circ}$ C煮沸10 min, 12000 r/min离心10 min; 留取上清作为模板; 裂解法: 取50 μ L微生物PCR裂解缓冲液, 加入10 μ L细胞培养液充分混匀. 80 $^{\circ}$ C水浴15 min, 8000 r/min离心10 min, 取2 μ L上清作为模板; (3)PCR反应: 反应体系包括Tap酶1 μ L、上/下游引物各0.5 μ L、PCR预混液20 μ L、模板2 μ L, 总计24 μ L; 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 54 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 35个循环, 72 $^{\circ}$ C 5 min. 取10 μ L PCR产物进行2.5%琼脂糖凝胶电泳分析并拍照.

2 结果

2.1 采用Plasmocin处理并运用一步支原体检测试剂盒检测 将Plasmocin按1:1000比例加入细胞培养液中, 并在处理前以及处理后7、14 d分别用一步支原体检测试剂盒检测细胞上清液; 检测结果显示药物处理7 d后80瓶细胞只有HepG2等14瓶细胞转为阴性, 其他细胞污染情况减轻不明显, 处理14 d后72瓶细胞支原体被清除, 8瓶细胞仍疑似污染. 处理过程中随机选

■创新盘点

本文中实验采用含有3种不同成分的抗生素进行处理, 可以有效清除各种支原体, 并且不同抗生素交替使用效果更加, 解决了单一药物长期使用引起的支原体抗药性, 且支原体清除后不易复发. 3种检测方法均能快速准确检测支原体, 其中对PCR方法加以优化, 使检测更加快捷准确.

名词解释

支原体: 又称霉形体, 为目前发现的最小的最简单的原核生物. 支原体细胞中唯一可见的细胞器是核糖体.

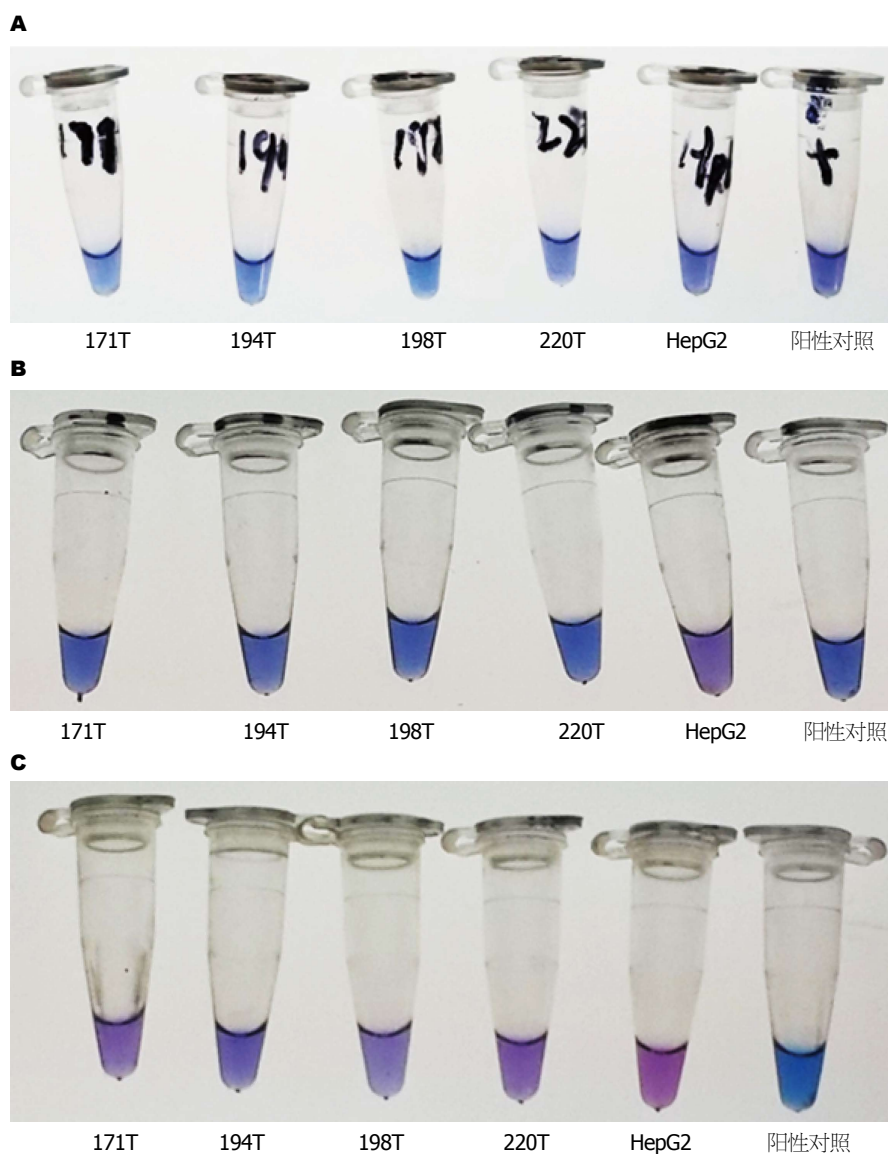


图 1 一步支原体检测试剂盒检测Plasmocin处理效果. A: 未处理前检测结果; B: 加药处理7 d后检测结果; C: 加药处理14 d后检测结果. 加药处理14 d后194T疑似阳性.

取5瓶支原体污染阳性的细胞进行拍照, 结果显示处理14 d后194T仍疑似污染, 其他4瓶细胞支原体均被清除(图1).

2.2 快速支原体检测试剂盒检测抗生素BM-Cyclin的处理效果 分别留取BM-Cyclin处理前以及处理后7、14、21 d的细胞培养液, 80瓶细胞用快速支原体检测试剂盒进行检测, 通过与阴性/阳性对照对比得知, BM-Cyclin处理7 d与14 d后检测结果颜色逐渐变浅, 但未完全与阴性对照一致, 处理21 d后的细胞上清液经检测与阴性对照结果一致, 支原体污染转为阴性, 随机选取6瓶支原体污染阳性的细胞进行拍照(图2).

2.3 PCR方法检测抗生素MRA的处理效果

2.3.1 PCR方法的优化: (1)模板的两种不同制备方法的比较: 快速支原体检测试剂盒检测支原体阳性的5例细胞培养液分别采用煮沸法与裂解法处理, 用引物对1进行PCR扩增. 结果显示煮沸法扩增的116T、152T显示强阳性, 129T、132T、145T显示阳性, 与试剂盒检测结果一致. 裂解法显示116T、129T、132T弱阳性, 145T、152T阴性, 阳性对照变为阴性, 因此煮沸法灵敏度更高(图3); (2)2种不同引物对扩增结果的可信度比较: 快速支原体检测试剂盒检测支原体污染阴性的3例细胞培养液采用煮沸法制备PCR模板, 分别用2种不同引物对进行扩增, 引物对1扩增结果与一步支原体检测试剂盒检测结果一致, 而引物对2扩增结果

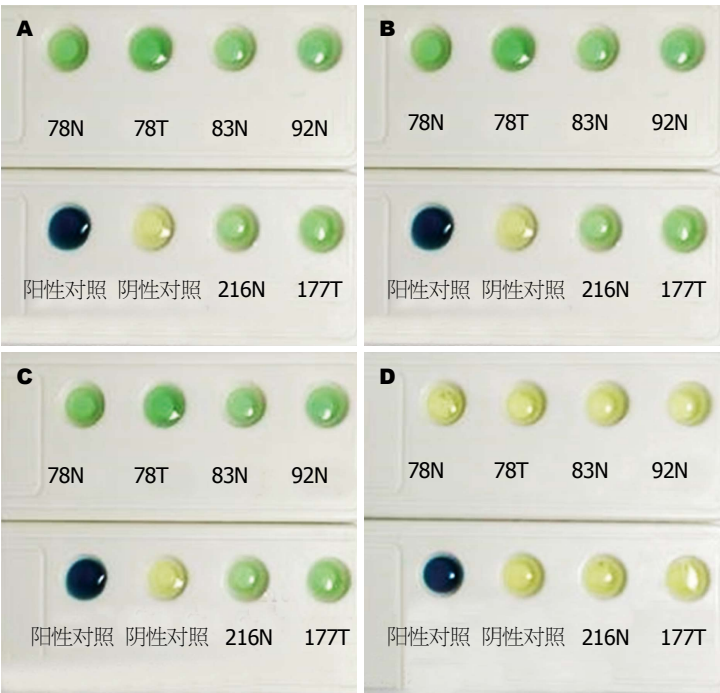


图 2 快速支原体检测试剂盒检测 BM-Cyclin 处理效果. A: 未加药处理前检测结果; B: 加药处理 7 d 后检测结果; C: 加药处理 14 d 后检测结果; D: 加药处理 21 d 后检测结果.

同行评价
本文针对研究工作中常见的细胞支原体污染, 采用不同的清除试剂和检测方法, 探讨可行、便捷的支原体清除方法, 选题有意义.

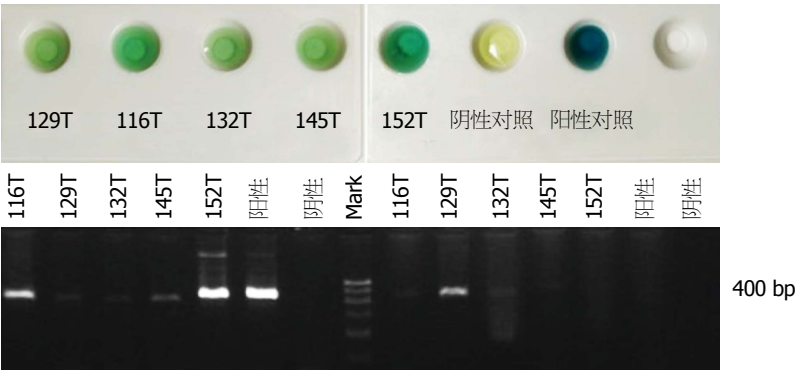


图 3 2种制备模板方法比较结果.

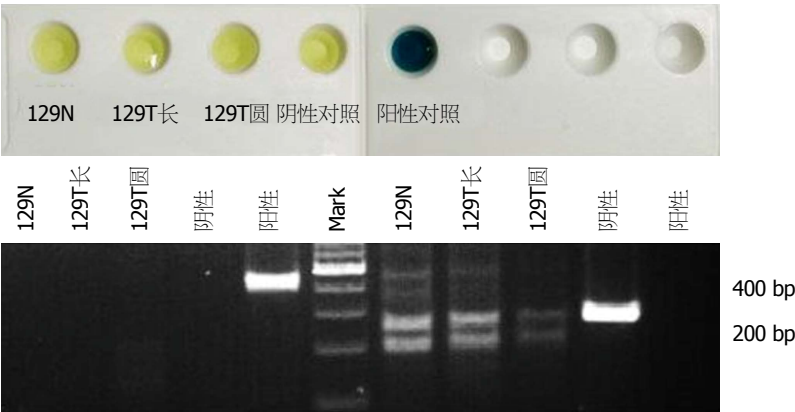


图 4 两种引物对 PCR 扩增结果比较. PCR: 聚合酶链式反应.

均为 2 条带, 推测为假阳性(图 4). 将试剂盒方法与 PCR 方法(引物对 1 为引物)检测共阳性的 4 例扩增产物测序验证, BLAST 分析表明其与

Mycoplasma yeatsii 序列一致, 证明 PCR 方法的可靠性, 并能确定实验室污染的支原体类型.
2.3.2 PCR 方法检测支原体去除试剂 MRA 的处

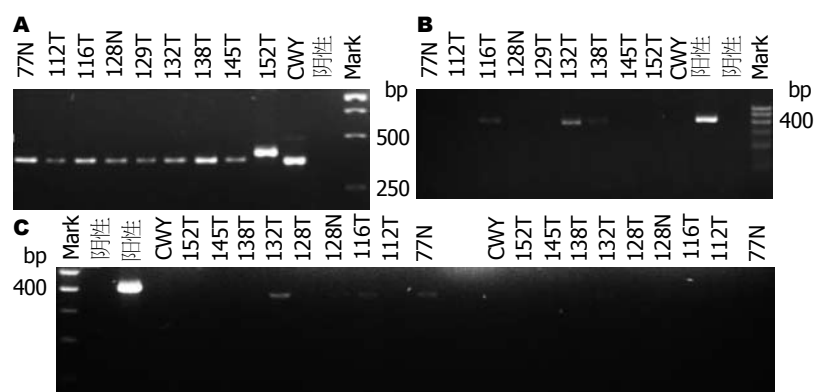


图 5 PCR方法检测MRA处理效果. A: 未加入抗生素MRA前检测结果; B: 加入抗生素MRA 7 d的检测结果; C: 加入抗生素MRA处理10 d以及14 d后检测结果. PCR: 聚合酶链式反应.

理效果: 在细胞培养液中加入去支原体试剂MRA, 且在处理前以及处理后7、10、14 d后分别细胞培养液进行留样, 采用煮沸法制备模板、引物对1进行扩增, 电泳结果显示MRA试剂处理后效果显著. 如图5所示随机挑取的10瓶支原体污染阳性细胞拍照, 处理前检测结果显示10瓶细胞均被支原体污染, 检测结果显示阳性; 处理7 d后样本中116T、132T、138T显示阳性; 处理10 d后样本, 77N、116T、132T显示弱阳性, 处理14 d后全部均转变为阴性(图5).

2.4 抗生素的交替使用 由于在Plasmocin处理过程中有8瓶细胞疑似处理不彻底, 改用抗生素BM-Cyclin进行连续处理, BM-Cyclin处理7 d后8瓶细胞支原体污染彻底清除. 另外, 在近4 mo使用抗生素清除支原体的过程中, 我们发现同一种抗生素使用次数过多或时间超过6 wk时, 一些细胞会出现耐药性, 此时更换另一抗生素能够更有效地彻底清除支原体, 表明不同抗生素交替使用效果显著.

3 讨论

支原体是一种介于细菌和病毒之间的能独立生存的最小微生物之一, 直径0.1-0.3 μm , 无细胞壁, 具有可塑性, 可通过滤菌器(0.22 μm); 并且由于其对多种抗生素耐药使其更加难以清除, 这也是细胞培养过程中易于污染的一个重要因素^[13]. 虽然支原体污染初期的细胞培养液不发生浑浊, 细胞无明显变化, 外观上给人以正常感觉, 实则细胞受到多方面潜在影响, 比如, 支原体吸附在细胞表面, 破坏细胞膜的完整性, 影响细胞信号传递; 消耗细胞的核苷库, 引起细胞染色体异常等. 因此, 支原体污染会

给细胞研究工作带来巨大危害^[14], 这就要求研究人员必须对支原体污染提高警惕.

本实验中采用的3种抗生素所含有效成分各不相同, 其作用原理也有所区别. MRA属于抗生素喹啉家族的衍生物, 主要通过抑制DNA促旋酶清除支原体污染, 该酶是支原体DNA复制过程中必不可少的酶类; MRA活性在细胞培养液中可以维持长达7 d, 由于其只含有一种有效成分, 可能存在某种类型支原体对其不敏感现象^[15]; BM-Cyclin含有泰妙菌素(BM-Cyclin1)和二甲胺四环素(BM-Cyclin2)两种有效成分, 能够有效抑制支原体生长, 其中泰妙菌素与支原体核糖体的肽基转移酶中心结合, 导致多肽链起始复合物不能正确地装配, 从而导致支原体无法合成自身蛋白质; 而二甲胺四环素抑菌原理是与原核生物核糖体30S亚基的A位置结合, 阻止肽链的延长, 从而抑制支原体的蛋白质合成. 但是这2种成分各自分开使用, 作用功能相似, 操作比较复杂^[12]. Plasmocin包括大环内酯类和喹诺酮类这两种新的杀菌成份, 前者作用于原核细胞的蛋白系统, 后者能干扰DNA的复制, 二者结合能更高效地去除支原体感染^[16]. 为了使3种抗生素发挥最大功效, 必须采用现用现配方式. 在实验中我们发现77N加药处理7 d后支原体清除, 但10 d后支原体污染又显示阳性, 这提醒我们即使检测结果显示支原体污染由阳性转为阴性, 并不能立即停药, 需再继续加药处理以防支原体死灰复燃. 另外, 值得注意的是如果长时间使用同种抗生素对支原体进行处理, 会使支原体产生耐药性, 因此为了防止支原体产生抗药性, 需采取不同药物轮流对细胞进行处理^[17], 在实验中比较发现不同抗生素交替使用的处理效果更加显著.

目前有多种方法检测支原体, 本研究采用两种进口试剂和自制的PCR方法进行检测. 一步法支原体检测试剂整个过程只需一步, 检测结果颜色变化显著, 极易观察. 快速支原体检测试剂依据支原体特有的代谢产物进行显色反应, 阳性会产生蓝绿色, 代谢产物浓度越高, 颜色越深. 这两种进口试剂虽然比较简捷, 但不能区分支原体的具体种类, 长期使用成本较高. PCR作为一种简便快速、特异、灵敏的支原体检测方法已经在国内外广泛用于支原体污染的检测, 并且可以通过扩增产物的测序推断出支原体的种类; 但是PCR的高灵敏度以及残留污染等也会带来假阳性结果, 因此采用这种方法时要严格控制污染以提高稳定性和可靠性. 实验中我们优化了PCR检测方法, 并通过测序验证其检测结果的可靠性, 比较发现以PCR方法动态检测细胞培养过程中的支原体污染不失为一种高效的检测手段.

本文不足之处是尽管采用3种抗生素和3种检测方法使支原体污染得到有效控制, 但是对评价3种抗生素清除效果未做严格的实验设计, 其原因在于我们首次发现细胞遭受支原体污染时, 便立即采用Plasmocin进行处理, 处理14 d后发现仍有少数细胞疑似阳性, 甚至有的细胞出现复发感染, 于是结合文献再次购买两种含有不同有效成分的抗生素BM-Cylin与MRA进行处理, 同时为了提高检测结果的准确性, 又引入两种不同的检测方法. 总结前面经验, 在支原体清除后并未立即停止用药, 而是选择继续使用2种抗生素交替对细胞进行处理一段时间, 最终支原体被清除且在很长时间内未复发.

为了吸取经验, 将支原体扼杀在源头, 我们在细胞培养过程中同时对细胞培养所用的血清、生理盐水、培养液等试剂和吸管、离心管等耗材进行支原体检测, 结果显示均为阴性, 由此推测支原体污染源可能来自实验室的培养环境, 因此, 我们采用BioMycoX® Mycoplasma Prevention Spray(预防喷雾)和CLARK LabCleaner预防支原体喷雾2种试剂定期处理细胞培养所需的整个实验室环境. 此外, 3种抗生素低浓度下也可作为支原体细胞预防液使用, 定期使用支原体预防液也是有效预防支原体污染的重要手段.

总之, 通过使用3种抗生素和3种支原体检

测方法, 使细胞培养过程中的支原体污染得到有效控制. 我们从中总结经验方法, 希望能为更多实验室存在的潜在支原体污染提供有效的技术手段, 能够及早发现支原体污染并能够快速高效的进行清除, 为更好地开展各项细胞研究奠定基础.

志谢: 感谢高英堂、刘长政、焦晓磊、刘彤及杜智在本实验过程中的帮助.

4 参考文献

- 1 Molla Kazemiha V, Bonakdar S, Amanzadeh A, Azari S, Memarnejadian A, Shahbazi S, Shokrgozar MA, Mahdian R. Real-time PCR assay is superior to other methods for the detection of mycoplasma contamination in the cell lines of the National Cell Bank of Iran. *Cytotechnology* 2015 Mar 6. [Epub ahead of print] [PMID: 25742733 DOI: 10.1007/s10616-015-9862-0]
- 2 Sung H, Kang SH, Bae YJ, Hong JT, Chung YB, Lee CK, Song S. PCR-based detection of Mycoplasma species. *J Microbiol* 2006; 44: 42-49 [PMID: 16554716]
- 3 DesRochers TM, Kuo IY, Kimmerling EP, Ehrlich BE, Kaplan DL. The effects of mycoplasma contamination upon the ability to form bioengineered 3D kidney cysts. *PLoS One* 2015; 10: e0120097 [PMID: 25793639 DOI: 10.1371/journal.pone.0120097]
- 4 Kreipe H, Radzun HJ, Keulers A, Parwaresch MR. An improved method for elimination of mycoplasmas from cell cultures. *J Immunol Methods* 1987; 103: 185-188 [PMID: 3668257 DOI: 10.1016/0022-1759(87)90288-2]
- 5 陈琳. 细胞培养中支原体污染的检测和去除. 国外医学(微生物学分册) 1999; 18: 28-31
- 6 张汉荆, 石奇明, 胡齐全, 何葆光, 王雅, 陆秀英. 从传代细胞株中去除支原体污染的研究. 微生物学报 1990; 30: 154-157
- 7 Boslett B, Nag S, Resnick A. Detection and antibiotic treatment of Mycoplasma arginini contamination in a mouse epithelial cell line restore normal cell physiology. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 532105 [PMID: 24772428 DOI: 10.1155/2014/532105]
- 8 Uphoff CC, Drexler HG. Elimination of mycoplasmas from infected cell lines using antibiotics. *Methods Mol Biol* 2011; 731: 105-114 [PMID: 21516401 DOI: 10.1007/978-1-61779-080-5_9]
- 9 Amores J, Corrales JC, Martín AG, Sánchez A, Contreras A, de la Fe C. Comparison of culture and PCR to detect Mycoplasma agalactiae and Mycoplasma mycoides subsp. capri in ear swabs taken from goats. *Vet Microbiol* 2010; 140: 105-108 [PMID: 19619962 DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.06.036]
- 10 Masover GK, Becker FA. Detection of mycoplasmas in cell cultures by fluorescence methods. *Methods Mol Biol* 1998; 104: 217-226 [PMID: 9711657 DOI: 10.1385/0-89603-525-5]
- 11 Uphoff CC, Drexler HG. Detection of Mycoplasma contamination in cell cultures. *Curr Protoc Mol Biol* 2014; 106: 28.4.1-28.4.14 [PMID: 24733240]

- DOI: 10.1002/0471142727.mb2804s106]
- 12 Gopalkrishna V, Verma H, Kumbhar NS, Tomar RS, Patil PR. Detection of Mycoplasma species in cell culture by PCR and RFLP based method: effect of BM-cyclin to cure infections. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 364-368 [PMID: 18087086]
- 13 Drexler HG, Uphoff CC. Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. *Cytotechnology* 2002; 39: 75-90 [PMID: 19003295 DOI: 10.1023/A:1022913015916]
- 14 Lincoln CK, Gabridge MG. Cell culture contamination: sources, consequences, prevention, and elimination. *Methods Cell Biol* 1998; 57: 49-65 [PMID: 9648099 DOI: 10.1016/S0091-679X(08)61571-X]
- 15 Gignac SM, Uphoff CC, MacLeod RA, Steube K, Voges M, Drexler HG. Treatment of mycoplasma-contaminated continuous cell lines with mycoplasma removal agent (MRA). *Leuk Res* 1992; 16: 815-822 [PMID: 1326687 DOI: 10.1016/0145-2126(92)90161-Y]
- 16 Uphoff CC, Denkmann SA, Drexler HG. Treatment of mycoplasma contamination in cell cultures with Plasmocin. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 267678 [PMID: 23091342 DOI: 10.1155/2012/267678]
- 17 Nikfarjam L, Farzaneh P. Prevention and detection of Mycoplasma contamination in cell culture. *Cell J* 2012; 13: 203-212 [PMID: 23508237]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

食管癌患者放化疗期间实施综合心理护理干预的效果评价

滕亚莉

滕亚莉, 连云港市第二人民医院放射治疗科 江苏省连云港市 222023

滕亚莉, 副主任护师, 主要从事肿瘤临床护理方面的研究.

作者贡献分布: 本文主要由滕亚莉写作完成.

通讯作者: 滕亚莉, 副主任护师, 222023, 江苏省连云港市海州区幸福路161号, 连云港市第二人民医院放射治疗科. 2111953951@qq.com

收稿日期: 2015-12-27

修回日期: 2016-02-29

接受日期: 2016-03-08

在线出版日期: 2016-04-08

Efficacy of comprehensive mental nursing in patients with esophageal cancer during concurrent chemo-radiotherapy

Ya-Li Teng

Ya-Li Teng, Department of Radiation Therapy, the Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222023, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ya-Li Teng, Associate Chief Nurse, Department of Radiation Therapy, the Second People's Hospital of Lianyungang, 161 Xingfu Road, Haizhou District, Lianyungang 222023, Jiangsu Province, China. 2111953951@qq.com

Received: 2015-12-27

Revised: 2016-02-29

Accepted: 2016-03-08

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of comprehensive mental nursing in patients with esophageal cancer during concurrent chemo-

radiotherapy.

METHODS: One hundred and twenty patients with esophageal cancer who underwent concurrent chemo-radiotherapy at the Second People's Hospital of Lianyungang from October 2011 to October 2014 were randomly divided into a comprehensive nursing group and a routine nursing group, with 60 patients in each group. All patients were given the same chemo-radiotherapy. The patients in the comprehensive nursing group were given comprehensive mental nursing intervention by evaluating their mental status, individual needs and adverse reactions during concurrent chemo-radiotherapy, and the routine nursing group were only given conventional nursing. The quality of life after nursing intervention and the adverse reactions during concurrent chemo-radiotherapy were observed, and the clinical efficacy was evaluated.

RESULTS: The Spitzer quality of life index was significantly higher in the comprehensive nursing group than in the routine nursing group after nursing intervention ($P < 0.001$). The incidence rate of adverse reactions including gastrointestinal reactions, liver dysfunction, bone marrow suppression, renal dysfunction and radiotherapy-induced esophagitis was significantly lower in the comprehensive nursing group than in the routine nursing group ($P = 0.006, 0.013, 0.003, 0.027, 0.010$). Ten cases in the routine nursing group discontinued treatment due to serious adverse reactions, but all patients in the comprehensive nursing group completed the concurrent chemo-radiotherapy under supportive and symptomatic treatment.

■背景资料

临床上90%的食管癌患者在就诊时病情分期已属中晚期,且由于大部分食管癌患者无法进行手术或不愿手术治疗,因此需要进行化学治疗、放射治疗或者同步放化疗.

■同行评议者

方英, 副主任护师, 浙江大学附属第一医院内镜中心; 孙莉, 副主任护师, 大连医科大学附属第一医院心脏重症监护室; 唐鲁, 主管护师, 中国人民解放军济南军区总医院口腔科

■ 研究前沿

同步放化疗能有效提高食管癌局部控制率,还能显著降低远处转移率,从而改善预后,提高患者的生存率,但同时同步放化疗也存在无法避免的不良反应,患者在放化疗期间往往发生各种严重不良反应。

CONCLUSION: Giving comprehensive mental nursing intervention to patients with esophageal cancer undergoing concurrent chemo-radiotherapy can significantly reduce and prevent adverse reactions and effectively improve the patients' quality of life.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Comprehensive mental nursing intervention; Esophageal cancer; Spitzer quality of life index; Concurrent chemo-radiotherapy

Teng YL. Efficacy of comprehensive mental nursing in patients with esophageal cancer during concurrent chemo-radiotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1565-1569 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1565.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1565>

摘要

目的: 探究食管癌患者在放化疗期间实施综合心理护理干预的临床疗效,为食管癌患者放化疗期间的临床护理提供更为有效的手段和方法。

方法: 从2011-10/2014-10于江苏省连云港市第二人民医院诊治的接受同步放化疗的食管癌患者中选择120例患者作为研究对象,并随机分为2组,即常规护理组和综合护理组,每组患者各60例。2组患者均给予相同的食管癌同步放化疗方法治疗。在放化疗期间,综合护理组患者实施综合心理护理干预,而常规护理组仅给予传统常规护理。分别观察2组患者护理干预后生活质量的变化情况及放化疗期间发生的不良反应,并评价2组护理干预的临床疗效。

结果: 综合护理组患者实施综合心理护理干预后,其Spitzer生活质量指数评分显著高于常规护理组($P < 0.001$);在放化疗期间,综合护理组患者不良反应(包括消化系统反应、肝功能异常、骨髓抑制、肾功能异常以及放射性食管炎)的发生率均显著低于常规护理组($P = 0.006、0.013、0.003、0.027、0.010$)。

结论: 对接受同步放化疗的食管癌患者实施综合心理护理干预,能预防和显著减少患者放化疗不良反应的发生,并改善和提高患者的生活质量,值得在临床上推广应用。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 综合心理护理干预; 食管癌; Spitzer生活质量指数; 同步放化疗

核心提示: 本文旨在探究食管癌患者在放化疗期间实施综合心理护理干预的临床疗效,以期对食管癌患者放化疗期间的临床护理提供更为有效的手段和方法,减少患者放化疗不良反应的发生,改善和提高患者的生活质量。

滕亚莉. 食管癌患者放化疗期间实施综合心理护理干预的效果评价. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1565-1569 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1565.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1565>

0 引言

食管癌是一种常见的消化系恶性肿瘤,好发于40岁以上男性,具有发病隐匿、病情重、生存率低和预后差等特点^[1]。临床上90%的食管癌患者在就诊时病情分期已属中晚期,且由于大部分食管癌患者无法进行手术或不愿手术治疗,因此需要进行化学治疗、放射治疗或者同步放化疗。目前,大部分学者研究^[2-3]认为,对于不愿手术治疗或者无法进行手术治疗的中晚期食管癌患者,同步放化疗是其标准治疗模式。其不但能有效提高局部控制率,还能显著降低远处转移率,从而改善预后,提高患者的生存率,但同时同步放化疗也存在无法避免的不良反应,患者在放化疗期间往往发生各种严重不良反应^[4]。本次研究旨在探究食管癌患者在放化疗期间实施综合心理护理干预的临床疗效,以期对食管癌患者放化疗期间的临床护理提供更为有效的手段和方法,减少患者放化疗不良反应的发生,改善和提高患者的生活质量。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-10/2014-10于江苏省连云港市第二人民医院诊治的接受同步放化疗的食管癌患者中选择120例患者作为研究对象,病例纳入标准: (1)所有入选患者均严格按照食管癌相关诊断标准诊断; (2)所有患者及家属均同意参与本次研究,并签署知情同意书。排除标准: (1)排除患有严重心肝肾等旗帜性疾病的患者; (2)不配合本次研究的患者。本研究经过医院伦理批准。将所选120例患者随机分为2组,即常规护理组和综合护理组,每组患者各60例。其中综合护理组中男性患者32例,女性患者28例,平均年龄52.7岁±6.5岁,常规护理组中男性患者34例,女

表 1 综合护理组和常规护理组患者临床资料的比较 ($n = 60$)

项目	综合护理组	常规护理组	χ^2 值/ t 值	P 值
性别			0.135	0.741
男	32	34		
女	28	26		
年龄(岁)	52.7 ± 6.3	53.4 ± 6.1	0.618	0.538
受教育程度			0.139	0.933
大学	12	11		
中学	21	20		
小学	27	29		

■ 相关报道

目前,大部分学者研究认为,对于不愿手术治疗或者无法进行手术治疗的中晚期食管癌患者,同步放化疗是其标准治疗模式。

性患者26例,平均年龄53.4岁±6.3岁。

1.2 方法 2组患者均给予相同的食管癌同步放化疗方法治疗。常规护理组仅给予传统常规护理。综合心理护理包括具体措施包括: (1)向患者及其家属介绍、解释同步放化疗治疗的目的、注意事项以及可能发生的不良反应。通过多种方式与患者及其家属进行沟通交流,建立良好、和谐的护患关系,取得患者及其家属的信任; (2)向患者详细讲解模具制作、放疗相关设备以及在放疗过程中如何更好地配合治疗,并带患者前去参观放疗室,熟悉放疗环境,以帮助患者释放心理压力,轻松面对治疗。可采取多种方式向患者及其家属宣传讲解食管癌相关诊疗常识,如单独交流、视频影像资料、发放宣传手册以及专题讲座等,引导患者合理饮食,积极配合治疗; (3)详细了解患者的心理感受和负面情绪,并有针对性地向患者提供情感支持,使其能够正确看待所患疾病,乐观面对治疗过程。采用音乐疗法,以减轻患者焦虑、抑郁等负面情绪,使其放松身心^[5]; (4)选择合适的静脉滴注方式,对使用化疗泵的食管癌患者,必须保证正常的输液状态,防止因发生挤压、扭曲而影响流速。经详细而全面的指导教育、评估及宣传讲解,使患者深入全面认识放化疗,从而提高其对治疗的依从性和积极性^[6,7]。在放化疗期间,放射性食管炎、消化系统是最常发生的不良反应,严重者甚至此不能进食。而维持患者身体机能,提升机体对放化疗并发病状的耐受性,从而减轻放化疗不良反应,充足的营养是必要条件^[6]。

观察指标: 分别观察2组患者护理干预后生活质量的变化情况及放化疗期间发生的不良反应,包括消化系统反应、肝功能异常、骨髓抑制、肾功能异常以及放射性食管炎,并

及时作出准确评价。按WHO相关标准将不良反应分为0-4度,按RTOG相关标准将放射性损伤分为0-IV级^[8]。患者生活质量的评价采用Spitzer(1981年)生活质量指数(Spitzer Quality of Life Index, SQLI)进行,包括5项指标,包括家庭支持、日常生活、健康感受、生活感受和活动能力,每个项目分为0、1、2三级用于帮助医生估计严重疾病治疗效果和疾病减轻程度,总分10分,患者的生活质量越高,评分越高^[9]。

统计学处理 本次研究的数据以mean±SD表示,我们将采用统计分析软件SPSS17.0进行数据的统计分析,组间连续变量的比较行 t 检验,组间计数资料的比较行 χ^2 检验,理论频数有<1,或者<5的格子数较多时采用Fisher确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 综合护理组和常规护理组患者临床资料的比较 本次研究中,我们经统计学方法分析,综合护理组和常规护理组患者在性别构成、受教育程度、年龄分布上的差异均不具有统计学意义(均 $P > 0.05$),即2组患者具有可比性(表1)。

2.2 综合护理组和常规护理组患者护理干预后SQLI评分、不良反应发生的比较 综合护理组患者护理干预后的SQLI评分为8.46分±0.21分,显著高于常规护理组的7.98分±0.18分($P < 0.001$)(表2)。在同步放化疗期间,综合护理组患者不良反应,包括消化系统反应、肝功能异常、骨髓抑制、肾功能异常以及放射性食管炎的发生率均显著低于常规护理组($P = 0.006, 0.013, 0.003, 0.027, 0.010$)(表2)。

3 讨论

食管癌是常见的消化系多发恶性肿瘤,好发于

同行评价

本研究内容实用，结果可靠，讨论丰富，有较好的参考价值。

表 2 综合护理组和常规护理组患者护理干预后SQLI评分及不良反应的比较 (n = 60)

分组	综合护理组	常规护理组	值	P值
家庭支持(分)	1.86 ± 0.15	1.78 ± 0.12	3.226	0.002
日常生活(分)	1.82 ± 0.11	1.75 ± 0.14	3.045	0.003
生活感受(分)	1.87 ± 0.13	1.79 ± 0.18	2.791	0.006
活动能力(分)	1.94 ± 0.16	1.85 ± 0.21	2.641	0.009
健康感受(分)	1.75 ± 0.17	1.67 ± 0.19	2.431	0.017
总评分(分)	8.46 ± 0.21	7.98 ± 0.18	13.443	<0.001
消化系统反应			7.548	0.006
0-II级	48	34		
III-IV级	12	26		
肝功能异常	3	12	6.171	0.013
骨髓抑制			9.025	0.003
0-II级	50	37		
III-IV级	10	23		
肾功能异常	2	9	4.904	0.027
放射性食管炎			6.708	0.010
0-II级	52	40		
III-IV级	8	20		

SQLI: Spitzer生活质量指数。

40岁以上男性, 进行性吞咽困难是其典型临床症状。其发病率各国差异较大, 每年全球死于食管癌的患者约有30万人^[10]。我国是食管癌高发地区, 平均每年约有15万人死于食管癌及其并发症^[11]。

目前, 铂类联合氟尿嘧啶是治疗食管癌的主要方式。有研究结果表明^[12], 顺铂加5-氟尿嘧啶联合放疗同步放化疗不仅能遏制肿瘤生长, 阻碍癌细胞生物合成和增殖, 还能有效防止肿瘤细胞产生耐药性, 起到最大程度杀伤、杀死肿瘤细胞的作用, 提高患者的生存率。但同时同步放化疗也存在无法避免的不良反应, 患者在放化疗期间往往发生各种严重不良反应, 给患者带来极大痛苦。

本次研究中, 我们发现综合护理组患者护理干预后的SQLI总评分以及不良反应均优于对照组($P<0.001$)。表明通过实施综合心理护理干预能显著减少不良反应的发生, 改善患者生存质量, 提高患者生活、社会活动能力。涂桂红^[13]研究亦发现, 对于接受同步放化疗的食管癌患者, 短期内采取有效的护理干预能有效减少患者不良反应的发生, 改善和提高患者的生活质量, 助其更好地顺利完成治疗。由于患者心理压力过大, 往往出现许多消极心理和负面情绪, 部分严重患者甚至出现极度悲观绝望

的心理, 产生抗拒治疗, 暴力伤医等极端行为。Pool等^[14]研究还发现, 对于同步放化疗的食管癌患者, 通过责任小组护理建立新型、良好和谐的护患关系, 能增强患者对自身疾病的认识和治疗过程中可能发生的不良反应, 从而提高患者的预防能力, 减少患者的负面情绪, 降低治疗不良反应, 提高患者的生存质量。因此, 可行、有效的综合心理护理干预对接受同步放化疗的食管癌患者必不可少。除此之外, 及时掌握患者的负面情绪和心理感受, 详细了解患者及其家属的各方面需求, 有针对性地向患者提供情感支持和心理疏导, 使其建立积极建立、良好的心态, 释放心理压力, 正确看待所患疾病, 乐观的面对治疗^[15]。

总之, 对接受同步放化疗的食管癌患者实施综合心理护理干预, 能预防和显著减少患者放化疗不良反应的发生, 有效调节患者的负面情绪, 并改善和提高患者的生活质量, 值得在临床上推广应用和进一步探讨。

4 参考文献

1 Bohanes P, Yang D, Chhibar RS, Labonte MJ, Winder T, Ning Y, Gerger A, Benhaim L, Paez D, Wakatsuki T, Loupakis F, El-Khoueiry R, Zhang W, Lenz HJ. Influence of sex on the survival of patients with esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2265-2272 [PMID: 22585694 DOI: 10.1200/

- JCO.2011.38.8751]
- 2 Cheng QM, Kong CQ, Chang SY, Wei AH. Effects of psychological nursing intervention on personality characteristics and quality of life of patients with esophageal cancer. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 283-288 [PMID: 23117050 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.08.009]
 - 3 栾琳琳, 殷静静, 段红香, 焦丽, 王功朝. 个体化心理干预对食管癌患者术后疲劳综合征的影响. *护理学杂志* 2013; 28: 86-89
 - 4 周晓梅, 倪杰, 陆雁. 临床心理护理程序对食管癌放射治疗患者生活质量的影响. *中华护理杂志* 2012; 47: 1028-1031
 - 5 Enestvedt BK, Ginsberg GG. Advances in endoluminal therapy for esophageal cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2013; 23: 17-39 [PMID: 23168117 DOI: 10.1016/j.giec.2012.10.003]
 - 6 郝玉静, 赵立华. 食管癌患者同步放疗及化疗的营养支持及护理. *中国实用护理杂志* 2012; 28: 50-51
 - 7 许妍, 胡娟. 整体护理对放疗所致食管癌患者放射性食管炎的影响. *中国医药导报* 2012; 9: 137-138
 - 8 苏勤. 人性化护理对食管癌放疗患者生活质量的影响. *中国医药导报* 2012; 9: 136-137
 - 9 Nieman DR, Peters JH. Treatment strategies for esophageal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42: 187-197 [PMID: 23452638 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.11.007]
 - 10 Chen W, He Y, Zheng R, Zhang S, Zeng H, Zou X, He J. Esophageal cancer incidence and mortality in China, 2009. *J Thorac Dis* 2013; 5: 19-26 [PMID: 23372946]
 - 11 朱丽丽, 张会敏, 李秀敏. 个性化护理干预措施对社区食管癌患者生存质量改善的效果研究. *现代预防医学* 2014; 41: 1221-1224
 - 12 Han Y, Hu D, Liu Y, Caihong Lu Z, Zhao J, Lopez V, Mao J. Coping styles and social support among depressed Chinese family caregivers of patients with esophageal cancer. *Eur J Oncol Nurs* 2014; 18: 571-577 [PMID: 25263069 DOI: 10.1016/j.ejon.2014.07.002]
 - 13 涂桂红. 顺铂联合氟尿嘧啶化疗同步放疗治疗食管癌患者不良反应的护理. *中国实用护理杂志* 2012; 28: 56-57
 - 14 Pool MK, Nadrian H, Pasha N. Effects of a self-care education program on quality of life after surgery in patients with esophageal cancer. *Gastroenterol Nurs* 2012; 35: 332-340 [PMID: 23018169 DOI: 10.1097/SGA.0b013e3182605f86]
 - 15 李向青, 任利华, 李岩. 多元护理干预对食管癌患者心理状况的影响. *中国医药导报* 2012; 9: 137-138

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



胃部幽门螺杆菌感染对口腔异味患者的临床意义

胡玉姿, 叶月琴, 王昌雄

■背景资料

口腔异味常影响人们的生活质量。众所周知, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与消化系统疾病、肿瘤性疾病等密切相关。以前有报道称口腔异味大多数与口腔疾病及呼吸系统疾病、糖尿病、慢性肝、肾疾病和代谢不良性疾病、服用某些含硫药物、吸烟、饮食习惯、女性月经期等有关。

胡玉姿, 庆元县疾病预防控制中心预防医学门诊 浙江省丽水市 323800

胡玉姿, 叶月琴, 庆元县人民医院内科 浙江省丽水市 323800

王昌雄, 丽水市人民医院消化内科 浙江省丽水市 323000

胡玉姿, 主治医师, 主要从事消化内科的研究。

作者贡献分布: 此课题由胡玉姿设计; 研究过程及数据分析由胡玉姿、叶月琴及王昌雄共同实施完成; 本论文写作由胡玉姿完成。

通讯作者: 胡玉姿, 主治医师, 323800, 浙江省丽水市庆元县姑源街工业路18号, 庆元县疾病预防控制中心预防医学门诊。
2157475931@qq.com
电话: 0578-6218023

收稿日期: 2016-02-29
修回日期: 2016-03-10
接受日期: 2016-03-13
在线出版日期: 2016-04-08

Correlation between bad breath and *Helicobacter pylori* infection

Yu-Zi Hu, Yue-Qin Ye, Chang-Xiong Wang

Yu-Zi Hu, Prevention and Medical Clinic, Center for Prevention and Control of Diseases in Qingyuan County, Lishui 323800, Zhejiang Province, China

Yu-Zi Hu, Yue-Qin Ye, Department of Internal Medicine, Qingyuan People's Hospital, Lishui 323800, Zhejiang Province, China

Chang-Xiong Wang, Department of Internal Medicine, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Yu-Zi Hu, Attending Physician, Prevention and Medical Clinic, Center of Prevention and Control of Disease in Qingyuan County, 18 Gongye Road, Guyuan Street, Qingyuan County, Lishui 323800,

Zhejiang Province, China. 2157475931@qq.com

Received: 2016-02-29

Revised: 2016-03-10

Accepted: 2016-03-13

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To assess the correlation between bad breath (also known as halitosis) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

METHODS: A total of 236 patients or healthy volunteers were randomly selected. Based on the presence of halitosis or not, the subjects were divided into a halitosis and a no-halitosis group. All patients underwent ¹⁴C-urea breath test, and according to the presence of *H. pylori* infection or not, the subjects were divided into a *H. pylori* infection group and a no-infection group. The incidence of halitosis in the *H. pylori* infection and no-infection groups was compared, and the correlation of *H. pylori* infection with halitosis was analyzed.

RESULTS: Of the 236 subjects included, 109 (46.19%) had halitosis, including 74 (67.89%) who were positive for *H. pylori* infection, and 127 (53.81%) had no halitosis, including 36 (28.35%) who were positive for *H. pylori* infection. The rate of *H. pylori* infection between the two groups was statistically significant ($\chi^2 = 31.53$, $P < 0.05$), and there was a significant correlation between halitosis and *H. pylori* infection ($r = 0.33$). There were 135 (57.20%) *H. pylori* positive cases, of which 93 (68.89%) had halitosis. There were 101 (42.80%) *H. pylori* negative cases, of which only 4 (3.96%)

■同行评议者

王莉, 主任医师, 海南省农垦总医院病理科

had halitosis. The rate of halitosis between the two groups was statistically significant ($\chi^2 = 52.57, P < 0.05$), and there was a significant correlation between *H. pylori* infection and halitosis ($r = 0.61$).

CONCLUSION: In people with halitosis, many have *H. pylori* infection, and in *H. pylori* positive people, many have halitosis. There is a close correlation between *H. pylori* infection and halitosis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Halitosis; *Helicobacter pylori*; ^{14}C -urea breath test; Correlation

Hu YZ, Ye YQ, Wang CX. Correlation between bad breath and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1570-1574 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1570.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1570>

摘要

目的: 探讨口腔异味(又称口臭)的发生与胃部幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的相关性。

方法: 随机选择2014-08/2015-11因消化系统疾病或者健康体检来庆元县人民医院和丽水市人民医院就诊236例患者为研究对象,通过鼻嗅法分为口腔异味组和无口腔异味组,所有患者均行 ^{14}C 呼气试验,根据有无*H. pylori*的感染,比较两组*H. pylori*的感染率。根据患者胃部是否有*H. pylori*感染,分为感染组和无感染组,分别比较两组患者口腔异味的发生率,根据结果探讨分析口腔异味的发生与胃部*H. pylori*感染的相关性。

结果: 236例研究对象中,口腔异味组109例(46.19%),其中胃*H. pylori*阳性74例(67.89%);无口腔异味组127例(53.81%),其中胃*H. pylori*阳性36例(28.35%);两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 31.53, P < 0.05$),口腔异味与胃部*H. pylori*感染的相关系数 $r = 0.61$ 。*H. pylori*感染阳性135例(57.20%),其中口腔异味者有93例(68.89%);*H. pylori*检测阴性101例(42.80%),其中口腔异味者有4例(3.96%);两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 52.57, P < 0.05$),*H. pylori*感染与口腔异味发生率间的相关系数 $r = 0.61$ 。

结论: 有口腔异味的患者,大多数存在胃部*H. pylori*的感染,胃部*H. pylori*感染的患者有较高的口腔异味发生率,因此口腔异味与*H. pylori*感染两者之间存在密切的相关性,*H. pylori*感染是引起口腔异味的一个重要原因,要引起重视。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 口腔异味; 幽门螺杆菌; ^{14}C 呼气试验; 相关性

核心提示: 口腔异味与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染两者之间存在密切的相关性,*H. pylori*感染是引起口腔异味的一个重要原因。 ^{14}C 呼气试验可帮助鉴别诊断口腔异味的病因,从而提高口腔异味的诊治效果。

胡玉姿, 叶月琴, 王昌雄. 胃部幽门螺杆菌感染对口腔异味患者的临床意义. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1570-1574 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1570.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1570>

0 引言

口腔异味是发自身体内部的臭气,表现为呼吸时有异味,使用清洁剂难以掩盖,漱口、刷牙不能消除,口腔异味常影响人们的生活质量,严重时影响人们的社会交往,给患者造成心理障碍,已被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)收录在疾病及有关健康问题的国际统计分类中^[1,2]。随着人们生活水平的提高及对自身形象的重视,因口腔异味就诊及进行健康体检人越来越多,通过呼气试验行幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)检查的人也逐年增多,人们逐渐意识到口腔异味的患者*H. pylori*检出率较无口腔异味者高。众所周知,*H. pylori*与消化系统疾病^[3]、肿瘤性疾病等密切相关。以前有报道^[1,4]称口腔异味大多数与口腔疾病相关,比如与牙周炎、牙龈炎、牙结石等疾病密切相关,但也由呼吸系统疾病,糖尿病、慢性肝、肾疾病和代谢不良性疾病、服用某些含硫药物、吸烟、饮食习惯、女性月经期等引起^[5]。但是最近几年的文献报道^[5,6]认为胃部*H. pylori*感染与口腔异味密切相关可能是导致无口腔疾病患者口腔异味的原因。本研究通过对伴或不伴消化系统疾病的患者为研究对象进行 ^{14}C 呼气试验检查,讨论口腔异

■ 相关报道

最近几年的文献报道认为胃部*H. pylori*感染与口腔异味密切相关可能是导致无口腔疾病患者口腔异味的原因。

■ 创新盘点

^{14}C 呼气试验作为一种非侵入性的检测方法具有方便、快捷等优点, *H. pylori*产生的尿素酶可将其分解成 NH_3 和 CO_2 , 后随呼气排出, 然后通过高灵敏度质谱仪或液闪仪分别测定呼气中 ^{14}C 的量可判断有无*H. pylori*感染。

味患者的发病发生与胃部*H. pylori*感染的相关性。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 通过随机方法, 选择2014-08/2015-11因消化系统疾病或者健康体检来庆元县人民医院和丽水市人民医院就诊236例患者为研究对象, 其中男114例, 女122例, 年龄21-79岁, 平均43.0岁 \pm 9.9岁。各比较组之间, 分别在性别、年龄等一般情况比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。纳入标准: (1)年满14周岁; (2)1 mo内未服用各种抗生素、铋剂及某些含硫药物; (3)检测前4 wk无口腔科就诊经历; (4)知情并自愿参与此研究。排除标准: (1)由吸烟、饮食习惯、女性月经期等引起的口腔异味; (2)由口腔疾病比如与牙周炎、牙龈炎、牙结石等引起的口腔异味者; (3)由呼吸系统疾病, 糖尿病、慢性肝、肾疾病和代谢不良性疾病等引起口腔异味的患者; (4)有活动性义齿或佩戴矫治器者。

1.2 方法

1.2.1 检查: 研究对象检测前未进行口腔清洁或咀嚼口香糖, 由同一检查者通过鼻嗅法根据研究对象口腔呼出的气体进行检测, 口腔异味闻诊参照1999年国际口臭专题研讨会推荐的方案。通过 ^{14}C 呼气试验的检测方法, 来检测患者*H. pylori*的感染情况。所有研究对象在晨起空腹时, 或在禁食3 h后, 吞服1粒胶囊(切勿将胶囊咬碎), 静息15 min后, 向专用的呼气卡中吹气, 而后再将呼气卡插入专用的检测仪内, 然后观察并记录结果(记为d值), 若d值 <25 为阴性, d值25-50为弱阳性, d值 >100 为阳性。根据中华医学会消化病学分会*H. pylori*学组在2007年全国*H. pylori*感染若干问题共识报告(庐山共识)中提出的诊断标准^[7], 来评估是否有*H. pylori*感染。

1.2.2 分组: 通过鼻嗅法分为口腔异味组和无口腔异味组, 根据有无*H. pylori*的感染, 比较两组*H. pylori*的感染率。根据患者是否有*H. pylori*感染, 分为感染组和无感染组, 比较两组患者口腔异味的发生率。

统计学处理 采用SPSS20.0软件进行统计学分析, 计量资料用mean \pm s表示, 对资料进行正态分布检验, 均符合正态分布, 组间比较采用t检验, 计数资料用百分率(%)表示, 采用 χ^2 检

验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 口腔异味组和非口腔异味组*H. pylori*感染发生率的比较 口腔异味组109例(46.19%), 其中胃*H. pylori*阳性74例(67.89%), *H. pylori*阴性35例(32.11%); 无口腔异味组127例(53.81%), 其中胃*H. pylori*阳性36例(28.35%), *H. pylori*阴性91例(72.65%); 两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 31.53$, $P<0.05$), 口臭与胃部*H. pylori*感染的相关系数 $r = 0.33$ 。

2.2 *H. pylori*感染组和无*H. pylori*感染组口腔异味发生率的比较 *H. pylori*感染阳性135例(57.20%), 其中口腔异味者有93例(68.89%), 无口腔异味者有42例(31.11%); *H. pylori*检测阴性101例(42.80%), 其中口腔异味者有4例(3.96%), 无口腔异味者有97例(96.04%); 两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 52.57$, $P<0.05$), *H. pylori*感染与口腔异味发生率间的相关系数 $r = 0.61$ 。

3 讨论

以前人们认为口腔异味与口腔疾病有密切关系^[2], 认为堆积于龈缘的簌垢、口腔不洁、及牙间隙和龋洞内的食物发酵腐败, 是造成口腔异味的主要原因。现研究^[8]发现很多有口腔异味的人牙周是健康的, 无口腔疾病。*H. pylori*是慢性胃炎和消化性溃疡的主要致病因子^[9], 感染率极高这使得*H. pylori*感染日益引起人们的高度重视^[10], 中国的流行病学调查结果显示*H. pylori*平均感染率为59%^[11], 而国外曾有报道称大约有50%-65%的人受口腔异味的影响^[12,13], 上述研究又证明口腔异味患者当中胃*H. pylori*阳性率在65%以上, 胃*H. pylori*感染者口腔异味的发生率在65%以上, 说明*H. pylori*感染可能是口腔异味的一大原因。

*H. pylori*是一种微需氧的革兰阴性细菌, 主要通过口-口途径或粪-口途径传播^[10,12,14], 前者理论认为, *H. pylori*可以定居在口腔通过唾液等媒介而传播。Dore等^[15]与Lee等^[16]研究发现, *H. pylori*血清抗体阳性者, 口腔幽门螺旋杆菌检出率也较高, 考虑这可能是*H. pylori*通过唾液传播的原因。Dore等^[15]认为, 在发达国家, 由于人们的卫生条件较好, *H. pylori*一般不会被粪-口途径传播引起, 更多的是通过口-口

传播. 支持后者理论的人认为, *H. pylori*在口腔中属路过菌, 而不能直接引起*H. pylori*传染, *H. pylori*在人群中的传播可能是通过被粪便中的*H. pylori*所污染的饮水等媒介所引起的, 且*H. pylori*在口腔中能否长期大量的定居和繁殖也是存在争议的. 但是关于*H. pylori*导致口腔异味的原因尚不十分清楚, 目前被认可的理论有3种^[17]: (1)*H. pylori*可以在胃肠道分解尿素产生氨, 而氨是具有特殊臭味的物质; (2)最新的研究发现*H. pylori*还可以产生甲硫醇和硫化氢, 均是目前所知导致口腔异味的最主要的原因. 计春燕等研究发现, 口腔异味的患者食管下段压力明显低于无口腔异味组, 提示胃内*H. pylori*产生的氨及甲硫醇和硫化氢可能通过反流进入口腔, 从而导致口腔异味的发生; (3)由于*H. pylori*是引起消化系统疾病, 致使胃肠功能受到不同程度的损害, 导致食物过长时间在胃肠中滞留, 经胃肠道内细菌腐败分解产生各种有臭味的气体.

¹⁴C呼气试验作为一种非侵入性的检测方法具有方便、快捷等优点^[7,18,19], 其检测原理是依赖尿素酶活性, 反映活动性*H. pylori*感染. 口服一定量的¹⁴C尿素后, *H. pylori*产生的尿素酶可将其分解成NH₃和CO₂, 而后者又可以在小肠上段吸收进入血, 后随呼气排出, 然后通过高灵敏度质谱仪或液闪仪分别测定呼气中¹⁴C的量可判断有无*H. pylori*感染.

本次研究结果显示, 口腔异味组患者的胃*H. pylori*检出率较无口腔异味组高, 两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 31.53, P < 0.05$); *H. pylori*感染阳性组患者发生口腔异味的比率较未感染*H. pylori*组, 两组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 52.57, P < 0.05$).

因此可以得出, 口腔异味与*H. pylori*感染两者之间存在密切的相关性, *H. pylori*感染是引起口腔异味的一个重要原因, ¹⁴C呼气试验可帮助鉴别诊断口腔异味的原因, 从而提高口腔异味的诊治效果.

4 参考文献

- 1 Önal Z, Çullu Çokuğraş F, Işıldak H, Kaytaş A, Kutlu T, Erkan T, Doğusoy G. Evaluation of the likelihood of reflux developing in patients with recurrent upper respiratory infections, recurrent sinusitis or recurrent otitis seen in ear-nose-throat outpatient clinics. *Turk J Pediatr* 2015; 57: 258-265 [PMID: 26701945]

- 2 Zaric S, Bojic B, Popovic B, Milasin J. Eradication of gastric *Helicobacter pylori* ameliorates halitosis and tongue coating. *J Contemp Dent Pract* 2015; 16: 205-209 [PMID: 26057919 DOI: 10.5005/jp-journals-10024-1662]
- 3 曹艳, 瞿卫, 王自正, 杜同信, 范海宁, 闫春明, 曹继伟. 干部健康体检幽门螺旋杆菌感染状况分析. *放射免疫学杂志* 2009; 22: 173-174
- 4 HajiFattahi F, Hesari M, Zojaji H, Sarlati F. Relationship of Halitosis with Gastric *Helicobacter Pylori* Infection. *J Dent (Tehran)* 2015; 12: 200-205 [PMID: 26622273]
- 5 Chen X, Tao DY, Li Q, Feng XP. [The relationship of halitosis and *Helicobacter pylori*]. *Shanghai Kouqiang Yixue* 2007; 16: 236-238 [PMID: 17660905]
- 6 陈曦, 陶丹英, 李箐, 冯希平. 胃幽门螺杆菌感染与口臭关系的初步研究. *上海口腔医学* 2007; 21: 236-238
- 7 龚宇华, 潘炜娟, 魏本娟, 郁利, 魏灿杰. 胃幽门螺杆菌感染与口臭的相关性研究. *现代生物医学进展* 2015; 15: 66-68
- 8 朱卫东, 沙月琴. 口臭与牙周炎及舌苔的相关性研究. *中华口腔医学杂志* 2002; 37: 63-66
- 9 Zalewska A, Zatoński M, Jabłonka-Strom A, Paradowska A, Kawala B, Litwin A. Halitosis-a common medical and social problem. A review on pathology, diagnosis and treatment. *Acta Gastroenterol Belg* 2012; 75: 300-309 [PMID: 23082699]
- 10 张羽, 陈曦, 冯希平. 胃肠道疾病与口臭的关系. *国际口腔医学杂志* 2014; 41: 703-706
- 11 Tang HR, Fan YJ, Liu S. [*Helicobacter pylori* infection and associated risk factors in Chengdu]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2014; 45: 823-826 [PMID: 25341349]
- 12 马骏驰. 口臭的研究现状. *广东牙病防治* 2002; 10: 149-150
- 13 Adler I, Muiño A, Aguas S, Harada L, Diaz M, Lence A, Labbrozzi M, Muiño JM, Elsner B, Avagnina A, Denninghoff V. *Helicobacter pylori* and oral pathology: relationship with the gastric infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9922-9935 [PMID: 25110422 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9922]
- 14 杨镭毓, 李雨庆, 周学东. 口腔幽门螺杆菌与胃幽门螺杆菌感染关系的研究进展. *华西口腔医学杂志* 2014; 32: 314-318
- 15 Dore MP, Fanciulli G, Tomasi PA, Realdi G, Delitala G, Graham DY, Malaty HM. Gastrointestinal symptoms and *Helicobacter pylori* infection in school-age children residing in Porto Torres, Sardinia, Italy. *Helicobacter* 2012; 17: 369-373 [PMID: 22967120 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00955.x]
- 16 Lee JS, Kwon KA, Jung HS, Kim JH, Hahm KB. Korea red ginseng on *Helicobacter pylori*-induced halitosis: newer therapeutic strategy and a plausible mechanism. *Digestion* 2009; 80: 192-199 [PMID: 19776584 DOI: 10.1159/000229997]
- 17 沈子晶. 幽门螺杆菌感染与口臭的相关性探讨. *牙体牙髓牙周病学杂志* 2003; 13: 638-639
- 18 Tuzcu EA, Aydoğan F, Motor VK, İlhan O, Dağhoglu MC, Coskun M, Parlakfikirer N, Keskin U. Investigation of the association between glaucoma and *Helicobacter pylori* infection using the ¹⁴C-urea breath test. *Arq Bras Oftalmol* 2015;

应用要点

¹⁴C呼气试验可帮助鉴别诊断口腔异味的原因, 从而提高口腔异味的诊治效果.

■ 同行评价

本文题新颖, 研究方法得当, 论证有理有据, 对临床应用有很大的帮助.

78: 229-231 [PMID: 26375337 DOI: 10.5935/0004-2749.20150059]
19 Gong Y, Wei W, Yuan Y. Association between abnormal gastric function risk and Helicobacter

pylori infection assessed by ELISA and 14C-urea breath test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 80: 316-320 [PMID: 25284372 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.09.009]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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)所有作者均审阅过该文并同意发表, 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、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理.

3 版权

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

瘦素和脂联素在老年结直肠腺瘤合并非酒精性脂肪肝患者中的表达及意义

张新星, 顾清, 张璐, 代小松, 陈和平

张新星, 顾清, 张璐, 代小松, 陈和平, 四川省医学科学院·四川省人民医院老年消化科 四川省成都市 610072

张新星, 主治医师, 主要从事消化系相关疾病的研究。

作者贡献分布: 本课题由张新星设计; 研究过程由张新星、顾清、张璐、代小松及陈和平完成; 数据分析由张新星与顾清完成; 本论文写作由张新星完成。

通讯作者: 张新星, 主治医师, 610072, 四川省成都市一环路西二段32号, 四川省医学科学院·四川省人民医院老年消化科。
zhangxinxing1979@sohu.com
电话: 028-87393024

收稿日期: 2016-01-07

修回日期: 2016-02-27

接受日期: 2016-03-08

在线出版日期: 2016-04-08

Significance of plasma levels of adiponectin and leptin in elderly patients with colorectal adenomas and non-alcoholic fatty liver disease

Xin-Xing Zhang, Qing Gu, Lu Zhang, Xiao-Song Dai, He-Ping Chen

Xin-Xing Zhang, Qing Gu, Lu Zhang, Xiao-Song Dai, He-Ping Chen, Department of Geriatric Gastroenterology, Sichuan Academy of Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xin-Xing Zhang, Attending Physician, Department of Geriatric Gastroenterology, Sichuan Academy of Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. zhangxinxing1979@sohu.com

Received: 2016-01-07

Revised: 2016-02-27

Accepted: 2016-03-08

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical characters of colorectal adenomas in elder patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and to explore the relationship between adiponectin and leptin levels and colorectal adenomas which likely undergo malignant transformation.

METHODS: The information of past medical history and personal medical history were provided. Body mass index (BMI), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL-C), low-density lipoprotein (LDL-C), lipoprotein a (Lpa), as well as position, size, number, and pathology of colorectal adenomas were detected and collected statistic between elderly patients with and without NAFLD. ELISA was used to detect plasma adiponectin and leptin levels.

RESULTS: More elderly patients with NAFLD had smoking history, diabetes mellitus, hypertension, hypertriglyceride, high LDL-C level and high BMI ($P < 0.05$) than in those without NAFLD. The numbers of colorectal adenomas ($P < 0.05$) and villous adenomas ($P < 0.05$) in patients with NAFLD were more than those in patients without NAFLD. Higher levels of adiponectin and lower levels of leptin were detected in patients with NAFLD, and in the villous adenomas group and high grade dysplasia group.

CONCLUSION: Adenomas in elderly patients with NAFLD have more chances to undergo malignant transformation than those in patients

■背景资料

老年人结直肠癌发病率高, 按照“腺瘤-癌”顺序理论, 发现并切除有潜在恶变风险的结直肠息肉可以有效地预防结直肠癌的发生。肥胖、非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)及脂联素、瘦素等脂肪细胞因子等都被证明与结直肠癌发生有一定联系, 但与结直肠腺瘤特别是老年人结直肠腺瘤关系还不清楚。

■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系; 刘旭东, 副主任医师, 广西中医学院附属瑞康医院肝病科

■ 研究前沿

结直肠癌是世界范围内最常见的癌症之一, 老年人结直肠癌发病率、非酒精性脂肪肝发病率呈上升趋势。老年非酒精性脂肪肝患病率逐渐升高, 由脂肪组织分泌的脂联素、瘦素等脂肪因子参与了代谢、炎症反应及肿瘤的产生, 他们与肥胖相关的紊乱导致肿瘤的发生有一定的关系。

without NAFLD. The low expression of adiponectin and high expression of leptin may be one of the possible mechanisms.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal adenomas; Non-alcoholic fatty liver disease; Adiponectin; Leptin; Elderly

Zhang XX, Gu Q, Zhang L, Dai XS, Chen HP. Significance of plasma levels of adiponectin and leptin in elderly patients with colorectal adenomas and non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1575-1580 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1575.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1575>

摘要

目的: 研究老年结直肠腺瘤合并非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者结直肠腺瘤的临床特征及探讨瘦素、脂联素的表达与有潜在恶变风险的结直肠腺瘤的关系。

方法: 82例老年结直肠腺瘤合并NAFLD患者为研究组, 286例老年结直肠腺瘤非NAFLD患者为对照组。统计两组患者合并高血压、糖尿病情况, 比较两组患者体质量指数(body mass index, BMI)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白-胆固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白-胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、脂蛋白a(lipoprotein a, Lpa)及腺瘤发生部位、大小、数目、病理类型、上皮内瘤变。酶联免疫吸附试验法检测两组患者瘦素和脂联素的表达。

结果: 老年结直肠腺瘤合并NAFLD组患者同非NAFLD组相比, 吸烟、患有糖尿病、高血压、高甘油三酯血症、高低高密度脂蛋白患者更多($P<0.05$), 且BMI明显高于非NAFLD结直肠腺瘤组($P<0.05$)。结肠腺瘤合并NAFLD组老年患者腺瘤个数多于非NAFLD组($P<0.05$), 绒毛状腺瘤比例也高于非NAFLD组结直肠腺瘤患者($P<0.05$)。脂联素在NAFLD组表达高于非NAFLD组($P<0.05$), 而瘦素的表达与之相反($P<0.05$)。脂联素在2个及其以上息肉数组的表达高于单个息肉组($P<0.05$), 在绒毛状息肉组的表达低于非绒毛

状息肉组($P<0.05$), 在息肉有高级别瘤样变组的表达高于非高级别瘤样变组($P<0.05$)。瘦素在绒毛状息肉组的表达高于非绒毛状息肉组($P<0.05$), 在息肉有高级别瘤样变组的表达低于非高级别瘤样变组($P<0.05$)。

结论: 老年结直肠腺瘤合并NAFLD患者腺瘤恶变风险更高, 脂联素分泌减少及瘦素水平的升高是可能的原因之一。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠腺瘤; 非酒精性脂肪肝; 瘦素; 脂联素; 老年

核心提示: 本研究旨在探讨老年结直肠腺瘤合并非酒精性脂肪肝患者结直肠腺瘤的临床特征及瘦素、脂联素的表达与有潜在恶变风险大的结直肠腺瘤的关系。不断的发现新的危险因素并据此调整需要筛查的高危人群, 特别是在老年人群中, 有利于减少结直肠肿瘤的发生。

张新星, 顾清, 张璐, 代小松, 陈和平. 瘦素和脂联素在老年结直肠腺瘤合并非酒精性脂肪肝患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1575-1580 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1575.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1575>

0 引言

直肠癌是消化系常见的肿瘤, 据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 结直肠癌发病率和死亡率分别位于所有肿瘤的第3位和第4位^[1]。结直肠癌在中国的恶性肿瘤中的发病率列第5位, 并且发病率有逐年上升的趋势^[2]。有数据统计显示, 60%以上肿瘤患者为65岁以上老年人, 老年人患肿瘤的风险是中青年的11倍, 且消化系肿瘤所占比例最大^[3]。发现并切除有潜在恶变风险的结直肠息肉可以有效地预防结直肠癌的发生^[4]。超重和肥胖与结直肠癌及其前期病变结直肠息肉发生的高风险密切相关, 越来越多的证据^[5]表明, 许多脂肪组织分泌的脂肪因子如脂联素、瘦素、肿瘤坏死因子 α 参与了肥胖致结直肠瘤样物的形成。胰岛素抵抗已经被证实是发生包括结直肠癌在内的恶性肿瘤的肥胖患者早期和重要的机体紊乱的相关表现^[6], 而这些细胞因子都与胰岛素抵抗有关^[7]。不断的发现新的危险因素并据此调整需要筛查的高危人群, 特别是在老

年人群中, 有利于减少结直肠肿瘤的发生。因此, 我们通过本研究评估肥胖、非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)及脂联素、瘦素等脂肪细胞因子与老年结直肠癌患者腺瘤特点的相关性, 有助于更好的了解老年结直肠癌患者的腺瘤的发展方向, 预防结直肠癌的发生。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入四川省人民医院2013-01/2015-01行结肠镜检查确定有结直肠息肉(病检提示为腺瘤)^[8], 为行息肉切除术入院的老年住院患者共368例, 其中女性130例, 男性238例, 年龄65-96岁。家族性息肉病、有结直肠癌病史、饮酒量男性>140 g/wk, 女性>70 g/wk患者除外。本研究通过四川省人民医院伦理委员会同意。

1.2 方法 询问并记录入组患者有无高血压、糖尿病基础疾病, 有无烟酒不良嗜好, 测定所有患者体重指数(body mass index, BMI), 检测天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白-胆固醇(high-density lipoprotein- cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白-胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、脂蛋白a(lipoprotein a, Lpa)(检测由四川省人民医院检验科完成)。酶联免疫吸附试验法测定血清脂联素、瘦素水平(试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司)。统计腺瘤的数量、大小及解剖分布情况(近端: 包括回盲部、升结肠、横结肠; 远端: 结肠脾区、降结肠、乙状结肠、直肠)。切除的腺瘤病例标本送病理检测。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件包进行统计分析, 计数资料采用两个或多个样本率比较的 χ^2 检验, 组间差异比较采用 t 检验。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 在本研究共纳入368例行肠镜检查发现有直肠和/或结肠腺瘤的老年患者中, 通过腹部超声或者CT检查明确82例(22%)为NAFLD患者, 286例(78%)为非NAFLD患者。

2.2 老年结直肠癌腺瘤NAFLD与非NAFLD组临床特征分析 脂肪肝组与非脂肪肝组结直肠腺

表 1 NAFLD与非NAFLD结直肠息肉患者临床特征

项目	NAFLD组 (n = 82)	非NAFLD组 (n = 286)	P值
性别			0.256
男	61(74.4)	194(67.8)	
女	21(25.6)	92(32.2)	
糖尿病			0.009
有	20(24.4)	36(12.6)	
无	62(75.6)	250(87.4)	
高血压			0.000
有	61(74.4)	133(46.5)	
无	21(25.6)	153(53.5)	
高甘油三酯血症			0.000
有	46(56.1)	77(26.9)	
无	36(43.9)	209(73.1)	
高胆固醇血症			0.635
有	15(18.3)	46(16.1)	
无	67(71.7)	240(73.9)	
高LDL-C			0.013
有	10(12.2)	72(25.2)	
无	72(87.8)	214(74.8)	
低HDL-C			0.009
有	36(43.9)	82(28.7)	
无	46(56.1)	204(71.3)	
高Lpa			0.219
有	26(31.7)	112(39.2)	
无	56(68.3)	174(61.8)	
BMI(kg/m ²)			0.000
≥24	77(93.9)	102(35.7)	
<24	5(6.1)	184(64.3)	
吸烟			0.000
有	46(56.1)	87(30.4)	
无	36(43.9)	199(69.6)	

HDL-C: 高密度脂蛋白-胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白-胆固醇; BMI: 体质指数; Lpa: 脂蛋白a; NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

瘤患者相比, 患有糖尿病(24.4% vs 12.6%, $P = 0.009$)、高血压(74.4% vs 46.5%, $P = 0.000$)、高甘油三酯血症(56.1% vs 26.9%, $P = 0.000$)、低高密度脂蛋白(43.9% vs 28.7%, $P = 0.009$)患者更多, 脂肪肝组结直肠腺瘤患者中抽烟(56.1% vs 30.4%, $P = 0.009$)患者更多, 且BMI明显高于非脂肪肝结直肠腺瘤组(93.9% vs 35.7%, $P = 0.000$)(表1)。

2.3 老年结直肠癌腺瘤患者NAFLD组与非NAFLD组腺瘤特点比较 我们比较了NAFLD与非NAFLD结直肠腺瘤患者结肠腺瘤的特点, 结直肠腺瘤NAFLD组患者腺瘤个数多于非

■ 相关报道

既往报道NAFLD患者发生肠道息肉、结直肠腺瘤及早发肿瘤的比例高于与非NAFLD患者。肥胖和结直肠腺瘤患者低血清脂联素水平和结直肠癌高风险之间相关性。

创新亮点

本研究以老年结直肠腺瘤患者为研究对象, 评估肥胖、非酒精性脂肪肝及脂联素、瘦素等脂肪细胞因子与老年结直肠腺瘤患者腺瘤特点的相关性, 有助于更好的了解老年结直肠腺瘤患者腺瘤的发展方向, 预防结直肠癌的发生。

表 2 NAFLD组与非NAFLD组结直肠患者腺瘤特点

项目	NAFLD组 (n = 82)	非NAFLD组 (n = 286)	P值
腺瘤位置			0.948
近端	31(37.8)	107(37.4)	
远端	51(62.2)	179(62.6)	
腺瘤数量(个)			0.003
<2	30(36.5)	158(55.2)	
≥2	52(63.5)	128(44.8)	
腺瘤大小(cm)			0.282
<0.5	21(25.6)	56(19.6)	
≥0.5	61(74.4)	223(80.4)	
病理类型			0.013
非绒毛状	64(78.0)	244(85.3)	
绒毛状	18(22.0)	42(14.7)	
高级别上皮内瘤变			0.254
否	70(85.4)	257(89.9)	
是	12(14.6)	29(10.1)	

NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

NAFLD组(63.5% vs 44.8%, $P = 0.003$), 绒毛状腺瘤比例也高于非NAFLD组患者(22.0% vs 14.7%, $P = 0.013$), 除此之外, 尽管没有统计学意义, NAFLD组患者高级别上皮内瘤变的息肉的比例高于非NAFLD组。而腺瘤的位置、大小在两组患者之间没有差异(表2)。

2.4 老年结直肠腺瘤患者NAFLD组与非NAFLD组脂肪因子水平的比较 在老年结直肠腺瘤患者中, 脂联素在NAFLD组中的表达高于非NAFLD组($7.83 \mu\text{g/mL} \pm 2.0 \mu\text{g/mL}$ vs $8.19 \mu\text{g/mL} \pm 2.4 \mu\text{g/mL}$, $P = 0.042$), 而瘦素的表达与之相反($4.72 \mu\text{g/L} \pm 1.5 \mu\text{g/L}$ vs $3.27 \mu\text{g/L} \pm 1.1 \mu\text{g/L}$, $P = 0.017$)。

2.5 脂肪因子在不同特征结直肠腺瘤中表达水平的比较 脂肪细胞因子脂联素在不同腺瘤部位的组别和不同腺瘤大小的组别之间表达无差异, 瘦素除了在上述不同组之间表达无差异, 在不同腺瘤数量组之间的表达也无差异。脂联素在2个及其以上腺瘤数组的表达高于单个腺瘤组($P = 0.040$), 在绒毛状腺瘤组的表达低于非绒毛状腺瘤组($P = 0.026$), 在腺瘤有高级别瘤样变组的表达高于非高级别瘤样变组($P = 0.032$)。瘦素在绒毛状腺瘤组的表达高于非绒毛状腺瘤组($P = 0.029$), 在腺瘤有高级别瘤样变组的表达高于无高级别瘤样变组($P = 0.011$)(表3)。

表 3 脂肪因子在不同结直肠腺瘤各组中表达水平的比较

项目	脂联素 ($\mu\text{g/mL}$)	P值	瘦素 ($\mu\text{g/L}$)	P值
腺瘤位置		0.397		0.345
近端	8.03 ± 2.2		3.89 ± 1.5	
远端	7.94 ± 1.9		4.12 ± 1.2	
腺瘤数量(个)		0.040		0.401
<2	7.88 ± 2.1		4.03 ± 1.3	
≥2	8.13 ± 2.4		3.92 ± 1.4	
腺瘤大小(cm)		0.327		0.297
<0.5	7.96 ± 2.2		3.89 ± 1.5	
≥0.5	7.94 ± 2.0		4.12 ± 1.2	
病理类型		0.026		0.029
非绒毛状	8.11 ± 2.4		3.43 ± 1.2	
绒毛状	7.79 ± 1.8		4.55 ± 1.3	
高级别上皮内瘤变		0.032		0.011
否	7.81 ± 1.9		3.21 ± 1.3	
是	8.14 ± 2.2		4.82 ± 1.1	

3 讨论

近年来, 随着生活水平的提高, 医疗条件的改善, 人民群众的平均寿命逐渐延长, 老年人恶性肿瘤的发病率越来越高。结直肠癌是世界范围内最常见的癌症之一, 大约60%的结直肠癌患者年龄>70岁, 超过40%的患者>75岁^[9]。

1974年Morson^[10]就提出了结直肠癌“腺瘤-癌”顺序理论, 在“腺瘤-癌”这一演变过程中, 多种癌基因的激活或抑癌基因的失活是结直肠癌发生的分子生物学基础。及时发现腺瘤并切除可以预防结直肠癌的发生。

NAFLD与肥胖、胰岛素抵抗、高血压病、高血脂等密切相关, 被认为是代谢综合征在肝脏的表现和转氨酶升高的主要原因之一^[11]。在西方国家, NAFLD发病率为20%-46%^[12-14], 而在中国上海、广州、香港等发达地区成人NAFLD的患病率在15%左右^[8]。Wang等^[15]研究表明, 老年人中的脂肪肝患者更多, 发生肝纤维化的比例比高于年轻脂肪肝患者。

NAFLD患者发生肠道息肉及早发肿瘤的比例高于无NAFLD患者^[16]。Lee等^[17]对5517名韩国妇女研究也证实NAFLD与结直肠腺瘤的发生密切相关。但是在结直肠腺瘤患者中, 特别是老年结直肠腺瘤患者中, NAFLD患者与非NAFLD患者腺瘤的特点及有NAFLD患者是否比非NAFLD患者有更高的癌变几率, 且与

跟NAFLD相关的脂肪因子的表达是否有关等问题, 目前尚无明确的答案。

本研究发现, 在老年结直肠癌患者, NAFLD患病率为22%, 比Hwang等^[18]统计发现的41.5%的结肠息肉患者有NAFLD比例要低, 可能与入选人群的年龄差异有关。合并有NAFLD的老年结直肠癌患者比非NAFLD的结直肠癌患者相比, 体质量指数更大, 更多患者合并有高血压、糖尿病及高脂血症, 这与之前的研究结果相同^[10]。

由脂肪组织分泌的脂联素、瘦素等脂肪因子参与了代谢、炎症反应及肿瘤的产生, 他们与肥胖相关的紊乱导致肿瘤的发生有一定的关系^[19]。与正常人群相比, NAFLD, 特别是非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)患者的血清脂联素水平明显降低^[20]。有研究^[21]报道肥胖和结直肠癌患者低血清脂联素水平及结直肠癌高风险之间有相关性, 而且其作用机制不仅限于直接减轻胰岛素抵抗^[22]。他可以通过激活腺苷酸活化蛋白激酶活性^[23]和依赖细胞凋亡蛋白酶方式导致内皮细胞的凋亡抑制肿瘤的生长^[24]。本研究也发现在老年结直肠癌患者中, 患有NAFLD结直肠癌患者血清脂联素水平低于非NAFLD, 与上述研究结果相似。腺瘤体积越大, 绒毛状腺瘤及有高级别瘤样变的腺瘤发生恶变的几率更大。本实验发现在老年结直肠癌NAFLD组患者腺瘤体积更大, 绒毛状腺瘤比例更高, 说明老年结直肠癌合并NAFLD患者有更高的腺瘤恶变风险。

本研究同时还得出NAFLD结直肠癌患者血清瘦素水平高于非NAFLD结直肠癌组。不少的研究表明瘦素能够促进肿瘤细胞的生长(胸部、食道、胃、胰腺、结直肠、前列腺、卵巢及肺癌细胞株), 但是脂联素似乎可以通过多种分子途径减少瘦素诱导细胞的增殖^[25]。结合瘦素在绒毛状腺瘤组和有高级别瘤样变组的表达高于非绒毛状腺瘤组和无高级别瘤样变组, 我们可以推测, 在老年结直肠癌患者中, 合并脂肪肝患者脂联素分泌减少及瘦素水平的升高会导致更多的具有恶变风险息肉, 如更多的绒毛状息肉, 更多的高级别瘤样变, 增加其转变为结直肠癌的风险。因此, 我们建议在老年NAFLD患者中检测脂联素、瘦素, 行肠镜检查, 早期发现有高恶变风险的腺瘤并干预, 以期减少老年患者结直肠癌的发生。

4 参考文献

- Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet* 2014; 383: 1490-1502 [PMID: 24225001 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61649-9]
- 万德森. 结直肠癌流行趋势及其对策. *癌症* 2009; 28: 897-902
- Wang H, Qiao YL. Senile tumor epidemiology, etiology and prevention. *Journal of Multiple Organ Diseases in the Elderly* 2005; 4: 70-172
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497 [PMID: 11368702]
- Fujisawa T, Endo H, Tomimoto A, Sugiyama M, Takahashi H, Saito S, Inamori M, Nakajima N, Watanabe M, Kubota N, Yamauchi T, Kadowaki T, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Adiponectin suppresses colorectal carcinogenesis under the high-fat diet condition. *Gut* 2008; 57: 1531-1538 [PMID: 18676419 DOI: 10.1136/gut.2008.159293]
- Jackman RJ, Mayo CW. The adenoma-carcinoma sequence in cancer of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1951; 93: 327-330 [PMID: 14866716]
- Sugiyama M, Takahashi H, Hosono K, Endo H, Kato S, Yoneda K, Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Adiponectin inhibits colorectal cancer cell growth through the AMPK/mTOR pathway. *Int J Oncol* 2009; 34: 339-344 [PMID: 19148467]
- 中华医学会肝病分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 163-166
- Papamichael D, Audisio RA, Glimelius B, de Gramont A, Glynne-Jones R, Haller D, Köhne CH, Rostoft S, Lemmens V, Mitry E, Rutten H, Sargent D, Sastre J, Seymour M, Starling N, Van Cutsem E, Aapro M. Treatment of colorectal cancer in older patients: International Society of Geriatric Oncology (SIOG) consensus recommendations 2013. *Ann Oncol* 2015; 26: 463-476 [PMID: 25015334 DOI: 10.1093/annonc/mdl253]
- Morson B. President's address. The polyp-cancer sequence in the large bowel. *Proc R Soc Med* 1974; 67: 451-457 [PMID: 4853754]
- Rubinstein E, Lavine JE, Schwimmer JB. Hepatic, cardiovascular, and endocrine outcomes of the histological subphenotypes of nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 380-385 [PMID: 18956294 DOI: 10.1055/s-0028-1091982]
- Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011; 140: 124-131 [PMID: 20858492 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.038]
- Patel AA, Torres DM, Harrison SA. Effect of weight loss on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 970-974 [PMID: 19727004 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181b57475]

■同行评价

本文通过82例合并NAFLD及286例非合并NAFLD的老年结直肠癌患者的对照研究, 评估肥胖、NAFLD及脂联素、瘦素等脂肪细胞因子与老年结直肠癌患者腺瘤特点的相关性, 为消化科医务人员提供相应的临床研究资料, 有一定参考价值。

- 14 Powell EE, Jonsson JR, Clouston AD. Dangerous liaisons: the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 753-754 [PMID: 16287799]
- 15 Wang Z, Xu M, Peng J, Jiang L, Hu Z, Wang H, Zhou S, Zhou R, Hultström M, Lai EY. Prevalence and associated metabolic factors of fatty liver disease in the elderly. *Exp Gerontol* 2013; 48: 705-709 [PMID: 23721951 DOI: 10.1016/j.exger.2013.05.059]
- 16 Stadlmayr A, Aigner E, Steger B, Scharinger L, Lederer D, Mayr A, Strasser M, Brunner E, Heuberger A, Hohla F, Steinwendner J, Patsch W, Datz C. Nonalcoholic fatty liver disease: an independent risk factor for colorectal neoplasia. *J Intern Med* 2011; 270: 41-49 [PMID: 21414047 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2011.02377.x]
- 17 Lee YI, Lim YS, Park HS. Colorectal neoplasms in relation to non-alcoholic fatty liver disease in Korean women: a retrospective cohort study. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 91-95 [PMID: 21679251 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06816.x]
- 18 Hwang ST, Cho YK, Park JH, Kim HJ, Park DI, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Won KH, Jin W. Relationship of non-alcoholic fatty liver disease to colorectal adenomatous polyps. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 562-567 [PMID: 20074156 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06117.x]
- 19 Unger RH, Scherer PE. Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21: 345-352 [PMID: 20223680 DOI: 10.1016/j.tem.2010.01.009]
- 20 Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology* 2004; 40: 46-54 [PMID: 15239085]
- 21 Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, Willett WC, Mantzoros CS. Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1688-1694 [PMID: 16288122]
- 22 Yamaji T, Iwasaki M, Sasazuki S, Tsugane S. Interaction between adiponectin and leptin influences the risk of colorectal adenoma. *Cancer Res* 2010; 70: 5430-5437 [PMID: 20516125 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 23 Kim AY, Lee YS, Kim KH, Lee JH, Lee HK, Jang SH, Kim SE, Lee GY, Lee JW, Jung SA, Chung HY, Jeong S, Kim JB. Adiponectin represses colon cancer cell proliferation via AdipoR1- and -R2-mediated AMPK activation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 1441-1452 [PMID: 20444885 DOI: 10.1210/me.2009-0498]
- 24 Bråkenhielm E, Veitonmäki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhivotovsky B, Funahashi T, Cao Y. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 2476-2481 [PMID: 14983034]
- 25 Fenton JI, Birmingham JM, Hursting SD, Hord NG. Adiponectin blocks multiple signaling cascades associated with leptin-induced cell proliferation in Apc Min/+ colon epithelial cells. *Int J Cancer* 2008; 122: 2437-2445 [PMID: 18338750 DOI: 10.1002/ijc.23436]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性

陈美慧, 袁瑜, 李兰, 钟豪杰, 何兴祥

陈美慧, 袁瑜, 李兰, 钟豪杰, 何兴祥, 广东药学院附属第一医院消化内科 广东省广州市 510080

陈美慧, 在读硕士, 主要从事肝病方面的研究。

广东省医学科研基金资助项目, No. A2014363

作者贡献分布: 何兴祥主要完成课题的设计; 陈美慧、钟豪杰及袁瑜主要完成研究过程和论文写作; 李兰主要完成数据分析。

通讯作者: 何兴祥, 主任医师, 510080, 广东省广州市农林下路19号, 广东药学院附属第一医院消化内科。
13724887928@qq.com
电话: 020-61335761

收稿日期: 2016-01-20
修回日期: 2016-02-29
接受日期: 2016-03-08
在线出版日期: 2016-04-08

Association between fatty liver and small intestinal mucosal lesions

Mei-Hui Chen, Yu Yuan, Lan Li, Hao-Jie Zhong, Xing-Xiang He

Mei-Hui Chen, Yu Yuan, Lan Li, Hao-Jie Zhong, Xing-Xiang He, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by: the Guangdong Provincial Medical Research Foundation, No. A2014363

Correspondence to: Xing-Xiang He, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, 19 Nonglinxia Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. 13724887928@qq.com

Received: 2016-01-20
Revised: 2016-02-29
Accepted: 2016-03-08
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To assess the association between fatty liver and small intestinal mucosal lesions.

METHODS: After obtaining approval from the ethical review committee of the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, from August 2011 to August 2015, patients who were excluded as having cancer or primary intestinal disease and NSAID takers were divided into a fatty liver group (case group) and a group without liver disease (control group). Intestinal lesions were detected by capsule endoscopy, and the correlation of capsule endoscopy scoring index with fatty liver index was analyzed.

RESULTS: Of 350 individuals, 60 diagnosed with fatty liver by CT or B ultrasound were included in the case group, and 290 without liver diseases were included in the control group. The incidence of small bowel mucosal lesions and the Lewis score in the case group were significantly higher than those in the control group (75.0% vs 33.8%, $P < 0.001$; 121.00 ± 178.51 vs 61.08 ± 144.10 , $P = 0.005$). In fatty liver patients, the incidence rates of small intestinal edema in the upper, middle and lower third were 7.1%, 15.7%, and 4.3% ($P < 0.001$), respectively, and the incidence rates of small intestinal ulcers were 2.0%, 2.6%, and 3.4% ($P = 0.498$), respectively. Liver noninvasive NAFLD-FS score was positively correlated with the small intestinal mucosa damage score ($r = 0.108$, $P = 0.043$). Insulin resistance index was positively correlated with small intestinal damage score ($r = 0.162$, $P = 0.034$).

■背景资料

随着1998年“肝-肠轴”概念的提出, 人们越来越关注肝与肠的关系, 肝与肠从胚胎起源就存在密切的关系, 肠的大部分血液供应来源于门静脉, 因此肠内的毒性产物可通过门静脉回流入肝脏激活肝脏的固有免疫系统, 加重肝脏损害。另外, 脂肪肝会引起肠内菌群易位, 从而导致小肠黏膜的损害。

■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; 张炜, 副教授, 主任医师, 江苏大学附属医院消化科

■ 研发前沿

目前大量文献报道肝硬化与小肠的关系, 但脂肪肝、肝炎与小肠的报道暂缺, 而关于肝炎、脂肪肝、肝硬化的肠道菌群的基础研究较多且引起了热议。同时小肠是整个消化系统最难检测到的部分, 且小肠疾病的发病率较低, 一直未受到临床医生的关注。胶囊内镜检查其诊断率可达55%, 特别是其无法到达的部位, 胶囊内镜有很好的使用价值。目前需要解决的问题是需要进行临床研究, 对临床上肝病患者进行肠道保护治疗后肝病有否好转。

■ 相关报道

在日本发表的多篇文献中证实了肝硬化的患者出现严重的小肠黏膜病变如溃疡、绒毛水肿、红斑、静脉曲张、毛细血管扩张等, 且肝病严重程度分级与小肠黏膜病变呈正相关。这与本文研究的脂肪肝的NAFLD-FS评分与小肠黏膜病变Lewis评分相一致。

CONCLUSION: Fatty liver disease may be related to the small intestine lesions, and triglycerides may be an important factor. Most lesions are located in the proximal or middle small bowel.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Fatty liver; Small intestinal lesions; Capsule endoscopy

Chen MH, Yuan Y, Li L, Zhong HJ, He XX. Association between fatty liver and small intestinal mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1581-1586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1581.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1581>

摘要

目的: 研究脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性。

方法: 选取广东药学院附属第一医院2011-08/2015-08曾行胶囊内镜且无癌症、小肠结核、克罗恩病、溃疡性结肠炎等肠道原发疾病及服用非甾体类药物的患者分为脂肪肝组和无肝病组(对照组), 收集相关临床资料和小肠黏膜病变资料, 将两组患者的发病率、发病类型、病灶分布进行分析比较。

结果: 纳入研究350例 脂肪肝组60例, 无肝病组290例, 脂肪肝组小肠黏膜病变的发病率及小肠黏膜病变的Lewis评分均显著高于对照组(75.0% vs 33.8%, $P < 0.001$; 121.00分 ± 178.51分 vs 61.08分 ± 144.10分, $P = 0.005$). 脂肪肝患者小肠上、中、下三分之一肠段绒毛水肿的发生率为(7.1%、15.7%、4.3%, $P < 0.001$). 脂肪肝患者上、中、下三分之一肠段溃疡的发生率为(2.0%、2.6%、3.4%, $P = 0.498$). 肝脏无创NAFLD-FS评分与小肠黏膜病变评分呈正相关($r = 0.108$, $P = 0.043$). 胰岛素抵抗指数与小肠黏膜病变评分呈正相关($r = 0.162$, $P = 0.034$).

结论: 脂肪肝可引起小肠黏膜病变, 甘油三酯有可能是脂肪肝引起小肠黏膜病变的重要影响因素。脂肪肝患者小肠黏膜病变好发于上、中1/3, 肝脏损害程度与小肠黏膜病变程度存在相关性。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 脂肪肝; 小肠黏膜病变; 胶囊内镜

核心提示: 本文主要发现小肠黏膜病变会出现于脂肪肝的患者中, 这与近几年来提出的“肝-肠轴”是一致的。脂肪肝患者出现小肠黏膜病变主要以绒毛水肿为主, 且主要通过甘油三酯影响小肠黏膜发生损害。脂肪肝的严重程度与小肠黏膜病变的程度呈正相关。

陈美慧, 袁瑜, 李兰, 钟豪杰, 何兴祥. 脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1581-1586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1581.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1581>

0 引言

近年来大量研究^[1-3]发现许多疾病可导致小肠黏膜病变, 小肠黏膜病变可导致出血、慢性贫血、甚至穿孔。小肠处于整个消化系统的中间位置难以观察, 但随着技术不断进步, 胶囊内镜的生产和在医疗行业的广泛推广, 使小肠病变在胶囊内镜下得以发现。近几年来, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率逐渐上升, 肥胖人群越来越多, 更甚者出现在儿童阶段, 所以引起了科研工作者的重视^[4]。1998年肝-肠轴概念^[5]的提出, 关于肝-肠的研究逐渐成为热点。有国外学者报导^[6], NAFLD与小肠细菌过度生长(small bowel bacterial overgrowth, SIBO)具有密切的关系, NAFLD通过SIBO使得小肠黏膜通透性改变而引起小肠黏膜病变。然而, 用临床病例分析脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性, 目前少有报道。因此, 我们应用胶囊内镜观察小肠黏膜损害情况、NAFLD-FS评估脂肪肝, 然后分析二者之间的关系, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性纳入2011-08/2015-05曾于广东药学院附属第一医院行胶囊内镜的患者。排除标准为: (1)既往诊断为恶性肿瘤; (2)肠道感染性疾病, 如肠结核、急性肠炎、寄生虫感染等; (3)炎症性肠病; (4)长期服用非甾体类抗炎药; (5)严重的心、肺、肾等疾病; (6)临床数据缺失; (7)小肠梗阻。脂肪肝诊断标准为: 经CT、B超及实验室检查等临床确诊脂肪肝(包括酒精性和NAFLD)的患者。

1.2 方法

1.2.1 资料收集: 收集被纳入患者的性别、年

龄、有无高血压、糖尿病、吸烟、饮酒、有无幽门螺旋杆菌感染、体质指数(body mass index, BMI)、生化血指标等基本资料。

1.2.2 胶囊内镜检查的肠道准备: 入选的患者在医师的指导下接受胶囊内镜检查, 检查前2 d半流质饮食, 检查前1 d全流饮食, 和爽半包(68.575 g)溶于1 L水中晚上服用, 晨起五点继续将剩余半包(68.575 g)溶于1 L水中服用, 然后再服用1 L温水泻至清水便, 吞服胶囊前2 h用祛泡剂(卫朗)2支, 温水送服胶囊。吞服胶囊后半小时内再次观察是否已经进入小肠, 如果已经进入小肠则2 h后患者允许食用干面包, 4 h后允许正常饮食; 传感器及记录设备9 h后被除去。胶囊内镜选用PillCam SB1/SB2 Capsule(Given imaging, Israel), 图像用Rapid Access 7.0 software(RAPID 7.0)工作站(software and workstation from Given Imaging Ltd)进行分析。由3位经验丰富的内镜医生阅片讨论并达成一致。患者的临床信息及内镜医生的信息对记录员保密(图1)。

1.2.3 相关评分量表: 胶囊内镜下小肠黏膜病变使用Lewis评分^[7], 内容包括: (1)绒毛水肿: 有无, 病变范围(小段、长段、全长), 病变数目(单发、散在、弥漫); (2)黏膜溃疡: 数目(单个、数个、多发), 病变范围(小段、长段、全长), 病变大小(<1/4、1/4-1/2、>1/2); (3)狭窄: 数目(无、单个、多个), 病因(溃疡引起、非溃疡引起), 程度(胶囊能通过、不能通过)。根据胶囊内镜在小肠内的传输时间把小肠分上、中、下三段。三段的得分分别为: 小肠上1/3总分 = 绒毛水肿得分(有无绒毛水肿得分×病变范围得分×数目得分)+溃疡得分(数目分值×病变范围得分×病变大小得分), 小肠中1/3、小肠后1/3均这样计算出各段的得分。狭窄得分 = 数目得分×病因得分×程度得分。三段得分与狭窄得分相加即为小肠黏膜病变总分。脂肪肝患者选用肝脏无创NAFLD-FS评分^[8]系统进行评价; 胰岛素抵抗指数 = 空腹胰岛素×空腹血糖/22.5。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件分析数据, 符合正态分布的计量资料, 采用mean±SD表示, 两组资料间比较采用 t 检验; 定性资料采用 χ^2 检验, 采用多因素Logistic回归方程分析对小肠黏膜病变是否发生的影响因素, 检验标准为 $\alpha = 0.05$ 。连续变量的相关关系采用

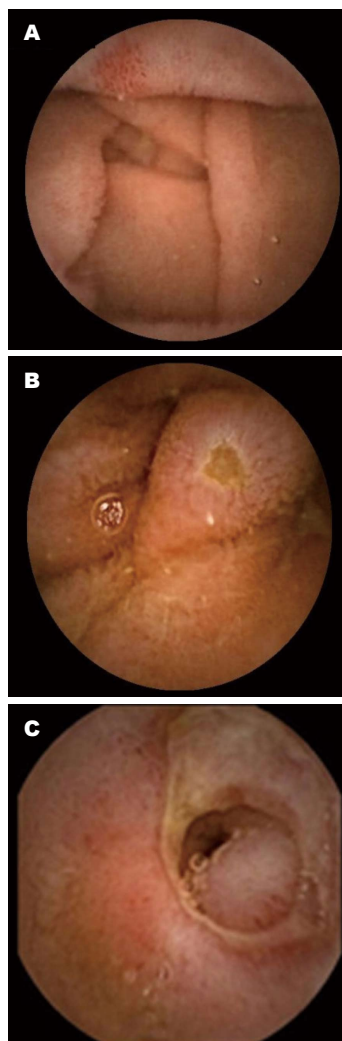


图1 胶囊内镜下小肠黏膜病变的特征性表现: A: 小肠绒毛水肿; B: 小肠溃疡; C: 小肠狭窄。

Pearson相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

所有患者胶囊都顺利排出, 无体内滞留。所有患者胶囊内镜检查完整, 根据回盲部影像判定患者胶囊内镜完成全小肠检查。

2.1 基本情况 获得符合脂肪肝诊断标准患者60例为病例组, 无慢性肝病患者290例为对照组。病例组60例中男30例(50%), 女30例(50%), 年龄30-87岁, 平均58.5岁±14.79岁, 对照组290例中男151例(52.1%), 女139例(47.9%), 年龄13-89岁, 平均57.16岁±15.71岁。经 χ^2 和 t 检验, 性别、年龄、吸烟、饮酒、有无幽门螺旋杆菌感染方面均无显著性差异($P > 0.05$)(表1)。

2.2 脂肪肝组与无肝病组间小肠黏膜病变的情况 将脂肪肝组和无肝病组的小肠黏膜病变的发生率和小肠黏膜病变的严重程度进行分析

■ 创新盘点

本文与国外相类似的文章比较, 样本例数较大350例, 而且国内外暂时无关于脂肪肝与小肠黏膜病变的报道, 只有肝硬化与小肠黏膜病变的报道较多, 采用胶囊内镜技术研究小肠的损害比较新颖, 可靠对患者不具有伤害, 较为舒适。

应用要点

本文提示脂肪肝患者出现不明原因的腹痛或其他肠道症状时或者贫血等临床表现时, 应考虑有无小肠黏膜病变, 推荐进行胶囊内镜检查。在治疗方面, 脂肪肝患者的护肝、调脂治疗可能有助于肠黏膜损伤的修复, 总结此文章在实际应用中的价值, 或对应用的指导、改进作用, 以及在将来应用中的前景。

表 1 两组患者基本资料的比较

项目	脂肪肝组(n = 60)	无肝病组(n = 290)	P值
年龄(岁)	58.5 ± 14.79	57.16 ± 15.71	0.544
性别(男/女)	30/30	151/139	0.770
吸烟(有/无)	6/54	51/239	0.180
饮酒(有/无)	6/54	28/281	0.899
幽门螺杆菌(有/无)	38/22	177/113	0.773

表 2 脂肪肝组与无肝病组的小肠黏膜病变发生率及Lewis评分的比较

类型	脂肪肝组	无肝病组	χ^2 /t值	P值
有小肠黏膜病变[n(%)]	45(75.0)	98(33.8)	34.934	$P = 0.00 < 0.001$
无小肠黏膜病变[n(%)]	15(25.0)	192(66.2)		
小肠黏膜病变Lewis评分(分)	121.00 ± 178.51	61.08 ± 144.10	-2.807	$P = 0.005$

表 3 小肠黏膜病变发生率可能影响因素分析及赋值表

影响因素	赋值说明	回归系数	Wald	P值	优势比	95%可信区间
胆固醇	按实际胆固醇赋值	-0.114	1.163	0.281	0.892	0.725-1.098
甘油三酯	按实际甘油三酯赋值	0.549	12.549	<0.001	1.732	1.278-2.347
BMI	按实际BMI赋值	-0.003	0.099	0.753	0.997	0.976-1.018
ALT	按实际ALT赋值	0.010	0.353	0.552	1.010	0.978-1.042
AST	按实际AST赋值	0.011	0.090	0.764	1.011	0.941-1.086

BMI: 体质指数; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶。

比较, 结果脂肪肝组小肠黏膜病变的发生率显著高于对照组, 小肠黏膜病变的Lewis评分也显著高于对照组(表2)。

2.3 脂肪肝组与无肝病组小肠黏膜病变不同病变类型发生率的比较 将脂肪肝组与无肝病组小肠黏膜病变不同病变类型发生率进行分析比较, 发现脂肪肝组与无肝病组小肠绒毛水肿发生率为71.7%、32.0%, 脂肪肝组与无肝病组小肠溃疡发病率为10.0%、6.6%, 绒毛水肿的发生率显著高于溃疡发生率。

2.4 脂肪肝与小肠黏膜病变部位之间的关系 脂肪肝患者小肠上、中、下三分之一肠段绒毛水肿的发生率为7.1%、15.7%、4.3%, 各段间绒毛水肿的发生率具有统计学差异($P < 0.001$)。脂肪肝患者上、中、下三分之一肠段溃疡的发生率为2.0%、2.6%、3.4%, 各段间溃疡的发生率无统计学差异($P = 0.498$)。

2.5 多因素Logistic回归分析 以有无小肠黏膜病变为因变量, 将可能影响小肠黏膜病变的因

素作为自变量, 进行多因素非条件Logistic回归分析, 采用向前法逐步回归引入自变量, 进入模型标准为0.05, 剔除模型标准为0.10。结果显示甘油三酯是小肠黏膜病变的主要因素(表3)。

2.6 肝脏无创评分与小肠黏膜病变评分的相关性分析 将所有患者采用无创肝功能NAFLD-FS评分进行肝脏的损害评分并与小肠黏膜Lewis评分作比较, 两者进行Pearson相关分析, 结果显示NAFLD-FS评分与小肠黏膜病变评分间具有正相关($r = 0.108, P = 0.043$)。

2.7 脂肪肝患者胰岛素抵抗指数与小肠黏膜病变评分的相关性分析 共有170例患者的空腹胰岛素和空腹血糖指标, 将其胰岛素抵抗指数与小肠黏膜病变评分进行Pearson相关分析, 结果显示二者间存在正相关($r = 0.162, P = 0.034$)。

3 讨论

随着人口的老龄化、病毒性肝炎的有效防治以及生活习惯的改变, 高脂饮食、缺乏锻炼且

酒精的滥用, 脂肪性肝病正成为我国常见的慢性肝病之一^[9,10]。大量研究发现, 脂肪肝患者肠道出现菌群失调、屏障破坏、动力减弱^[11-13]。而菌群失调、肠道通透性改变等可导致肠道黏膜水肿、糜烂, 甚至溃疡的发生。

本研究的胶囊内镜下主要病变类型如图一所示, 包括绒毛水肿、小肠溃疡、狭窄。结果显示脂肪肝患者小肠黏膜病变的发生率显著高于无肝病患者, 小肠黏膜病变的评分也具有明显差异, 提示脂肪肝与小肠黏膜病变密切相关。大量研究报导, 除脂肪肝外其他类型的肝脏病变也可导致小肠黏膜损伤。Aoyama等^[2]及Akyuz等^[14]发现肝硬化及肝硬化合并门脉高压者小肠黏膜病变发生率显著高于对照组。本研究显示脂肪肝患者绒毛水肿的发生比例远高于溃疡的发生比例, 可能是脂肪肝导致小肠黏膜病变的早期。脂肪肝患者小肠黏膜病变好发于中1/3, 可能是空肠缺少丰富的血供, 当肠黏膜缺血缺氧、紧密连接性破坏、通透性增加时无法有足够的毛细血管分支进行代偿。多因素Logistic回归分析提示甘油三酯是小肠黏膜病变的主要因素, 脂肪肝的形成也是由于肝脏脂质代谢异常, 甘油三酯的堆积形成, 也许通过护肝、调脂治疗可以保护肠道黏膜。相关性分析发现肝脏无创NAFLD-FS评分与小肠黏膜病变严重程度评分呈正相关, 提示肝脏损害程度越严重, 小肠黏膜病变越严重。胰岛素抵抗指数与小肠黏膜病变评分间也存在正相关, 其原因可能是胰岛素抵抗参与脂肪变的发生并促进肝细胞损伤和炎症发展, 而肠道菌群又可促进胰岛素抵抗的发生, 进一步加重肝肠轴的恶性循环。

国外学者^[11-13]发现脂肪肝患者肠道黏膜屏障破坏, 小肠黏膜紧密连接完整性受损、黏膜屏障通透性增加。肠黏膜屏障受损后会导致内毒素等有害物质经门静脉进入肝脏, 进一步加重肝脏损害。Miele等^[12]发现NAFLD患者发生SIBO的风险远高于健康人。SIBO通过减缓肠道动力, 加剧细菌的过度生长引起肠道菌群失调、菌群易位。肠道菌群紊乱及肠黏膜屏障受损激活了肝固有免疫系统, 促进肝细胞炎症反应, 进一步形成“肝-肠”疾病的恶性循环。Vanni等^[15]通过观察发现在先天性肥胖的ob/ob小鼠模型中, 存在肠黏膜屏障受损, 引发内毒素血症, 并通过释放肿瘤坏死因子 α (tumor

necrosis factor α , TNF- α)导致NASH的发生。在Zhu等^[16]的研究中发现NASH患者与健康人相比较, NASH患者的肠道菌群中含有较多的产生内源性酒精的菌种, 血中乙醇浓度升高, 从而氧化应激可导致肝脏炎症。

本研究发现脂肪肝患者比无肝病患者小肠黏膜病变的发生率及严重程度高。提示脂肪肝患者出现不明原因的腹痛或其他肠道症状时或者贫血等临床表现时, 应考虑有无小肠黏膜病变, 推荐进行胶囊内镜检查。在治疗方面, 脂肪肝患者的护肝、调脂治疗也许有助于肠黏膜损伤的修复。

4 参考文献

- 1 Muraki M, Fujiwara Y, Machida H, Okazaki H, Sogawa M, Yamagami H, Tanigawa T, Shiba M, Watanabe K, Tominaga K, Watanabe T, Arakawa T. Role of small intestinal bacterial overgrowth in severe small intestinal damage in chronic non-steroidal anti-inflammatory drug users. *Scand J Gastroenterol* 2014; 49: 267-273 [PMID: 24417613 DOI: 10.3109/00365521.2014.880182]
- 2 Aoyama T, Oka S, Aikata H, Nakano M, Watari I, Naeshiro N, Yoshida S, Tanaka S, Chayama K. Small bowel abnormalities in patients with compensated liver cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1390-1396 [PMID: 23247799 DOI: 10.1007/s10620-012-2502-z]
- 3 Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490: 55-60 [PMID: 23023125 DOI: 10.1038/nature11450]
- 4 Vajro P, Paoletta G, Fasano A. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 461-468 [PMID: 23287807 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318284abb5]
- 5 Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 479-484 [PMID: 9839072]
- 6 Miele L, Marrone G, Lauritano C, Cefalo C, Gasbarrini A, Day C, Grieco A. Gut-liver axis and microbiota in NAFLD: insight pathophysiology for novel therapeutic target. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 5314-5324 [PMID: 23432669]
- 7 Gralnek IM, Defranchis R, Seidman E, Leighton JA, Legnani P, Lewis BS. Development of a capsule endoscopy scoring index for small bowel mucosal inflammatory change. *Aliment Pharmacol*

■名词解释

小肠细菌过度生长: 主要指在小肠内正常的菌群如有益的双歧杆菌和毛螺旋菌减少减少, 而有害的细菌逐渐增多如致病性肠杆菌和链球菌增加, 这是在肝硬化患者的粪便微生物分析结果中发现的, 且已经证实了肝炎、脂肪肝、肝硬化的患者与正常人的肠道菌群有着明显的不同, 肝病患者的肠道菌群明显发生改变。

■ 同行评价

本文研究的内容重要且具有新颖性, 具有科学性、创新性和可读性, 能较好地反映我国脂肪肝临床和基础研究的先进水平。

- 8 Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, Enders F, Saksena S, Burt AD, Bida JP, Lindor K, Sanderson SO, Lenzi M, Adams LA, Kench J, Therneau TM, Day CP. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007; 45: 846-854 [PMID: 17393509]
- 9 孙婉璐, 范建高. 受控衰减参数在脂肪肝诊断中的应用. *肝脏* 2015; 20: 160-163
- 10 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- 11 Wang YC, Jin QM, Kong WZ, Chen J. Protective effect of salvianolic acid B on NASH rat liver through restoring intestinal mucosal barrier function. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 5203-5209 [PMID: 26191218]
- 12 Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
- 13 Miele L, Beale G, Patman G, Nobili V, Leathart J, Grieco A, Abate M, Friedman SL, Narla G, Bugianesi E, Day CP, Reeves HL. The Kruppel-like factor 6 genotype is associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2008; 135: 282-291.e1 [PMID: 18515091 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.004]
- 14 Akyuz F, Pinarbasi B, Ermis F, Uyanikoglu A, Demir K, Ozdil S, Besisik F, Kaymakoglu S, Boztas G, Mungan Z. Is portal hypertensive enteropathy an important additional cause of blood loss in portal hypertensive patients? *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1497-1502 [PMID: 20695721 DOI: 10.3109/00365521.2010.510568]
- 15 Vanni E, Bugianesi E. The gut-liver axis in nonalcoholic fatty liver disease: Another pathway to insulin resistance? *Hepatology* 2009; 49: 1790-1792 [PMID: 19475679 DOI: 10.1002/hep.23036]
- 16 Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology* 2013; 57: 601-609 [PMID: 23055155 DOI: 10.1002/hep.26093]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



胸腺法新为基础的药物治疗对肝移植术后肿瘤复发及相关细胞因子的影响

索龙龙, 杜国盛, 周林, 宋继勇, 朱志东, 封立魁, 杨绍臻

索龙龙, 河北北方学院 河北省张家口市 075000

索龙龙, 杜国盛, 周林, 宋继勇, 朱志东, 封立魁, 杨绍臻, 中国人民解放军第309医院全军器官移植研究所肝胆外科 北京市 100091

首都临床特色应用研究基金资助项目, No. Z100007058811008

作者贡献分布: 索龙龙与杜国盛对此论文贡献均等; 此课题由索龙龙、杜国盛及周林共同设计; 研究过程由索龙龙、宋继勇、朱志东及封立魁操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周林与杨绍臻提供; 数据分析及写作由索龙龙完成。

通讯作者: 杜国盛, 教授, 100091, 北京市海淀区黑山扈路甲17号, 中国人民解放军第309医院全军器官移植研究所肝胆外科, duguosheng@menmail.com.cn

收稿日期: 2016-02-14

修回日期: 2016-02-25

接受日期: 2016-03-08

在线出版日期: 2016-04-08

Influence of thymosin α -1 based anti-tumor therapy on tumor recurrence and cytokine expression in patients after liver transplantation

Long-Long Suo, Guo-Sheng Du, Lin Zhou, Ji-Yong Song, Zhi-Dong Zhu, Li-Kui Feng, Shao-Zhen Yang

Long-Long Suo, Heibei North University, Zhangjiakou 075000, Heibei Province, China

Long-Long Suo, Guo-Sheng Du, Lin Zhou, Ji-Yong Song, Zhi-Dong Zhu, Li-Kui Feng, Shao-Zhen Yang, Department of Hepatobiliary Surgery, Organ Transplant Institute, Chinese PLA 309th Hospital, Beijing 100091, China

Supported by: the Capital Characteristic Clinical Application Research Foundation, No. Z100007058811008

Correspondence to: Guo-Sheng Du, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Organ Transplant Institute, Chinese PLA 309th Hospital, 17 Heishanhu Road, Haidian District, Beijing 100091, China. duguosheng@menmail.com.cn

Received: 2016-02-14

Revised: 2016-02-25

Accepted: 2016-03-08

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To explore the influence of thymosin α -1 combined with Huaier granule on tumor recurrence and expression of Foxp3⁺ regulatory T (Treg) cells, interleukin-10 (IL-10), and transforming growth factor- β (TGF- β) in patients after liver transplantation.

METHODS: Clinical data for 42 patients with terminal primary liver cancer who underwent liver transplantation at the 309th Hospital of Chinese People's Liberation Army from January 2011 to January 2015 (all meeting the Hangzhou standard) were retrospectively analyzed. According to postoperative medication, the patients were divided into a combination group (19 cases), a Huaier granule group (16 cases) and a thymosin α -1 group (7 cases). During 1 mo after liver transplantation, according to the individual differences of patients, different doses and types of immunosuppressants including tacrolimus, mycophenolate and sirolimus were used. The combination group was additionally given Huaier granule and thymosin α -1 after 1 mo, and the other two groups were given Huaier granule and thymosin α -1, respectively. The time of tumor

背景资料

我国是肝癌大国, 晚期肝癌行肝移植术收到了良好的效果, 但面对术后肿瘤复发, 更好的延长患者生存时间, 是移植医生亟待解决的问题。

同行评议者

刘作金, 主任医师, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科; 李华, 教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

■ 研究前沿

肿瘤的发生与发展与机体的免疫调节变化有关, 而Treg细胞及调节性细胞因子与肿瘤发生发展密切相关, 如何改变Treg细胞及调节性T细胞的表达水平已成为目前研究的热点。

recurrence and the expression of Treg cells, IL-10 and TGF- β were observed. Each patients were followed for 24 mo.

RESULTS: The disease-free survival was significantly longer in the combination group than in the other two groups ($P < 0.05$). At the sixth month, the expression of Treg and IL-10 in the peripheral blood was significantly higher in the combination group than in the thymosin α -1 group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between the Huaier granule group and combination group ($P > 0.05$). At the twelfth month, the expression of Treg cells, IL-10, and TGF- β in the peripheral blood was significantly higher in the combination group than in the other two groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Thymosin α -1 based anti-tumor therapy can obviously prolong liver tumor recurrence after transplantation. Regular monitoring of expression of Treg cells, IL-10 and TGF- β can be used as an auxiliary method for monitoring tumor recurrence after liver transplantation.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver transplantation; Tumor recurrence; Thymosin α -1; Huaier granule; Regulatory T cell; Cytokines

Suo LL, Du GS, Zhou L, Song JY, Zhu ZD, Feng LK, Yang SZ. Influence of thymosin α -1 based anti-tumor therapy on tumor recurrence and cytokine expression in patients after liver transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1587-1592 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1587>

摘要

目的: 探讨以胸腺肽联合槐耳颗粒对肝移植术后肿瘤复发及Foxp3⁺调节性T细胞(Treg细胞)、白介素(interleukin, IL)-10、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)的表达。

方法: 从2011-01/2015-01在解放军第309医院接受肝移植的患者中搜集病例数共计42例患者的临床资料(均符合杭州标准), 包括肝细胞癌(肝癌)患者42例。根据患者术后用药情况分为联合用药组19例, 槐耳颗粒组16例, 胸腺法新组7例。术后各组根据个体差

异调整免疫抑制剂的种类和剂量[他克莫司(FK506)+吗替麦考酚酯(MMF)+西罗莫司]。1 mo后联合用药组采用以胸腺法新联合槐耳颗粒抗肿瘤药物治疗, 其他2组分别单用槐耳颗粒及胸腺法新。观察肝癌患者肿瘤的复发时间及各组外周血中调节性T细胞(Treg细胞)、IL-10、TGF- β 的表达情况。每例患者的观察时间均为12 mo。

结果: 联合药物组的无瘤生存时间明显高于槐耳颗粒组及胸腺法新组($P < 0.05$); 术后第6个月联合用药组中Treg细胞和IL-10的表达明显高于胸腺法新组($P < 0.05$), 而联合药物组与胸腺法新组差异无统计学差异($P > 0.05$)。术后第12个月, 联合药物组Treg、TGF- β 、IL-10的表达明显高于胸腺法新组及槐耳颗粒组($P < 0.05$)。

结论: 胸腺法新联合槐耳颗粒抗肿瘤疗法可明显延长肝癌肝移植术后肿瘤的复发时间, 较单用胸腺法新或者槐耳颗粒有良好的临床效果, 术后定期监测Treg细胞、IL-10、TGF- β 表达, 可作为肝癌肝移植术后肿瘤复发的辅助指标。

© 2016版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝移植; 肿瘤复发; 胸腺法新; 槐耳颗粒; 调节性T细胞; 细胞因子

核心提示: 肝癌肝移植术后在服用免疫抑制剂的情况下联合应用胸腺法新和槐耳颗粒, 可明显延长肝癌肝移植术后肿瘤复发时间, 同时降低患者外周血中Treg细胞及白介素-10、转化生长因子 β 的表达水平, 为临床当中如何延长肿瘤复发提供新的思路。

索龙龙, 杜国盛, 周林, 宋继勇, 朱志东, 封立魁, 杨绍臻. 胸腺法新为基础的药物治疗对肝移植术后肿瘤复发及相关细胞因子的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1587-1592 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1587>

0 引言

随着肝癌的发病率不断上升, 晚期肝癌患者行肝移植术是目前短期内最有效的治疗手段, 可明显延长患者的生命, 提高患者的生存质量。然而, 术后肿瘤的复发仍是影响患者生存率的重要问题, 我们通过在临床中研究发现, 早期运用胸腺法新联合槐耳颗粒可明显延缓肿瘤

■ 相关报道

国内外学者对肝癌组织的病理研究发现显示Treg细胞与肿瘤的生长密切相关, 其表达水平影响着患者的预后, Treg细胞与白介素(interleukin, IL)-10、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)的表达具有相互作用。

表 1 肝癌肝移植患者术前一般资料比较

项目	联合药物组(n = 19)	槐耳颗粒组(n = 16)	胸腺法新组(n = 7)	P值
男/女	15/4	14/2	6/1	>0.05
年龄(岁)	49.6 ± 5.3	49.8 ± 7.5	52.7 ± 7.0	>0.05
合并HBV	18	14	6	>0.05
手术时间(h)	8.52 ± 1.36	8.84 ± 0.97	8.35 ± 1.59	>0.05
合并肝硬化	17	11	7	>0.05
肿瘤分化程度				>0.05
I	5	4	2	
II	6	5	2	
III	5	5	1	
IV	3	5	2	
ALT(IU/L)	103.84 ± 83.92	87.37 ± 52.94	120.28 ± 100.1	>0.05
AST(IU/L)	82.37 ± 47.26	83 ± 50.72	99 ± 74.28	>0.05
Child-pugh分级				>0.05
A	11	9	5	
B	8	7	2	
肿瘤最大径(cm)				>0.05
≤5	4	5	3	
5-10	8	4	1	
≥10	7	7	3	
肿瘤类型				>0.05
单发	11	8	4	
多发	8	8	3	
AFP(μg/L)				>0.05
≤25	3	6	2	
>25	16	10	5	

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; AFP: 甲胎蛋白; HIV: 乙型肝炎病毒。

的复发, 收到良好的效果. 本研究重点分析胸腺法新为基础的抗肿瘤疗法对肝移植术后肿瘤复发与机体外周血相关细胞因子的变化, 以供同行参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2015-01因晚期肝癌在解放军第309医院行肝移植术且术后恢复良好的患者26例(均符合杭州标准), 根据用药情况分为联合用药组19例; 单用胸腺法新组7例; 单用槐耳颗粒组16例, 所有患者均知情同意. 其中男35例, 女7例, 平均年龄50.2岁 ± 6.4岁. 肝癌患者的临床病例资料如表1.

1.2 方法 42例患者均行原位肝移植术, 分别在术前2 h及术后第4天应用舒莱20 mg静滴预防器官移植急性排斥反应, 术中常规应用甲泼尼龙500 mg进行冲击. 移植术后各组根据个体差异调整免疫抑制剂的种类和剂量[他克莫司

(FK506)+吗替麦考酚酯(MMF)+西罗莫司]. 根据各组患者的术后临床资料发现, 联合用药组待患者术后1 mo后, 皮下注射胸腺法新1.6 mg/d, 第12天后改为2次/wk, 持续应用2年; 冲服槐耳颗粒20 g/次, 3次/d. 其余2组术后按常规使用他克莫司、西罗莫司等抗排异药物, 而对照组在使用抗排异药物的基础上仅加用槐耳颗粒或者胸腺法新.

收集患者术前病历资料, 术后通过定期复查来确定患者有无复发, 收集患者外周血, 通过流式细胞技术及酶联免疫吸附试验法分别检测Treg细胞及白介素(interleukin, IL)-10、转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)的表达情况, 记录患者肿瘤复发时间、转移部位, 其结果进行统计学分析.

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计软件进行处理, 计量资料采用mean ± SD表示, 组间比较采用t检验, 率的比较采用χ²检验.

创新盘点
本文通过采用酶联免疫吸附试验法对肝癌肝移植术后患者外周血中Treg细胞及TGF-β、IL-10的表达水平进行分析, 进一步探讨术后抗肿瘤药物对Treg细胞及TGF-β、IL-10表达水平的影响.

应用要点

胸腺法新联合槐耳颗粒可明显降低患者外周血Treg细胞及TGF-β、IL-10的表达水平, 且可明显延长患者的无瘤生存时间, 为肝癌肝移植术后延长肿瘤复发时间提供依据。

表 2 肝移植术后各组患者在不同时间内Treg细胞及IL-10、TGF-β的表达 (mean ± SD)

指标	胸腺法新组(n = 7)	槐耳颗粒组(n = 16)	联合药物组(n = 19)
Treg(%)			
1 mo	0.66 ± 0.35	0.63 ± 0.49	0.60 ± 0.51
3 mo	1.03 ± 0.40	0.72 ± 0.57	0.68 ± 0.55
6 mo	1.53 ± 0.51	1.01 ± 0.55	0.84 ± 0.66 ^a
12 mo	1.90 ± 0.45	1.62 ± 0.64	1.00 ± 0.65 ^{a,c}
IL-10(ng/L)			
1 mo	51.14 ± 12.73	49.27 ± 16.97	54.79 ± 22.88
3 mo	54.43 ± 8.66	53.33 ± 13.13	52.37 ± 14.15
6 mo	67.28 ± 14.1	56.52 ± 14.96	53.84 ± 11.78 ^a
12 mo	82.14 ± 13.85	77.88 ± 17.44	56.00 ± 12.49 ^{a,c}
TGF-β(ng/L)			
1 mo	25.49 ± 10.65	23.54 ± 16.88	22.97 ± 17.85
3 mo	27.35 ± 7.45	24.17 ± 12.64	25.13 ± 13.69
6 mo	43.21 ± 11.53	33.54 ± 12.89	28.50 ± 12.76
12 mo	46.78 ± 8.28	40.48 ± 6.81	28.50 ± 10.52 ^{a,c}

^a*P*<0.05 vs 胸腺法新组; ^c*P*<0.05 vs 槐耳颗粒组. IL: 白介素; TGF-β: 转化生长因子β.

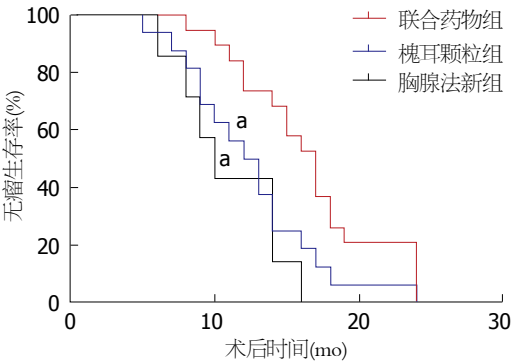


图 1 术后无瘤生存曲线图. ^a*P*<0.05 vs 联合药物组.

P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

根据患者术后随访资料发现, 3组均有患者先后复发, 各组患者的术后无瘤生存时间在5-24 mo, 术后对外周血检测各项指标的时间均超过12 mo, 各患者生存时间均超过12 mo.

2.1 3组患者术后无瘤生存时间 联合药物组、槐耳颗粒组、胸腺法新组3组术后无瘤生存期分别16.57 mo ± 4.9 mo、12.5 mo ± 4.7 mo、11 mo ± 3.69 mo, 联合药物组无瘤生存时间明显高于另外2组, 差异有统计学意义(*P*<0.05), 术后无瘤生存曲线如图1.

2.2 3组患者术后外周血中Treg、IL-10、TGF-β的表达情况 3组患者在术后第1月及第3月外周血中Treg、IL-10、TGF-β的表达虽有

一定的差异, 但各组之间的差异均无统计学意义(*P*>0.05); 术后第6月, 联合药物组患者外周血中Treg、IL-10的表达均明显高于胸腺法新组(*P*<0.05), 而与槐耳颗粒组差异无统计学意义; 术后第12月, 联合药物组患者外周血中Treg、IL-10、TGF-β的表达水平明显高于胸腺法新组与槐耳颗粒组, 且差异有统计学意义(*P*<0.05), 其结果如表2.

3 讨论

目前, 肝癌是较为常见的肿瘤之一, 其发病率一直居高不下, 且有不断上升的趋势. 在众多治疗晚期肝癌的方法之中, 肝脏移植取得了较为良好的效果, 而如何延缓及预防肝癌患者术后肿瘤复发, 是目前移植医生亟待解决的问题. 在肿瘤的发生发展过程中, 肿瘤免疫微环境中的各种免疫细胞和细胞因子水平起着非常重要的作用, 而Treg细胞及IL-10、TGF-β是目前研究的热点.

Treg细胞是一类具有控制体内自身免疫反应作用的T细胞亚群, 对机体的免疫调节起着重要作用, 研究还发现该细胞在肿瘤患者外周血中及肿瘤组织中高表达, 且表达的水平与患者的预后呈正相关^[1]. TGF-β作为一种抑制免疫调控因子, 其生理功能主要是通过抑制T细胞及巨噬细胞的生长. IL-10是一种来源于肿瘤细胞、Th2细胞和单核细胞的具有免疫调节

作用的负向调控因子, 可与TGF- β 共同作用来抑制一氧化氮的产生, 从而干扰巨噬细胞活化, 对肿瘤具有促进和抑制的双重作用^[2-4]. 研究发现, 三者之间存在着相互的联系. 卢永刚等^[5]通过实验研究发现, 在大肠癌患者区域转移性淋巴结中发现Treg细胞的表达明显高于正常淋巴结, 并且IL-10及TGF- β 的表达水平也明显升高, 三者之间可能通过直接或间接共同作用抑制机体抗肿瘤免疫反应.

在肝癌微环境及患者外周血当中发现, Treg细胞与IL-10、TGF- β 水平呈正相关, 且明显高于正常患者, 说明肝癌组织中的Treg细胞可能通过分泌IL-10及TGF- β , 二者通过相互作用, 可明显降低或抑制机体的免疫力, 使肿瘤逃避免疫监督, 从而促进肿瘤的生长和转移^[6,7]. 刘阳等^[8]通过对临床肝癌患者研究发现, 肝癌患者外周血中TGF- β 、IL-10的表达明显高于肝硬化及健康组, 提示肝癌的发生发展与抑制性细胞因子TGF- β 、IL-10存在着一定的相关性.

胸腺法新是一种免疫活性的多肽, 可促进机体T细胞增生、分化、成熟, 调节T淋巴细胞亚群比例, 还可诱导巨噬细胞、白介素、干扰素等因子的产生, 从而提高机体的免疫力. 在临床当中, 主要用于严重性感染等治疗^[9-11]. 槐耳颗粒是一种由多糖蛋白及18种以上的氨基酸组成中药颗粒, 该药不仅能抑制肿瘤细胞生长, 诱导肿瘤细胞凋亡及多种细胞因子的产生, 还可提高机体的免疫力, 普遍用于肿瘤患者^[12,13]. 研究^[14]显示其主要通过抑制血管内皮细胞的生成, 进而达到抑制肿瘤组织中血管的生成的作用.

对于肝移植术后长期服用免疫抑制剂的患者, 我们研究团队首次将胸腺法新应用到肝癌移植术后的患者, 为本实验的创新点所在, 通过对患者术后肝功能研究分析发现, 患者应用胸腺法新联合槐耳颗粒并没有增加患者移植术后排斥反应发生的风险^[15], 并且还发现以联合胸腺法新为基础的抗肿瘤疗法, 可明显延长肿瘤复发的时间, 同时降低体内Treg细胞及IL-10、TGF- β 的表达水平, 而Treg细胞及IL-10、TGF- β 与肿瘤的发生发展也具有相关联系, 胸腺法新可能通过直接或间接作用协助槐耳颗粒改变体内Treg细胞及IL-10、TGF- β 的表达, 从而对肿瘤产生更明显的抑制作用,

为肝癌患者肝移植术后的治疗提供新的治疗途径.

进一步对复发患者与无瘤患者对比研究发现, 肿瘤复发患者体内Treg细胞及IL-10、TGF- β 的表达明显高于无瘤患者, 术后定期监测Treg细胞及IL-10、TGF- β 的表达变化, 可作为肝癌肝移植术后肿瘤复发的预测指标, 对肝移植术后预防肿瘤复发具有重要的理论和临床意义. 本实验样本量有限, 有待进一步扩大样本, 延长观察时间, 进行多中心实验进一步验证胸腺法新联合槐耳颗粒对Treg细胞及IL-10、TGF- β 作用的具体相关机制.

4 参考文献

- Mittal S, Marshall NA, Duncan L, Culligan DJ, Barker RN, Vickers MA. Local and systemic induction of CD4+CD25+ regulatory T-cell population by non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2008; 111: 5359-5370 [PMID: 18305220 DOI: 10.1182/blood-2007-08-105395]
- Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol* 2013; 33 Suppl 1: S79-S84 [PMID: 23225204 DOI: 10.1212/01.wnl.0000436611.28210.ec]
- 周林, 周光炎, 路丽明. IL-10的双向免疫调节作用. *细胞与分子免疫学杂志* 2012; 28: 1100-1106
- Zeng L, O'Connor C, Zhang J, Kaplan AM, Cohen DA. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines. *Cytokine* 2010; 49: 294-302 [PMID: 20034810 DOI: 10.1016/j.cyt.2009.11.015]
- 卢永刚, 刘凌云, 孙秀娟, 何沙, 吕一. 大肠癌区域引流淋巴结中Treg细胞的变化及其与IL-10、TGF- β -1的关系. *中国普通外科学杂志* 2013; 22: 1302-1306
- 张志强, 贺杰峰, 张瑜, 兰志伟, 赵浩亮. 大鼠实验性肝癌组织中Treg细胞与IL-10、TGF- β 1水平的相关性分析. *中华普通外科杂志* 2014; 29: 382-384
- 叶韵斌, 彭峰, 李洁羽, 林雨平, 郑雄伟, 周东, 力超, 黎巧连, 蔡晓雯. 肝细胞肝癌组织浸润性淋巴细胞及其因子的表达. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 1056-1060
- 刘阳, 胡梅, 喻红波, 黎健. 肝癌患者淋巴细胞HLA-G表达及血清TGF- β 、IL-10水平研究. *武警后勤学院学报(医学版)* 2014; 23: 468-470
- Garaci E. Thymosin alpha1: a historical overview. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1112: 14-20 [PMID: 17567941]
- Serafino A, Pica F, Andreola F, Gaziano R, Moroni N, Moroni G, Zonfrillo M, Pierimarchi P, Sinibaldi-Vallebona P, Garaci E. Thymosin α 1 activates complement receptor-mediated phagocytosis in human monocyte-derived macrophages. *J Innate Immun* 2014; 6: 72-88 [PMID: 23797159 DOI: 10.1159/000351587]
- Garaci E, Pica F, Serafino A, Balestrieri E, Matteucci C, Moroni G, Sorrentino R, Zonfrillo M, Pierimarchi P, Sinibaldi-Vallebona P. Thymosin α 1 and cancer: action on immune effector and tumor target cells. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1269: 26-33 [PMID: 23045967 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06697.x]
- 李德林, 麦大海. 槐耳颗粒对胃癌术后同步放化疗患

■名词解释

胸腺法新: 一种免疫活性的多肽, 可促进机体T细胞增生、分化、成熟, 调节T淋巴细胞亚群比例, 从而提高机体的免疫力;
槐耳颗粒: 一种中药抗肿瘤药物, 对肿瘤生长有较好的抑制作用;
Treg细胞: 是一类控制体内自身免疫反应性的T细胞亚群, 与自身免疫性疾病的发生关系密切.

■同行评价

本文探讨了免疫调节药物胸腺肽联合中药在肝移植术后应用的意义, 结果及结论有一定的科学价值, 具有一定的参考意义.

- 者生存质量和免疫功能的影响. 中国肿瘤 2010; 19: 73
- 13 施丽飞, 薛大方, 郝爱国, 孙为民, 滕文峰. 3种抗肿瘤中成药中10种人体必需微量元素的含量分析. 中国中医药科技 2007; 14: 181
- 14 Han Y, Zhang C. Macrophage migration inhibitory factor plays a pivotal role in hepatocellular

- carcinoma and may be a noninvasive imaging target. *Med Hypotheses* 2010; 75: 530-532 [PMID: 20678866 DOI: 10.1016/j.mehy.2010.07.016]
- 15 宋继勇, 杜国盛, 朱志东, 郑德华, 崔洪涛, 封立魁, 石炳毅. 胸腺法新在肿瘤患者肝移植术后应用的安全性分析. 中华损伤与修复杂志(电子版) 2014; 9: 166-168

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

•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. (《世界华人消化杂志》编辑部)

内镜超声引导引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿70例

严豪杰, 崔乃强, 赵二鹏, 崔云峰, 么国旺

严豪杰, 崔乃强, 赵二鹏, 崔云峰, 么国旺, 天津市南开医院
普外科 天津市 300100

严豪杰, 主要从事肝胆胰脾外科的研究.

作者贡献分布: 此课题由崔乃强、严豪杰及赵二鹏设计; 研究过程由严豪杰、崔云峰及么国旺操作完成; 数据分析由严豪杰与崔云峰完成; 本论文写作由严豪杰与崔乃强完成.

通讯作者: 崔乃强, 主任医师, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院普外科. nctsui@126.com
电话: 022-27435552

收稿日期: 2015-12-08
修回日期: 2016-01-13
接受日期: 2016-02-18
在线出版日期: 2016-04-08

Comparison of endoscopic ultrasound-guided drainage with surgery for treatment of pancreatic pseudocysts: Analysis of 70 cases

Hao-Jie Yan, Nai-Qiang Cui, Er-Peng Zhao, Yun-Feng Cui, Guo-Wang Yao

Hao-Jie Yan, Nai-Qiang Cui, Er-Peng Zhao, Yun-Feng Cui, Guo-Wang Yao, Department of General Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300010, China

Correspondence to: Nai-Qiang Cui, Chief Physician, Department of General Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 122 Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. nctsui@126.com

Received: 2015-12-08
Revised: 2016-01-13
Accepted: 2016-02-18
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To compare surgical treatment versus

endoscopic ultrasound-guided drainage for treatment of pancreatic pseudocysts regarding clinical success, complication rate, recurrence, hospital stay and cost.

METHODS: Seventy cases of pancreatic pseudocysts were retrospectively studied at our hospital from January 2012 through January 2015, of which 24 (group A) were drained under the guidance of endoscopic ultrasound and 46 (group B) were drained surgically. The clinical success, complication rate, recurrence, hospital stay and cost were compared between the two groups.

RESULTS: The complication rate was significantly lower in group A than in group B (12.5% vs 30.4%, $P < 0.05$). The hospital stay in group A was significantly shorter than that in group B ($3.1 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ vs $7.5 \text{ d} \pm 2.2 \text{ d}$, $P < 0.05$). Likewise, the cost was significantly lower in group A than in group B ($1056 \text{ yuan} \pm 856 \text{ yuan}$ vs $2349 \text{ yuan} \pm 457 \text{ yuan}$, $P < 0.05$). The clinical success, recurrence, and mortality rates were similar in both groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Endoscopic treatment of pancreatic pseudocysts offers the same clinical success, recurrence, and mortality rates as surgical treatment but with a lower complication rate, and shorter hospital stay and lower costs.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic pseudocysts; Endoscopic; Surgical; Hospital stay; Costs

Yan HJ, Cui NQ, Zhao EP, Cui YF, Yao GW. Comparison of endoscopic ultrasound-guided drainage

背景资料

胰腺假性囊肿往往继发于急性、慢性胰腺炎或者胰腺损伤, 会引起梗阻、出血感染等并发症, 严重会引起死亡. 随着内镜技术的不断发展, 在国外内镜超声引流治疗胰腺假性囊肿越来越受到重视, 已成为医学领域的研究热点.

同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科; 丁震, 副主任医师, 武汉协和医院消化内科

■ 研发前沿

在国内对于内镜超声引流治疗胰腺假性囊肿研究报道相对缺乏。本研究将探讨内镜超声引导的引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿的临床疗效。

with surgery for treatment of pancreatic pseudocysts: Analysis of 70 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2016; 24(10): 1593-1596 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1593.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1593>

■ 摘要

目的: 探讨内镜超声引导的引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿的临床疗效以及住院时间和费用。

方法: 回顾分析了2012-01/2015-01来天津市南开医院进行治疗的70例胰腺假性囊肿患者。A组24例行内镜超声引导引流治疗。B组46例行外科手术治疗。观察并记录两组临床治愈率、并发症发病率、复发率、死亡率、出院时间、住院费用。

结果: A组并发症发病率明显低于B组(12.5% vs 30.4%, $P<0.05$), 平均住院时间明显少于B组(3.1 d \pm 1.7 d vs 7.5 d \pm 2.2 d), 并且费用也明显低于B组(1056元 \pm 856元 vs 2349元 \pm 457元)($P<0.05$)。而两组在临床治愈率、复发率以及死亡率中没有差异。

结论: 内镜超声引导的引流术治疗效果要优于传统的外科手术治疗方式治疗效果, 不仅减低了感染率, 还将缩短住院时间以及费用, 降低患者以及社会医疗负担。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺假性囊肿; 内镜超声引导; 外科手术; 住院时间; 费用

核心提示: 本文探讨了内镜超声引导的引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿的临床疗效以及住院时间和费用。23例应用内镜超声引导引流术, 46例应用外科手术。术后对比发现, 尽管两种治疗方案的临床治愈率、复发率以及死亡率没有差异; 但是内镜超声引导的引流术术后并发症发生率低于传统的外科手术治疗, 并且住院时间短, 费用低。因此, 当患者病情允许的情况下, 可优先选取内镜超声引导的引流术。内镜超声引导的引流术不仅减低了感染率, 还将缩短住院时间以及减少费用, 降低患者以及社会医疗负担。

严豪杰, 崔乃强, 赵二鹏, 崔云峰, 么国旺. 内镜超声引导引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿70例. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1593-1596 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1593.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1593>

0 引言

胰腺假性囊肿主要是由于胰管炎症、断裂或者梗阻所致的胰腺疾病。其中5%-15%继发于急性胰腺疾病, 26%-40%继发于慢性胰腺疾病^[1,2]。胰腺假性囊肿会引起梗阻、出血感染等并发症, 严重会引起死亡^[3]。开腹外引流术或内引流是胰腺假性囊肿的传统治疗方法。随着内镜技术的不断发展, 在国外内镜超声引流治疗胰腺假性囊肿越来越受到重视, 已成为医学领域的研究热点^[4]。国外研究报道^[5]显示, 83%的胰腺假性囊肿会通过内镜超声引流进行治疗; 而在国内对于内镜超声引流治疗胰腺假性囊肿研究报道相对缺乏。因此, 本研究将探讨内镜超声引导的引流和外科手术治疗胰腺假性囊肿的临床疗效。现做如下报道。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾分析了2012-01/2015-01来天津市南开医院进行胰腺假性囊肿治疗的患者。所有患者入院后, 均经CT扫描并结合症状和体征确诊为胰腺假性囊肿后进行病情评估。根据患者囊肿的位置和程度, 选择不同的手术方式。我们最终选取了70例患者, 患者病程从10-60 d不等, 平均发病时间为31.5 d; 其中7例因外伤造成的胰腺假性囊肿, 26例由于慢性胰腺炎久治不愈而致, 37例为急性胰腺炎。内镜超声引导引流治疗组(A组)24例, 男性14例, 女性10例, 平均年龄47.9岁 \pm 15.4岁, 假性囊肿大小6.7 cm (4.7-17.0 cm); 外科手术治疗组(B组)46例, 男性29例, 女性17例, 平均年龄49.6岁 \pm 13.7岁, 囊肿大小10 cm (2.8-21.0 cm)。所有患者均满足以下条件: (1)经CT检查结合临床症状确诊为胰腺假性囊肿; (2)入院前未经治疗; (3)没有合并其他严重疾病。排除标准: (1)合并其他严重疾病; (2)入院前已经经过其他治疗。两组在性别、年龄、假性囊肿大小等一般资料均无统计学差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 内镜超声引导引流治疗组(A组): 15例患者行超声内镜引导下经胃引流术。首先将超声内镜进入胃腔, 通过超声内镜明确假性囊肿的位置、大小, 以及与胃壁之间的距离, 选择合适位点进行穿刺, 并抽取囊液进行化验。将导丝置入, 通过环形切开刀进行柱状水囊扩张, 扩张完毕后通过导丝将硅胶支架置入进行

■ 相关报道

国外报道显示内镜超声引导的引流术治疗胰腺假性囊肿术后的住院时间明显少于外科手术治疗方式的住院时间, 并且费用也要比外科手术治疗方式低。

引流^[6]. 其余9例患者行超声内镜引导下经十二指肠乳头引流. 首先行经内镜逆行胰胆管造影检查, 确认胰管与囊肿相通, 同样, 通过导丝将支架置入囊肿腔进行引流^[7].

外科手术治疗组(B组): 根据囊肿壁与十二指肠和胃之间的距离, 以及囊肿大小黏连等程度, 选择不同的手术方式^[8]. 最终, 26例行囊肿与胃肠道吻合体内引流, 16例空肠囊肿吻合体内引流, 4例行囊肿切除治疗.

所有患者术后均采用抗生素等相应药物治疗, 预防术后感染以及其他并发症. 密切观察患者术后情况, 有异常变化者并进行适当处理. 术后, 院外随访6 mo, 记录囊肿消失的时间, 或者复发的情况.

1.2.2 观察指标: 对两组患者治疗过程中的临床疗效进行综合性的比较与评价. 所评价指标包括: (1)临床治愈: 术后囊肿完全吸收, 或者术后8 wk后囊肿减少到2 cm^[9]; (2)术后并发症: 包括穿孔, 出血(需要内镜治疗或者输入血液制品治疗), 感染, 支架移位或者堵塞等; (3)复发: CT检查发现与之前症状相似的胰腺假性囊肿; (4)死亡情况; (5)出院时间: 术后第1天到出院时间.

统计学处理 采用SPSS19.0软件对数据进行处理分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用 t 检验进行组间比较; 计数资料以频数表示, 采用 χ^2 检验进行组间比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

将两组胰腺假性囊肿患者手术后的临床治愈率、并发症发生率、复发率、死亡率、出院时间、住院费用等指标进行比较. 结果显示内镜超声引导引流治疗组出现3例并发症, 3例均为内出血, 并发症发生率为12.5%; 外科手术治疗组出现14例并发症, 2例感染, 12例为内出血, 并发症发生率为30.4%; 内镜超声引导引流治疗组并发症发生率明显低于外科手术治疗组($P<0.05$). 内镜超声引导引流治疗组平均出院时间明显少于外科手术治疗组为出院时间($3.1\text{ d}\pm 1.7\text{ d}$ vs $7.5\text{ d}\pm 2.2\text{ d}$), 并且费用也低于明显外科手术治疗组($1056\text{元}\pm 856\text{元}$ vs $2349\text{元}\pm 457\text{元}$), 且具有统计学差异($P<0.05$). 而内镜超声引导引流治疗组与外科手术治疗组在临床治愈率(91.4% vs 89.1%)、复发率(8.3% vs

10.9%)以及死亡率(0% vs 2.2%)中差异无统计学意义.

3 讨论

胰腺假性囊肿往往继发于急性、慢性胰腺炎症或者胰腺损伤, 导致胰液外渗刺激周围组织形成炎症、坏死, 最后纤维包裹而成^[10]. 假性囊肿的位置不同, 处理方法也会有所不同^[11]. 本研究主要分析了传统的手术外科手术治疗术和新近兴起的内镜超声引导的引流术.

传统的手术外科手术治疗术主要包括囊肿与胃肠道吻合体内引流和空肠囊肿吻合体内引流. 他主要应用于囊肿发病位置较高, 与胃后壁发生严重黏连且术中吻合口径 $>4\text{ cm}$ 的患者, 或囊肿底部低于胃大弯的巨型囊肿及不靠近十二指肠壁的胰头部的囊肿患者. 随着超声技术的不断发展, 内镜超声已经从一个诊断设备逐渐成为一种治疗手段, 并且在胰腺假性囊肿治疗中逐渐受到重视. 他目前主要应用于胰腺假性囊肿有明显的腹痛、压迫症状、长期迁延不能吸收者, 以及囊肿破裂或有感染倾向的患者. 内镜超声不需要依赖囊肿隆起定位, 可以避免穿刺途径的血管, 避免出血, 并且可以了解囊肿内容物等优点^[6]. 虽然传统的外科手术是胰腺假性囊肿治疗的金标准, 但是外科手术治疗往往有较高的并发症发生率和死亡率^[12]. 本研究回顾显示, 外科手术治疗组与内镜超声引导引流治疗组相比, 并发症发病率较高. 其中, 外科手术治疗组术后感染率比较高(感染率为15.2%), 而内镜超声引导引流治疗组感染率为4.2%. 因此, 对于身体情况较差, 免疫能力差的患者或者老年人可优先选用内镜超声引导的引流治疗胰腺假性囊肿, 以降低术后感染几率.

此外, 我们研究显示, 内镜超声引导的引流术治疗胰腺假性囊肿术后的住院时间明显少于外科手术治疗方式的住院时间, 并且费用也要比外科手术治疗方式低. 本研究结果与国外结果基本一致^[9,13]. 综合分析, 内镜超声引导的引流术有如下优势: (1)由于手术创伤小, 术后恢复速度快; (2)疼痛较轻; (3)手术和禁食时间均被缩短^[14]. 所有这些因素导致住院时间缩短, 住院费用降低. 虽然我们收集患者均来自住院患者, 但是根据国外研究分析显示, 只有32%的胰腺假性囊肿患者需要入院治疗, 其他

■创新亮点

本文探讨了内镜超声引导的引流术与外科手术在治疗胰腺假性囊肿中的住院费用以及住院天数的比较, 这在国内类似研究中鲜有报道.

■应用要点

本文进一步证实了内镜超声引导的引流术治疗胰腺假性囊肿的优越性. 当患者病情允许的情况下, 可优先选取内镜超声引导的引流术.

同行评价

本文研究方案设计较严谨, 保证了方案的实施, 具有一定的临床应用价值。

患者均可在门诊进行治疗, 然后定期随访^[15]。因此, 结合该研究分析, 内镜超声引导的引流术均可针对门诊和住院患者进行治疗, 这样将进一步降低患者医疗费用, 降低国家医疗负担。总之, 胰腺假性囊肿的治疗根据囊肿位置, 采取相应的治疗方式。当患者病情允许的情况下, 可优先选取内镜超声引导的引流术。内镜超声引导的引流术治疗效果要优于传统的外科手术治疗方式治疗效果。内镜超声引导的引流术可从多个方面促进患者治愈, 不仅减低了感染率, 还将缩短住院时间以及费用, 降低患者以及社会医疗负担。

参考文献

- 1 Aghdassi A, Mayerle J, Kraft M, Sielenkämper AW, Heidecke CD, Lerch MM. Diagnosis and treatment of pancreatic pseudocysts in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2008; 36: 105-112 [PMID: 18376299 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815a8887]
- 2 Wang LW, Li ZS, Li SD, Jin ZD, Zou DW, Chen F. Prevalence and clinical features of chronic pancreatitis in China: a retrospective multicenter analysis over 10 years. *Pancreas* 2009; 38: 248-254 [PMID: 19034057 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31818f6ac1]
- 3 Bradley EL. The natural and unnatural history of pancreatic fluid collections associated with acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 908-910 [PMID: 24429512 DOI: 10.1007/s10620-013-3012-3]
- 4 卢庆威, 秦鸣放, 孙向宇. 超声内镜下经胃、十二指肠穿刺内引流治疗胰腺假性囊肿1例. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 2839-2842
- 5 Varadarajulu S, Wilcox CM, Latif S, Phadnis M, Christein JD. Management of pancreatic fluid collections: a changing of the guard from surgery to endoscopy. *Am Surg* 2011; 77: 1650-1655 [PMID: 22273224]
- 6 赵伟华. 超声内镜引导下经胃引流治疗早期胰腺假性囊肿临床观察. *临床合理用药* 2014; 7: 96
- 7 李凯. ERCP经十二指肠乳头引流术治疗慢性胰腺炎合并胰腺假性囊肿效果观察. *山东医药* 2014; 54: 42-43
- 8 金昌国, 吴振宇, 欧阳才国, 张利刚. 胰腺假性囊肿诊断与治疗分析. *山东医药* 2013; 53: 36-38
- 9 Varadarajulu S, Bang JY, Sutton BS, Trevino JM, Christein JD, Wilcox CM. Equal efficacy of endoscopic and surgical cystogastrostomy for pancreatic pseudocyst drainage in a randomized trial. *Gastroenterology* 2013; 145: 583-590.e1 [PMID: 23732774 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.05.046]
- 10 Fabbri C, Luigiano C, Lisotti A, Cennamo V, Virgilio C, Caletti G, Fusaroli P. Endoscopic ultrasound-guided treatments: are we getting evidence based--a systematic review. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 8424-8448 [PMID: 25024600 DOI: 10.3748/wjg.v20.i26.8424]
- 11 Park DH, Lee SS, Moon SH, Choi SY, Jung SW, Seo DW, Lee SK, Kim MH. Endoscopic ultrasound-guided versus conventional transmural drainage for pancreatic pseudocysts: a prospective randomized trial. *Endoscopy* 2009; 41: 842-848 [PMID: 19798610 DOI: 10.1055/s-0029-1215133]
- 12 Varadarajulu S, Christein JD, Tamhane A, Drelichman ER, Wilcox CM. Prospective randomized trial comparing EUS and EGD for transmural drainage of pancreatic pseudocysts (with videos). *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1102-1111 [PMID: 18640677 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.028]
- 13 Saul A, Luna MA, Chan C, Uscanga L, Andraca FV, Calleros JH, Elizondo J, Avila FT. EUS-guided drainage of pancreatic pseudocysts offers similar success and complications compared to surgical treatment but with a lower cost. *Surg Endosc* 2015 Jul 3. [Epub ahead of print] [PMID: 26139498]
- 14 Trevino JM, Tamhane A, Varadarajulu S. Successful stenting in ductal disruption favorably impacts treatment outcomes in patients undergoing transmural drainage of peripancreatic fluid collections. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 526-531 [PMID: 20074158 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06109]
- 15 Gibbs CM, Baron TH. Outcome following endoscopic transmural drainage of pancreatic fluid collections in outpatients. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 634-637 [PMID: 16000934]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的临床效果

唐宇涛, 俞宁, 沈印

唐宇涛, 俞宁, 沈印, 广西壮族自治区人民医院急诊科 广西壮族自治区南宁市 530021

唐宇涛, 副主任医师, 主要从事急救医学的研究。

作者贡献分布: 唐宇涛负责课题设计、研究过程、数据分析、论文撰写及投稿; 俞宁负责试剂提供; 沈印协助资料整理。

通讯作者: 唐宇涛, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院急诊科。
 tania-2000@163.com
 电话: 0771-2186500

收稿日期: 2016-01-09
 修回日期: 2016-02-20
 接受日期: 2016-03-13
 在线出版日期: 2016-04-08

Clinical effects of early bedside blood filtration in treatment of acute severe pancreatitis

Yu-Tao Tang, Ning Yu, Yin Shen

Yu-Tao Tang, Ning Yu, Yin Shen, Department of Emergency Medicine, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Yu-Tao Tang, Associate Chief Physician, Department of Emergency Medicine, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. tania-2000@163.com

Received: 2016-01-09
 Revised: 2016-02-20
 Accepted: 2016-03-13
 Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of early bedside blood filtration in the treatment of

acute severe pancreatitis.

METHODS: Fifty-four patients with acute severe pancreatitis treated in People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region from October 2013 to October 2015 were randomly divided into either a control group or an observation group, with 27 patients in each group. The control group received conventional therapy, and the observation group received early bedside blood filtration on the basis of conventional therapy. Therapeutic effects were compared between the two groups.

RESULTS: After treatment, heart rate, respiratory rate, APACHE II score, interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and C reactive protein significantly decreased while oxygenation index significantly increased in the two groups ($P < 0.05$). Heart rate, respiratory rate, APACHE II score, interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and C reactive protein in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). Oxygenation index in the observation group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). Times to disappearance of abdominal pain, abdominal distension, and peritoneal irritation in the observation group were earlier than those in the control group ($P < 0.05$). Hospitalization time in the observation group was shorter than that in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Early bedside blood filtration has a significant effect in the treatment of acute severe pancreatitis, which is helpful to improve the prognosis of patients.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

背景资料

近年来,随着人们生活习惯和饮食结构的改变,使得急性重症胰腺炎发生率呈现出明显的增加态势该病具有起病急、病情进展快、预后差等特点,可诱发全身多脏器功能损害等并发症,直接影响患者的预后。及早给予急性重症胰腺炎患者准确诊断和临床治疗至关重要。

同行评议者

李旭,副教授,南方医院急诊科; 丁震,副主任医师,武汉协和医院消化内科

■ 研发前沿

何时给予患者血液滤过治疗的效果最佳, 目前相关报道较少。

Key Words: Blood filtration; Acute severe pancreatitis; Clinical effect

Tang YT, Yu N, Shen Y. Clinical effects of early bedside blood filtration in treatment of acute severe pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1597-1601
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1597.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1597>

摘要

目的: 探讨早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的临床效果。

方法: 选取广西壮族自治区人民医院2013-10/2015-10诊治的急性重症胰腺炎患者54例, 采用随机数字表法分为两组, 对照组患者27例实施常规治疗, 观察组患者27例联用早期床边血液滤过治疗, 比较两组治疗效果。

结果: 治疗后, 两组心率、呼吸频率、急性生理和慢性健康状况(acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II)评分、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)降低($P<0.05$), 氧合指数增加($P<0.05$)。观察组心率、呼吸频率、APACHE II评分、IL-6、TNF- α 、CRP低于对照组($P<0.05$), 氧合指数高于对照组($P<0.05$), 腹痛消失时间、腹胀消失时间、腹膜刺激征消失时间早于对照组($P<0.05$), 住院时间少于对照组($P<0.05$)。

结论: 早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的疗效显著, 有助于改善患者预后。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血液滤过; 急性重症胰腺炎; 临床效果

核心提示: 在常规治疗基础上, 开展早期床边血液滤过是临床治疗急性重症胰腺炎的有效方法, 可显著降低炎症因子(白介素-6、肿瘤坏死因子- α 、C反应蛋白)水平, 改善临床症状(腹痛、腹胀、腹膜刺激征), 疗效显著, 有助于改善患者的预后状况。

唐宇涛, 俞宁, 沈印. 早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的临床效果. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1597-1601
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1597.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1597>

0 引言

近年来, 随着人们生活习惯和饮食结构的改变, 使得急性重症胰腺炎发生率呈现出明显的增加态势^[1,2], 该病具有起病急、病情进展快、预后差等特点, 可诱发全身多脏器功能损害等并发症, 直接影响着患者的预后。及早给予急性重症胰腺炎患者准确诊断和临床治疗至关重要。血液净化是临床治疗急性重症胰腺炎的常用方法之一^[3,4], 但何时给予患者血液滤过治疗的效果最佳, 目前相关报道较少。此次研究对27例急性重症胰腺炎患者行常规治疗联合早期床边血液滤过治疗, 取得了显著的治疗效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择广西壮族自治区人民医院2013-10/2015-10诊治的急性重症胰腺炎患者54例, 均符合中华医学会消化病分会胰腺疾病学组制定《中国急性胰腺炎诊治指南》的诊断标准^[5], 经实验室检测和影像学检查确诊, 排除患有器质性疾病、血液系统疾病、免疫系统疾病、精神疾病的患者。采用随机数字表法分为两组, 对照组27例, 男17例, 女10例, 年龄为22-76岁(54.2岁 \pm 10.6岁), 发病到就诊时间为2-10 h(5.2 h \pm 1.3 h), 原发病因: 胆源性13例、高脂血症性7例、酒精性4例、暴饮暴食性3例。观察组27例, 男18例, 女9例, 年龄为21-78岁(54.0岁 \pm 11.3岁), 发病到就诊时间为2-10 h(5.0 h \pm 1.4 h), 原发病因: 胆源性14例、高脂血症性6例、酒精性3例、暴饮暴食性4例。两组年龄、性别、发病到就诊时间、原发病因比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。此次研究已取得患者同意, 签订知情同意书, 经医院伦理委员会通过。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者实施常规治疗, 内容包括重症监护、禁食、胃肠减压、肠道外营养、使用生长抑素抑制胰腺分泌、解痉止痛、抗菌治疗、活血化瘀以改善胰腺微循环等。

观察组患者在常规治疗基础上联用早期床边血液滤过治疗, 所用仪器为瑞典金宝公司生产的PRISMA血液净化仪, 在确诊后48 h内给予患者床边血液滤过, 操作如下: 用双腔股静脉置管, 给予患者持续静脉血液滤过, 设定

■ 相关报道

漆嘉梨等研究显示, 血液滤过可早期改善急性重症胰腺炎引起的肝肾功能障碍, 并能较快改善电解质紊乱。余俊红等研究显示, 持续血液滤过联合内镜下十二指肠乳头括约肌切开术、经内镜鼻胆管引流术治疗急性重症胰腺炎能有效改善患者病情, 对于减少并发症、降低死亡率及缩短住院时间有积极有效的作用。

表 1 两组患者恢复时间比较 ($n = 27$, mean \pm SD, d)

分组	腹痛消失时间	腹胀消失时间	腹膜刺激征消失时间	住院时间
对照组	3.58 \pm 1.02	4.06 \pm 1.17	4.69 \pm 1.34	20.37 \pm 2.92
观察组	2.73 \pm 0.86	3.41 \pm 0.95	3.87 \pm 1.20	14.53 \pm 2.16
t 值	5.963	4.764	5.105	7.281
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

■ 创新亮点

本文探讨早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的有效时机及治疗效果。

表 2 两组患者治疗前后观察指标及APACHE II 评分比较 ($n = 27$, mean \pm SD)

分组	时间	心率(次/min)	呼吸频率(次/min)	氧合指数(mmHg)	APACHE II 评分(分)
对照组	治疗前	118.95 \pm 13.46	26.38 \pm 2.14	238.59 \pm 16.93	9.51 \pm 1.28
	治疗后	99.17 \pm 10.20 ^b	22.82 \pm 1.86 ^b	295.38 \pm 14.62 ^b	7.26 \pm 0.84 ^b
观察组	治疗前	119.02 \pm 14.27	26.34 \pm 1.98	239.12 \pm 15.24	9.50 \pm 1.32
	治疗后	84.36 \pm 8.91 ^{bd}	19.16 \pm 1.47 ^{bd}	347.91 \pm 20.58 ^{bd}	4.76 \pm 0.53 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 治疗前; ^d $P < 0.01$ vs 对照组。

表 3 两组患者治疗前后炎症因子比较 ($n = 27$, mean \pm SD)

分组	时间	白介素-6(ng/L)	肿瘤坏死因子- α (ng/L)	C反应蛋白(mg/L)
对照组	治疗前	92.13 \pm 5.67	54.31 \pm 11.25	75.62 \pm 13.81
	治疗后	21.85 \pm 1.96 ^b	18.27 \pm 2.39 ^b	14.26 \pm 2.50 ^b
观察组	治疗前	92.08 \pm 6.74	54.29 \pm 10.36	75.58 \pm 12.96
	治疗后	15.43 \pm 1.15 ^{bd}	12.43 \pm 1.82 ^{bd}	8.94 \pm 1.73 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 治疗前; ^d $P < 0.01$ vs 对照组。

置换液速度为3 L/h, 连续静脉血液滤过5 d。

1.2.2 评定标准: 急性生理和慢性健康状态评分系统 II 评分(acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II)标准: 以急性生理学变量分值、年龄因素分值和慢性健康状况分值的总和为APACHE II 分值^[6]。满分71分, 评分越高, 患者的预后越差。

统计学处理 数据资料用SPSS16.0软件行统计学分析, 计量资料用mean \pm SD表示和 t 检验, 计数资料用率(%)表示和 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者恢复时间比较 观察组腹痛消失时间、腹胀消失时间、腹膜刺激征消失时间早于对照组($P < 0.05$), 住院时间少于对照组($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者治疗前后观察指标及APACHE II 评分比较 治疗后, 两组心率、呼吸频率、

APACHE II 评分降低($P < 0.05$), 氧合指数增加($P < 0.05$)。观察组心率、呼吸频率、APACHE II 评分低于对照组($P < 0.05$), 氧合指数高于对照组($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患者治疗前后炎症因子比较 治疗后, 两组白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)降低($P < 0.05$)。观察组IL-6、TNF- α 、CRP低于对照组($P < 0.05$)(表3)。

2.4 两组患者并发症比较 对照组和观察组患者并发症各有1例(3.7%)血压下降, 观察组有1例(3.7%)败血症, 对照组和观察组总并发症比较, 差异无统计学意义[1(3.7%) vs 2(7.4%), $P > 0.05$]。

3 讨论

急性重症胰腺炎属于急性胰腺炎的特殊类型, 是一种病情险恶、并发症多、病死率较高的

■ 应用要点

早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的方法可行, 适用于基层医院开展使用。

名词解释

急性重症胰腺炎: 属于急性胰腺炎的特殊类型, 是一种病情险恶、并发症多、病死率较高的急腹症, 多由胆道疾病、酗酒和暴饮暴食所引起。

急腹症, 占整个急性胰腺炎的10%-20%^[7,8]。20世纪80年代, 多数病例死于疾病早期, 直至近10年来, 随着急性重症胰腺炎外科治疗的进展, 治愈率有所提高, 但总体死亡率仍高达17%左右^[9,10]。及早给予患者准确诊断和治疗, 有助于改善患者预后。

分析其病因, 70%-80%的重症急性胰腺炎是由于胆道疾病、酗酒和暴饮暴食所引起的^[11,12]。而急性重症胰腺炎的发病机制主要是胰液对胰腺及其周围组织自身消化的结果。当机体正常防御功能遭到破坏, 如胰管阻塞, 刺激胰酶分泌的作用突然增加, 感染的胆汁或十二指肠液侵入腺泡等因素, 均可导致胰管内压增加、腺泡破裂, 暴发性地释放出所有胰酶, 包括蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶等, 从而造成了胰腺酶性的自身消化。在急性胰腺炎时许多酶系统也被激活: (1)胶原酶可使炎症扩散; (2)弹性硬蛋白酶可损害血管壁引起出血; (3)蛋白水解酶复合体可使组织坏死进一步蔓延扩散; (4)脂肪酶可以使胰周脂肪组织(如肠系膜根部、小网膜囊、腹膜后间隙、肾床、主动脉两侧、盆腔等)形成脂肪坏死区。随着病情进展, 急性重症胰腺炎会出现不同程度的并发症, 例如脏器功能障碍、坏死、脓肿或假性囊肿等, 都将恶化患者病情, 而常见腹部体征有上腹部明显的压痛、反跳痛、肌紧张、腹胀、肠鸣音减弱或消失等, 如何有效治疗疾病的方法有待进一步提高。

本次研究结果显示, 治疗后, 两组心率、呼吸频率、APACHE II评分、IL-6、TNF- α 、CRP降低, 氧合指数增加。观察组心率、呼吸频率、APACHE II评分、IL-6、TNF- α 、CRP低于对照组, 氧合指数高于对照组, 腹痛消失时间、腹胀消失时间、腹膜刺激征消失时间早于对照组, 住院时间少于对照组, 说明早期床边血液滤过是治疗急性重症胰腺炎的有效方法, 可明显减轻机体内炎症反应, 改善临床症状, 缩短治疗时间和恢复时间, 提高治疗效果。分析如下: 血液滤过是通过机器(泵)或患者自身的血压, 使血液流经体外回路中的一个滤器, 在滤过压的作用下滤出大量液体和溶质, 即超滤液, 同时, 补充与血浆液体成分相似的电解质溶液, 即置换液, 以达到血液净化的目的。其意义在于, 血液滤过是治疗肾功能衰竭的一种完全有效的肾脏替代疗法, 有助于改善

急性重症胰腺炎患者的临床病症, 同时能保证机体内环境稳定。

血液滤过模仿肾单位的滤过重吸收原理设计, 将患者的动脉血液引入具有良好的通透性血液滤过并与肾小球滤过膜面积相当的半透膜滤过器中, 当血液通过滤器时, 血浆内的水分就被滤出(类似肾小球滤过), 以达到清除滞留于血中过多的水分和溶质的治疗目的。由于流经滤过器的血流仅有200-300 mL/min(只占肾血流量的1/6-1/4), 故单独依靠动脉血压不可能滤出足够的液量, 需在动脉端用泵加压, 以及在半透膜对侧由负压泵造成一定的跨膜压, 一般限制在66.66 kPa(500 mmHg)以内, 使流过滤器的血浆液体有35%-45%被滤过, 滤过率达到60-90 mL/min(约为肾小球滤过率的1/2-3/4)。血液滤过率的大小取决于滤过膜的面积、跨膜压、筛过系数(某物质筛过系数=滤过中某物质的浓度/血液中某物质的浓度)和血流量, 每次血滤总的滤液量需达到20 L左右才能达到较好的治疗效果, 为了补偿被滤出的液体和电解质, 保持机体内环境的平衡, 需要在滤器后(前)补回相应的液量和电解质以代替肾小管的重吸收功能。

不同于血液透析, 血液滤过模仿正常肾小球清除溶质原理, 以对流的方式滤过血液中的水分和溶质, 其清除率与分子量大小无关, 对肌酐和菊粉的清除率均为100-120 mL/min。故血滤在清除中分子物质方面优于血透, 与正常人肾小球相似, 能及时有效清除体内有害物质, 改善患者内环境, 维持胰腺功能^[13-15]。

总之, 早期床边血液滤过治疗急性重症胰腺炎的疗效显著, 有助于改善患者预后, 值得临床推广使用。但此次研究也存在一定的弊端, 样本量较少, 需要进一步扩大样本量再进行探讨, 观察时间较短, 仍需进一步延长在进行研究。

参考文献

- Peng T, Dong LM, Zhao X, Xiong JX, Zhou F, Tao J, Cui J, Yang ZY. Minimally invasive percutaneous catheter drainage versus open laparotomy with temporary closure for treatment of abdominal compartment syndrome in patients with early-stage severe acute pancreatitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2016; 36: 99-105 [PMID: 26838748 DOI: 10.1007/s11596-016-1549-z]
- 王冬, 李勇. 急性重症胰腺炎肝损害的机制及诊治进展. *河北医药* 2011; 33: 420-422
- 漆嘉梨, 魏正强, 刘劲松, 李胜发. 血液滤过对重症

- 胰腺炎患者血常规及生化检测的影响. 重庆医学 2011; 40: 545-546, 549
- 4 余俊红, 张俊文. EST、ENBD联合持续血液滤过治疗重度急性胰腺炎的临床分析. 重庆医学 2014; 43: 2300-2302
 - 5 中华医学会消化病分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南. 中华胰腺病杂志 2013; 13: 73-78
 - 6 郑吉敏, 高俊茶, 赵红伟, 王玉珍. 四种评分系统对急性胰腺炎预后评估价值的比较. 天津医药 2015; 43: 217-220
 - 7 张晏昶. 急性重症胰腺炎53例临床分析. 当代医学 2011; 17: 43-44
 - 8 耿小平. 急性重症胰腺炎的规范化与个体化治疗. 肝胆外科杂志 2011; 19: 241-243
 - 9 游红勇, 陈智敏, 白燕, 杜成友, 陈开全. 急性重症胰腺炎患者血脂水平变化及预后不良的危险因素分析. 广西医学 2014; 36: 905-907
 - 10 李强, 赵建娟, 朱曦, 么改琦. 急性重症胰腺炎患者死亡预后因素临床分析. 中国微创外科杂志 2010; 10: 816-818
 - 11 杨新静, 王俊, 付建红, 李娜, 徐华, 金钧. 老年重症急性胰腺炎的病因及严重程度的早期评估. 中国急救医学 2012; 32: 782-785
 - 12 黄文福, 周和平, 马德亮, 李贤福. 重症急性胰腺炎104例病因与临床特征的关系分析. 武警医学 2010; 21: 623-624
 - 13 杨春波, 于湘友. 连续静-静脉血液滤过在重症急性胰腺炎治疗中的研究进展. 中国全科医学 2010; 13: 2662-2663
 - 14 杨小波. 血液灌流联合血液滤过治疗重症急性胰腺炎. 中国中西医结合急救杂志 2011; 18: 35-37
 - 15 徐智会, 张文军. 应用持续血液滤过加血液灌流早期治疗急性重症胰腺炎患者的临床效果. 国际移植与血液净化杂志 2014; 12: 19-21

同行评价

本文研究在有限的样本量内, 设计了较为严谨的临床研究, 证实早期床边血滤+常规治疗急重症胰腺炎优于单纯常规治疗, 研究结论具有一定的临床指导意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能Vmax, 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*-methylethanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分, 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。

急性重症胰腺炎合并腹腔高压时压力监测的临床价值及预后影响因素

朱晓雯, 汤展宏, 潘光栋

■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是严重的全身性炎症性疾病, 死亡率高。多数文献只局限于腹内压对SAP的诊断价值, 具有局限性。近年来炎症反应对疾病的影响得到充分认识, 将腹内压和炎症指标、全身评分相结合, 可能会提高对SAP腹内高压的早期诊断和预后判断价值。

朱晓雯, 潘光栋, 柳州市人民医院重症医学科 广西壮族自治区柳州市 545006

汤展宏, 广西医科大学第一附属医院重症医学科 广西壮族自治区南宁市 530021

朱晓雯, 主治医师, 主要从事重症医学, 尤其是外科重症的监护与治疗研究。

广西壮族自治区自然科学基金资助项目, No. 桂科自0832276

作者贡献分布: 朱晓雯负责课题设计与组织撰写论文; 汤展宏负责资料收集与数据分析统计; 潘光栋负责课题总协调组织、数据分析。

通讯作者: 潘光栋, 主任医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院重症医学科。pgd hx@126.com 电话: 0772-2662012

收稿日期: 2015-12-22
修回日期: 2016-03-03
接受日期: 2016-03-08
在线出版日期: 2016-04-08

Clinical value of intra-abdominal pressure monitoring and prognosis in severe acute pancreatitis patients with intra-abdominal hypertension

Xiao-Wen Zhu, Zhan-Hong Tang, Guang-Dong Pan

Xiao-Wen Zhu, Guang-Dong Pan, Intensive Care Unit, Hospital of Liuzhou City, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Zhan-Hong Tang, Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi

Zhuang Autonomous Region, No. 0832276

Correspondence to: Guang-Dong Pan, Chief Physician, Intensive Care Unit, Hospital of Liuzhou City, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. pgd hx@126.com

Received: 2015-12-22
Revised: 2016-03-03
Accepted: 2016-03-08
Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To assess the clinical value of intra-abdominal pressure monitoring in severe acute pancreatitis patients with intra-abdominal hypertension (IAH).

METHODS: Clinical data for 30 patients with severe acute pancreatitis and intra-abdominal hypertension were analyzed retrospectively, including the relation of intra-abdominal pressure with abdominal perfusion pressure, blood lactic acid, C-reaction protein (CRP), acute physiology and chronic health evaluation II score (APACHE II), days in intensive care unit, number of affected organs, and risk factors for prognosis.

RESULTS: Abdominal perfusion pressure (APP) was negatively correlated with intra-abdominal pressure (IAP) pre- and post-treatment. IAP was positively correlated with blood lactic acid (BLA), CRP, APACHE II, days in ICU, and number of affected organs ($P < 0.05$). IAP was negatively correlated with prognosis ($P < 0.05$). IAP, APACHE II, and number of affected organs were independent risk factors for prognosis in severe acute

■同行评议者

黄坚, 副主任医师, 苏州大学附属第一医院急诊科; 孙昀, 副主任医师, 安徽医科大学第二附属医院重症医学科

pancreatitis patients with IAH.

CONCLUSION: IAP, APACHE II, and number of affected organs are independent risk factors for prognosis in severe acute pancreatitis patients with IAH.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Intra-abdominal hypertension; Intra-abdominal pressure

Zhu XW, Tang ZH, Pan GD. Clinical value of intra-abdominal pressure monitoring and prognosis in severe acute pancreatitis patients with intra-abdominal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1602-1607 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1602>

摘要

目的: 探讨重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)合并腹腔高压(intra-abdominal hypertension, IAH)时压力监测的临床价值。

方法: 收集2013-06/2014-12广西医科大学第一附院及柳州市人民医院重症医学科收治的30例SAP合并IAH患者临床资料, 回顾分析腹腔压力与腹腔灌注压、动脉血乳酸水平、C-反应蛋白(C-reaction protein, CRP)、急性生理和慢性健康状态评分系统II(acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II)、住重症监护病房(intensive care unit, ICU)天数、器官功能损害个数及预后的关系。

结果: 治疗前后IAP与腹腔灌注压(abdominal perfusion pressure, APP)呈负相关, 与血乳酸(blood lactic acid, BLA)、CRP、APACHE II评分、住ICU天数、器官损害个数呈正相关($P<0.05$); (2)IAP与患者预后呈负相关($P<0.05$), IAP、APACHE II评分、器官功能损害个数是影响SAP合并IAH预后的独立危险因素。

结论: 腹内压进行性升高是重症急性胰腺炎合并腹腔高压的主要特点。IAP、APACHE II评分、器官功能损害个数是影响SAP合并IAH预后的独立危险因素。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 腹腔高压; 腹内压

核心提示: 将腹内压与其他炎症指标和全身情况评分相结合, 建立多因素回归分析模型, 能提高预测急性重症胰腺炎发生腹腔高压/腹室间隔综合征的价值。腹内压、急性生理和慢性健康状态评分系统II评分、器官损害个数是影响患者预后的独立危险因素。

朱晓雯, 汤展宏, 潘光栋. 急性重症胰腺炎合并腹腔高压时压力监测的临床价值及预后影响因素. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1602-1607 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1602>

0 引言

目前临床上在急性胰腺炎的诊断与治疗存在许多困难, 特别是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)合并腹腔高压(intra-abdominal hypertension, IAH)/腹腔间隙综合征(abdominal compartment syndrome, ACS)的监测和早期诊断。SAP合并IAH的发病机制复杂, 病死率高, 也是临床实践中的难题。本研究针对以上问题, 探讨SAP合并IAH的综合监测和早期诊断, 分析影响其预后的危险因素, 以期指导SAP合并IAH的早期诊断, 改善预后。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-06/2014-12广西医科大学第一附院及柳州市人民医院重症医学科收治的30例SAP合并IAH患者临床资料, 其中男22例, 女8例, 年龄18-78岁(47.6岁 \pm 6.2岁), 其中胆源性胰腺炎4例(13.3%), 创伤性胰腺炎3例(10.0%), 狼疮相关性胰腺炎1例(3.3%), 特发性胰腺炎22例(73.3%)。SAP诊断参考2012年亚特兰大共识修订版^[1], 即具备急性胰腺炎的临床表现和生化改变, 且具有下列之一者: 局部并发症(胰腺坏死、假性囊肿、胰腺脓肿); 器官衰竭; Ranson评分 ≥ 3 分; 急性生理和慢性健康状态评分系统II(acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II) ≥ 8 分; CT分级为D、E。IAH诊断按照《腹内高压和腹腔间隙综合征定义共识及临床实践指南的更新(2013版)》^[2], 即腹腔压力(intra-abdominal pressure, IAP)出现持续或反复病理性升高 >12 mmHg。30例患者中于起病1 wk

■ 研究前沿

如何早期诊断SAP腹内高压并及时干预是改善预后的关键, 但干预时机的选择取决于局部炎症、全身反应、一般情况等个体化因素。目前研究重点是如何将局部炎症和全身情况结合提高预测价值, 指导个体化治疗。

■ 相关报道

近年来对于腹内高压对SAP的诊治价值报道较多, 侧重临床干预的时机探讨. 联合腹内高压和炎症指标及全身情况评分以提高预测价值、指导个体化治疗的文献不多.

内出现IAH 18例, 12例为起病1 wk后出现IAH. IAH I级6例、II级17例、III级5例、IV级2例.

1.2 方法

1.2.1 治疗方案选择: 在一般治疗的基础上, 胆源性胰腺炎伴黄疸者行经内镜鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)、经皮经肝胆囊穿刺造瘘术(percutaneous transhepatic gallbladder catheterizing drainage, PTGCD), 或经皮肝胆道穿刺术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)降低胆道压力. 有手术指征^[3]者采取积极手术治疗, 手术指征包括: (1)暴发性胰腺炎; (2)体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$, WBC $\geq 12 \times 10^9/\text{L}$ 和腹膜刺激征范围 >2 象限者, 或CT上出现气泡征, 或细针穿刺抽吸物涂片找到细菌或培养细菌阳性, 证实有感染者; (3)经正规的非手术治疗 >24 h病情无好转者; (4)IAP >27.2 cmH₂O伴ACS, 经非手术治疗无改善或腹膜后出血、血肿.

1.2.2 非手术治疗方案: (1)体位: 取平卧位或侧卧位, 床头抬高 30° ; (2)胃肠减压、硫酸镁导泻、复方硫酸镁溶液灌肠治疗; (3)液体复苏: 给予高渗晶体和胶体补液, 严密监测补液量, 定时测定中心静脉压(central venous pressure, CVP)、尿量; (4)早期使用强有力的抗生素抗感染, 生长抑素抑制胃肠腺体分泌, 质子泵抑制剂保护胃肠黏膜, 减少胃酸分泌, 乌司他丁减轻应激反应等; (5)B超或CT引导下经皮腹腔穿刺插管引流、降低腹压治疗; (6)出现多器官功能障碍综合征(multiple organs dysfunction syndrome, MODS)时, 使用机械通气、血液滤过、人工肝等支持治疗.

1.2.3 手术治疗方案: 清除感染坏死病灶, 局部放置引流管通畅引流, 营养性空肠造瘘. 一期缝合腹部切口患者术后持续进行腹腔灌洗. 对于术后仍存在IAH危险因素患者采用延迟性腹腔关闭技术关腹, 即将疝补片缝合于切口边缘, 表面再覆盖无菌纱布及三升袋外膜, 以增加腹腔容量, 降低术后腹腔压力, 同时有利于术后反复、有计划再次手术清除腹腔坏死病灶, 待患者病情稳定, 腹腔内炎症控制, 胃肠蠕动恢复, 腹内压力接近正常范围, 再次手术关闭腹壁切口, 恢复腹腔密闭性. 胆源性胰腺炎合并胆道梗阻者经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)、PTGCD、PTCD治疗无效者, 行胆囊切除或造

瘘、胆总管切开取石、T管引流术^[4].

1.2.4 观察指标: 治疗过程中监测患者IAP、腹腔灌注压(abdominal perfusion pressure, APP)(平均动脉压-腹内压)、血乳酸(blood lactic acid, BLA)、C-反应蛋白(C-reaction protein, CRP)、急性生理和慢性健康状态评分系统II(acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II)^[4,5]、ICU住院天数、转归、器官损害个数等. 选取治疗前及治疗后1、3、7 d上述指标进行相关统计学分析. 研究腹内压力与重症胰腺炎患者相关临床理化指标、评分及预后的关系. IAP测定采用膀胱测压法.

统计学处理 统计学分析采用SPSS18.0统计软件. 采用前后配对样本比较的Wilcoxon符号秩和检验统计患者治疗前后IAP、相关临床理化指标、APACHE II评分表达差异. Pearson相关系数分析IAP与APP、BLA、CRP、APACHE II评分、器官损害个数、ICU住院天数的相关性. 联合应用患者入院时APACHE II评分、前述临床理化指标、IAH发生前APACHE II评分建立Logistic多因素回归, 分析影响SAP患者近期预后的危险因素. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗结果及预后 30例SAP合并IAH患者中, 1例行胆总管切开取石、胆囊切除、T管引流术, 2例行胆囊穿刺造瘘, 微创穿刺双套管冲洗引流4例, 均痊愈. 开腹胰腺坏死组织清除引流13例, 其中5例行一次手术胰腺坏死组织清除引流, 4例顺利恢复, 死亡1例; 4例因胰腺坏死严重行多次手术清除坏死组织, 死亡2例; 4例手术患者因关腹时腹腔压力过高、关腹困难, 初次手术行临时性关腹, 术后1 wk后二次手术关闭腹腔, 死亡3例. 内科保守治疗10例, 死亡4例. 经积极手术及非手术治疗, 30例SAP合并IAH患者20例(66.7%)治愈出院, 10例未愈死亡(33.33%).

2.2 IAP与临床理化指标相关性分析 患者治疗前后IAP与APP呈负相关, 与BLA、CRP、ICU天数、器官损害个数、APACHE II评分呈正相关($P<0.05$)(表1).

2.3 治疗前后患者腹腔压力变化、临床理化指标及相关评分改善情况 治愈患者治疗后

表 1 治疗前、后腹腔压力变化与临床理化指标、APACHE II 评分关系

时间	APP	BLA	CRP	ICU天数	器官损害个数	APACHE II 评分
治疗前						
r值	0.762	0.809	0.340	0.258	0.171	0.658
P值	0.058	0.046	0.180	0.024	0.0257	0.008
治疗后3 d						
r值	0.487	0.313	0.314	0.436	0.210	0.557
P值	0.013	0.019	0.009	0.014	0.024	0.011
治疗后7 d						
r值	0.420	0.134	0.329	0.922	0.182	0.083
P值	0.026	0.048	0.018	0.019	0.026	0.041

APP: 腹腔灌注压; BLA: 血乳酸; CRP: C-反应蛋白; APACHE II: 急性生理和慢性健康状态评分系统 II; ICU: 重症监护病房.

表 2 SAP患者治疗前后腹腔压力变化与临床理化指标关系 (mean ± SD)

项目	IAP(cmH ₂ O)	APP(mmHg)	BLA(mmol/L)	CRP(mg/L)	APACHE II
治愈患者					
治疗前	18.4 ± 5.8	66.6 ± 4.6	3.4 ± 2.9	172.2 ± 99.8	14.9 ± 9.4
治疗后	12.7 ± 4.1	77.9 ± 18.1	2.7 ± 2.2	130.1 ± 71.6	8.0 ± 2.2
P值	0.041	0.000	0.006	0.015	0.001
未愈患者					
治疗前	19.2 ± 9.1	58.2 ± 3.08	3.68 ± 2.7	156.4 ± 100.5	23.5 ± 11.7
治疗后	16.5 ± 4.6	54.8 ± 2.7	4.1 ± 1.9	160.1 ± 116.9	24.0 ± 12.3
P值	0.048	0.088	0.054	0.169	0.059

SAP: 重症急性胰腺炎; IAP: 腹腔压力; APP: 腹腔灌注压; BLA: 血乳酸; CRP: C反应蛋白; APACHE II 评分: 急性生理和慢性健康状态评分系统 II. P值为治疗前后比较.

表 3 Logistic多因素回归分析模型筛选患者预后影响因素及参数评估

变量	bj	sbj	P值	OR	95%可信区间	
					上限	下限
IAP	0.6325	0.1561	0.016	1.28	0.2011	1.8754
APACHE II	0.9834	0.2514	0.004	2.15	0.3786	1.7635
受损器官数	0.5517	0.1184	0.027	1.44	0.4314	1.8715

IAP: 腹腔压力; APACHE II: 急性生理和慢性健康状态评分系统 II; bj: 回归系数; sbj: 标准误; OR: 优势比.

IAP、APP、BLA、CRP等临床理化指标、APACHE II 评分均得到明显改善($P<0.05$). 未愈患者治疗前后相关临床理化指标及评分改善趋势不明显($P>0.05$)(表2).

2.4 SAP患者预后影响因素分析 IAP、APACHE II 评分、器官损害个数是影响患者SAP合并IAH近期死亡的危险因素, 而APP、BLA、CRP、ICU天数的影响差异无统计学意义

($P>0.05$)(表3).

3 讨论

IAH的原因较多, 包括重症胰腺炎、严重腹部创伤、腹膜后血肿、肠梗阻、严重腹腔感染等, 其中以SAP较为常见, 由于重症胰腺炎病程长、病情迁延反复的特点, SAP合并IAH往往预后不良, 若不及时处理, 容易发展为ACS,

■ 创新盘点

将SAP腹内压监测和全身炎症反应指标、全身情况评分结合, 建立多因素回归分析模型, 腹内高压、急性生理和慢性健康状态评分系统 II (acute physiology and chronic health evaluation II score, APACHE II)评分、器官损害个数是影响患者预后的独立危险因素.

■应用要点

腹内压、APACHE II 评分、器官损害个数是影响 SAP 患者预后的独立危险因素。临床实践中重视腹内压的监测, 警惕全身情况和器官功能损害的序贯发生, 将对 SAP 腹内高压的及时正确干预有指导作用。

死亡率更高, 是临床实践中较为棘手的课题。文献报道, 对于 SAP 合并 IAH 的早期诊断、及时干预可以改善预后^[6]。随着微创技术的发展, SAP 的个性化治疗、早期引流, 对于预防 IAH 的发生和加重具有重要意义^[7]。

IAH 是一类由于腹内压病理性、进行性或反复升高而影响内脏血流及器官功能所形成的病理过程, SAP 是 IAH 的主要发病因素之一^[8-10]。

SAP 具备所有潜在的导致腹腔内压力升高的条件。SAP 导致 IAH 的病理生理机制并不复杂, 但呈进行性、恶性循环样进展, 容易导致脏器及组织的不可逆损害, 尽早行腹腔减压引流, 及时阻断腹内压的持续升高, 可以提高重症胰腺炎合并腹腔间隔综合征患者的生存率^[7]。本组有 4 例早期行微创穿刺引流减压, 2 例行胆囊穿刺造瘘, 均痊愈, 另 8 例因为腹内压高、坏死组织多, 多次手术或采用延迟关腹, 其中 3 例死于严重感染和多器官功能衰竭。因此, 在 SAP 出现腹内高压时微创穿刺引流是较好的选择, 可以减轻对机体的打击。但是, 对于胰腺坏死严重, 穿刺难以畅通引流者, 必须选择开腹手术。

IAH 是指腹内压力的持续或反复升高 >12 mmHg。腹内压监测是诊断 IAH 的主要手段, 同时可以指导治疗 IAH, 腹内压是临床诊断、治疗疾病及判断预后的重要生理学参数之一^[11,12]。腹内压与 SAP 的预后密切相关。有作者采用系统评价方法, 比较不同腹内压水平对 ACS 患者预后的影响, 结果显示, 高 IAP 组病死率为 21.63%, 低 IAP 组病死率为 6.18%, 两组比较差异有统计学意义, 提示降低 IAP 可以降低 ACS 的病死率^[13]。因此, 腹腔内压的监测对于 IAH/ACS 的早期诊断具有重要意义。本组 I、II 级 23 例, 占 76.6%, 早期诊断得益于腹内压的持续监测。

SAP 的本质是严重的全身炎症, 一些重要的炎症指标会随着病情的变化、病程的进展而表现异常, 常见的炎症指标包括乳酸、CRP、白介素-6 等^[14]。评价 SAP 的常用评分如 APACHE II 评分、MODS 评分, Ranson 评分等也是全身情况的综合反应。如果将腹内压变化与临床理化指标和 APACHE II 评分、MODS 评分, Ranson 评分等相结合, 可能会提高其监测价值和意义。我们的研究表明, 患者治疗前后的 IAP 与 APP 呈负相关, 与 BLA、CRP、住

ICU 天数、器官损害个数、APACHE II 评分呈正相关 ($P < 0.05$)。治愈患者治疗后 IAP、APP、BLA、CRP 等临床理化指标、APACHE II 评分均得到明显改善, 统计学分析治疗前后上述指标存在显著性差异 ($P < 0.05$)。而未愈患者(恶化或无好转)患者治疗前后相关临床理化指标及评分改善趋势不明显 ($P > 0.05$)。说明上述指标及评分改善对于患者预后可能存在重要影响。

为了进一步了解、判断上述指标对预后的影响, 本研究联合应用患者入院时 APACHE II 评分、上述理化指标建立了 Logistic 多因素回归分析模型。结果显示, IAP、APACHE II 评分、器官损害个数是影响患者 SAP 预后的独立危险因素, 说明及时控制 IAP、防止多个器官功能损害能改善 SAP 的预后。而 APP、CRP、BLA、住 ICU 天数等临床指标在本研究中不具有统计学意义, 可能与上述指标易受其他因素影响及样本量偏小有关。

总之, SAP 合并 IAH 的主要临床特点是进行性升高的腹内压导致腹腔灌注压降低, 继发多器官功能损害和全身炎症反应。控制 IAH 是改善其全身炎症及脏器功能的关键。腹内压、APACHE II 评分、器官损害个数是影响患者预后的独立危险因素。

4 参考文献

- 1 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
- 2 何颜霞. 腹内高压和腹腔间隙综合征定义共识及临床实践指南的更新(2013版)简介. *中国小儿急救医学* 2014; 21: 482-485
- 3 赵玉沛, 陆君阳, 张太平. 重症胰腺炎外科治疗进展. *临床外科杂志* 2009; 17: 6-7
- 4 刘翔峰, 钟德忤. 以缓解腹腔间隔室综合征为主个体化治疗暴发性胰腺炎 16 例体会. *中国医生杂志* 2004; 6: 976-977
- 5 王东旭, 林连捷, 郑长青. 急性胰腺炎的评分系统. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 880-885
- 6 李幼生, 尹健一. 急性胰腺炎并发腹腔高压和腹腔间隔室综合征的早期诊断与合理治疗. *腹部外科* 2013; 26: 151-152
- 7 詹苏东, 彭涛, 陶京. 早期腹腔穿刺引流治疗重症急性胰腺炎. *中华普通外科杂志* 2012; 27: 717-720
- 8 贾林, 陈奕金. WSACS 关于腹腔间隔室综合征诊治的共识意见. *中国急诊医学杂志* 2009; 18: 443-444
- 9 Szentkereszty Z, Csiszkó A. [Abdominal compartment syndrome in severe acute pancreatitis -- literature review]. *Magy Seb* 2012; 65: 9-13 [PMID: 22343100 DOI: 10.1556/MaSeb.65.2012.1.2]

- 10 Robin-Lersundi A, Abella Álvarez A, Cruz Cidoncha A, López-Monclús J, Gordo Vidal F, García-Ureña MA. [Severe acute pancreatitis and abdominal compartment syndrome: treatment in the form of decompressive laparotomy and temporary abdominal closure with a expanded polytetrafluoroethylene mesh]. *Med Intensiva* 2013; 37: 301-302 [PMID: 23062627 DOI: 10.1016/j.medint.2012.08.011]
- 11 侯平志, 吕林丽. 急性重症胰腺炎并发腹腔间隔室综合征的早期监测和护理. *邵阳医学院学报* 2010; 29: 286-287
- 12 Ivy ME, Atweh NA, Palmer J, Possenti PP, Pineau M, D'Aiuto M. Intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in burn patients. *J Trauma* 2000; 49: 387-391 [PMID: 11003313]
- 13 Ke L, Ni HB, Tong ZH, Li WQ, Li N, Li JS. The importance of timing of decompression in severe acute pancreatitis combined with abdominal compartment syndrome. *J Trauma Acute Care Surg* 2013; 74: 1060-1066 [PMID: 23511145 DOI: 10.1097/TA.0b013e318283d927]
- 14 王晓源, 刘振, 潘光栋, 吕光宇, 韦茵, 蔡天斌. 重症急性胰腺炎合并腹腔间隔室综合征23例诊治分析. *中国医师杂志* 2014; 16: 364-367

同行评价

本文探讨了SAP合并腹腔高压对患者临床指标的影响并对影响因素进行分析, 对SAP的临床监测与治疗有一定的指导意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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; 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. 如马连生^[1]报告……, 研究^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6,7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所参考文献必须以近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.

奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿幽门螺杆菌感染的根除效果评价

熊真

背景资料

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 是消化性溃疡的致病因素之一, 感染 *H. pylori* 后, 机体胃黏膜损害性因素与保护性因素比例失衡, 出现保护性因素降低和损害性因素增强, 最终诱发溃疡。对此病采用奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法予以治疗进行简单扼要的分析。

熊真, 湖北省黄梅县骨科医院消化内科 湖北省黄梅县 435500

熊真, 副主任医师, 主要从事消化内科方面的研究。

作者贡献分布: 课题的设计、研究过程、试剂的提供、数据分析及论文写作等均由熊真完成。

通讯作者: 熊真, 副主任医师, 435500, 湖北省黄梅县四祖路182号, 湖北省黄梅县骨科医院消化内科。1023211712@qq.com
 电话: 0713-3320997

收稿日期: 2016-01-29

修回日期: 2016-02-25

接受日期: 2016-02-29

在线出版日期: 2016-04-08

Clinical effects of triple therapy with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin in children with *Helicobacter pylori* infection

Zhen Xiong

Zhen Xiong, Department of Gastroenterology, Huangmei Orthopedics Hospital, Huangmei 435500, Hubei Province, China

Correspondence to: Zhen Xiong, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huangmei Orthopedics Hospital, 182 Sizuo Road, Huangmei 435500, Hubei Province, China. 1023211712@qq.com

Received: 2016-01-29

Revised: 2016-02-25

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

同行评议者

王莉, 主任医师,
 海南省农垦总医院病理科

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of triple therapy

with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin for eradication of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in children.

METHODS: One hundred and twenty-six children with *H. pylori* infection treated from November 2012 to November 2015 at our hospital were randomly divided into two groups: a control group and an observation group, with 63 cases in each group. The control group underwent triple therapy with lansoprazole, clarithromycin and amoxicillin, and the observation group underwent triple therapy with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin. Clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: After treatment, scores of somatic symptoms (somatization, interpersonal sensitivity, obsession-compulsion, anxiety, depression, paranoia, terror, hostility, psychoticism) were significantly reduced in both groups ($P < 0.05$). Scores of somatic symptoms, mucosal inflammation rate, and incidence of adverse reactions were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). Times to disappearance of abdominal pain, acid reflux, and burning sensation were significantly shorter in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The total response rate, *H. pylori* eradication rate, and ulcer healing rate were significantly higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Triple therapy with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin for eradication

of *H. pylori* in children is effective and can significantly improve symptoms and cure rates.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Omeprazole; Clarithromycin; Amoxicillin; *Helicobacter pylori*

Xiong Z. Clinical effects of triple therapy with omeprazole, clarithromycin and amoxicillin in children with *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1608-1612 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1608.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1608>

摘要

目的: 探讨奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的根除效果。

方法: 选取湖北省黄梅县骨科医院2012-11/2015-11诊治的小儿*H. pylori*患者126例, 采用随机数字表法分为两组, 对照组患儿63例采用兰索拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗, 观察组患儿63例采用奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗, 比较两组患儿*H. pylori*的根除效果。

结果: 治疗后, 两组患儿躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)均显著降低($P<0.05$)。观察组患儿躯体症状评分、黏膜炎症率、不良反应发生率均明显低于对照组($P<0.05$)。观察组患儿腹痛消失时间、反酸消失时间、灼烧感消失时间均明显早于对照组($P<0.05$)。观察组患儿治疗总有效率、*H. pylori*根除率、溃疡愈合率均明显高于对照组($P<0.05$)。

结论: 奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿*H. pylori*感染的根除效果显著, 可明显改善患儿病症, 提高治愈率, 值得临床推广应用。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 奥美拉唑; 克拉霉素; 阿莫西林; 幽门螺杆菌

核心提示: 本文运用奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的根除效果进行了研究,

结果显示, 三联疗法对小儿*H. pylori*感染的根除效果显著, 可明显改善患儿病症, 有较好的临床价值。

熊真. 奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿幽门螺杆菌感染的根除效果评价. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1608-1612 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1608.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1608>

0 引言

近年来, 随着饮食结构的改变, 各种消化性溃疡疾病频发^[1,2], 严重影响着公众的身体健康。儿童身体发育尚不健全, 更易成为各种消化性溃疡疾病的高发人群, 不同于成年人, 考虑到用药问题及不良反应, 其治疗难度较大。诸多研究^[3,4]显示, 各种消化性溃疡疾病的发生、发展与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染密切相关。因而治疗时, 除根除*H. pylori*, 才能达到治愈的效果。但临床不同的用药方案, 取得的治疗效果是不同的。如何提高临床治疗效果的同时, 降低不良反应, 提高用药安全性, 成为了临床医生关心的热点问题。此次研究对63例小儿*H. pylori*患者实施奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗, 效果显著, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 黄梅县骨科医院2012-11/2015-11诊治的小儿*H. pylori*感染者126例, 经胃镜检查可见溃疡, 经病理活检证实为*H. pylori*感染, 排除患有器质性疾病、免疫系统疾病、血液系统疾病、精神疾病、过敏体质的患儿。采用随机数字表法分为两组, 对照组小儿感染者63例, 男39例, 女24例, 年龄为6-11岁, 平均年龄为8.9岁±1.5岁, 病程为2-17 mo, 平均病程为8.1 mo±2.9 mo。观察组小儿感染者63例, 男37例, 女26例, 年龄为6-11岁, 平均年龄为8.7岁±1.4岁, 病程为2-16 mo, 平均病程为8.0 mo±2.5 mo。两组患儿性别、年龄、病程比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。此次研究已取得患儿及家属同意, 签订知情同意书, 经医院伦理委员会通过。兰索拉唑, 江苏康缘药业股份有限公司生产, 国药准字H20067606, 规格15 mg; 克拉霉素, 浙江震元制药有限公司生产, 国药准字H20058305, 规格250 mg; 阿莫西林,

■ 研究前沿

唐国廷研究结果显示, 奥美拉唑三联疗法是一种有效、短程、依从性好、不良反应小的根除*H. pylori*的方案。郑松柏, 保志军等研究结果显示, 艾司奥美拉唑、克拉霉素, 阿莫西林三联疗法并后续联合法莫替丁进行3 wk的治疗, 是*H. pylori*阳性活动性十二指肠溃疡最有效的选择之一。

■ 创新亮点

本文应用奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿*H. pylori*感染进行治疗具有重要的临床意义, 不仅对疗效及不良反应等进行了研究, 更对患儿的躯体症状评分进行分析。

表 1 两组患儿躯体症状评分比较 ($n = 63$, mean \pm SD, 分)

躯体症状评分	对照组				观察组			
	治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
躯体化	41.2 \pm 2.5	23.6 \pm 1.4	10.826	0.000	41.0 \pm 3.1	17.5 \pm 1.3 ^a	17.118	0.000
人际敏感	32.0 \pm 1.7	18.2 \pm 1.0	10.778	0.000	31.9 \pm 1.6	13.2 \pm 1.1 ^a	16.846	0.000
强迫	36.7 \pm 2.1	23.1 \pm 0.9	8.652	0.000	36.5 \pm 1.9	18.4 \pm 0.8 ^a	13.952	0.000
焦虑	35.4 \pm 1.6	20.8 \pm 1.2	10.529	0.000	35.2 \pm 1.3	14.6 \pm 0.7 ^a	18.640	0.000
抑郁	47.1 \pm 3.2	31.2 \pm 1.7	8.161	0.000	46.9 \pm 2.7	25.4 \pm 2.0 ^a	11.475	0.000
偏执	25.6 \pm 1.8	16.5 \pm 1.1	8.725	0.000	25.4 \pm 1.2	11.8 \pm 1.4 ^a	15.727	0.000
恐怖	26.2 \pm 2.1	19.7 \pm 1.5	6.684	0.000	26.3 \pm 2.4	13.7 \pm 1.6 ^a	13.206	0.000
敌对	27.9 \pm 2.0	18.2 \pm 1.4	8.032	0.000	27.6 \pm 1.8	14.6 \pm 1.7 ^a	12.289	0.000
精神	40.2 \pm 1.3	22.6 \pm 1.9	11.183	0.000	39.9 \pm 1.5	17.8 \pm 1.2 ^a	15.941	0.000

^a*P* < 0.05 vs 对照组。

哈药集团制药总厂生产, 国药准字H23020932, 规格250 mg; 奥美拉唑, 国药集团工业有限公司生产, 国药准字H20094110, 规格20 mg。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患儿采用兰索拉唑、克拉霉素、阿莫西林三联疗法治疗, 用药方案如下: 饭前30 min口服兰索拉唑15 mg, 克拉霉素500 mg, 阿莫西林1000 mg, 早晚各服用1次, 用药1 wk为1疗程, 持续治疗2疗程。观察组患儿采用奥美拉唑、克拉霉素、阿莫西林三联疗法治疗, 用药方案如下: 饭前30 min口服奥美拉唑20 mg, 克拉霉素500 mg, 阿莫西林1000 mg, 早晚各服用1次, 用药1 wk为1疗程, 持续治疗2疗程。

1.2.2 *H. pylori*检测: 所有研究对象均在治疗前进行胃镜检查, 且取两块胃窦部的黏膜, 其中一块予以快速尿素酶试验, 另外一块行病例组织学的Gi-ems染色, 检测*H. pylori*, 若两者均为阳性即为感染, 治疗完成后4-5 wk, 进行14-尿素呼气试验和胃镜复查, 结果为阴性的即为根除。

1.2.3 观察指标: 躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)、病症改善时间(腹痛消失时间、反酸消失时间、灼烧感消失时间)、临床疗效(治愈、显效、有效、无效、总有效)、*H. pylori*根除、溃疡愈合、黏膜炎症、不良反应(口苦、腹胀、恶心、便秘)。

1.2.4 评定标准: 躯体症状评分标准^[5]: 采用症状自评量表SCL-90评定, 包括躯体化(60分)、人际敏感(45分)、强迫(50分)、焦虑(50分)、

抑郁(65分)、偏执(30分)、恐怖(35分)、敌对(30分)、精神(50分), 分数越高, 病症越严重。

临床疗效标准^[6]: (1)治愈: 溃疡愈合, 原溃疡病变周围未见炎症反应; (2)显效: 溃疡愈合, 原溃疡病变周围有炎症反应; (3)有效: 溃疡面积缩小50%以上; (4)无效: 溃疡面积缩小不足50%。总有效 = 治愈+显效+有效。

统计学处理 应用SPSS16.0软件对数据进行统计学分析, 计量资料采用mean \pm SD表示和*t*检验, 计数资料采用率(%)表示和 χ^2 检验, 以*P* < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿躯体症状评分比较 治疗后, 两组患儿躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)均显著降低(*P* < 0.05)。观察组患儿躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)均明显低于对照组(*P* < 0.05)(表1)。

2.2 两组患儿病症改善时间比较 观察组患儿腹痛消失时间、反酸消失时间、灼烧感消失时间均明显早于对照组(*P* < 0.05)(表2)。

2.3 两组患儿临床疗效比较 观察组患儿治疗总有效率为98.4%, 对照组的有效率为88.9%, 两组比较具有统计学意义(*P* < 0.05)(表3)。

2.4 两组患儿*H. pylori*根除率比较 对照组患儿*H. pylori*根除率为63.5%(40例), 观察组的根除率为84.1%(63例), 组间比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 6.938$, *P* < 0.05)。

2.5 两组患儿不良反应比较 观察组患儿不良反

表 2 两组患儿病症改善时间比较 ($n = 63$, mean \pm SD, d)

分组	腹痛消失时间	反酸消失时间	灼烧感消失时间
对照组	3.4 \pm 0.6	2.9 \pm 0.5	3.8 \pm 0.7
观察组	2.0 \pm 0.3	1.8 \pm 0.4	2.4 \pm 0.5
t 值	10.136	9.112	8.833
P 值	0.000	0.000	0.000

应用要点

此次研究关键在于奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法对小儿 *H. pylori* 的根除效果的分析, 临床价值显著。

表 3 两组患儿临床疗效比较 ($n = 63$, $n(\%)$)

分组	治愈	显效	有效	无效	总有效
对照组	28(44.4)	18(28.6)	10(15.9)	7(11.1)	56(88.9)
观察组	45(71.4)	14(22.3)	3(4.8)	1(1.6)	62(98.4)
χ^2 值					4.805
P 值					0.028

表 4 两组患儿不良反应比较 ($n = 63$, $n(\%)$)

分组	口苦	腹胀	恶心	便秘	不良反应
对照组	3(4.8)	1(1.6)	3(4.8)	1(1.6)	8(12.7)
观察组	1(1.6)	0(0.0)	1(1.6)	0(0.0)	2(3.2)
χ^2 值					3.910
P 值					0.048

应发生率为3.2%, 明显低于对照组的12.7%, 且差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

消化性溃疡是临床常见的一种消化科疾病, 人群中的发病率约为5%-10%^[7,8]。诸多研究显示^[9,10], *H. pylori*是消化性溃疡的致病因素之一。感染 *H. pylori*后, 机体胃黏膜损害性因素与保护性因素比例失衡, 出现保护性因素降低和损害性因素增强, 最终诱发溃疡。因而临床治疗方案常以保护黏膜屏障、抑制胃酸分泌为主, 但不同的药物组合方案, 取得的治疗效果是有差别的, 此次研究选用了药物奥美拉唑、克拉霉素、阿莫西林, 分析如下。

奥美拉唑是一种能够有效地抑制胃酸的分泌的质子泵抑制剂^[11,12]。可选择性地作用于胃黏膜壁细胞, 抑制处于胃壁细胞顶端膜构成的分泌性微管和胞浆内的管状泡上的 H^+ - K^+ -ATP酶的活性, 从而有效地抑制胃酸的分泌。由于 H^+ - K^+ -ATP酶是壁细胞泌酸的最后一个过程, 故奥美拉唑的抑酸能力强大, 有强而持久的抑制基础胃酸及食物、五肽胃泌素所致

的胃酸分泌的作用。不仅能非竞争性抑制促胃液素、组胺、胆碱及食物、刺激迷走神经等引起的胃酸分泌, 而且能抑制不受胆碱或 H_2 受体阻断剂影响的部分基础胃酸分泌, 对 H_2 受体拮抗剂不能抑制的由二丁基环腺苷酸刺激引起的胃酸分泌也有强而持久的抑制作用。对胃蛋白酶分泌也有抑制作用, 对胃黏膜血流量改变不明显, 也不影响体温、胃腔温度、动脉血压、静脉血红蛋白、动脉氧分压、二氧化碳分压及动脉血pH, 因而认为其具有较高安全性。

克拉霉素是红霉素的一种衍生物, 属14元环大环内酯类抗生素, 其抗菌谱与红霉素、罗红霉素等相同^[13,14], 除对厌氧球菌具较强抗菌作用外, 对脆弱类杆菌的作用也非常好, 在酸性环境中具有良好的稳定性, 口服吸收效果好, 且半衰期较长, 抑制 *H. pylori* 的机制如下: 通过阻碍细胞核蛋白50S亚基的联结, 抑制蛋白质的合成而产生抑菌作用。

阿莫西林是一种最常用的半合成青霉素类广谱 β -内酰胺类抗生素^[15,16], 在酸性条件下很稳定, 胃肠道吸收率也可达90%。具有较强的杀菌作用, 可穿透细胞膜。作为半合成广谱

同行评价

本文使用奥美拉唑、克拉霉素及阿莫西林三联疗法根除 *H. pylori* 感染, 具有一定的临床意义。

青霉素类药, 其抗菌谱及抗菌活性与氨苄西林基本相同, 但其耐酸性较氨苄西林强, 其杀菌作用较后者强而迅速。阿莫西林杀菌作用强, 穿透细胞壁的能力也强。口服后药物分子中的内酰胺基立即水解生成肽键, 迅速和菌体内的转肽酶结合使之失活, 切断了菌体依靠转肽酶合成糖肽用来建造细胞壁的唯一途径, 使细菌细胞迅速成为球形体而破裂溶解, 菌体最终因细胞壁损失, 水分不断渗透而胀裂死亡。

本次研究结果显示, 治疗后, 两组患儿躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)均显著降低。观察组患儿躯体症状评分(躯体化、人际敏感、强迫、焦虑、抑郁、偏执、恐怖、敌对、精神)均明显低于对照组, 说明奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗小儿 *H. pylori* 感染, 可明显改善患儿病症。观察组患儿腹痛消失时间、反酸消失时间、灼烧感消失时间均明显早于对照组, 说明奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法优于兰索拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法, 可明显缩短患儿的临床治疗时间, 有助于改善患儿预后。

观察组患儿治疗总有效率明显高于对照组, 说明奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗小儿 *H. pylori* 感染的效果显著。观察组患儿 *H. pylori* 根除率明显高于对照组, 说明奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗小儿 *H. pylori* 感染, 可有效根除 *H. pylori*, 达到治疗疾病的目的。观察组患儿不良反应发生率明显低于对照组, 说明奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法治疗小儿 *H. pylori* 感染是安全有效的, 不会引发过多不良反应, 具有较高安全性, 值得临床推广使用。但此次研究也存在一定的弊端, 样本量较少, 仍需要进一步扩大样本量再进行研究。观察时间较短, 仍需要进一步延长观察时间再进行探讨。奥美拉唑克拉霉素阿莫西林三联疗法是否为小儿 *H. pylori* 感染的最佳根除方案, 仍有待进一步研究。

参考文献

- 1 马佩炯. 我院2007-2008年多发性消化性溃疡发病及诊治情况分析. 中国临床实用医学 2009; 3: 58-59
- 2 曾凡永, 阮妮. 上网行为对消化性溃疡发病率的影响. 中国医药指南 2015; 13: 134-135
- 3 官丹蕊, 官尚民. 10和14d序贯疗法治疗幽门螺杆菌阳性的消化性溃疡和胃炎患者的疗效对比. 中国老年学杂志 2011; 31: 1668-1669
- 4 孟灵梅, 周丽雅, 林三仁, 闫秀娥, 丁士刚, 黄永辉, 顾芳, 张莉, 李渊, 崔荣丽, 张冬红, 张静. 幽门螺杆菌与消化性溃疡关系的10年随访研究. 中华消化杂志 2009; 29: 361-364
- 5 黄盖, 田邦妮, 陈五一. 雷贝拉唑与奥美拉唑三联七日用药方案治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡的比较研究. 现代中西医结合杂志 2015; 24: 495-497
- 6 孔春雨. 三联疗法治疗老年幽门螺杆菌阳性消化性溃疡患者的最佳时效. 中国医药指南 2015; 35: 4265-4266
- 7 Barkun A, Leontiadis G. Systematic review of the symptom burden, quality of life impairment and costs associated with peptic ulcer disease. *Am J Med* 2010; 123: 358-366.e2 [PMID: 20362756 DOI: 10.1016/j.amjmed.2009.09.031]
- 8 Wang AY, Peura DA. The prevalence and incidence of *Helicobacter pylori*-associated peptic ulcer disease and upper gastrointestinal bleeding throughout the world. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2011; 21: 613-635 [PMID: 21944414 DOI: 10.1016/j.giec.2011.07.011]
- 9 鲁昌辉, 朱庆伟, 葛广德. 中西医结合治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡临床疗效观察. 时珍国医国药 2013; 24: 724-725
- 10 骆国才, 张天辉, 张庆. 雷贝拉唑三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡84例疗效观察. 海南医学 2014; 25: 813-815
- 11 陈元鸿, 王婉梅, 王皓, 李红艳. 埃索美拉唑三联与奥美拉唑三联疗法治疗Hp阳性十二指肠溃疡对比研究. 第一军医大学学报 2005; 25: 1045-1047
- 12 陈光, 陈霞. 奥美拉唑、左氧氟沙星、阿莫西林三联疗法根除消化性溃疡患者幽门螺杆菌的疗效观察. 临床合理用药杂志 2011; 4: 16-17
- 13 徐小青, 孙钦娟, 廖静贤, 梁晓, 郑青, 刘文忠, 萧树东, 陆红. 含铋剂和克拉霉素的四联根除方案在幽门螺杆菌一线治疗中的作用. 胃肠病学 2012; 17: 5-9
- 14 徐建峰. 埃索美拉唑、克拉霉素、阿莫西林联合治疗幽门螺杆菌阳性胃溃疡患者102例疗效观察. 中国临床医生杂志 2015; 43: 51-53
- 15 柯金珍, 郑建伟, 张志阳, 陈雅真. 阿莫西林与阿莫西林双氯西林钠对幽门螺杆菌根治的对照研究. 中国临床药理学杂志 2013; 29: 106-108
- 16 徐海燕. 泮托拉唑、阿莫西林和甲硝唑维B6联合治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡疗效观察. 重庆医学 2010; 39: 2065-2066

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



冠状动脉粥样硬化性心脏病与幽门螺杆菌感染的相关性

赵燕颖, 程海涛, 王志军, 秦国涛, 徐涛, 王阳, 孙远杰

赵燕颖, 王志军, 秦国涛, 徐涛, 王阳, 孙远杰, 吉林大学第四医院消化内科 吉林省长春市 130011

程海涛, 吉林大学第四医院心内科 吉林省长春市 130011

赵燕颖, 副主任医师, 博士, 主要研究肝脏与胃肠道疾病的临床诊治以及基础研究。

吉林省卫生厅自然科学基金资助项目, No. 20142034

作者贡献分布: 课题设计由赵燕颖与程海涛完成; 病例收集由王志军、徐涛及王阳完成; 实验试剂由程海涛与孙远杰提供; 实验和数据统计由赵燕颖与秦国涛完成; 赵燕颖与孙远杰负责论文写作。

通讯作者: 孙远杰, 主任医师, 硕士生导师, 130011, 吉林省长春市东风大街2643号, 吉林大学第四医院消化内科。
wszdhands@sina.com
电话: 0431-85909914

收稿日期: 2015-12-30

修回日期: 2016-01-28

接受日期: 2016-02-18

在线出版日期: 2016-04-08

Correlation between coronary atherosclerotic heart disease and *Helicobacter pylori* infection

Yan-Ying Zhao, Hai-Tao Cheng, Zhi-Jun Wang, Guo-Tao Qin, Tao Xu, Yang Wang, Yuan-Jie Sun

Yan-Ying Zhao, Zhi-Jun Wang, Guo-Tao Qin, Tao Xu, Yang Wang, Yuan-Jie Sun, Department of Gastroenterology, the Fourth Hospital of Jilin University, Changchun 130011, Jilin Province, China

Hai-Tao Cheng, Department of Cardiology, the Fourth Hospital of Jilin University, Changchun 130011, Jilin Province, China

Supported by: the Jilin Provincial Health Department Funded Projects, No. 20142034

Correspondence to: Yuan-Jie Sun, Chief Physician,

Department of Gastroenterology, the Fourth Hospital of Jilin University, 2643 Dongfeng Street, Changchun 130011, Jilin Province, China. wszdhands@sina.com

Received: 2015-12-30

Revised: 2016-01-28

Accepted: 2016-02-18

Published online: 2016-04-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and coronary atherosclerotic heart disease (CAHD).

METHODS: A total of 1030 patients with CAHD and 1116 patients with non-coronary atherosclerotic heart disease underwent ¹⁴C-urea breath test. *H. pylori* positive rate were compared between the two groups. The CAHD group was further divided into two groups according to the test results for *H. pylori*: an *H. pylori* positive group and an *H. pylori* negative group. According to SYNTAX score, CAHD patients were divided into a low risk group, a moderate risk group, and a high risk group, and the difference in *H. pylori* positive rates was analyzed.

RESULTS: The positive rate of *H. pylori* in patients with CAHD was higher than that of the control group. Serum homocysteine level in *H. pylori* positive CAHD patients was significantly higher than that in the negative group ($P < 0.01$). The positive rate of *H. pylori* in the high risk group was the highest, followed by moderate and low risk groups, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). Serum homocysteine level increased with the increasing of the CAHD risk degree in *H. pylori* positive CAHD patients ($P < 0.01$).

■背景资料

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)血症已被证实导致动脉粥样硬化的一个独立危险因素。近年又有许多研究证实幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CAHD)发病有着密不可分的关系。本研究对CAHD患者*H. pylori*感染与同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平的关系进行研究。

■同行评议者

石振东, 副主任医师, 沈阳医学院附属铁法煤业集团总医院老年病科VIP病房

■ 研究前沿

对CAHD患者H. pylori感染与Hcy水平的关系进行研究。而CAHD患者中H. pylori是通过何种机制来升高Hcy浓度还有待于进一步研究。

CONCLUSION: *H. pylori* infection is an important risk factor for CAHD. *H. pylori* infection may increase the degree of CAHD by elevating serum homocysteine levels, thereby promoting the development of coronary atherosclerosis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Coronary atherosclerotic heart disease; *Helicobacter pylori*; Homocysteine; ^{14}C -urea breath test

Zhao YY, Cheng HT, Wang ZJ, Qin GT, Xu T, Wang Y, Sun YJ. Correlation between coronary atherosclerotic heart disease and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1613-1617 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1613.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1613>

摘要

目的: 了解幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CAHD)的相关性。

方法: 对吉林大学第四医院心内科就诊并明确诊断为CAHD的1030例病例和同期体检中心非CAHD的受检者1116例行 ^{14}C -尿素呼气试验检查, 比较两组H. pylori阳性率。CAHD组根据H. pylori检测结果分成H. pylori阳性组和H. pylori阴性组, 分析两组患者的血清同型半胱氨酸水平的差别。根据SYNTAX评分将CAHD患者分为低危组、中危组、高危组, 分析各组患者H. pylori阳性率的差异, H. pylori阳性的CAHD患者进一步分析各危险组的血清同型半胱氨酸水平差异。

结果: CAHD患者H. pylori的阳性率高于体检组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。CAHD患者中H. pylori阳性组血清同型半胱氨酸浓度高于阴性组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。高危组CAHD患者的H. pylori阳性率最高, 其次是中危组, 低危组阳性率最低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。H. pylori阳性的CAHD患者随着危险度增加其血清同型半胱氨酸浓度也增加, 各组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

结论: H. pylori感染很可能是CAHD的重要危险因素, H. pylori感染可能通过升高血清

同型半胱氨酸水平来增加冠状动脉损害程度, 从而促进冠状动脉粥样硬化的发生和发展, 有待于进一步探讨。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 幽门螺杆菌; 同型半胱氨酸; ^{14}C -尿素呼气试验

核心提示: 本研究对本区幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率进行了调查, 并对就诊的患者心血管疾病发病与H. pylori感染和同型半胱氨酸水平进行了相关性研究。进一步明确H. pylori和心血管疾病之间的关系。目前相似研究报道不多。

赵燕颖, 程海涛, 王志军, 秦国涛, 徐涛, 王阳, 孙远杰. 冠状动脉粥样硬化性心脏病与幽门螺杆菌感染的相关性. *世界华人消化杂志* 2016; 24(10): 1613-1617 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1613.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1613>

0 引言

冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CAHD)的重要危险因素包括高血压、糖尿病和高脂血症, 随着临床研究的深入, 越来越多的资料显示同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)血症是导致动脉粥样硬化的另一个独立危险因素^[1]。近年又有许多研究^[2,3]证实, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与CAHD发病有着密不可分的关系。H. pylori不仅能增加CAHD患者消化系发生溃疡、出血的风险, 还会引起或者加速冠状动脉粥样硬化进展, 从而增加CAHD的发病风险^[4,5]。本研究对CAHD患者H. pylori感染与血清Hcy水平的关系进行研究, 旨在进一步阐明H. pylori感染与CAHD发病的关系和作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-07/2015-06在吉林大学第四医院心内科就诊并行冠脉造影确诊为CAHD患者1030例作为研究对象, 其中男455例, 女575例, 平均57.9岁 \pm 7.9岁。CAHD诊断均符合1997年国际心脏病学会和协会及世界卫生组织(World Health Organization, WHO)的临床命名及诊断标准。另选取同期吉林大学第四医院体检中心受检者1116例作为对照组, 其中男526例, 女590例, 平均年龄56.2岁 \pm 9.1岁。所有研究对象

■ 相关报道

近年来有研究证明H. pylori可能是导致CAHD的危险因素之一。有报道H. pylori感染诱发血管内皮炎症反应, 在局部造成粥样斑块不稳定, 同时促进凝血及血栓形成。Hcy是动脉粥样硬化性疾病的一种重要危险因素。

均排除肿瘤、消化系统疾病及严重的肝、肾疾病,近4 wk内未服用抗生素、铋制剂、质子泵抑制剂等药物,并且6 mo之内未服用维生素、叶酸等药物。本研究取得吉林大学第四医院临床学院伦理委员会批准,全部入选者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 检测: 采用 ^{14}C -尿素呼气试验检测受试者 *H. pylori*感染情况,呼气试验药盒为深圳市中核海得威生物科技有限公司生产,严格按照说明书操作步骤检测*H. pylori*感染情况,受试者检查前需空腹2 h以上。血清Hcy检测的试剂盒购自美国Bayer公司,采用循环酶法使用罗氏ModularDPP全自动生化分析仪进行检测。清晨抽取受试者外周静脉血5 mL,抽血后迅速将血样与抗凝剂颠倒混匀,30 min内送标本至实验室离心处理,测定血清测定Hcy水平。

1.2.2 实验分组: CAHD患者进行 ^{14}C -尿素呼气试验检测*H. pylori*,根据试验结果将患者分为阳性组(DPM值>100)和阴性组(DPM值≤100)。采用SYNTAX评分对冠状动脉病变程度进行评价,CAHD患者分为3组: 1-22分为低危组,23-32分为中危组,>33分为高危组,并且对*H. pylori*阳性的CAHD患者同样分为低、中、高危3组。

统计学处理 采用SAS8.12软件进行统计分析,CAHD组和体检组*H. pylori*感染阳性率的比较采用 χ^2 检验;*H. pylori*阳性和阴性的CAHD患者Hcy浓度的比较采用*t*检验;低、中危组CAHD患者*H. pylori*阳性率的比较采用 χ^2 检验;低、中、高危组CAHD患者Hcy浓度的比较采用*t*检验,3组间两两比较采用*F*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAHD患者组和体检对照组*H. pylori*阳性率比较 CAHD患者组中*H. pylori*感染阳性患者有526例,感染阳性率为51.07%,体检对照组中*H. pylori*感染阳性者有255例,感染阳性率为22.85%。CAHD组*H. pylori*阳性率明显高于体检对照组,二者比较差异有显著的统计学意义($\chi^2=184.25, P<0.001$)。

2.2 CAHD患者*H. pylori*阳性组与阴性组血清Hcy浓度比较 CAHD患者中*H. pylori*阳性组血清Hcy浓度为 $(20.15 \mu\text{mol/L} \pm 5.51 \mu\text{mol/L})$,

*H. pylori*阴性组血清Hcy浓度为 $13.02 \mu\text{mol/L} \pm 3.21 \mu\text{mol/L}$,*H. pylori*阳性的CAHD患者的Hcy浓度明显高于*H. pylori*阴性组的CAHD患者,差异有统计学意义($t=25.23, P<0.05$)。

2.3 CAHD患者*H. pylori*阳性率与冠状动脉病变严重程度的关系 采用SYNTAX评分将CAHD患者分为3组: 低危组(333例),中危组(441例),高危组(256例)。低危组*H. pylori*阳性率为49.50%,中危组为51.02%,高危组为53.10%,各组差异无统计学意义($\chi^2=0.703, P>0.05$)。

2.4 CAHD患者血清Hcy浓度与冠状动脉病变严重程度的关系 *H. pylori*感染阳性的CAHD患者共526例,采用SYNTAX评分对冠状动脉病变程度进行评价分为3组: 低危组(170例),中危组(225例),高危组(131例)。低危组、中危组、高危组的血清Hcy浓度分别为 $15.95 \mu\text{mol/L} \pm 2.98 \mu\text{mol/L}$ 、 $20.23 \mu\text{mol/L} \pm 3.02 \mu\text{mol/L}$ 、 $25.5 \mu\text{mol/L} \pm 5.01 \mu\text{mol/L}$ 。3组间两两比较,血清Hcy浓度差异均有统计学意义($F=507.44, P<0.05$);其中低危组、中危组 $t=16.34, P<0.05$;低危组、高危组 $t=31.85, P<0.05$;中危组、高危组 $t=18.59, P<0.05$,提示血清Hcy浓度随着冠状动脉病变危险程度增加而增加。

3 讨论

随着对CAHD研究的不断深入,更多的证据提示: CAHD是一种炎症性疾病,某些微生物(包括细菌、病毒和寄生虫)可能是启动CAHD患者动脉粥样硬化过程的首发因素。近年来有研究证明,*H. pylori*可能是导致CAHD的危险因素之一^[6,7]。有报道^[8-10]*H. pylori*感染诱发血管内皮炎症反应,在局部形成不稳定的粥样硬化斑块,同时促进凝血及血栓形成。对*H. pylori*感染致CAHD的作用机制提出多种假设: (1)*H. pylori*直接作用于动脉壁,引起局部炎症、内皮细胞损伤或功能障碍以及平滑肌细胞增殖; (2)通过慢性炎症反应、交叉反应抗体的间接作用; (3)通过升高血三酰甘油水平、降低高密度脂蛋白水平、增加纤维蛋白原水平、促进凝血、促使Hcy聚集等^[11,12],最终导致动脉粥样硬化的形成和发展^[13,14]。已知细胞毒素相关蛋白(cytotoxin-associated gene A, CagA)是*H. pylori*的毒力标志之一。CagA阳性菌株脂多糖是一种特殊的内毒素,可能与CAHD相关。*H. pylori*感染后通过致病因子CagA启动炎症过程很可能

■ 创新盘点

本文研究对吉林大学第四医院较大例数的CAHD患者*H. pylori*感染与同型半胱氨酸水平的关系进行研究,进一步阐明*H. pylori*感染与CAHD发病的关系和作用机制,这将为CAHD的防治开辟新的思路。

■应用要点

本文研究表明CAHD的发生与*H. pylori*感染有关,提示可以从抗*H. pylori*感染治疗方面防治CAHD,这将为CAHD的防治开辟新的思路。

是诱发动脉粥样硬化(As)的危险因素之一^[15,16]。

近年来研究^[17,18]证明,Hcy是动脉粥样硬化性疾病的一种重要危险因子。高Hcy血症导致动脉硬化的理论可能为:血清Hcy增高可致血管内皮细胞受损和功能紊乱;也可使血管内皮细胞以及内皮依赖性的血管舒张反应受损,血管平滑肌细胞胶原分泌增多,平滑肌细胞向巨噬细胞样细胞转化增加,从而导致动脉粥样硬化的形成^[19,20]。有研究者^[21,22]发现,*H. pylori*感染能引起营养缺乏,特别是维生素B₆、维生素B₁₂和叶酸的缺乏,从而导致Hcy在患者体内聚集,从而导致高Hcy血症,最终引起动脉损害。

本研究显示,CAHD组*H. pylori*感染率(51.07%)明显高于体检对照组(22.85%),此结果与既往的研究结果基本一致,提示CAHD与*H. pylori*感染有一定关系,*H. pylori*感染可能是CAHD的危险因素之一。我们的结果还显示,高危组CAHD患者的*H. pylori*感染阳性率稍高于中低危组CAHD患者的*H. pylori*阳性率,但差异不具有统计学意义($P>0.05$)。*H. pylori*阳性组的CAHD患者Hcy水平明显高于*H. pylori*阴性组CAHD患者,差异具有统计学意义($P<0.01$)。同时,*H. pylori*阳性的CAHD患者中血清Hcy浓度随着冠状动脉病变危险程度增加而增加,故Hcy浓度与CAHD患者的严重程度成正相关,进而提示*H. pylori*感染可能引起血清Hcy水平升高,这可能是*H. pylori*引起CAHD发病的原因之一。

总之,本研究表明CAHD的发生与*H. pylori*感染有关,而*H. pylori*感染很可能继发影响体内Hcy的浓度,促进CAHD的发生和发展。提示我们可以从抗*H. pylori*感染治疗方面防治CAHD,这将为CAHD的防治开辟新的思路。而CAHD患者中*H. pylori*是通过何种机制来升高血清Hcy浓度还有待于进一步研究。

4 参考文献

- 1 Ma J, Chen Z, Chen S, Peng X, Liu S, Zhao D, Han L, Wang C. [A prospective study on the association of plasma homocysteine level with stroke in hypertensive patients]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2015; 54: 296-301 [PMID: 26268056]
- 2 Lin Y, Obata Y, Kikuchi S, Tamakoshi A, Iso H. Helicobacter Pylori Infection and Risk of Death From Cardiovascular Disease Among the Japanese Population: a Nested Case-Control Study within the JACC Study. *J Atheroscler Thromb* 2015; 22: 1207-1213 [PMID: 26084791 DOI: 10.5551/jat.27987]
- 3 Kucukazman M, Yeniova O, Dal K, Yavuz B.

- Helicobacter pylori and cardiovascular disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 3731-3741 [PMID: 26502864]
- 4 Franceschi F, Gasbarrini A, Polyzos SA, Kountouras J. Extragastric Diseases and Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2015; 20 Suppl 1: 40-46 [PMID: 26372824 DOI: 10.1111/hel.12256]
- 5 Blum A. Helicobacter pylori and atherosclerosis. *Isr Med Assoc J* 2015; 17: 396 [PMID: 26234008]
- 6 Sun J, Rangan P, Bhat SS, Liu L. A Meta-Analysis of the Association between Helicobacter pylori Infection and Risk of Coronary Heart Disease from Published Prospective Studies. *Helicobacter* 2016; 21: 11-23 [PMID: 25997465 DOI: 10.1111/hel.12234]
- 7 Raut SC, Patil VW, Dalvi SM, Bakhshi GD. Helicobacter pylori gastritis, a presequence to coronary plaque. *Clin Pract* 2015; 5: 717 [PMID: 25918633 DOI: 10.4081/cp.2015.717]
- 8 Osawa H, Kawakami M, Fujii M, Kubo N, Iwanaka H, Yamamoto W, Saitoh M, Yaginuma T, Sugano K. Helicobacter pylori infection and coronary heart disease in Japanese patients. *Cardiology* 2001; 95: 14-19 [PMID: 11385186]
- 9 Chmiela M, Gajewski A, Rudnicka K. Helicobacter pylori vs coronary heart disease - searching for connections. *World J Cardiol* 2015; 7: 187-203 [PMID: 25914788 DOI: 10.4330/wjc.v7.i4.187]
- 10 Vijayvergiya R, Vadivelu R. Role of Helicobacter pylori infection in pathogenesis of atherosclerosis. *World J Cardiol* 2015; 7: 134-143 [PMID: 25810813 DOI: 10.4330/wjc.v7.i3.134]
- 11 Figura N, Palazzuoli A, Vaira D, Campagna M, Moretti E, Iacoponi F, Giordano N, Clemente S, Nuti R, Ponzetto A. Cross-sectional study: CagA-positive Helicobacter pylori infection, acute coronary artery disease and systemic levels of B-type natriuretic peptide. *J Clin Pathol* 2014; 67: 251-257 [PMID: 24334757 DOI: 10.1136/jclinpath-2013-201743]
- 12 Liu J, Wang F, Shi S. Helicobacter pylori Infection Increase the Risk of Myocardial Infarction: A Meta-Analysis of 26 Studies Involving more than 20,000 Participants. *Helicobacter* 2015; 20: 176-183 [PMID: 25382293 DOI: 10.1111/hel.12188]
- 13 Lai CY, Yang TY, Lin CL, Kao CH. Helicobacter pylori infection and the risk of acute coronary syndrome: a nationwide retrospective cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34: 69-74 [PMID: 25063740 DOI: 10.1007/s10096-014-2207-7]
- 14 Vafaeimanesh J, Hejazi SF, Damanpak V, Vahedian M, Sattari M, Seyyedmajidi M. Association of Helicobacter pylori infection with coronary artery disease: is Helicobacter pylori a risk factor? *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 516354 [PMID: 24574896 DOI: 10.1155/2014/516354]
- 15 Shrikhande SN, Zodpey SP, Negandhi H. A case-control study examining association between infectious agents and acute myocardial infarction. *Indian J Public Health* 2014; 58: 106-109 [PMID: 24820983 DOI: 10.4103/0019-557X.132285]
- 16 Hughes WS. An hypothesis: the dramatic decline in heart attacks in the United States is temporally related to the decline in duodenal ulcer disease and Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2014; 19: 239-241 [PMID: 24689964 DOI: 10.1111/hel.12123]

- 17 Verdoia M, Schaffer A, Pergolini P, Rolla R, Barbieri L, Bellomo G, Sinigaglia F, Marino P, Suryapranata H, De Luca G. Homocysteine Levels Influence Platelet Reactivity in Coronary Artery Disease Patients Treated With Acetylsalicylic Acid. *J Cardiovasc Pharmacol* 2015; 66: 35-40 [PMID: 25714593 DOI: 10.1097/FJC.0000000000000240]
- 18 Li F, Chen Q, Song X, Zhou L, Zhang J. MiR-30b Is Involved in the Homocysteine-Induced Apoptosis in Human Coronary Artery Endothelial Cells by Regulating the Expression of Caspase 3. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 17682-17695 [PMID: 26263983 DOI: 10.3390/ijms160817682]
- 19 Kayacelebi AA, Willers J, Pham VV, Hahn A, Schneider JY, Rothmann S, Frölich JC, Tsikas D. Plasma homoarginine, arginine, asymmetric dimethylarginine and total homocysteine interrelationships in rheumatoid arthritis, coronary artery disease and peripheral artery occlusion disease. *Amino Acids* 2015; 47: 1885-1891 [PMID: 25618752 DOI: 10.1007/s00726-015-1915-3]
- 20 Kumakura H, Fujita K, Kanai H, Araki Y, Hojo Y, Kasama S, Iwasaki T, Ichikawa S, Nakashima K, Minami K. High-sensitivity C-reactive Protein, Lipoprotein(a) and Homocysteine are Risk Factors for Coronary Artery Disease in Japanese Patients with Peripheral Arterial Disease. *J Atheroscler Thromb* 2015; 22: 344-354 [PMID: 25296963 DOI: 10.5551/jat.25478]
- 21 Shmueli H, Wattad M, Solodky A, Yahav J, Samra Z, Zafrir N. Association of *Helicobacter pylori* with coronary artery disease and myocardial infarction assessed by myocardial perfusion imaging. *Isr Med Assoc J* 2014; 16: 341-346 [PMID: 25058994]
- 22 Sharma V, Aggarwal A. *Helicobacter pylori*: Does it add to risk of coronary artery disease. *World J Cardiol* 2015; 7: 19-25 [PMID: 25632315 DOI: 10.4330/wjc.v7.i1.19]

■ 同行评价

本文为大样本数据分析, 设计合理, 研究方法及统计学处理选择得当, 论述条理分明, 对CAHD的感染致病学说及病因干预治疗提供了有力的理论依据。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 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。

克罗恩病合并3次发作带状疱疹1例

王林, 曹燕, 顾海萍, 任禾, 杨雪源, 贾虹

■背景资料

人感染水痘-带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV)后当机体受到某种刺激(如创伤、疲劳、恶性肿瘤或者久病虚弱)导致机体抵抗力下降时,病毒被激活皮肤产生水疱疼痛。因其愈后可以获得较持久免疫力,一般愈后不会复发,除非抵抗力下降免疫受损。免疫力严重受损时,带状疱疹可能反复发作。

王林, 曹燕, 顾海萍, 任禾, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029

杨雪源, 中国医学科学院皮肤病医院过敏免疫科 江苏省南京市 210042

贾虹, 中国医学科学院皮肤病医院皮肤病研究室 江苏省南京市 210042

王林, 主要从事中医外科学皮肤性病方向的研究。

作者贡献分布: 收集资料并完成写作由王林完成; 曹燕、顾海萍及任禾负责资料收集和文章格式校对; 杨雪源负责诊治; 贾虹负责资料搜集、诊治完成写作。

通讯作者: 贾虹, 教授, 210042, 江苏省南京市玄武区蒋王庙街12号, 中国医学科学院皮肤病医院。jhff2014@163.com
电话: 025-85478045

收稿日期: 2015-12-22
修回日期: 2016-02-22
接受日期: 2016-02-29
在线出版日期: 2016-04-08

Crohn's disease with recurrent herpes zoster: A case report

Lin Wang, Yan Cao, Hai-Ping Gu, He Ren, Xue-Yuan Yang, Hong Jia

Lin Wang, Yan Cao, Hai-Ping Gu, He Ren, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Xue-Yuan Yang, Department of Allergy and Immunology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Nanjing 210042, Jiangsu Province, China

Hong Jia, Department of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Nanjing 210042, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hong Jia, Professor, Department of

Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, 12 Jiangwangmiao Street, Xuanwu District, Nanjing 210042, Jiangsu Province, China. jhff2014@163.com

Received: 2015-12-22

Revised: 2016-02-22

Accepted: 2016-02-29

Published online: 2016-04-08

Abstract

Crohn's disease is an unexplained progressive gastrointestinal granulomatous disease. The entire digestive tract from the mouth to the anus can be affected, and the immune system is also affected. Shingles is caused by the varicella-zoster virus (VZV) infection. It has been known that patients who suffered from VZV infection can obtain lifelong immunity, but it can recur in immunocompromised people. Here we report the case of a patient who suffered from Crohn's disease for 10 years with recurrent herpes zoster. We also performed a literature review to summarize the pathogenesis, diagnosis and treatment of this condition.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Crohn's disease; Herpes zoster; Recurrence

Wang L, Cao Y, Gu HP, Ren H, Yang XY, Jia H. Crohn's disease with recurrent herpes zoster: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1618-1620
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1618.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1618>

摘要

克罗恩病是一种原因不明的胃肠道进行性

■同行评议者

王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室; 缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

肉芽肿性疾病, 从口腔至肛门的整个消化系均可受累, 病程漫长, 免疫系统受累. 带状疱疹是由水痘-带状疱疹病毒感染后引起皮肤红斑丘疹水疱并伴明显神经痛的疾病. 既往认为带状疱疹治愈后可获得终生免疫, 但在免疫力低下人群可复发. 本文报道1例10年克罗恩病患者3次发作带状疱疹, 并结合文献, 就其发病机制、诊断及治疗进行复习讨论.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 克罗恩病; 带状疱疹; 复发

核心提示: 克罗恩病(Crohn's disease, CD)典型病程为间歇性症状加重期与之后的缓解期交替出现, 显著特征为乏力、长期腹泻伴腹痛、体质量减轻和发热, 伴或不伴肉眼血尿, 免疫水平降低, 易伴发各种肠外疾病. 本文是CD并发3次发作复发性带状疱疹报道.

王林, 曹燕, 顾海萍, 任禾, 杨雪源, 贾虹. 克罗恩病合并3次发作带状疱疹1例. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1618-1620
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1618.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i10.1618>

0 引言

复发性带状疱疹临床可见, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)并发3次带状疱疹临床罕见, 据我们查阅国内外文献未见报道. 本文就中国医学科学院皮肤病医院1例CD合并3次带状疱疹复发病例进行简要报道.

1 病例报告

男, 48岁, 因右颈肩部起水疱伴疼痛3 d至中国医学科学院皮肤病医院门诊就诊. 患者3 d前因睡眠不佳、劳累, 右侧颈部、前胸及肩部出现红斑, 红斑基础上有簇集性丘疹、绿豆大小水疱, 伴针刺样疼痛, 遂来中国医学科学院皮肤病医院就诊. 根据典型带状分布的簇集性水疱伴疼痛的临床表现诊断为带状疱疹. 追问病史, 患者于2009年、2012年分别于右侧腰部及眼部发作过带状疱疹各1次, 经抗病毒、止痛、消炎等治疗后痊愈. 10年前患者因腹痛腹泻至外院就诊, 查大便常规(-), 予对症处理. 后因腹痛腹泻反复发作, 伴消瘦乏力, 行肠道内镜检查见典型鹅卵石样改变, 诊断为CD, 10年来一直规律口服雷公藤片2片, 3次/d, 病情控制好,

无腹痛腹泻等不适. 否认高血压、糖尿病及心脏病病史, 否认恶性肿瘤病史. 父亲因肺癌去世, 大姐有糖尿病病史, 无其他家族疾病史. 体格检查: 右侧颈部、锁骨上窝淋巴结肿大. 双肺呼吸音清, 未及明显干湿啰音及胸膜摩擦音. 心律齐, 无杂音及心包摩擦音. 腹平软、无压痛, 未及明显包块. 皮肤科检查: 右侧颈部、上胸部及右肩部散在片状分布的不规则红斑, 红斑基础上有芝麻至绿豆大小簇集性丘疹、丘疱疹及水疱, 水疱透明澄清, 疱壁紧张发亮(图1). 实验室检查: 血常规常规、C反应蛋白、肝肾功能均(-). 根据典型带状分布的簇集性水疱伴疼痛的临床表现诊断为带状疱疹(第3次发作). 治疗上予泼尼松20 mg×4 d, 泛昔洛韦0.5 g, 2次/d, 甲钴胺0.5 mg, 3次/d, 口服, 乳酸依沙吡啶炉甘石洗剂、喷昔洛韦乳膏外用. 1 wk后电话随访, 水疱全部消退, 患处皮肤恢复正常, 无疼痛不适.

2 讨论

CD是一种病因不明的胃肠道进行性肉芽肿性疾病, 从口腔至肛门的整个消化系均可受累, 通常发生于回肠末端和邻近结肠, 呈节段性、跳跃性分布, 可有关节、皮肤、眼、口腔黏膜等肠外损害, 随着病程的发展还可出现肠道狭窄以及肠道、肛周脓肿和瘘管^[1]. 本例患者自发病10年以来一直规律服用雷公藤片2粒, 3次/d. 研究^[2]表明从雷公藤中分离出的效应物质雷公藤内酯醇(T10)、雷公藤氯内酯醇(T4)、雷公藤内酯二醇(T8)、雷公藤内酯(T6)、16-羟基内酯醇(L2)、雷公藤内酯三醇(T11)等不仅有很强抗炎作用, 还有免疫抑制的作用, 长期服用虽可以控制炎症, 但同时会降低患者免疫力. CD维持治疗一线药物常规选用氨基水杨酸类如柳氮磺吡啶、美沙拉嗪等, 已建议患者至专科与主管医生共同商讨雷公藤减量或替换药物治疗事宜, 以更好控制CD, 减少不良反应, 降低免疫损害. 累及小肠和/或大肠的CD患者, 其典型病程为间歇性症状加重期与之后的缓解期交替出现. 美国胃肠病学学会发表的关于CD的Meta分析^[3]显示持续缓解1年的患者有80%的可能性会在随后的病程中仍然持续缓解. 而另一项研究^[4]发现, 以随访10年为期, 53%的患者可能发展为狭窄或穿透病变. 本例患者病程10年, 诉自控制病情后未出

■ 研究前沿

克罗恩病(Crohn's disease, CD)并发复发性带状疱疹的诊断不困难, 常对症治疗. 如何提高患者免疫水平, 避免反复发作带状疱疹或者其他疾病是亟需临床工作者解决的问题.

■ 相关报道

复发性带状疱疹临床时见报道, CD确诊后治疗过程中也见有并发带状疱疹的报道. 因CD病程缠绵反复, 临床诊断后先积极治疗带状疱疹, 避免出现感染、后遗神经痛等症状, 同时兼顾克罗恩治疗.

应用要点

本文中的病例在临床实践中比较少见。CD病程中会出现免疫力下降情况, 在治疗过程中应该避免使用免疫抑制剂或者免疫损伤较大的药物。出现并发症时应尽早专科甚至多学科会诊, 优化治疗方案。



图1 右侧颈部群集性小水疱, 内容澄清, 疱壁紧张发亮。

现过明显症状加重期。就诊过程中可见患者乏力, 建议其内镜复查, 明确消化系有无活动性病变。

带状疱疹是由水痘-带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV)感染后引起皮肤出现节段性水疱疹的皮肤病。既往认为患带状疱疹后可获得终生免疫, 愈后极少复发。近年来关于带状疱疹复发的报道逐渐增多, 甚至有3次发生带状疱疹的病例^[5], 证明初发带状疱疹愈合后VZV仍有再激活的可能。研究显示随着年龄的增长, VZV特异性细胞介导免疫(cell-mediated immunity, CMI)水平每年下降2.7%-3.9%; 而VZV特异性抗体并没有随着年龄的增加而减少^[6]。因此体液免疫在带状疱疹发病过程中可能仅有预防作用, CMI水平下降才是VZV再次激活导致带状疱疹复发的主要原因。复发性带状疱疹患者多伴有恶性肿瘤、高血压糖尿病等慢性疾病、长期劳累或使用免疫抑制剂等^[7], 自身免疫水平受影响。有报道^[8,9]显示使用生物制剂治疗CD患者过程中出现带状疱疹皮损, 但据我们查阅文献所知, 目前未见CD合并复发性带状疱疹报道。本例患者患有CD10年, 长期服用雷公藤可能伴免疫抑制。2009年在右侧腰部发生带状疱疹, 2012年在右侧眼部发生1次带状疱疹, 此次发病是第3次发生, 3次发病皮损均在身体右侧, 未超过正中线, 推测其发病是由于免疫力低下VZV再激活引起而非再次感染。临床具有一定特殊性。3次发病对抗病毒治疗效果均好, 未留下后遗症。

复发性带状疱疹治疗目前主要参考带状疱疹的常规治疗方案。Whitley等^[10]证实常规治

疗方案联合糖皮质激素治疗可以促进皮损消退, 缩短病程, 减轻神经急性炎症, 缓解疼痛程度, 且在治疗过程中并未发现不良反应。我们给予该患者泼尼松20 mg×4 d, 泛昔洛韦0.5 g, 2次/d, 甲钴胺0.5 mg, 3次/d的系统治疗方案, 联合乳酸依沙吖啶炉甘石洗剂、喷昔洛韦乳膏外用, 收敛、抗炎, 促进水疱吸收, CD继续专科治疗。1 wk后电话随访, 患者水疱全部消退, 患处皮肤完全恢复正常, 无后遗症; 雷公藤减量至2粒, 2次/d, 暂未行内镜检查, 目前仍在随访中。

参考文献

- 赵靓, 王小剑, 孟立娜. 克罗恩病治疗目标的研究进展. *胃肠病学* 2015; 20: 304-307
- 向明. 雷公藤免疫抑制作用研究进展. *中草药* 2005; 36: 458-461
- Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 465-483; quiz 464, 484 [PMID: 19174807 DOI: 10.1038/ajg.2008.168]
- Solberg IC, Vatn MH, Høie O, Stray N, Sauar J, Jahnsen J, Moum B, Lygren I. Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1430-1438 [PMID: 18054751 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.09.002]
- 王增文, 朱怀宇, 郝慧泉. 23例复发性带状疱疹的临床分析. *重庆医学* 2013; 42: 4441-4442
- Levin MJ, Oxman MN, Zhang JH, Johnson GR, Stanley H, Hayward AR, Caulfield MJ, Irwin MR, Smith JG, Clair J, Chan IS, Williams H, Harbecke R, Marchese R, Straus SE, Gershon A, Weinberg A. Varicella-zoster virus-specific immune responses in elderly recipients of a herpes zoster vaccine. *J Infect Dis* 2008; 197: 825-835 [PMID: 18419349 DOI: 10.1086/528696]
- 李志瑜. 22例复发性带状疱疹临床分析. *中华皮肤科杂志* 2010; 43: 207-208
- Wang X, Zhao J, Zhu S, Xia B. Herpes zoster in Crohn's disease during treatment with infliximab. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 237-239 [PMID: 24216569 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328365efda]
- Bergler-Czop B, Wcisło-Dziadecka D, Wodok K, Brzezińska-Wcisło L. Seborrheic dermatitis and a herpes zoster infection developed during treatment with adalimumab due to Crohn's disease. *Postepy Dermatol Alergol* 2015; 32: 317-319 [PMID: 26366160 DOI: 10.5114/pdia.2014.44018]
- Whitley RJ, Weiss H, Gnann JW, Tyring S, Mertz GJ, Pappas PG, Schleupner CJ, Hayden F, Wolf J, Soong SJ. Acyclovir with and without prednisone for the treatment of herpes zoster. A randomized, placebo-controlled trial. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *Ann Intern Med* 1996; 125: 376-383 [PMID: 8702088]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



同行评价

本文主要报道了1例关于CD合并带状疱疹复发的患者, 国内外此类患者较少, 具有一定的特殊性, 有一定的临床指导意义。

多环黏膜套扎切除术治疗巨大结肠侧向发育型肿瘤1例

贾爱芹, 尚瑞莲, 魏志, 孙自勤

贾爱芹, 尚瑞莲, 魏志, 孙自勤, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 山东省济南市 250031

贾爱芹, 主治医师, 主要从事消化系早癌内镜下诊治研究。

中国博士后科学基金资助项目, No. 2015M583896

作者贡献分布: 孙自勤完成课题设计; 孙自勤、贾爱芹、尚瑞莲及魏志共同完成病例内镜操作过程; 贾爱芹完成数据分析和论文写作。

通讯作者: 孙自勤, 教授, 250031, 山东省济南市天桥区师范路25号, 中国人民解放军济南军区总医院消化科。
ziqins@126.com
电话: 0531-51665320

收稿日期: 2016-01-25
修回日期: 2016-02-20
接受日期: 2016-02-29
在线出版日期: 2016-04-08

Multi-band mucosectomy for resection of a giant colorectal laterally spreading tumor: A case report

Ai-Qin Jia, Rui-Lian Shang, Zhi Wei, Zi-Qin Sun

Ai-Qin Jia, Rui-Lian Shang, Zhi Wei, Zi-Qin Sun, Department of Digestive Diseases, General Hospital of Ji'nan Military Region, Ji'nan 250031, Shandong Province, China

Supported by: China Postdoctoral Science Foundation, No. 2015M583896

Correspondence to: Zi-Qin Sun, Professor, Department of Digestive Diseases, General Hospital of Ji'nan Military Region, 25 Shifan Road, Tianqiao District, Ji'nan 250031, Shandong Province, China. ziqins@126.com

Received: 2016-01-25
Revised: 2016-02-20
Accepted: 2016-02-29
Published online: 2016-04-08

Abstract

Endoscopic submucosal resection (EMR) and endoscopic submucosal dissection (ESD) are acceptable modalities for the ablation of colorectal laterally spreading tumors (LSTs), however, there are limitations when treating giant LSTs with ESD due to the technical difficulty and adverse events. In the case presented here, we employed Duette Multi-band mucosectomy to successfully perform a complete endoscopic ablation of a giant LST without any adverse events, which may provide a new strategy for endoscopic management of giant LSTs.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laterally spreading tumor; Multi-band mucosectomy; Giant

Jia AQ, Shang RL, Wei Z, Sun ZQ. Multi-band mucosectomy for resection of a giant colorectal laterally spreading tumor: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(10): 1621-1624 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1621.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1621>

摘要

结肠侧向发育型肿瘤可通过内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)及内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)取得较好的治疗效果, 但病变较大时行ESD术操作困难, 并发症多。济南军区总医院消化内镜中心采用多环黏膜套扎器治疗1例巨大结肠侧向发育型肿瘤, 效果显著, 无并发症发生, 为此类病变的治

背景资料

结肠侧向发育型肿瘤为侧向扩展的一类表浅型病变, 如位于结肠某些特殊部位, 内镜视野不能完全暴露病变, 内镜下治疗操作困难, 尤其是较大病变, 采用常规治疗方法费时较长, 且出现并发症的风险明显增加。

同行评议者

刘鹏飞, 主任医师, 东南大学医学院附属江阴医院消化内科

■ 研发前沿

多环黏膜切除术对于上消化道病变应用较多, 通过应用于切除乙状结肠侧向发育型肿瘤1例, 结果证实用于结肠病变的治疗亦安全、省时、便于操作, 并可完整切除病变。

疗提供了新方法。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 侧向发育型肿瘤; 多环黏膜切除术; 巨大

核心提示: 采用结肠镜下多环黏膜套扎器治疗1例巨大结肠侧向发育型肿瘤, 完全切除病变, 无并发症发生, 为此类病变的治疗提供了内镜下治疗新方法。

贾爱芹, 尚瑞莲, 魏志, 孙自勤. 多环黏膜套扎切除术治疗巨大结肠侧向发育型肿瘤1例. 世界华人消化杂志 2016; 24(10): 1621-1624 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1621.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i10.1621>

0 引言

结肠侧向发育型肿瘤(laterally spreading tumor, LST)为结肠内直径 10 mm以上的、呈侧向扩展而非垂直生长的一类表浅型病变, 可通过内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)及内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)取得较好的治疗效果^[1,2], 但部分病变较大、或因部位特殊致病变隐蔽, 内镜下行ESD术操作困难, 同时常规EMR治疗操作时间长, 增加了并发症发生风险。济南军区总医院采用多环黏膜套扎器治疗1例巨大LST, 效果显著, 无并发症发生, 为此类病变的治疗提供了新方法, 报道如下。

1 病例报告

女, 50岁, 因间断腹胀3 mo就诊。该患者曾于2015-01于外院行电子结肠镜检查示乙状结肠见大小约8.0 cm×6.0 cm扁平广基隆起, 表面颗粒样, 病理示绒毛管状腺瘤。入院查体: 全身浅表淋巴结未触及肿大, 心肺听诊无异常, 腹部平坦, 未触及包块, 全腹无压痛及反跳痛, 肠鸣音正常。实验室检查: 血红蛋白127 g/L, 凝血酶原时间13.6 s, 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、CA199均正常。腹部彩超未见异常。心电图示大致正常心电图。入院诊断: 乙状LST。术前充分清洁肠道, 签署知情同意书。以0.5%美蓝溶液对乙状结肠病变染色, 后以电子肠镜(Olympus CF-H260AZI)对其进行NBI-ME观察(图1A), 腺管开口分型按工藤进英^[3]pit pattern分型法, CP分型采用Sano^[4]分型法, pit pattern

IV型及CP 2型。后以APC于病灶外侧0.5 cm标记(图1B), 注射针黏膜下注射1:10000肾上腺素-生理盐水-美蓝溶液5-20 mL, 使病变抬起, 后更换电子胃镜(Olympus GIF-Q260J), 前端安装多环黏膜切除器(Cook公司Duette多环黏膜切除器)后再次进镜至病变部位, 按照由口侧至肛侧的顺序, 进行分次套扎, 后以高频电圈套器(Cook公司息肉圈套器)切除(图1C), 切除后创面完整(图1D), 后以高频电止血钳电凝创面裸露血管, 未发生出血及穿孔等并发症。回收切除的标本15块, 于标本板上重建, 然后将标本置于40 g/L中性甲醛溶液中固定, 进行组织学检查。病理结果示绒毛状-管状腺瘤, 局灶呈高级别上皮内瘤变。

2 讨论

LST为直径10 mm以上、呈侧向扩展而非垂直生长的一类表浅型病变, 从形态上分为颗粒型与非颗粒型, 颗粒型分为颗粒均一型与结节混合型。LST病变具有沿黏膜表面呈侧向浅表生长的特点, 即使病灶较大, 也较少发生垂直浸润, 更适合内镜下治疗, 通过内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜下分片黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)或及内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)可达到完全切除治愈的疗效。但对于结肠某些特殊部位如回盲部、肝曲、脾曲、乙状结肠等, 易造成病变隐蔽, 内镜视野不能完整暴露病变, 内镜下行ESD治疗操作困难, 尤其是较大病变, 即使采用常规EPMR治疗仍费时较长, 出现并发症的风险增加, 因此对该类病变, 需探讨更为安全、省时、易于操作的可完整切除病变的治疗方法。

多环黏膜切除术(multi-band mucosectomy, MBM)运用经改装的曲张静脉结扎器, 在其顶端装有多环橡皮套, 可连续多点套扎病变组织, 使之形成亚蒂, 无需内镜下注射, 直接圈套电切病灶。目前MBM技术多运用食管早癌及癌前病变、Barrett食管的内镜下治疗。张毅等^[5]应用MBM治疗Barrett食管, 确认Barrett食管病变范围后用多环黏膜切除器吸引病灶, 套扎橡皮圈后用圈套器电切, 结果显示134例Barrett食管患者共切除病灶206块, 无1例发生穿孔, 急性并发症出血发生率6.7%(9/134)。术后3 mo复

■ 相关报道

多环黏膜切除术运用经改装的曲张静脉结扎器, 在其顶端装有多环橡皮套, 可连续多点套扎病变组织, 直接圈套电切病灶, 目前多运用于食管早癌及癌前病变、Barrett食管的内镜下治疗, 对于结肠侧向发育型肿瘤的切除治疗未见报道。

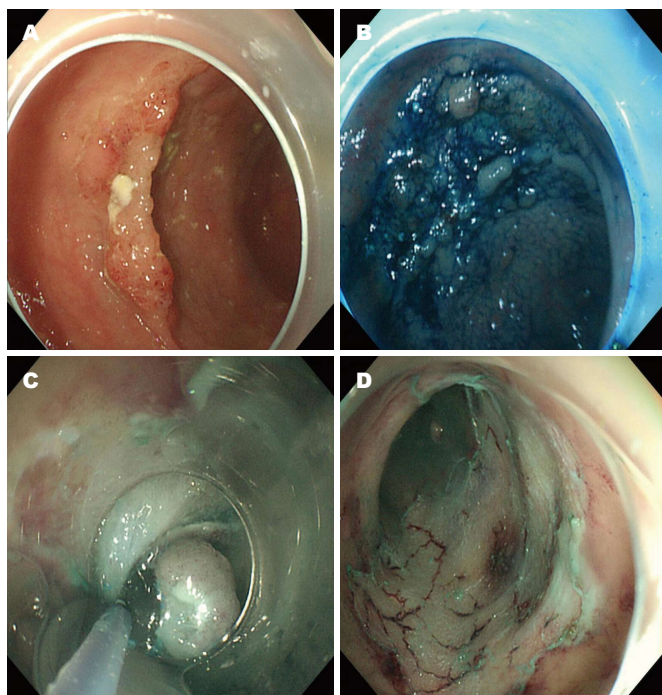


图1 治疗过程. A: 病变治疗前; B: 病变染色后; C: 高频电切除; D: 治疗后创面.

创新点

首次将多环黏膜切除术应用于巨大难治性结肠侧向发育型肿瘤内镜下治疗, 不但完整切除病变, 且无并发症发生, 为该类病变的内镜下治疗提供了新方法.

查胃镜, 病灶完整切除率98.5%. 刘晓岗等^[6]以MBM治疗早期食管癌及其癌前病变共32处病变均经一次操作切除, 操作时间18-60 min, 平均28.3 min, 切除标本直径6-20 mm, 平均12 mm, 全部标本基底无癌残留, 无1例食管穿孔, 发生术中出血23例, 其中搏动性出血3例, 均以钛夹1枚止血成功, 其余20例为创面少量渗血, 自行止血或以氩气刀止血成功. 张月明等^[7]比较透明帽法黏膜切除术与多环黏膜套扎切除术治疗早期食管癌及癌前病变的疗效及安全性, 结果显示EMR组平均病变切除时间和治疗总时间分别为26 min和43 min, 明显长于MBM组的10 min和32 min, 切除病变总厚度和黏膜下切除深度两组差异无统计学意义. 目前MBM术对于上消化道病变应用较多, 对于结肠难治LST的切除治疗未见报道.

本研究将MBM术应用于1例巨大乙状LST无法行ESD及EMR治疗的患者, 顺利完整切除病变, 术中及术后无出血、穿孔发生, 操作简便, 手术时间较短. 我们认为, 该方法完整切除难治LST的注意事项如下: (1)术前严格掌握适应证. 术前对病变进行窄带成像及放大内镜观察, 对病变进行准确的pit pattern及CP分型, 初步判断病变性质, 如疑病变癌变, 应列为治疗禁忌; (2)分次圈套时从切缘套起, 切除标记范围内的所有病变, 避免残留病变; (3)多环黏膜切除治疗上消化道病变认为不必行黏膜下

注射, 本研究中术前均以1:10000肾上腺素-生理盐水-美蓝溶液5-20 mL行黏膜下注射, 使病变组织抬举, 既可减少治疗创面渗血发生率, 也可减少吸引后套入肌层的可能, 大大增加治疗的安全性; (4)套扎后用内镜前端轻推“假息肉”的基底部, 圈套后轻柔抖动有助于可能套入的肌层组织脱出, 减少穿孔的发生. 在上述原则下, MBM技术用于难治LST的治疗, 与EMR、ESD相比操作时间缩短, 操作难度降低, 减少了并发症发生率.

参考文献

- 王小云, 徐关东, 姚礼庆, 周平红, 钟芸诗, 张轶群, 陈巍峰, 马丽黎. 内镜黏膜下剥离术治疗结直肠侧向发育型肿瘤的疗效. 中华消化外科杂志 2013; 12: 862-866
- 苏虹, 刘明, 陈进忠, 张志阳, 李宝玉, 廖素珠, 苏雪芬, 李秀梅, 李世群. 内镜下黏膜切除术和内镜黏膜下剥离术治疗大肠侧向发育型肿瘤的疗效分析. 中华消化内镜杂志 2014; 31: 46-48
- Kudo S, Hirota S, Nakajima T, Hosobe S, Kusaka H, Kobayashi T, Himori M, Yagyuu A. Colorectal tumours and pit pattern. *J Clin Pathol* 1994; 47: 880-885 [PMID: 7962600]
- Uraoka T, Saito Y, Ikematsu H, Yamamoto K, Sano Y. Sano's capillary pattern classification for narrow-band imaging of early colorectal lesions. *Dig Endosc* 2011; 23 Suppl 1: 112-115 [PMID: 21535215 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2011.01118.x]
- 张毅, 徐雷鸣, 瞿春莹, 倪倩雯, 陈莺, 金震东. 多环黏膜切除术治疗Barrett食管的临床研究. 浙江临床医学 2013; 15: 1129-1131
- 刘晓岗, 陈子洋, 李易, 阳运超, 张仁翼, 李良平. 多环黏膜切除术对早期食管癌及癌前病变的治疗价

应用要点

对于结肠某些特殊部位的侧向发育型肿瘤, 如位于回盲部、肝曲、脾曲、乙状结肠等, 内镜下常规治疗困难, 且容易发生穿孔、出血等并发症, 应用多环黏膜切除治疗更为安全、省时, 且可完整切除病变.

■同行评价

多环黏膜切除术应用于治疗巨大乙状结肠侧向发育型肿瘤患者, 顺利完整切除病变, 该例患者术中及术后无出血、穿孔发生, 操作简便, 手术时间较短, 属于新技术的延伸应用, 有一定的创新性。

7

值. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 397-401

张月明, 贺舜, 薛丽燕, 吕宁, 程贵余, 秦秀敏, 窦利州, 赖少清, 倪晓光, 张蕾, 于桂香, 鞠凤环, 荀华英,

朱娜, 王贵齐. 透明帽法内镜黏膜切除术与多环黏膜套扎切除术治疗早期食管癌及癌前病变的比较研究. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 913-917

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

本刊讯 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授(http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm)等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《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.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志》(*World Journal of Gastroenterology, WJG*) . (郭鹏)

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取(open access, OA)期刊, 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由1040位专家组成, 分布在中国31个省市、自治区及特别行政区和美国。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OA最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版43种临床医学OA期刊, 其中英文版42种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 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)》数据库收录。

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, 循证医学, 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,

■ 《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。

■《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 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)》数据库收录.

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^H, *H. pylori*不能写成HP, *T*_{1/2}不能写成t_{1/2}或T, *V*_{max}不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 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), *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*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CT*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 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/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、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿酸、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 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 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% CO₂, 50 mL/L CO₂; 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 × 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.

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 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \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 $3614.5 \text{ g} \pm 420.8 \text{ g}$, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成 $3.6 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$, 过多的位数并无意义. 又如 $8.4 \text{ cm} \pm 0.27 \text{ cm}$, 其 $\text{SD}/3 = 0.09 \text{ cm}$, 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 ≤ 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

■ 《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: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

■ 《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。

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: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

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。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加

方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所参考文献必须以近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, 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天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审,2位或以上通过为录用,否则将退稿或修改后再审。

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,本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回,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
<http://www.wjgnet.com>

■ 《世界华人消化杂志》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。

2016年国内国际会议预告

2016-01-21/23

2016年胃肠道癌症研讨会(GCS)

会议地点: 美国

联系方式: <http://gicasymp.org/>

2016-02-20/24

第25届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.apasl2016.org/>

2016-03-04/05

第16届肠胃病学教育年会(AEMG)

会议地点: 美国

联系方式: <http://aemg.unige.ch/>

2016-03-09/11

2016年欧洲神经内分泌肿瘤学会第13届年度会议(ENETS)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.aihcc.com/>

2016-03-10/12

2016年第3届圣加伦EORTC胃肠癌会议(SG-GICC)

会议地点: 瑞士

联系方式: <http://www.ncgicc.com/>

2016-03-16/19

2016年美国消化内镜外科医师协会年会(SAGES)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.sages.org/>

2016-04-13/17

第51届欧洲肝病学会年会(EASL)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.easl.eu/>

2016-04-16/20

2016年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.com.cn/>

2016-04-30/05-04

2016年美国结直肠外科医师协会年会(ASCRS)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ascrs.org/>

2016-05-21/24

2016年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/>

2016-05-25/28

第49届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 希腊

联系方式: <http://www.espghancongress.org/>

2016-06-03/07

2016年美国临床肿瘤学会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://am.asco.org/>

2016-06-09/12

2016年世界肿瘤介入大会(WCIO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.io-central.org/>

2016-06-14/17

2016年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 捷克

联系方式: <http://www.esgar.org/>

2016-06-15/18

2016年欧洲内境外科学学会国际会议(EAES)

会议地点: 荷兰

联系方式: <http://eaes.info/>

2016-09-14/17

2016年加拿大放射肿瘤协会大会(CARO-ACRO)

会议地点: 加拿大

联系方式: <http://www.caro-acro.ca/>

2016-09-23/25

2016年国际结肠和直肠外科大学学会会议(ISUCRS)

会议地点: 印度

联系方式: <http://www.isucrs.org/>

2016-10-05/08

2016年第5届世界小儿胃肠病学、肝病学与营养学大会(WCPGHAN)

会议地点: 加拿大

联系方式: <http://www.aihcc.com>

2016-10-07/11

2016年欧洲肿瘤内科会议(ESMO)

会议地点: 丹麦

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2016-10-15/19

2016年欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/>

2016-11-02/05

2016年亚太消化病周(APDW)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.apdw2016.org/>

2016-11-14/16

2016年第25届美国癌症研究所年会(AICR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aicr-congress.com/>

安增梅 主任医师
上海市第二人民医院内分泌科

陈绍勤 副教授
福建医科大学附属第一医院胃肠外科二病区

陈贻胜 教授
福建省立医院

陈源 副教授
河北医科大学第二医院儿科

池肇春 教授
青岛市市立医院消化内科

范应方 主任医师
南方医科大学珠江医院肝胆一科

方哲平 主任医师
浙江省台州医院肝胆外科

高峰 主任医师
新疆维吾尔自治区人民医院消化科

龚作炯 教授
武汉大学人民医院感染科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院

管樑 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院核医学科

焦作义 教授
兰州大学第二医院普外一科

金博 主任医师
中国人民解放军第309医院(总参谋部总医院)消化内科

金海燕 教授
延边大学附属医院消化内科

靖大道 教授
上海交通大学附属第一人民医院消化科

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院

刘三光 副教授
河北医科大学第二医院普外科

陆斌 副教授
中国人民解放军第二军医大学

马立恒 副主任医师
广东药学院附属第一医院医学影像科

麻勇 副主任医师
哈尔滨医科大学附属第一医院

倪俊 副主任医师
浙江省湖州市中心医院普通外科

牛春燕 教授
西安医学院第一附属医院

沈志勇 主任医师
上海交通大学医学院附属仁济医院普通外科

宋京海 主任医师
北京医院普通外科

孙莉 副主任护师
大连医科大学附属第一医院

孙昀 副主任医师
安徽医科大学第二附属医院重症医学科

汤朝晖 主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

唐磊 主任医师
北京大学肿瘤医院门诊部, 医学影像科

王从俊 副教授
上海交通大学附属第一人民医院分院消化外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

志谢

王志明 教授
中南大学湘雅医院普通外科

吴文溪 教授
南京医科大学第一附属医院

文彬 研究员
广州中医药大学脾胃研究所

谢敏 主任医师
南京大学医学院附属鼓楼医院

许钟 副主任医师
贵州省人民医院消化内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨薇 副教授
北京大学肿瘤医院

袁周 副主任医师
上海交通大学附属第六人民医院

张宏 教授
中国医科大学附属盛京医院

张连阳 教授
中国人民解放军第三军医大学大坪医院创伤外科

张涛 副主任医师
广西中医药大学附属瑞康医院消化内科

张婷 副主任医师
上海市儿童医院消化感染科

张伟 副主任医师
中国人民解放军第88医院消化内科

张永生 副研究员
浙江中医药大学药学院

张卓 副教授
沈阳医学院公共卫生学院营养与食品卫生学教研室

郑培永 研究员
上海中医药大学附属龙华医院

周建奖 教授
贵阳医学院分子生物学重点实验室

周翔宇 副主任医师
泸州医学院附属医院

周新民 教授
中国人民解放军第四军医大学第一附属医院消化内科

朱新宇 教授
山西医科大学第一医院传染病科



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

