

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

2015 年 1 月 8 日 第 23 卷 第 1 期 (Volume 23 Number 1)



1/2015

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录。

世界华人消化杂志®

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》编辑委员会成员, 由409位专家组成, 分布在中国29个省市, 自治区, 特别行政区和美国。其中, 上海市76位、北京市62位、江苏省28位、广东省25位、辽宁省21位、陕西省18位、黑龙江省16位、山东省13位、湖北省12位、吉林省12位、天津市12位、浙江省11位、福建省9位、湖南省9位、四川省9位、广西壮族自治区8位、贵州省8位、新疆维吾尔自治区8位、河北省7位、江西省7位、安徽省6位、云南省6位、重庆市5位、甘肃省2位、海南省2位、河南省2位、山西省2位、内蒙古自治区1位、香港特别行政区1位及美国1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王苑本教授
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
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
迟雁副教授
崔立红教授
戴菲副主任医师
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授

樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
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
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
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
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师

蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘亮明副教授
吕农华教授
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
任粉玉教授

邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
虞必光教授
宛新建副教授
王承党教授
王良静研究员
王蔚虹教授
夏时海教授
徐灿副教授
徐可树教授
杨建民教授
姚定康教授
于珮主任医师
张国主任医师
张庆瑜教授
张小晋主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑素军主任医师
鄧敏副教授
周国雄主任医师
周力主任医师

消化外科学

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
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凜教授
陈龙奇主任医师

陈汝福教授
程树群副教授
仇毓东教授
崔清波副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁义涛教授
杜顺达副教授
傅红副教授
傅晓辉副教授
高毅主任医师
葛海燕教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
胡安斌教授
黄成副主任医师
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
兰平教授
李富宇教授
李革副教授
李华教授
李华山主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李小荣教授
李旭副教授
李汛教授
李正荣副教授
李宗芳教授

梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘金钢教授
刘亮副主任医师
禄韶英副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦华东教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
任宁主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙星副教授
孙学英教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
唐南洪教授
汪波主任医师
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
王健生教授
王蒙副教授
王晓锋副主任医师
王永兵主任医师
王悦华副主任医师
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王忠裕教授
吴文溪教授

吴晓峰副主任医师
肖卫东副教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
殷正丰教授
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
袁周副主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
赵青川主任医师
郑建勇副教授
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱建伟教授
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
陈茂伟教授
丁惠国教授
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
兰英华副教授
林潮双副教授
刘纯杰研究员
刘正稳教授
马丽娜主任医师
毛德文教授

彭亮副主任医师
钱林学主任医师
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
宣世英教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
张明辉主任医师
张一教授
赵秀英副教授
周陶友副教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

杜群研究员
郭湘潭教授
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
马赞副教授
南极星教授
牛英才研究员
司富春教授
斯拉甫·艾白教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
徐庆教授
许玲教授
袁红霞研究员

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈锦飞主任医师
崔杰峰副研究员

代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
李杰主任医师
李苏宜教授
梁国刚教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
王阁教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔·夏合丁教授
袁媛教授
张凤春教授
张侗主任医师
郑丽端副教授
周建奖教授
朱永良副研究员

消化影像学

白彬主任医师
管樑主任医师
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
肖恩华教授
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

李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授

万军教授
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
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
杜业勤主任医师
唐文富教授
王学美研究员
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

曾柱教授
陈敬贤教授
崔莲花教授
邓安梅教授
邓庆副研究员
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
郭俊明教授
郭长江研究员
黄昆教授

黄文林教授
姜宏教授
黎观红教授
李东辉教授
李瀚旻教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
李铮教授
刘克辛教授
刘长征副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任浩副教授
沈东炎副教授

沈涛副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
田文静副教授
汪思应教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王秀伶教授
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
吴志强副教授
夏敏教授
杨金娥副教授
阴赅宏研究员
张红教授
张淑坤副研究员
赵铁建教授
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

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2015 年 1 月 8 日 第 23 卷 第 1 期 (总第477期)

述 评

1 肝星状细胞相关信号通路与miRNA相互调控的研究进展

曾宪一, 王洁, 张艳琼, 吴江锋

基础 研究

8 外源性NO诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡的作用机制

范丽丽, 李伟华

16 GLP-1通过抑制肝L02细胞脂性凋亡的可能机制

王珣, 王明林, 鲁新耀, 张鹏, 于红刚, 胡义奎

22 泮托拉唑对二乙基亚硝胺联合四氯化碳诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型肝细胞增殖的影响

黎元, 金海, 文国容, 庾必光

临 床 研 究

30 miR-181a、miR-181b在人胃癌细胞和组织中的表达

姚育红, 廖爱军, 陈娟, 戴勇

37 溃疡性结肠炎患者血清降钙素原检测的临床价值

袁柏思, 金鑫鑫, 路又可, 刘炯, 王少东, 王震凯, 吴琳, 汪芳裕

文 献 综 述

44 循环肿瘤细胞及游离DNA甲基化在胃癌中的研究进展

方超萍, 颜宏利, 谷明莉, 贾音, 贺琰雯, 田兆峰, 符永叶, 邓安梅

51 胃癌自噬靶向治疗的研究进展

张方信, 王彬彬, 武承凤, 郑晓凤, 马强

58 Visfatin、锌- α 2糖蛋白在NAFLD发病机制中的研究进展

陈韵, 李昌平

64 肝干细胞的研究进展

周阳, 陈嘉勇

71 溃疡性结肠炎PTPN2和NF- κ B单核苷酸多态性的研究进展

刘昌恩, 黄玉红

研 究 快 报

78 miRNA-210在胃癌转移细胞株中的表达及功能预测

张小静, 冯先玲, 黄勇, 高燕, 曹子一, 黄伟玲, 张媛, 简千贺, 钟锦成, 杨梦婷, 范新民, 金哲

85 Peg-IFN α 2b联合伊马替尼对耐伊马替尼胃肠间质瘤细胞株的抑制作用

张磊屹, 黄江生, 皮执民, 喻梅英, 王群伟, 段伦喜, 刘威

93 慢传输型便秘大鼠胃肠道多巴胺D2受体表达

张晓媛, 徐华, 郑倩, 张旭

<p>临床经验</p>	<p>99 应用金属支架治疗儿童难治性食管良性狭窄的临床价值 段天英, 刘德良, 谭玉勇, 周峻锋</p> <p>104 食管鳞状细胞癌组织中Gstp和HnRNPA2/B1的表达及其临床意义 张艳, 蒲红伟, 谌宏鸣, 朱丽娟, 李晓梅, 陈晓</p> <p>110 早期胃癌原发病灶的CT特征及临床病理对照 任刚, 赵建溪, 蔡嵘, 戚庭月, 郭辰, 陈健, 李华莉, 汪登斌, 李文华, 吴湘如, 张文杰</p> <p>116 早期胃癌SDF-1α表达与淋巴结转移的关系 郎博娟, 胡余昌, 陈路, 唐立华, 马金阳</p> <p>121 儿童先天性幽门肥厚狭窄上消化道造影的诊断价值 周斌, 黄穗, 陈瑜, 郭严延, 刘新献, 范晶</p> <p>125 异甘草酸镁注射液治疗药物性肝炎后患者的临床效果及血液生化指标变化 胡红锋</p> <p>129 早期联合应用抗凝药物预防脾切断流术后门静脉血栓的形成 郑春雷, 赵永福, 唐哲, 吴阳, 乔师师, 张水军</p> <p>134 HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素 李文渊, 叶超, 高鹏飞, 朱肖鸿</p> <p>139 腹部超声、CT及血清甲胎蛋白诊断原发性肝癌的临床疗效比较 张力, 米成嵘</p> <p>142 重症急性胰腺炎患者血浆内皮素-1、一氧化氮的动态变化及前列地尔的干预作用 吴钢, 姜琦, 赵昌杰, 童诚</p> <p>147 血浆miR-210联合血清肿瘤标志物对胰腺癌的诊断价值 胡应霞, 张海蓉, 石围, 唐君瑞</p> <p>153 四磨汤口服液治骨疗外科手术后胃肠功能障碍的临床效果 王卫东, 郭宝明</p> <p>156 利那洛肽对便秘型肠易激综合征有效并改善患者生活质量的Meta分析 黄显斌, 郭天康, 杨屹立, 王辉</p> <p>163 人大肠癌癌旁不同部位组织细胞外基质分子和细胞极性分子表达差异比较 刘红, 文彬, 陈丹, 刘金元, 胡丰良</p> <p>170 结构式心理护理对中青年男性直肠手术患者围术期应激反应的影响 董宏旭, 魏砚砚, 杨芳, 吴玉冉</p>
<p>病例报告</p>	<p>176 阑尾间质瘤1例并文献复习 朱晨宇, 朱耀明</p>
<p>附录</p>	<p>- 《世界华人消化杂志》投稿须知 2015年国内国际会议预告</p>

志 谢	志谢世界华人消化杂志编委
消 息	<p>15 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号</p> <p>21 《世界华人消化杂志》参考文献要求</p> <p>36 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊</p> <p>50 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费</p> <p>70 《世界华人消化杂志》外文字符标准</p> <p>77 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标</p> <p>124 《世界华人消化杂志》栏目设置</p> <p>152 《世界华人消化杂志》正文要求</p> <p>175 《世界华人消化杂志》出版流程</p>
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 吴江锋, 教授, 443002, 湖北省宜昌市西陵区大学路8号, 三峡大学分子生物学研究所
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 都珍珍, 闫晋利; 组版编辑 都珍珍; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 韦元涛; 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 2015-01-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

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》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《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

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

January 2015 Contents in Brief Volume 23 Number 1

EDITORIAL	1 Relationship between microRNAs and signaling pathways associated with hepatic stellate cells <i>Zeng XY, Wang J, Zhang YQ, Wu JF</i>
BASIC RESEARCH	<p>8 Mechanism underlying exogenous nitric oxide induced gastric cancer SGC-7901 cell apoptosis <i>Fan LL, Li WH</i></p> <p>16 Glucagon-like peptide-1 suppresses palmitic acid induced L02 cell apoptosis through JNK pathway <i>Wang X, Wang ML, Lu XY, Zhang P, Yu HG, Hu YK</i></p> <p>22 Pantoprazole inhibits cancer cell proliferation in mice with diethylnitrosamine and carbon tetrachloride-induced hepatoma <i>Li Y, Jin H, Wen GR, Tuo BG</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>30 Expression of miR-181a and miR-181b in human gastric cancer cells and tissues <i>Yao YH, Liao AJ, Chen J, Dai Y</i></p> <p>37 Clinical significance of serum procalcitonin in patients with ulcerative colitis <i>Yuan BS, Jin XX, Lu YK, Liu J, Wang SD, Wang ZK, Wu L, Wang FY</i></p>
REVIEW	<p>44 Circulating tumor cells and cell tumor DNA methylation in gastric cancer: From bench to bedside <i>Fang CP, Yan HL, Gu ML, Jia Y, He CW, Tian ZF, Fu YY, Deng AM</i></p> <p>51 Targeting autophagy for therapy of gastric cancer <i>Zhang FX, Wang BB, Wu CF, Zheng XF, Ma Q</i></p> <p>58 Role of visfatin and zinc-α2-glycoprotein in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease <i>Chen Y, Li CP</i></p> <p>64 Progress in research of hepatic stem cells <i>Zhou Y, Chen JY</i></p> <p>71 PTPN2 and NF-κB single nucleotide polymorphisms associated with susceptibility to ulcerative colitis <i>Liu CE, Huang YH</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>78 Expression of miRNA-210 in gastric cancer cell lines and its function prediction <i>Zhang XJ, Feng XL, Huang Y, Gao Y, Cao ZY, Huang WL, Zhang Y, Jian QH, Zhong JC, Yang MT, Fan XM, Jin Z</i></p> <p>85 Inhibitory effects of Peg-IFNα 2b and imatinib, alone or in combination, on imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor cell line PC9/GR <i>Zhang LY, Huang JS, Pi ZM, Yu MY, Wang QW, Duan LX, Liu W</i></p> <p>93 Expression of dopamine D2 receptor in the gastrointestinal mucosa of rats with slow transit constipation <i>Zhang XY, Xu H, Zheng Q, Zhang X</i></p>

CLINICAL PRACTICE

- 99 Retrievable fully covered metal stents for pediatric refractory benign esophageal stenosis
Duan TY, Liu DL, Tan YY, Zhou JF
- 104 Significance of expression of Gstp and HnRNP2/B1 in esophageal squamous cell carcinoma
Zhang Y, Pu HW, Chen HM, Zhu LJ, Li XM, Chen X
- 110 Value of contrast-enhanced multiphase spiral CT in detection of early gastric cancer and clinicopathologic features of early gastric cancer
Ren G, Zhao JX, Cai R, Qi TY, Guo C, Chen J, Li HL, Wang DB, Li WH, Wu XR, Zhang WJ
- 116 Relationship between expression of stromal cell-derived factor-1 α and lymph node metastasis in early gastric cancer
Lang BJ, Hu YC, Chen L, Tang LH, Ma JY
- 121 Diagnostic value of upper digestive tract radiography in children with congenital hypertrophic pyloric stenosis
Zhou B, Huang S, Chen Y, Guo YY, Liu XX, Fan J
- 125 Magnesium isoglycyrrhizinate for treatment of patients with drug induced hepatitis: Clinical efficacy and changes in blood biochemical indicators
Hu HF
- 129 Early joint application of anticoagulant drugs to prevent portal vein thrombosis after splenectomy and devascularization
Zheng CL, Zhao YF, Tang Z, Wu Y, Qiao SS, Zhang SJ
- 134 Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in patients with HBV-related chronic liver failure
Li WY, Ye C, Gao PF, Zhu XH
- 139 Comparative analysis of ultrasound, computed tomography and alpha fetoprotein in diagnosis of primary liver cancer
Zhang L, Mi CR
- 142 Changes in plasma ET-1 and NO in patients with severe acute pancreatitis and effect of alprostadil on ET-1 and NO
Wu G, Jiang Q, Zhao CJ, Tong C
- 147 Diagnostic value of plasma miR-210 combined with serum tumor markers in pancreatic cancer
Hu YX, Zhang HR, Shi W, Tang JR
- 153 Efficacy of Simotang oral liquid for treatment of gastrointestinal dysfunction after stable thoracolumbar fractures
Wang WD, Guo BM
- 156 Linaclotide improves quality of life in patients with irritable bowel syndrome with constipation: A Meta-analysis
Huang XB, Guo TK, Yang YL, Wang H
- 163 Expression of extracellular matrix and cell polarity proteins in tissues at different distances from colorectal cancer lesions
Liu H, Wen B, Chen D, Liu JY, Hu FL
- 170 Influence of structured psychological nursing on perioperative stress response in young and middle-aged male patients undergoing rectal operation
Dong HX, Wei YY, Yang F, Wu YR

CASE REPORT

- 176 Gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix: A case report and literature review
Zhu CY, Zhu YM

APPENDIX	- Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> Meeting events calendar in 2015
ACKNOWLEDGMENT	Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Jiang-Feng Wu, Professor, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Zhen-Zhen Du, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Zhen-Zhen Du</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Yuan-Tao Wei</i> Proof Editor: <i>Peng Guo</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 8, 2015

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, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, 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

© 2015 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, and 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/tgz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

肝星状细胞相关信号通路与miRNA相互调控的研究进展

曾宪一, 王洁, 张艳琼, 吴江锋

曾宪一, 王洁, 吴江锋, 三峡大学分子生物学研究所 湖北省宜昌市 443002

张艳琼, 三峡大学医学院生物病原与免疫学系 湖北省宜昌市 443002

吴江锋, 教授, 主要从事肝纤维化分子靶向治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81200307, 81170412, 81070348

湖北省卫生厅科研指导性基金资助项目, No. JX6C-26

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2013CFB026

作者贡献分布: 评述由曾宪一与王洁完成; 张艳琼与吴江锋负责
审校。

通讯作者: 吴江锋, 教授, 443002, 湖北省宜昌市西陵区大学路8号, 三峡大学分子生物学研究所. 313229177@qq.com

电话: 0717-6397198

收稿日期: 2014-11-29 修回日期: 2014-12-23

接受日期: 2014-12-24 在线出版日期: 2015-01-08

Relationship between microRNAs and signaling pathways associated with hepatic stellate cells

Xian-Yi Zeng, Jie Wang, Yan-Qiong Zhang,
Jiang-Feng Wu

Xian-Yi Zeng, Jie Wang, Jiang-Feng Wu, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Yan-Qiong Zhang, Department of Pathogen Biology and Immunology, Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81200307, 81170412 and 81070348; Scientific Guidance Project of Health Department of Hubei Province of China, No. JX6C-26; Natural Science Foundation of Hubei Province of China, No. 2013CFB026

Correspondence to: Jiang-Feng Wu, Professor, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China. 313229177@qq.com

Received: 2014-11-29 Revised: 2014-12-23

Accepted: 2014-12-24 Published online: 2015-01-08

Abstract

Activation and transdifferentiation of hepatic stellate cells (HSCs) caused by a variety of signal transduction pathways triggered by inflammatory factors and cytokines are a key initiating event in the process of hepatic fibrosis. MicroRNAs (miRNAs) existing in a wide variety of organisms play a role by negative regulation of their target genes at the transcriptional or translational level. Research shows that several

signal transduction pathways associated with HSCs can regulate miRNA transcription, processing, maturation and function. At the same time, different miRNAs also regulate HSC activation, proliferation and apoptosis-related signal transduction. This interaction can provide some ideas for the molecular target therapy of hepatic fibrosis and the exploration of its pathogenesis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miRNAs; Signal transduction pathway; Gene expression regulation; Hepatic stellate cells

Zeng XY, Wang J, Zhang YQ, Wu JF. Relationship between microRNAs and signaling pathways associated with hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 1-7 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.1>

摘要

肝脏受损伤后, 由炎症因子和细胞因子所启动的多种信号转导通路, 使处于静止状态的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化, 转分化, 是肝纤维化形成的关键环节之一。广泛存在于多种生物体内的微小RNA(microRNA, miRNA)能在转录后或翻译水平负调控靶基因的表达。研究显示, 与HSC功能相关的信号转导通路对miRNA的转录、加工成熟及功能进行特异性调控; 同时, 不同的miRNA也参与了对HSC活化、增殖和凋亡相关信号转导通路的调控。因此, 仅仅针对HSC功能相关分子与多种miRNA相互调控的研究, 能为肝纤维化病理进程的研究和分子靶向治疗提供一些思路。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: miRNAs; 信号转导通路; 基因表达调控; 肝星状细胞

核心提示: 本文较为详实地描述了肝星状细胞

背景资料

以胶原蛋白为主的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失调是肝纤维化的重要特征, 活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是促进ECM过度沉积的主要细胞。微小RNA(microRNA, miRNA)能通过多种信号转导通路影响HSC的活化、增殖和凋亡, 这为肝纤维化的分子靶向治疗提供了方向。

同行评议者

袁周, 副主任医师, 上海交通大学附属第六人民医院; 邓庆, 副研究员, 上海人类基因组研究中心功能基因组部

研发前沿

在生物体内多样化调控途径中, miRNA扮演着关键性角色, 包括控制发育进程、细胞分化、细胞凋亡以及器官发育等, miRNA的失调涉及到包括癌症在内的许多疾病, 阐明miRNA与HSC活化之间的关系, 可能为肝纤维化的靶向治疗提供思路。

(hepatic stellate cell, HSC)相关信号通路对微小RNA(microRNA, miRNA)的转录、加工和功能的调控, 也描述了miRNA通过调控信号通路的下游分子参与HSC的活化、增殖和凋亡, 阐述了HSC相关信号通路与miRNA相互调控的关系。

曾宪一, 王洁, 张艳琼, 吴江锋. 肝星状细胞相关信号通路与miRNA相互调控的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 1-7 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.1>

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是各种慢性进行性肝病进展至肝硬化所共有的病理过程, 其特征是以胶原蛋白为主的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失调, 活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是促进ECM过度沉积的主要细胞, 炎症过程中所分泌的多种细胞因子, 如血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 可通过多种信号转导通路介导HSC的活化、增殖和凋亡^[1-3], 也参与了HSC微小RNA(microRNA, miRNA)的生物合成过程. 同时, miRNA能通过多种信号转导通路影响HSC的活化、增殖和凋亡. 虽然已有大量文献较为详细地讨论了多种信号转导通路与miRNA的相关关系, 但是, 仅仅针对与肝纤维化具有密切关系的HSC, 做一些系统性的总结是必要的. 本文就miRNA和HSC相关信号通路之间的相互调控作一评述, 希望给肝纤维化病理机制研究和分子靶向治疗的学者提供一些思路。

1 HSC活化、增殖和凋亡相关主要信号转导通路对miRNA的调控

miRNA广泛存在于真核生物中. 在细胞核, miRNA基因通常是由RNA聚合酶II(Pol II)转录的, 最初产物为primary miRNA(pri-miRNA), 在RNase III Drosha及其辅助因子Pasha的作用下, 这些pri-miRNA被加工成约70个核苷酸的前体产物pre-miRNA(precursor miRNA). 输出蛋白exportin 5将这种前体分子输送到细胞质中. 随后, 另一个RNase III Dicer将其剪切为22个核苷酸左右的miRNA: miRNA双链. 这种

双链很快与RNA诱导沉默复合体(argonaute-containing RNA interference-induced silencing complex, RISC)中的Argonaute(Ago)家族蛋白偶联, 成为特异性决定子, 其成熟的单链miRNA保留在RISC中. 成熟的miRNA结合到与其互补的mRNA的位点上, 通过依赖于序列互补性的机制负调控基因的表达^[4]. 在HSC中, 多种信号转导通路可以通过相关因子调控miRNA的生物合成过程(图1).

1.1 HSC活化相关信号转导通路调控miRNA的生物合成 TGF- β /骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、Wnt、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR)等多个信号转导通路与HSC的活化有关, 其中, 前三者具有调控HSC中miRNA的生物合成作用, 而后者对miRNA的影响未见报道。

TGF- β /BMP通过下游的Smad分子, 在miRNA的加工、转录和功能发挥三个层次影响miRNA的生物合成. TGF- β 属于调节细胞生长和分化的超家族成员, 含有6种亚型, 其中TGF- β 1是促进HSC活化和导致肝纤维化最强的细胞因子^[5]. 当肝细胞受损时, 分泌到细胞外的TGF- β 与HSC表面TGF- β II型受体(TGF- β R II)结合, 激活胞内段丝氨酸/苏氨酸激酶, 使TGF- β I型受体(TGF- β R I)活化的关键部位, GS结构域磷酸化, 活化的TGF- β R I将生物信号传递给下游分子Smad2/3/4, 继而入核, 促进细胞外基质的分泌. Davis等^[6,7]发现, pri-miR-21具有受体型Smad绑定元件(receptor Smad-binding element, R-SBE), 当Smad与R-SBE特异性结合时, 招募Drosha复合物对pri-miR-21进行加工; Smad2/3还可以增加miR-200基因的甲基化水平, 间接地调控miRNA的转录. BMP也属于TGF- β 超家族的一员. 细胞外的BMP与HSC细胞膜上的BMP受体(BMPR)结合后, 活化的受体使细胞内的Smad1/5/8磷酸化, 与TGF- β 信号竞争性的结合Smad4, 形成复合物后进入细胞核调节BMP靶基因的转录. 高表达的BMP-7能抑制TGF- β 诱导的上皮-间充质细胞转化, 从而抑制HSC的活化、增殖^[8]. 有研究^[9]表明, miRNA生物合成过程中的RNA结合蛋白HuR, 其基因的启动子上存在BMP应答元件(BMP responsive element, BRE), 受Smad1/5/8的直接调控。

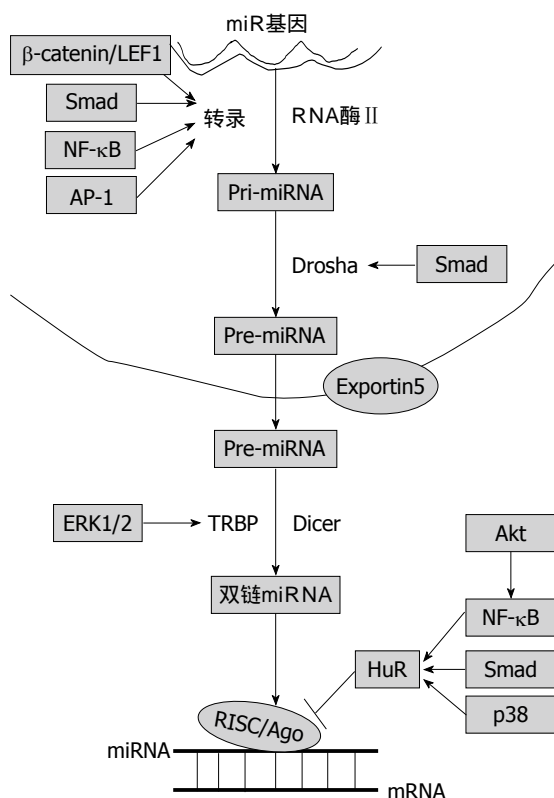


图 1 HSC相关信号通路的分子影响miRNA的生物合成过程. LEF1、NF- κ B、Smad和转录激活因子AP-1均能影响生物体内miRNA的转录过程, Smad还能影响Drosha酶对Pri-miRNA的加工, 以及直接调控RNA结合蛋白HuR的启动子上BMP应答元件. ERK1/2磷酸化后能促使Dicer结合蛋白TRBP的磷酸化, 磷酸化的TRBP能与miRNA生物合成过程中的Dicer酶结合, 进行pre-miRNA的加工. Akt、NF- κ B、Smad和p38通过影响RNA结合蛋白HuR, 进而影响RNA诱导沉默复合体(RISC)中的Ago蛋白, 从而拮抗miRNA的翻译过程. HSC: 肝星状细胞; LEF1: 淋巴增强因子; NF- κ B: 核因子- κ B; BMP: 骨形成蛋白.

Wnt蛋白是一类富含半胱氨酸的高度保守的分泌型糖蛋白, 他可以通过HSC自分泌的方式释放到细胞外, 与HSCs细胞膜上的Frizzled/低密度脂蛋白受体相关蛋白(Fz/LRP)结合, 进而调节HSC的活化^[10]. Zhou等^[11]研究发现, 经典的Wnt信号通路通过转录因子 β -catenin/LEF结合到miR-371-373启动子上, 从而促进其转录.

ERK属于细胞丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)蛋白家族. MAPK途径可被多种细胞因子激活, 如PDGF、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等, 其中, PDGF诱导的ERK细胞内信号转导途径是HSC活化和增殖的主要方式. 肝损伤可明显上调HSC中PDGF- β 受体的mRNA表达, 从而增强PDGF-BB的促分裂作用, 而PDGF-BB可通过ERK通路诱导活化的HSC分泌VEGF, 间接促进内皮细胞的生长和增殖, 从

而促进肝纤维化形成^[12]. ERK通路的ERK1/2磷酸化能促使Dicer结合蛋白TRBP(transactivating response RNA binding protein)磷酸化, 磷酸化的TRBP能与miRNA生物合成过程中的Dicer酶结合, 进行pre-miRNA的加工, 维持miRNA生物合成的稳定性^[13].

1.2 HSC增殖相关信号通路调控miRNA的生物合成过程 PDGF是已知的促进HSC增殖最强的细胞因子, 是活化ERK信号转导通路的必要条件^[14]. PDGF与HSC胞膜上的受体结合后, 使黏附斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)活化, 活化的FAK激活磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 从而激活p70S6激酶, 活化的p70S6激酶使细胞周期蛋白D1和D3磷酸化进而促进HSC的增殖和活化^[15]. PI3K能够促使Akt活化, 活化的Akt激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)并通过转录调控促进RNA结合蛋白HuR的表达^[16], 而HuR能拮抗miRNA的翻译抑制作用^[17,18].

MAPK蛋白家族包括ERK、c-jun氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)和p38. p38 MAPK信号转导通路是HSC产生胶原的重要途径; JNK通路也是促进HSC增殖的一种方式, 乙醛通过JNK通路增加肝脏I型 α 2胶原(collagen I α 2)的沉积. Schnabl等^[19]发现p38和JNK对细胞增殖有不同的作用. p38可抑制HSC的增殖, 因而, 阻断p38能促进HSCs增殖; 而阻断JNK则抑制HSCs增殖. TGF- β 非经典通路不依赖TGF- β /Smad, 而是经p38MAPK通路直接激活Smad3, 使其磷酸化并最终导致ECM的沉积, 而阻断p38MAPK信号转导通路能部分阻断TGF- β 的促纤维化作用^[20]. 另外, 转录细胞因子PDGF可以诱导Ras活化, 从而激活ERK信号转导通路促进细胞增殖. p38MAPK通路还能影响RNA结合蛋白HuR的表达及其亚细胞定位, 进而对miRNA的生物合成过程产生调控作用; MAPK介导的信号通路对于Dicer的加工过程同样具有调控作用, 如TRBP在受到MAPK/ERK通路的ERK1/2磷酸化后才能与Dicer相互作用进行pre-miRNA的加工, 并介导Ago2的结合^[13].

1.3 HSC凋亡相关信号转导通路对miRNA的调控 目前文献报道的与HSC凋亡相关信号转导通路中, NF- κ B通路能够影响miRNA的生物合成过程. NF- κ B家族由REL(cREL)、p65(REL-A)、REL-B、p50和p52组成. 正常情

相关报道
本文就miRNA和HSC密切的信号通路相关分子之间的相互调控关系做一些系统性的总结. 目前从共性方面, 已经有文献涉及到多种信号转导通路与miRNA的相关关系.

创新盘点
文章总结了HSC相关信号通路对miRNA转录、加工成熟及功能的调控,同时,miRNA又通过这些信号通路及相关分子调控HSC的活化、增殖和凋亡。

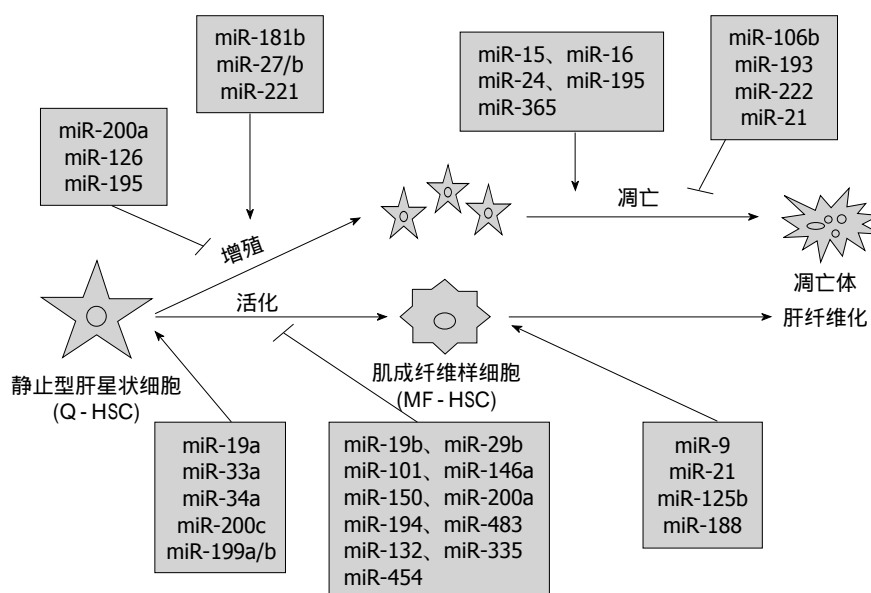


图2 HSC活化、增殖和凋亡相关的miRNA. 多种miRNA通过靶向信号通路下游分子促进或抑制HSC的活化、增殖和凋亡. HSC: 肝星状细胞。

况下NF- κ B与胞质中抑制因子家族I κ Bs(inhibit κ B)结合,在胞质内处于无活性状态;当受到信号刺激后I κ Bs降解,解离出的NF- κ B开始活化并产生活性,具有活性的NF- κ B进入细胞核与DNA上特异序列结合参与调控基因转录. Gao等^[21]研究发现, HSC持续存活与结缔组织生长因子有关,他通过NF- κ B转导途径阻止HSC的凋亡. NF- κ B同时也调控miRNA的功能,与miRNA生物合成过程有关的RNA结合蛋白HuR是NF- κ B的下游靶基因,他能抑制miRNA对靶基因的调控作用,其转录激活需要PI3K/AKT通路的协同作用^[22]; MiR-21则同时受到NF- κ B和MAPK/JNK通路的共同调控。

2 miRNA调控相关信号转导通路影响HSC活化、增殖和凋亡

miRNA已被证明在HSC活化、增殖和凋亡及信号转导中发挥着重要作用,miRNA的失调涉及到癌症和纤维化相关的疾病. HSC活化后丢失脂滴,转分化为肌成纤维细胞(myofibroblastic hepatic stellate cells, MF-HSC),进而分泌ECM,同时,在HSC活化的过程中还伴随着HSC的增殖和凋亡,许多miRNA参与了该过程^[23-48](图2). 目前已发现,miRNA通过多个信号转导途径影响HSC的活化、增殖和凋亡,例如TGF- β 、PI3K-Akt、死亡受体及线粒体调控细胞凋亡等信号转导通路。

2.1 miRNA调控TGF- β /Smad信号通路相关分子影响HSCs活化

与HSC活化相关的信号转导通路中,目前主要集中在miRNA对TGF- β /Smad

信号转导通路的调控研究. MiR-29b直接靶向TGF- β 1从而通过TGF- β 1/Smad3信号转导通路,抑制I型胶原蛋白和 α -SMA的表达^[49]. miR-200a通过抑制TGF- β 2蛋白水平和mRNA水平,进而抑制TGF- β 介导的HSC活化,他能显著抑制 α -SMA的表达^[42]. 研究还发现,miR-101具有抑制TGF- β 信号转导通路的能力,他通过靶向TGF- β I型受体(TGF- β R I)并抑制其表达,进而减弱TGF- β 信号转导通路的促HSC活化作用^[41], miR-19b靶向抑制TGF- β II型受体(TGF- β R II)的表达,导致Smad3的磷酸化水平降低,减少I型胶原的表达^[34]. Smad7可以干扰Smad2和Smad3磷酸化,进而抑制TGF- β 信号,而miR-21能下调Smad7的表达,从而减弱Smad7对TGF- β 信号通路的负调控,促进肝纤维化^[50]. He等^[31]研究显示miR-146a在肝纤维化中表达下调,而miR-146a能通过靶向Smad4,抑制TGF- β 诱导的HSC的活化、增殖,并促进HSC凋亡,miR-454也能直接靶向Smad4,进而抑制HSC的活化^[43],这些miRNA通过对TGF- β /Smad信号通路分子的调控,影响肝纤维化进程(图3).

2.2 miRNA靶向信号通路相关分子调控HSC的增殖

miRNA也能调控HSC增殖, Wang等^[25]证实,过表达的miR-181b通过直接靶向CDNK1B(编码p27蛋白)增加S期HSC的数量,促进增殖. miR-27a和miR-27b能靶向维甲酸X受体 α (retinoic X receptor α , RXR α)促进HSC增殖^[27],在LX-2细胞(人HSC)中,干扰素 β (interferon- β , IFN- β)能介导miR-195过表达,进而降低细胞周期蛋白E1的表达,增强p21基因的表达,通过延缓G₁期向S期进

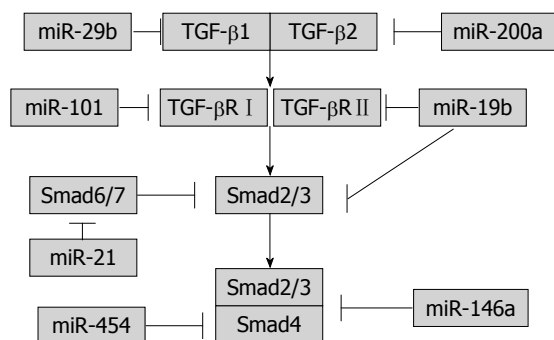


图3 miRNA对TGF- β /Smad信号通路相关因子的调控. 多种miRNA不仅能够靶向TGF- β 及其受体, 还能靶向TGF- β 信号转导通路下游分子, 从而调控这些基因的表达, 进而影响HSC的活化. TGF- β : 转化生长因子 β ; HSC: 肝星状细胞.

展来抑制细胞增殖^[28]. miR-200a通过靶向肿瘤抑制因子keap1(kelch-like ECH-associated protein 1), 从而激活keap/Nrf2信号转导通路, 进而抑制HSC的增殖^[29].

2.3 miRNA通过Caspase相关信号通路分子影响HSC的凋亡 Caspase家族是一组存在于细胞质中含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶, 能够特异性切割靶蛋白天冬氨酸残基后的肽键, 引起细胞凋亡. 在HSC活化的过程中伴随着HSC的凋亡, 随着时间的推移, 凋亡的细胞数也不断地增多. miRNA可以通过Caspase相关凋亡通路影响HSC的凋亡(图4). miR-15b、miR-16、miR-21、miR-24、miR-195和miR-365均参与了线粒体诱导的凋亡通路, miR-24、miR-195和miR-365能靶向调节*Bcl-2*基因促进HSC的凋亡^[45], Guo等^[30]研究发现, miR-15b和miR-16也能降低*Bcl-2*的表达, 同时具有激活半胱天冬酶Caspase9的能力, 进而抑制HSC的增殖并促进活化的HSC凋亡, 此外, 他们进一步证实, miR-16也可以降低细胞周期蛋白D1的表达水平, 抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡; 而miR-21能上调*Bcl-2*的表达, 抑制Caspase9的激活, 进而抑制细胞凋亡^[46].

3 结论

MiRNA和HSC相关信号通路的相互作用在HSC的活化、增殖和凋亡中发挥着重要作用. 一方面, HSC活化、增殖和凋亡相关的多个信号通路的下游分子, 直接或者间接参与了miRNA的转录、加工和功能的调控; 另一方面, 部分miRNA通过调控信号通路的下游分子, 参与了HSC的活化、增殖和凋亡. 针对抑制HSC活化、增殖及促

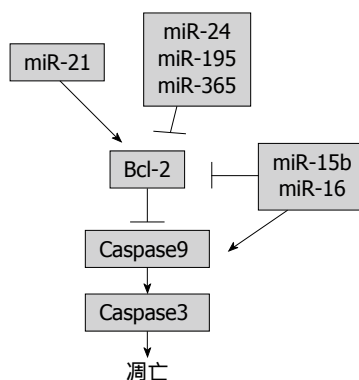


图4 miRNA参与Caspase相关凋亡信号通路. miR-15b、miR-16、miR-21、miR-24、miR-195和miR-365均能靶向抗凋亡基因*Bcl-2*, miR-15b和miR-16, 还能直接靶向Caspase9, 参与线粒体诱导的凋亡通路.

进HSC凋亡的miRNA, 上调其表达有可能成为治疗肝纤维化的新策略.

4 参考文献

- Liu Y, Wang Z, Kwong SQ, Lui EL, Friedman SL, Li FR, Lam RW, Zhang GC, Zhang H, Ye T. Inhibition of PDGF, TGF- β , and Abl signaling and reduction of liver fibrosis by the small molecule Bcr-Abl tyrosine kinase antagonist Nilotinib. *J Hepatol* 2011; 55: 612-625 [PMID: 21251937 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.035]
- Nagaraja T, Chen L, Balasubramanian A, Groopman JE, Ghoshal K, Jacob ST, Leask A, Brigstock DR, Anand AR, Ganju RK. Activation of the connective tissue growth factor (CTGF)-transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) axis in hepatitis C virus-expressing hepatocytes. *PLoS One* 2012; 7: e46526 [PMID: 23056332 DOI: 10.1371/journal.pone.0046526]
- Qu H, Yang X. Metformin inhibits angiogenesis induced by interaction of hepatocellular carcinoma with hepatic stellate cells. *Cell Biochem Biophys* 2014 Oct 18. [Epub ahead of print] [PMID: 25326336]
- Kavitha N, Vijayarathna S, Jothy SL, Oon CE, Chen Y, Kanwar JR, Sasidharan S. MicroRNAs: biogenesis, roles for carcinogenesis and as potential biomarkers for cancer diagnosis and prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 7489-7497 [PMID: 25292018]
- 党双锁, 李亚萍. TGF- β 1在肝纤维化研究中的新进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1631-1636
- Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, Hata A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature* 2008; 454: 56-61 [PMID: 18548003 DOI: 10.1038/nature07086]
- Davis BN, Hilyard AC, Nguyen PH, Lagna G, Hata A. Smad proteins bind a conserved RNA sequence to promote microRNA maturation by Drosha. *Mol Cell* 2010; 39: 373-384 [PMID: 20705240 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.07.011]
- Zhong L, Wang X, Wang S, Yang L, Gao H, Yang C. The anti-fibrotic effect of bone morphogenic protein-7(BMP-7) on liver fibrosis. *Int J Med Sci* 2013; 10: 441-450 [PMID: 23471555 DOI: 10.7150/ijms.5765]

应用要点
miRNA和HSC相关信号通路的相互作用在HSC的活化、增殖和凋亡中发挥着重要作用. 针对抑制HSC活化、增殖及促进HSC凋亡的miRNA, 上调其表达有可能成为治疗肝纤维化的新策略.

名词解释

HSC: 位于肝Disse间隙内, 是ECM的主要来源, 正常情况下, HSC处于静止状态, 各种炎症刺激能促使其激活并转化为肌成纤维样细胞, 目前认为是导致肝纤维化形成的重要细胞。

- 9 Jeyaraj SC, Singh M, Ayupova DA, Govindaraju S, Lee BS. Transcriptional control of human antigen R by bone morphogenetic protein. *J Biol Chem* 2010; 285: 4432-4440 [PMID: 20018854 DOI: 10.1074/jbc.M109.062216]
- 10 王心蕊, 鲁玉辉. Wnt/ β -catenin通路对肝星状细胞的活化、增殖. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 609-614
- 11 Zhou AD, Diao LT, Xu H, Xiao ZD, Li JH, Zhou H, Qu LH. β -Catenin/LEF1 transactivates the microRNA-371-373 cluster that modulates the Wnt/ β -catenin-signaling pathway. *Oncogene* 2012; 31: 2968-2978 [PMID: 22020335 DOI: 10.1038/onc.2011.461]
- 12 Zhang F, Zhang Z, Kong D, Zhang X, Chen L, Zhu X, Lu Y, Zheng S. Tetramethylpyrazine reduces glucose and insulin-induced activation of hepatic stellate cells by inhibiting insulin receptor-mediated PI3K/AKT and ERK pathways. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382: 197-204 [PMID: 24071517 DOI: 10.1016/j.mce.2013.09.020]
- 13 Paroo Z, Ye X, Chen S, Liu Q. Phosphorylation of the human microRNA-generating complex mediates MAPK/Erk signaling. *Cell* 2009; 139: 112-122 [PMID: 19804757 DOI: 10.1016/j.cell.2009.06.044]
- 14 Li J, Hu W, Baldassare JJ, Bora PS, Chen S, Poulos JE, O'Neill R, Britton RS, Bacon BR. The ethanol metabolite, linolenic acid ethyl ester, stimulates mitogen-activated protein kinase and cyclin signaling in hepatic stellate cells. *Life Sci* 2003; 73: 1083-1096 [PMID: 12818718]
- 15 Pinzani M. PDGF and signal transduction in hepatic stellate cells. *Front Biosci* 2002; 7: d1720-d1726 [PMID: 12133817]
- 16 Singh M, Martinez AR, Govindaraju S, Lee BS. HuR inhibits apoptosis by amplifying Akt signaling through a positive feedback loop. *J Cell Physiol* 2013; 228: 182-189 [PMID: 22674407 DOI: 10.1002/jcp.24120]
- 17 Dassi E, Zuccotti P, Leo S, Provenzano A, Assfalg M, D'Onofrio M, Riva P, Quattrone A. Hyper conserved elements in vertebrate mRNA 3'-UTRs reveal a translational network of RNA-binding proteins controlled by HuR. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: 3201-3216 [PMID: 23376935 DOI: 10.1093/nar/gkt017]
- 18 Srikantan S, Tominaga K, Gorospe M. Functional interplay between RNA-binding protein HuR and microRNAs. *Curr Protein Pept Sci* 2012; 13: 372-379 [PMID: 22708488]
- 19 Schnabl B, Bradham CA, Bennett BL, Manning AM, Stefanovic B, Brenner DA. TAK1/JNK and p38 have opposite effects on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2001; 34: 953-963 [PMID: 11679966]
- 20 Kim SI, Kwak JH, Zachariah M, He Y, Wang L, Choi ME. TGF- β -activated kinase 1 and TAK1-binding protein 1 cooperate to mediate TGF- β 1-induced MKK3-p38 MAPK activation and stimulation of type I collagen. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F1471-F1478 [PMID: 17299140]
- 21 Gao R, Briggstock DR. Activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) by connective tissue growth factor (CCN2) is involved in sustaining the survival of primary rat hepatic stellate cells. *Cell Commun Signal* 2005; 3: 14 [PMID: 16303051]
- 22 Kang MJ, Ryu BK, Lee MG, Han J, Lee JH, Ha TK, Byun DS, Chae KS, Lee BH, Chun HS, Lee KY, Kim HJ, Chi SG. NF- κ B activates transcription of the RNA-binding factor HuR, via PI3K-AKT signaling, to promote gastric tumorigenesis. *Gastroenterology* 2008; 135: 2030-2042, 2030-2042 [PMID: 18824170 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.08.009]
- 23 Chen C, Wu CQ, Zhang ZQ, Yao DK, Zhu L. Loss of expression of miR-335 is implicated in hepatic stellate cell migration and activation. *Exp Cell Res* 2011; 317: 1714-1725 [PMID: 21586285 DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.05.001]
- 24 Zheng J, Lin Z, Dong P, Lu Z, Gao S, Chen X, Wu C, Yu F. Activation of hepatic stellate cells is suppressed by microRNA-150. *Int J Mol Med* 2013; 32: 17-24 [PMID: 23604143 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1356]
- 25 Wang B, Li W, Guo K, Xiao Y, Wang Y, Fan J. miR-181b promotes hepatic stellate cells proliferation by targeting p27 and is elevated in the serum of cirrhosis patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 421: 4-8 [PMID: 22446332 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.03.025]
- 26 Szabo G, Bala S. MicroRNAs in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 542-552 [PMID: 23689081 DOI: 10.1038/Nrgastro.2013.87]
- 27 Ji J, Zhang J, Huang G, Qian J, Wang X, Mei S. Over-expressed microRNA-27a and 27b influence fat accumulation and cell proliferation during rat hepatic stellate cell activation. *FEBS Lett* 2009; 583: 759-766 [PMID: 19185571 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.01.034]
- 28 Sekiya Y, Ogawa T, Iizuka M, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Down-regulation of cyclin E1 expression by microRNA-195 accounts for interferon- β -induced inhibition of hepatic stellate cell proliferation. *J Cell Physiol* 2011; 226: 2535-2542 [PMID: 21792910 DOI: 10.1002/jcp.22598]
- 29 Yang JJ, Tao H, Hu W, Liu LP, Shi KH, Deng ZY, Li J. MicroRNA-200a controls Nrf2 activation by target Keap1 in hepatic stellate cell proliferation and fibrosis. *Cell Signal* 2014; 26: 2381-2389 [PMID: 25049078 DOI: 10.1016/j.cellsig.2014.07.016]
- 30 Guo CJ, Pan Q, Li DG, Sun H, Liu BW. miR-15b and miR-16 are implicated in activation of the rat hepatic stellate cell: An essential role for apoptosis. *J Hepatol* 2009; 50: 766-778 [PMID: 19232449 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.025]
- 31 He Y, Huang C, Sun X, Long XR, Lv XW, Li J. MicroRNA-146a modulates TGF- β 1-induced hepatic stellate cell proliferation by targeting SMAD4. *Cell Signal* 2012; 24: 1923-1930 [PMID: 22735812 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.06.003]
- 32 Sekiya Y, Ogawa T, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Suppression of hepatic stellate cell activation by microRNA-29b. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412: 74-79 [PMID: 21798245 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.07.041]
- 33 Gong XH, Chen C, Hou P, Zhu SC, Wu CQ, Song CL, Ni W, Hu JF, Yao DK, Kang JH, Zhu L. Overexpression of miR-126 inhibits the activation and migration of HSCs through targeting CRK. *Cell Physiol Biochem* 2014; 33: 97-106 [PMID: 24480980 DOI: 10.1159/000356653]
- 34 Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, Ghosh S, Li T, McKillop IH, Russo MW, Bonkovsky HL, Schrum LW. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology* 2012; 56: 300-310 [PMID: 22278637 DOI: 10.1002/hep.25613]

- 35 Li ZJ, Ou-Yang PH, Han XP. Profibrotic effect of miR-33a with Akt activation in hepatic stellate cells. *Cell Signal* 2014; 26: 141-148 [PMID: 24100264 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.09.018]
- 36 Li WQ, Chen C, Xu MD, Guo J, Li YM, Xia QM, Liu HM, He J, Yu HY, Zhu L. The rno-miR-34 family is upregulated and targets ACSL1 in dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *FEBS J* 2011; 278: 1522-1532 [PMID: 21366874 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08075.x]
- 37 Ogawa T, Enomoto M, Fujii H, Sekiya Y, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. MicroRNA-221/222 upregulation indicates the activation of stellate cells and the progression of liver fibrosis. *Gut* 2012; 61: 1600-1609 [PMID: 22267590]
- 38 Shen WJ, Dong R, Chen G, Zheng S. microRNA-222 modulates liver fibrosis in a murine model of biliary atresia. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 446: 155-159 [PMID: 24569080 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.065]
- 39 Tan W, Li Y, Lim SG, Tan TM. miR-106b-25/miR-17-92 clusters: polycistrons with oncogenic roles in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5962-5972 [PMID: 24876719 DOI: 10.3748/wjg.v20.i20.5962]
- 40 Zheng J, Wu C, Xu Z, Xia P, Dong P, Chen B, Yu F. Hepatic stellate cell is activated by microRNA-181b via PTEN/Akt pathway. *Mol Cell Biochem* 2015; 398: 1-9 [PMID: 25148875 DOI: 10.1007/s11010-014-2199-8]
- 41 Tu X, Zhang H, Zhang J, Zhao S, Zheng X, Zhang Z, Zhu J, Chen J, Dong L, Zang Y, Zhang J. MicroRNA-101 suppresses liver fibrosis by targeting the TGF β signalling pathway. *J Pathol* 2014; 234: 46-59 [PMID: 24817606 DOI: 10.1002/path.4373]
- 42 Sun X, He Y, Ma TT, Huang C, Zhang L, Li J. Participation of miR-200a in TGF- β 1-mediated hepatic stellate cell activation. *Mol Cell Biochem* 2014; 388: 11-23 [PMID: 24242045 DOI: 10.1007/s11010-013-1895-0]
- 43 Zhu D, He X, Duan Y, Chen J, Wang J, Sun X, Qian H, Feng J, Sun W, Xu F, Zhang L. Expression of microRNA-454 in TGF- β 1-stimulated hepatic stellate cells and in mouse livers infected with *Schistosoma japonicum*. *Parasit Vectors* 2014; 7: 148 [PMID: 24685242 DOI: 10.1186/1756-3305-7-148]
- 44 Venugopal SK, Jiang J, Kim TH, Li Y, Wang SS, Torok NJ, Wu J, Zern MA. Liver fibrosis causes downregulation of miRNA-150 and miRNA-194 in hepatic stellate cells, and their overexpression causes decreased stellate cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G101-G106 [PMID: 19892940 DOI: 10.1152/ajpgi.00220.2009]
- 45 Singh R, Saini N. Downregulation of BCL2 by miRNAs augments drug-induced apoptosis-a combined computational and experimental approach. *J Cell Sci* 2012; 125: 1568-1578 [PMID: 22328513 DOI: 10.1242/jcs.095976]
- 46 Zhou X, Zhang J, Jia Q, Ren Y, Wang Y, Shi L, Liu N, Wang G, Pu P, You Y, Kang C. Reduction of miR-21 induces glioma cell apoptosis via activating caspase 9 and 3. *Oncol Rep* 2010; 24: 195-201 [PMID: 20514462]
- 47 Mann J, Chu DC, Maxwell A, Oakley F, Zhu NL, Tsukamoto H, Mann DA. MeCP2 controls an epigenetic pathway that promotes myofibroblast transdifferentiation and fibrosis. *Gastroenterology* 2010; 138: 705-714, 714.e1-4 [PMID: 19843474 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.002]
- 48 Ramachandran S, Ilias Basha H, Sarma NJ, Lin Y, Crippin JS, Chapman WC, Mohanakumar T. Hepatitis C virus induced miR200c down modulates FAP-1, a negative regulator of Src signaling and promotes hepatic fibrosis. *PLoS One* 2013; 8: e70744 [PMID: 23950995 DOI: 10.1371/journal.pone.0070744]
- 49 Zhang Y, Huang XR, Wei LH, Chung AC, Yu CM, Lan HY. miR-29b as a therapeutic agent for angiotensin II-induced cardiac fibrosis by targeting TGF- β /Smad3 signaling. *Mol Ther* 2014; 22: 974-985 [PMID: 24569834 DOI: 10.1038/mt.2014.25]
- 50 Noetel A, Kwiecinski M, Elfimova N, Huang J, Odenthal M. microRNA are Central Players in Anti- and Profibrotic Gene Regulation during Liver Fibrosis. *Front Physiol* 2012; 3: 49 [PMID: 22457651 DOI: 10.3389/fphys.2012.00049]

同行评价

作者较为详实地描述了miRNA和HSC相关信号转导通路的相互作用及miRNA在HSC的活化、增殖和凋亡的重要作用, 文章描述合理, 观点新颖且正确, 为肝星状细胞激活的内在机制、肝纤维化病理进程过程中的分子机制研究以及分子靶向治疗提供文献参考。

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



外源性NO诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡的作用机制

范丽丽, 李伟华

背景资料
以往研究表明一氧化氮(nitric oxide, NO)供体有抗肿瘤作用的潜力, 但是各类肿瘤的生理病理过程不同, 我们有必要加强NO对给各类肿瘤杀瘤效应的特异性。目前很多文献研究有关外源性NO分别对胃癌的发生、发展的影响, 但引起中分化胃癌细胞凋亡的机制目前仍无定论。

范丽丽, 宁夏医科大学检验学院 宁夏回族自治区银川市 750003
李伟华, 甘肃省人民医院中心实验室 甘肃省兰州市 730000
范丽丽, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
甘肃省科技支撑项目, No. 090NKCA098
作者贡献分布: 范丽丽与李伟华对此文所作贡献均等; 此课题由李伟华与范丽丽设计; 研究过程由范丽丽操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李伟华提供; 数据分析由范丽丽完成; 本论文写作由范丽丽与李伟华完成。
通讯作者: 李伟华, 教授, 高级生物工程师, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路204号, 甘肃省人民医院中心实验室. liwhsl@163.com
电话: 0931-8281036
收稿日期: 2014-10-09 修回日期: 2014-11-17
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2015-01-08

Mechanism underlying exogenous nitric oxide induced gastric cancer SGC-7901 cell apoptosis

Li-Li Fan, Wei-Hua Li

Li-Li Fan, Inspection Institute of Ningxia Medical University, Yinchuan 750003, Ningxia Hui Autonomous Region, China
Wei-Hua Li, Central Laboratory, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Gansu Province, No. 090NKCA098
Correspondence to: Wei-Hua Li, Professor, Central Laboratory, People's Hospital of Gansu Province, 204 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. liwhsl@163.com
Received: 2014-10-09 Revised: 2014-11-17
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the potential mechanism of exogenous nitric oxide (NO) induced apoptosis of moderately differentiated gastric cancer cells (SGC-7901).

METHODS: SGC-7901 cells were treated with different concentrations of sodium nitroprusside (SNP), which was used as the donor of exogenous NO. The survival rate of cells was detected by MTT assay. Cells were divided into four groups: a blank control group, a reactive oxygen species (ROS) inhibitor (N-acetyl-L-cysteine, NAC) group, an SNP group and an NAC + SNP group. Apoptotic cell

morphology and apoptosis rate were evaluated by fluorescence microscopy. Levels of ROS were determined by fluorescent chemiluminescence. Protein levels of Cu/Zn-superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD) were detected by Western blot analysis.

RESULTS: SNP induced apoptosis of SGC-7901 cells in a dose- and time-dependent manner. There were no significant differences in cell apoptosis rate or ROS level between the NAC group and blank control group ($P > 0.05$). Compared to the blank control group, cell apoptosis rate and ROS were significantly increased in the SNP group and NAC + SNP group ($P < 0.05$). Cell apoptosis rate and ROS level were significantly increased in the SNP group compared to the NAC + SNP group ($P < 0.05$). SNP decreased Cu/Zn-SOD protein expression in SGC-7901 cells.

CONCLUSION: Exogenous NO can up-regulate ROS level in gastric cells by inhibiting Cu/Zn-SOD protein expression, which may be related to the mechanism by which NO induces apoptosis of gastric cancer cells.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Exogenous nitric oxide; Cell apoptosis; Reactive oxygen species

Fan LL, Li WH. Mechanism underlying exogenous nitric oxide induced gastric cancer SGC-7901 cell apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 8-15 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/8.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.8>

摘要

目的: 探讨外源性一氧化氮(nitric oxide, NO)诱导中分化胃癌细胞株(SGC-7901)凋亡的潜在机制。

方法: 采用不同浓度的外源性NO供体亚硝酸钠(sodium nitroprusside, SNP)处理细胞, MTT法检测细胞的存活率; 荧光显微镜检

同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

测细胞的凋亡形态及凋亡率. 依据有无活性氧(reactive oxygen species, ROS)抑制剂N-乙酰半胱氨酸(*N*-acetyl-*L*-cysteine, NAC)和SNP作用细胞, 实验分4组: 对照组、NAC组、SNP组、NAC+SNP组. 采用荧光化学发光仪检测胞内ROS水平; 流式细胞仪检测细胞的凋亡; Western blot检测铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-superoxide dismutase, Cu/Zn-SOD)蛋白的表达. 所有数据采用SPSS17.0分析.

结果: (1)SNP可诱导胃癌细胞凋亡, 且有浓度及时间依赖性; (2)NAC组和对照组在细胞凋亡率及胞内ROS水平上差异无统计学意义($P>0.05$); (3)较对照组, 单独SNP可使细胞凋亡率及胞内ROS水平明显升高($P<0.05$); 而经NAC干预后, SNP引起的细胞凋亡率和胞内ROS水平均下降($P<0.05$), 但仍高于对照组; (4)SNP可引起细胞Cu/Zn-SOD蛋白表达的降低.

结论: 外源性NO可通过抑制胃癌细胞Cu/Zn-SOD蛋白的表达而上调其ROS水平, 该功能可能参与其诱导的胃癌细胞凋亡途径.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 外源一氧化氮; 细胞凋亡; 活性氧

核心提示: 外源性一氧化氮(nitric oxide)供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)可诱导中分化胃癌细胞的凋亡, 且有浓度及时间依赖性; SNP可通过抑制胃癌细胞内铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-superoxide dismutase)蛋白的表达, 上调细胞内活性氧(reactive oxygen species)的水平, 而后经过级联反应, 启动胃癌细胞凋亡途径.

范丽丽, 李伟华. 外源性NO诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡的作用机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 8-15 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/8.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.8>

0 引言

硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)是一种典型的慢性释放型一氧化氮(nitric oxide, NO)供体, 其可短期扩张血管, 被广泛用于临床和实验研究^[1,2]. 目前研究证明SNP可诱发细胞凋亡^[3,4]. 桑建荣等^[3]研究表明外源性NO可阻滞胃癌细胞周期、抑制细胞生长和诱导细胞凋亡, 但其诱导细胞凋亡的机制尚不清楚.

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体内重要的信号分子并对生物生长发育有重要意义^[5]. 近年来随着对ROS在肿瘤发生中作用机制的深入研究, 现已证实细胞内ROS水平的激增是引起细胞凋亡的重要途径之一^[6,7].

铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn-superoxide dismutase, Cu/Zn-SOD)作为生物体内超氧阴离子自由基的清洁剂, 具有抗衰老和治疗疾病的作用^[8]. NO是否通过调节Cu/Zn-SOD蛋白的表达来调控细胞内ROS水平, 进而诱导胃癌细胞凋亡, 目前尚无文献报道. 本研究将探讨外源性NO与细胞内ROS的关系及其诱导胃癌细胞凋亡的潜在机制.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌SGC-7901细胞、DMEM培养基、新生牛血清(Hyclone公司), 0.25%胰蛋白酶混合液(Gibco公司), SNP及N-乙酰半胱氨酸(*N*-acetyl-*L*-cysteine, NAC)(Sigma公司), MTT试剂、DAPI试剂和DCFH-DA荧光试剂(碧云天生物公司). 酶标仪(Thermo®RMK3), 上海普林斯顿科技发展有限公司; 荧光倒置显微镜(Olympus®RIX71-A12FL/PH), 上海普赫光电科技有限公司; 荧光化学发光分析仪(Fluoroskan Ascent®RFL), 山东爱博科技贸易有限公司; 智能掌控型流式细胞分析仪(BD FACS Verse™), 美国BD公司; ChemiDoc分子成像系统及Image Lab软件(ChemiDoc™ XRS+, BIORAD), 美国伯乐公司.

1.2 方法

1.2.1 SGC-7901细胞的体外培养: 将SGC-7901细胞接种于培养皿中, 用含10%的新生牛血清、1/1000双抗的DMEM于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中孵育. 根据细胞生长状况每2-3 d更换培养液1次, 当细胞呈对数生长期时, 用于实验.

1.2.2 MTT测细胞存活率: (1)含0.25%胰蛋白酶的混合液消化细胞; (2)无菌条件下PBS吹打、离心(1000 r/min, 3 min); (3)加入适量含10%新生牛血清的DMEM培养液, 混匀, 计数; (4)以 2×10^5 个/mL密度接种于96孔板, 设7个复孔, 待细胞贴壁后, 加含不同浓度SNP(0、10、50、100、200、400、600、800、1000 μmol/L)的培养液孵育24、48 h; (5)每孔加20 μL MTT溶液(5 mg/mL), 再孵育4 h, 弃培养液, 每孔加150 μL DMSO, 振荡10 min; (6)酶标仪(Thermo®RMK3)测定490 nm

研发前沿
活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体内重要的信号分子并对生物生长发育有重要意义. 近年来关于ROS涉及癌症机制的研究也日益受到重视. 本文通过ROS生成变化和细胞凋亡率变化之间的关系, 并检测ROS相关酶及蛋白的变化, 阐明外源性NO对诱导中分化胃癌细胞凋亡的影响及可能的机制.

相关报道
桑建荣等研究外源性NO可阻滞胃癌细胞周期、抑制细胞生长和诱导细胞凋亡,但其诱导细胞凋亡的机制是从凋亡信号通路这方面阐述的。本研究阐述外源性NO诱导胃癌细胞凋亡的机制着重从凋亡信号的启动机制阐述的:ROS可作为诱导信号分子,经级联反应启动细胞凋亡途径。

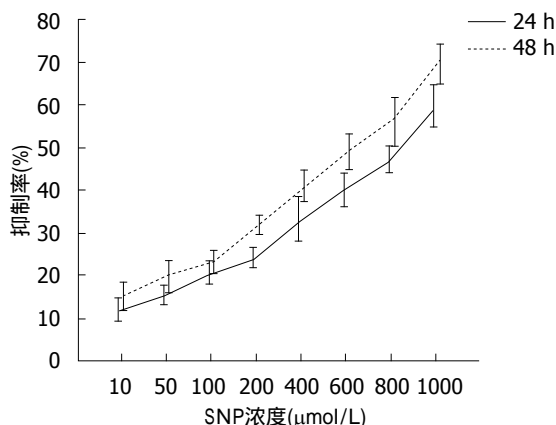


图1 不同浓度SNP对SGC7901细胞的抑制(SNP作用24、48 h后测定). SNP: 亚硝酸钠.

波长处的吸光度(A)值, 计算细胞生长抑制率(inhibitory rate, IR). $IR(\%) = (\text{正常对照组平均A值} - \text{药物处理组平均A值}) / (\text{正常对照组平均A值} - \text{空白对照组平均A值}) \times 100\%$.

1.2.3 DAPI细胞核荧光染色: (1)将细胞接种于含载玻片的培养皿中, 37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中孵育; (2)隔日更换含不同浓度SNP(0、200、400、800 μmol/L)的培养液, 孵育48 h; (3)弃培养液, 750 mL/L乙醇固定3 min, 加入1 mL DAPI染色剂(10 μmol/L)孵育30 min; (4)PBS漂洗3次, 荧光倒置显微镜(Olympus®RIX71)下观察细胞凋亡形态并计数凋亡细胞.

1.2.4 DCFH-DA荧光测定细胞内ROS水平: (1)将细胞接种于24孔板(2×10^5 个/mL), 设5个复孔, 37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中孵育24 h; (2)弃培养液, 加0.5 mL DCFH-DA(10 μmol/L), 充分混匀, 37 °C避光反应20 min; (3)无血清的培养液漂洗3次, 每孔加入1 mL对应试剂: NAC(3 mmol/L)、SNP(400 μmol/L)、混合液(3 mmol/L NAC+400 μmol/L SNP)、培养液(空白对照); (4)荧光化学发光分析仪(Fluoroskan Ascent®RFL)实时检测刺激前后荧光的强弱(485 nm激发波长, 538 nm发射波长).

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡: (1)将对数生长期细胞以 2×10^5 个/mL接种于60 mm培养皿, 37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中孵育; (2)待细胞贴壁后, 更换含不同试剂的培养液孵育48 h: NAC(3 mmol/L); SNP(400 μmol/L); 3 mmol/L NAC作用细胞2 h后, 再加入400 μmol/L SNP; 培养液(空白对照); (3)PBS漂洗2次, 制成500 μL的单细胞悬液; (4)取100 μL置于流式管, 加5 μL AnnexinV/FITC和5 μL PI溶液混匀, 室温避光孵

表1 不同浓度SNP对SGC-7901细胞的抑制率(SNP作用24、48 h后测定)(mean ± SD, n = 7)

处理	24 h	48 h
SNP(200 μmol/L)	24.10 ± 2.31 ^d	31.83 ± 2.14 ^{bd}
SNP(400 μmol/L)	33.44 ± 5.13 ^f	41.02 ± 3.53 ^{bf}
SNP(800 μmol/L)	47.32 ± 3.08	56.07 ± 5.44 ^b

^bP<0.01 vs 24 h组; ^dP<0.01 vs SNP(400 μmol/L)组; ^fP<0.01 vs SNP(800 μmol/L)组. SNP: 亚硝酸钠.

育15 min, A-V缓冲液中和反应后流式细胞分析仪(BD FACS Verse™)检测.

1.2.6 Western blot法检测Cu/Zn-SOD蛋白表达:

(1)按常规方法提取细胞总蛋白, Bradford法测定蛋白质浓度; (2)配制15%SDS-PAGE分离胶和5%浓缩胶, 每孔上样50 μg, 分离蛋白样品; (3)300 mA恒流转膜3 h; (4)取出并切割PVDF膜, 在5%脱脂牛奶中室温封闭2 h; (5)分别将膜以β-actin抗体和Cu/Zn-SOD抗体(1:1000稀释)4 °C孵育过夜; (6)用TBS-T(含有0.1%Tween-20的TBS)漂洗3次, 加入二抗即HRP标志的羊抗兔IgG(1:5000稀释), 室温孵育2 h; (7)再以TBS-T漂洗3次后, 用ECL Plus超敏发光剂(PE0010)显示阳性条带, 在ChemiDoc分子成像系统及Image Lab软件(ChemiDoc™ XRS+, BIORAD)下记录并分析结果.

统计学处理 结果以mean ± SD表示, 统计分析用SPSS17.0软件, 组间比较用t检验和单因素方差(One-way ANOVA)分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 SNP对细胞存活率的影响 MTT法检测结果显示: SNP可抑制SGC-7901细胞的活性, 且该抑制率会随SNP浓度的升高而增强(图1). 此外同一浓度SNP对细胞的抑制率会随时间的推移而增加且差异具有显著统计学意义(P<0.01)(表1).

2.2 荧光显微镜观察细胞凋亡 荧光结果显示: 各实验组的细胞凋亡率均明显高于对照组且差异具有统计学意义(F = 13.33, P = 0.000), 此外凋亡率会随药物浓度的增大而升高且各实验组间差异具有统计学意义(图2, 3). 凋亡率(%) = (早期凋亡+晚期凋亡)/总数细胞.

2.3 ROS水平检测结果 不同试剂刺激细胞后检测ROS荧光强度结果显示: 随着时间推移, SNP

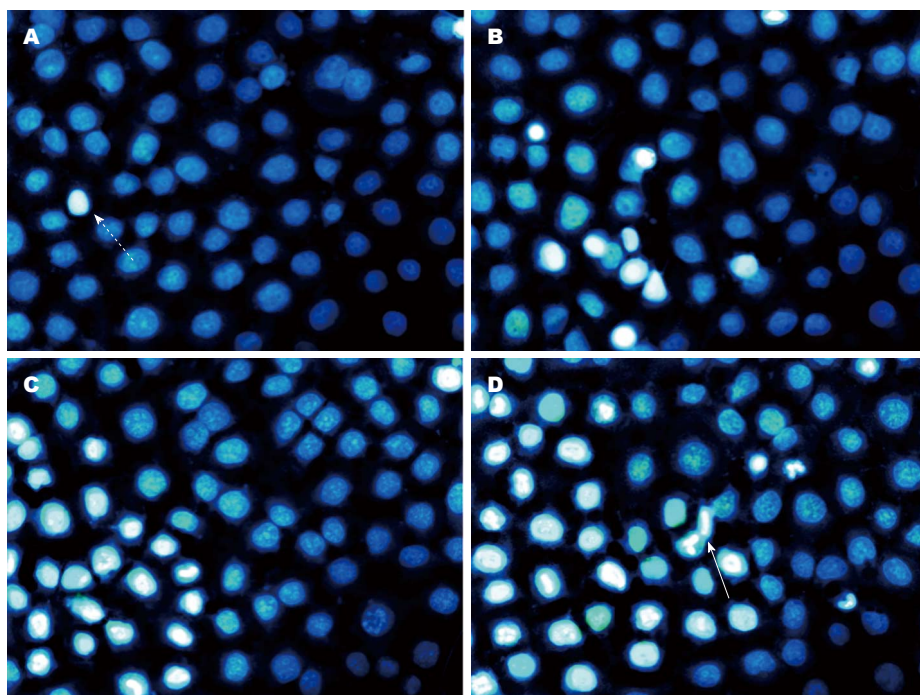


图 2 不同药物浓度作用SGC-7901细胞48 h所观察的细胞凋亡形态($\times 400$)。A: 空白对照组; B: 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP处理细胞48 h后的细胞凋亡; C: 400 $\mu\text{mol/L}$ SNP处理细胞48 h后的细胞凋亡; D: 800 $\mu\text{mol/L}$ SNP处理细胞48 h后的细胞凋亡。SNP: 硝普钠。虚线箭头代表凋亡早期细胞染色质高度凝聚; 实线箭头代表凋亡晚期细胞核皱缩、核破裂。

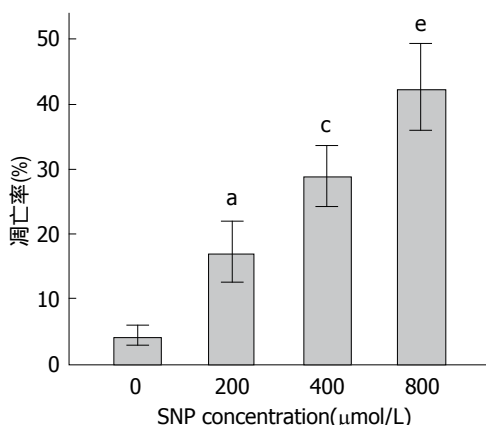


图 3 不同药物浓度作用SGC-7901细胞48 h所测定的细胞凋亡率。 $^{\circ}P<0.05$ vs 对照组; $^{\circ}P<0.05$ vs 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP组; $^{\circ}P<0.05$ vs 400 $\mu\text{mol/L}$ SNP组。SNP: 硝普钠。

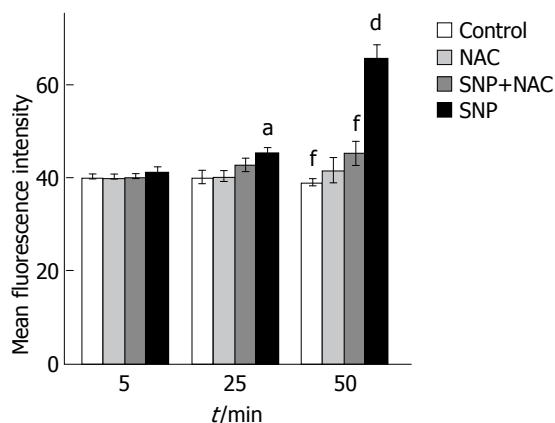


图 4 不同试剂作用SGC-7901细胞不同时间所测定的ROS的荧光强度。SNP组内: $^{\circ}P<0.05$ vs 5 min时; $^{\circ}P<0.01$ vs 25 min时; 50 min组内: $^{\circ}P<0.01$ vs SNP组。SNP: 硝普钠; NAC: *N*-乙酰半胱氨酸; ROS: 活性氧。

组和(SNP+NAC)组ROS荧光强度也随之增强($P<0.01$); 但Control组和NAC组却无明显变化($P>0.05$)(表2)。SNP处理细胞50 min时, ROS水平达到峰值, 且各处理组间差异性更显著: SNP组细胞荧光强度(65.79 ± 3.54)明显高于对照组(39.08 ± 0.89)($P<0.01$)。而(NAC+SNP)组细胞荧光强度(45.23 ± 3.21), 虽比SNP组低($P<0.05$), 但仍高于空白对照组($P<0.05$)。NAC组细胞的荧光强度与Control组差异无统计学意义($P>0.05$)(表2, 图4)。

2.4 流式细胞检测结果 细胞总凋亡率 = 早期凋亡率+晚期凋亡率。流式检测结果显示: 与Control组相比, NAC组细胞的总凋亡率无明显变化($P>0.05$)。而SNP组细胞总凋亡率($20.89\% \pm 14.97\%$)明显高于对照组($11.10\% \pm 1.57\%$), 两者之间差异有明显统计学意义($P<0.05$)。但用NAC预处理2 h后再加SNP时(即NAC+SNP组), 细胞凋亡率($9.99\% \pm 6.14\%$)较SNP组($20.89\% \pm 14.97\%$)有所下降, 且两者差异有统计学意义

创新盘点

NO为近年来的研究的热门课题, 而NO的杀瘤效应更引起了学术界的重视。而且目前研究表明NO的杀瘤效应也可应用与胃癌的预防和治疗, 因此有必要深入探讨外源性NO在胃癌细胞中引起凋亡的作用机制, 为临床运用提供实验的依据。

应用要点
本实验通过硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)诱导中分化胃癌细胞凋亡的潜在机制,为NO供体药物的抗癌治疗进一步的具体化,为将来胃癌的预防、治疗等临床应用提供实验依据。在今后的研究中我们将会从蛋白分子水平和基因水平进一步探讨细胞内ROS调节肿瘤细胞凋亡的相关机制,从而为NO供体成为成为辅佐抗肿瘤药物提供更有力的依据。

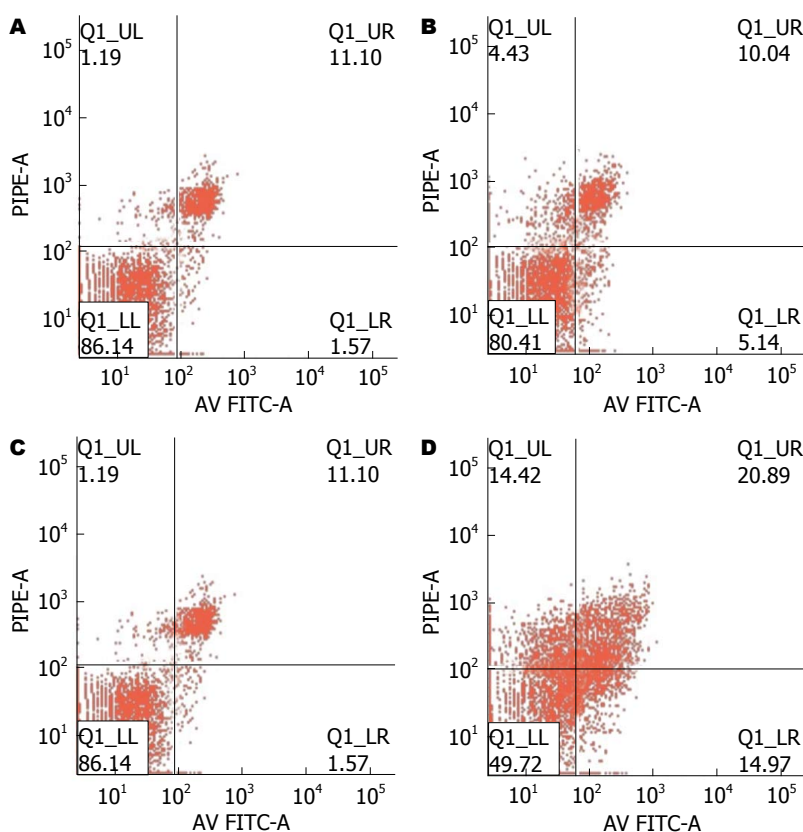


图 5 不同试剂作用SGC-7901细胞48 h所诱导的细胞凋亡率(右上象限代表早期凋亡, 右下象限代表晚期凋亡)。A: 空白对照; B: 3 mmol/L NAC; C: 3 mmol/L NAC+400 μ mol/L SNP; D: 400 μ mol/L SNP。NAC: *N*-乙酰半胱氨酸; SNP: 硝普钠。

表 2 不同试剂作用SGC-7901细胞不同时间所测定的ROS水平 (mean \pm SD, $n = 8$)

处理	5 min	25 min	50 min
Control组	40.31 \pm 0.66 ^d	40.21 \pm 1.82 ^d	39.08 \pm 0.89 ^d
NAC组	40.29 \pm 0.56	40.43 \pm 1.37	41.67 \pm 3.25
(SNP+NAC)组	40.34 \pm 0.58 ^d	42.85 \pm 1.80 ^d	45.23 \pm 3.21 ^{bd}
SNP组	41.65 \pm 0.94	45.64 \pm 1.08	65.79 \pm 3.54 ^b

^b $P < 0.01$ vs 5 min组; ^d $P < 0.01$ vs SNP组。NAC: *N*-乙酰半胱氨酸; SNP: 硝普钠; ROS: 活性氧。

($P < 0.05$)(图5, 6)。

2.5 Western blot检测Cu/Zn-SOD蛋白表达

Western blot检测结果以Cu/Zn-SOD蛋白条带的灰度值与 β -actin蛋白条带的灰度值的比值表示。Control组为12.68、NAC组为20.61、SNP(400 μ mol/L)组为3.72、NAC+SNP组为5.70。SNP引起胃癌SGC-7901细胞内Cu/Zn-SOD蛋白表达量较对照组明显降低(图7)。

3 讨论

目前研究表明外源性NO对肿瘤有细胞毒性和基因毒性, 其有潜在抗肿瘤作用^[9,10]。SNP是典型

的外源性NO供体, 其对多种肿瘤细胞具有杀伤效应^[1]。桑建荣等^[3]研究表明外源性NO可抑制胃癌细胞的增殖, 但其机制尚不清楚。本研究利用SNP探讨外源性NO对胃癌细胞增殖和凋亡的影响以及潜在的分子机制, 结果发现SNP可抑制胃癌SGC-7901细胞增殖, 且该抑制性呈剂量和时间依赖性, 这与上述研究结果相符。

肿瘤的抑制包含细胞增殖的抑制和细胞凋亡的诱发。细胞凋亡是涉及细胞生物化学和形态等一系列特征性改变, 包括ROS的大量累积、凋亡蛋白的活化、细胞的皱缩、染色质的破裂等^[11,12]。细胞凋亡是肿瘤细胞发生发展中一个非

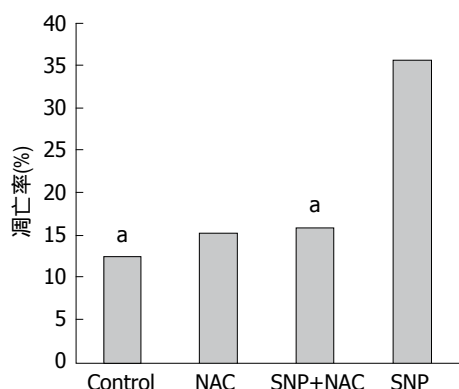


图6 不同试剂作用SGC-7901细胞48 h所诱发的细胞凋亡率。^a $P < 0.05$ vs SNP组。NAC: *N*-乙酰半胱氨酸; SNP: 硝普钠。

常重要的环节。本研究的荧光显微镜结果显示: 与空白对照组相比, SNP作用胃癌细胞时, 可诱导较多的细胞呈凋亡形态(比如细胞皱缩、染色质高度凝聚、核皱缩、核破裂等), 且凋亡量随SNP剂量的增大而升高, 这表明SNP可诱导胃癌细胞的凋亡。

ROS不仅参与肿瘤的诱发突变, 还可参与介导肿瘤的治疗, 这种双重作用主要取决于ROS自身的浓度^[13-15]。肿瘤细胞内ROS的产生在细胞增殖、迁移侵袭、新陈代谢中扮演着重要的角色^[16-19]。研究发现几乎所有肿瘤细胞内的ROS水平都明显高于正常细胞。Schafer等^[20]证实消除ROS有助于肿瘤细胞在其胞外基质中存活。ROS与线粒体死亡受体介导的细胞凋亡密切相关, 且在药物作用下诱导细胞凋亡的作用更为明显^[21-23]。张春阳等^[24]研究发现在NO诱导神经细胞凋亡的过程中, 胞浆及线粒体内ROS水平会随着NO浓度的变化而改变, 这表明ROS参与NO介导神经细胞凋亡。李五生等^[25]研究表明ROS可介导大黄素诱导的结肠癌细胞凋亡途径。本研究通过DCFH-DA荧光法研究ROS是否参与外源性NO诱导的胃癌细胞凋亡途径。结果显示单独SNP作用于胃癌细胞时, 细胞内ROS急剧上升; 而当SNP联合ROS抑制剂作用于胃癌细胞时, 胞内ROS有所降低, 但仍高于空白对照组。这说明SNP可打破胃癌细胞内氧化还原平衡, 引发细胞内ROS升高, 而后者可能作为活化信号, 激活线粒体凋亡途径, 同时该效应正反馈于线粒体, 使细胞内ROS进一步升高, 从而促进细胞凋亡^[21]。另外本研究结果也表明, 较空白对照组, 单独SNP可使胃癌细胞凋亡率明显升高; 但当联合ROS抑制剂时, SNP诱导的细胞调

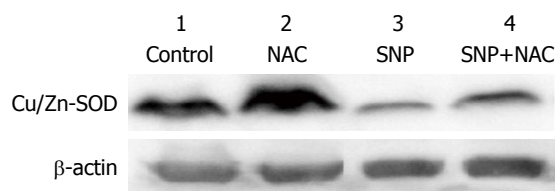


图7 Western blot检测不同试剂处理SGC-7901细胞48 h后Cu/Zn-SOD蛋白表达水平。1: Control; 2: 3 mmol/L NAC; 3: 400 μ mol/L SNP; 4: 400 μ mol/L SNP+3 mmol/L NAC。NAC: *N*-乙酰半胱氨酸; SNP: 硝普钠; Cu/Zn-SOD: 铜锌超氧化物歧化酶。

名词解释
SNP: NO供体, 实验室一般作为外源性NO来研究; Cu/Zn-SOD: 是生物体内抗氧化系统中的抗氧化酶, 能消除生物体在新陈代谢过程中产生的ROS。

亡率将会下降, 这进一步证明SNP可升高细胞内的ROS的水平, 且该功能可能参与其诱导的胃癌细胞凋亡途径。

Cu/Zn-SOD是一类广泛存在于生物体内的金属酶, 能够催化超氧阴离子自由基发生歧化反应, 平衡机体内的氧自由基, 作为生物体内超氧阴离子自由基(如ROS等)的清洁剂, 他在防辐射、抗衰老、消炎、抑制肿瘤方面起重要作用^[26,27]。细胞内氧化-抗氧化体系中ROS的产生和清除保持平衡, 一旦平衡打破, 细胞内ROS的水平将会改变, 从而诱发细胞凋亡^[28]。本研究Western blot实验证实, SNP处理组中细胞内Cu/Zn-SOD蛋白的表达量明显低于对照组, 这表明SNP可抑制细胞内Cu/Zn-SOD蛋白的表达, 进而上调细胞内ROS水平, 促进胃癌细胞的凋亡。

总之, SNP可通过抑制胃癌细胞内Cu/Zn-SOD蛋白的表达, 上调细胞内ROS水平, 而后经过级联反应, 启动细胞凋亡途径。然而其诱导胃癌细胞凋亡, 可能是ROS通过很多途径参与肿瘤细胞的凋亡途径, 如ROS可通过调节细胞凋亡过程中的相关信号分子的表达如蛋白激酶、蛋白磷酸化酶, 转录因子等, 进而参与细胞的凋亡途径^[29-32]。因此在今后的研究中我们将会从蛋白分子水平和基因水平进一步探讨细胞内ROS调节肿瘤细胞凋亡的相关机制, 从而为NO供体成为抗肿瘤药物提供更有力的依据。

志谢: 感谢许永杰、董莉及李元在本试验中给予的大力帮助。

4 参考文献

- Estévez AG, Sampson JB, Zhuang YX, Spear N, Richardson GJ, Crow JP, Tarpey MM, Barbeito L, Beckman JS. Liposome-delivered superoxide dismutase prevents nitric oxide-dependent motor neuron death induced by trophic factor

同行评价

以往研究发现外源性NO具有潜在抗肿瘤作用。本文通过不同浓度的外源性NO供体SNP处理中分化胃癌细胞株(SGC-7901),发现其可体外诱导肿瘤细胞株凋亡,其机制可能是通过抑制Cu/Zn-SOD蛋白的表达而上调其ROS水平,而后经过级联反应,启动胃癌细胞凋亡途径。为NO供体成为辅佐抗肿瘤药物提供了理论基础。

- withdrawal. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 437-446 [PMID: 10699756 DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00261-0]
- 2 Pasero D, Rana NK, Bonato R, Ribezzo M, Ivaldi F, Ricci D, Grosso Marra W, Checco L, Lupo M, Boffini M, Rinaldi M. Inhaled nitric oxide versus sodium nitroprusside for preoperative evaluation of pulmonary hypertension in heart transplant candidates. *Transplant Proc* 2013; 45: 2746-2749 [PMID: 24034038 DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.07.044]
- 3 桑建荣, 陈永昌, 邵根宝, 黄晓佳. 外源一氧化氮对胃癌SGC-7901细胞增殖及细胞周期的影响. *肿瘤* 2010; 30: 21-25
- 4 Bechtel W, Bauer G. Modulation of intercellular ROS signaling of human tumor cells. *Anticancer Res* 2009; 29: 4559-4570 [PMID: 20032404]
- 5 Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - a review. *Int J Cosmet Sci* 2005; 27: 17-34 [PMID: 18492178 DOI: 0.1111/j.1467-2494.2004.00241.x]
- 6 Lau AT, Wang Y, Chiu JF. Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem* 2008; 104: 657-667 [PMID: 18172854 DOI: 10.1002/jcb.21655]
- 7 Davis W, Ronai Z, Tew KD. Cellular thiols and reactive oxygen species in drug-induced apoptosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 1-6 [PMID: 11123355]
- 8 Yanase S, Onodera A, Tedesco P, Johnson TE, Ishii N. SOD-1 deletions in *Caenorhabditis elegans* alter the localization of intracellular reactive oxygen species and show molecular compensation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009; 64: 530-539 [PMID: 19282511 DOI: 10.1093/gerona/glp020]
- 9 Sullivan KJ, Kissoon N, Gauger C. Nitric oxide metabolism and the acute chest syndrome of sickle cell anemia. *Pediatr Crit Care Med* 2008; 9: 159-168 [PMID: 18477929 DOI: 10.1097/PCC.0b013e3181668ca9]
- 10 Song Q, Tan S, Zhuang X, Guo Y, Zhao Y, Wu T, Ye Q, Si L, Zhang Z. Nitric Oxide Releasing d- α -Tocopheryl Polyethylene Glycol Succinate for Enhancing Antitumor Activity of Doxorubicin. *Mol Pharm* 2014; 11: 4118-4129 [PMID: 25222114 DOI: 10.1021/mp5003009]
- 11 Vander Heiden MG, Chandel NS, Williamson EK, Schumacker PT, Thompson CB. Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria. *Cell* 1997; 91: 627-637 [PMID: 9393856 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80450-X]
- 12 Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis* 2000; 5: 415-418 [PMID: 11256882 DOI: 10.1023/A: 1009616228304]
- 13 刘卉, 刘延香. 细胞凋亡与活性氧. *现代肿瘤医学* 2008; 730: 1830-1832
- 14 Filaire E, Toumi H. Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: friend or enemy? *Joint Bone Spine* 2012; 79: 341-346 [PMID: 22578961 DOI: 10.1016/j.jbspin.2012.03.007]
- 15 Zhang KH, Tian HY, Gao X, Lei WW, Hu Y, Wang DM, Pan XC, Yu ML, Xu GJ, Zhao FK, Song JG. Ferritin heavy chain-mediated iron homeostasis and subsequent increased reactive oxygen species production are essential for epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2009; 69: 5340-5348 [PMID: 19531652 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0112]
- 16 Nishikawa M. Reactive oxygen species in tumor metastasis. *Cancer Lett* 2008; 266: 53-59 [PMID: 18362051 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.02.031]
- 17 Wu WS. The signaling mechanism of ROS in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 695-705 [PMID: 17160708 DOI: 10.1007/s10555-006-9037-8]
- 18 Sroka J, Madeja Z. [Reactive oxygen species in regulation of cell migration. The role of thioredoxin reductase]. *Postepy Biochem* 2009; 55: 145-152 [PMID: 19824470]
- 19 Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem* 2007; 18: 567-579 [PMID: 17360173 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2006.10.007]
- 20 Schafer ZT, Grassian AR, Song L, Jiang Z, Gerhart-Hines Z, Irie HY, Gao S, Puigserver P, Brugge JS. Antioxidant and oncogene rescue of metabolic defects caused by loss of matrix attachment. *Nature* 2009; 461: 109-113 [PMID: 19693011 DOI: 10.1038/nature08268]
- 21 Matés JM, Segura JA, Alonso FJ, Márquez J. Oxidative stress in apoptosis and cancer: an update. *Arch Toxicol* 2012; 86: 1649-1665 [PMID: 22811024 DOI: 10.1007/s00204-012-0906-3]
- 22 Zhou Y, Shu F, Liang X, Chang H, Shi L, Peng X, Zhu J, Mi M. Ampelopsin induces cell growth inhibition and apoptosis in breast cancer cells through ROS generation and endoplasmic reticulum stress pathway. *PLoS One* 2014; 9: e89021 [PMID: 24551210 DOI: 10.1371/journal.pone.0089021]
- 23 Gundala SR, Yang C, Mukkavilli R, Paranjpe R, Brahmabhatt M, Pannu V, Cheng A, Reid MD, Aneja R. Hydroxychavicol, a betel leaf component, inhibits prostate cancer through ROS-driven DNA damage and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 280: 86-96 [PMID: 25064160 DOI: 10.1016/j.taap.2014.07.012]
- 24 张春阳, 卫涛涛, 马辉, 丁尧, 陈颢延, 侯京武, 陈畅, 忻文娟. 活性氧参与一氧化氮诱导的神经细胞凋亡. *生物化学与生物物理进展* 2001; 28: 81-85
- 25 李五生, 钟毅, 马亮. 大黄素通过ROS介导大肠癌细胞株LOVO凋亡的实验研究. *中药新药与临床药理* 2013; 24: 132-135
- 26 Sun J, Molitor J, Tower J. Effects of simultaneous over-expression of Cu/ZnSOD and MnSOD on *Drosophila melanogaster* life span. *Mech Ageing Dev* 2004; 125: 341-349 [PMID: 15130751 DOI: 10.1016/j.mad.2004.01.009]
- 27 Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 365-379 [PMID: 15664623 DOI: 10.1016/j.mad.2004.08.012]
- 28 Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84 [PMID: 16978905 DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001]
- 29 Fang J, Nakamura H, Iyer AK. Tumor-targeted induction of oxystress for cancer therapy. *J Drug*

- Target* 2007; 15: 475-486 [PMID: 17671894 DOI: 10.1080/10611860701498286]
- 30 Gabriel B, Sureau F, Casselyn M, Teissié J, Petit PX. Retroactive pathway involving mitochondria in electroloaded cytochrome c-induced apoptosis. Protective properties of Bcl-2 and Bcl-XL. *Exp Cell Res* 2003; 289: 195-210 [PMID: 14499621 DOI: 10.1016/S0014-4827(03)00255-6]
- 31 Lee MJ, Kao SH, Hunag JE, Sheu GT, Yeh CW, Hseu YC, Wang CJ, Hsu LS. Shikonin time-dependently induced necrosis or apoptosis in gastric cancer cells via generation of reactive oxygen species. *Chem Biol Interact* 2014; 211: 44-53 [PMID: 24463199 DOI: 10.1016/j.cbi.2014.01.008]
- 32 Panda PK, Mukhopadhyay S, Behera B, Bhol CS, Dey S, Das DN, Sinha N, Bissoyi A, Pramanik K, Maiti TK, Bhutia SK. Antitumor effect of soybean lectin mediated through reactive oxygen species-dependent pathway. *Life Sci* 2014; 111: 27-35 [PMID: 25064824 DOI: 10.1016/j.lfs.2014.07.004]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

GLP-1通过抑制肝L02细胞脂性凋亡的可能机制

王 珣, 王明林, 鲁新耀, 张 鹏, 于红刚, 胡义奎

背景资料
目前临床上非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的防治主要是针对发病机制进行的, 但尚无公认有效的治疗药物。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)为胰岛素促泌剂, 增加胰岛素敏感性及减轻体重等作用, 目前主要用于糖尿病等代谢性疾病; 而NASH和糖尿病同属代谢综合征, GLP-1是否对NASH有治疗作用值得研究, 而且该机制的阐明为该药运用于临床提供实验基础。

王珣, 王明林, 鲁新耀, 张鹏, 武汉市武昌医院消化内科 湖北省武汉市 430063
于红刚, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
胡义奎, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院神经内科 湖北省武汉市 430034
王珣, 主治医师, 在职博士, 主要从事消化系统疾病的发病机制研究。
武汉市卫生局科研基金资助项目, No. WX1321
作者贡献分布: 此课题由王珣、鲁新耀及张鹏设计; 动物模型制作和基因、蛋白检测分析由王明林与于红刚操作完成; 统计学分析由胡义奎完成; 论文写作由王珣完成。
通讯作者: 胡义奎, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区解放大道50号古田三路, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院神经内科。1274965507@qq.com
电话: 027-68831695
收稿日期: 2014-07-31 修回日期: 2014-10-11
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Glucagon-like peptide-1 suppresses palmitic acid induced L02 cell apoptosis through JNK pathway

Xun Wang, Ming-Lin Wang, Xin-Yao Lu, Peng Zhang, Hong-Gang Yu, Yi-Kui Hu

Xun Wang, Ming-Lin Wang, Xin-Yao Lu, Peng Zhang, Department of Gastroenterology, Wuchang Hospital of Wuhan City, Wuhan 430063, Hubei Province, China
Hong-Gang Yu, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Yi-Kui Hu, Department of Neurology, Puai Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China
Supported by: Wuhan Health Bureau Scientific Research Fund, No. WX1321
Correspondence to: Yi-Kui Hu, Department of Neurology, Puai Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Gutiansan Road, 50 Jiefang Avenue, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. 1274965507@qq.com
Received: 2014-07-31 Revised: 2014-10-11
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the potential effects of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) on palmitic acid (PA) induced apoptosis of hepatic L02 cells and the underlying mechanism.

METHODS: L02 cells were stimulated with different levels (0.125, 0.250 and 0.500 mmol/L)

of PA for different durations (12, 24 and 48 h) in the presence or absence of GLP-1. Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay was used to analyze the inhibitory effects on growth of L02 cells, and terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling (TUNEL) assay was used to observe the apoptotic rate of the cells. The expression of c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun, p-JNK and p-c-Jun proteins was detected by Western blot assay.

RESULTS: The growth of the L02 cells was significantly inhibited by PA *in vitro*, and PA induced the expression of p-JNK and p-c-Jun. GLP-1 suppressed the activation of JNK and c-Jun induced by PA.

CONCLUSION: PA can inhibit the proliferation of L02 cells and induce cell apoptosis. The JNK signaling pathway is probably involved in the mechanism of PA induced apoptosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic steatohepatitis; Palmitic acid; L02 cells; c-Jun N-terminal kinase; Apoptosis

Wang X, Wang ML, Lu XY, Zhang P, Yu HG, Hu YK. Glucagon-like peptide-1 suppresses palmitic acid induced L02 cell apoptosis through JNK pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 16-21 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/16.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.16>

摘要

目的: 探讨胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)对棕榈酸(palmitic acid, PA)诱导的肝L02细胞脂性凋亡的影响及可能机制。

方法: 不同浓度PA(0.125、0.250、0.500 mmol/L)分别干预肝L02细胞; 使用Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒检测其在12、24和48 h时的细胞增殖活性; 将肝L02细胞随机分为对照组(NC组)、PA干预组(PA组)、PA+SP 600125组(PASP组)及PA+GLP-1组(PAGLP组), 运用末端脱氧核苷酸转移酶介导的

同行评议者
许戈良, 教授, 安徽省立医院

dUTP缺口末端标记测定法(TUNEL法)检测细胞凋亡; 免疫印迹(Western blot)法检测c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、c-Jun、p-JNK及p-c-Jun蛋白表达。

结果: 和对照组相比较, 经PA处理的肝L02细胞增殖活性降低($P<0.05$), 而且呈剂量依赖性; 0.5 mmol/L PA干预24 h后, 肝L02细胞凋亡率增加 $28.4\% \pm 2.6\%$, Western blot结果显示: JNK、c-Jun磷酸化增多; 加用SP 600125或GLP-1后, 细胞凋亡率分别减少 $21.7\% \pm 2.9\%$ 和 $19.4\% \pm 2.7\%$, 差异具有统计学意义($P<0.05$), PAGLP组p-JNK与p-c-Jun蛋白表达有所下降, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: PA可诱导肝L02细胞脂性凋亡; 此过程可能和JNK通路相关; GLP-1可能是通过抑制JNK信号通路来抑制肝L02细胞的脂性凋亡。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎; 游离脂肪酸; L02细胞; c-Jun氨基末端激酶; 凋亡

核心提示: 我们发现, 棕榈酸(palmitic acid, PA)诱导L02细胞发生凋亡的过程中出现c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)活化, 当应用JNK抑制剂SP 600125抑制JNK通路后, L02凋亡率下降, 用胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)可明显降低经PA诱导的肝L02细胞凋亡率, 抑制了p-JNK和下游底物p-c-Jun表达水平, 提示GLP-1可拮抗PA诱导的肝L02细胞的脂性凋亡, 其过程可能是通过JNK信号通路实现。为非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis)防治药物的研制提供一定的实验基础。

王珣, 王明林, 鲁新耀, 张鹏, 于红刚, 胡义奎. GLP-1通过抑制肝L02细胞脂性凋亡的可能机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 16-21 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/16.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.16>

0 引言

游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)是体内的脂质代谢物质, 研究显示: FFA是诱导非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发生最主要外在因子^[1,2], 机制可能是FFA诱导了肝细胞的脂性凋亡。我们先前的研究显示c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)通路参与此过程^[3]。目前临床上NASH的防治主要是针对发病机制进行的, 但尚无公认有效的治疗

药物。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)为胰岛素促泌剂, 有增加胰岛素敏感性及减轻体质量等作用^[4]。本文意在探索GLP-1对FFA诱导的肝L02细胞脂性凋亡的影响及可能机制, 为新药研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 L02细胞系购自武汉大学细胞收藏中心。培养细胞所用试剂、试剂盒购自北京中杉生物科技有限公司。棕榈酸(palmitic acid, PA)、JNK抑制剂SP 600125及实验用GLP-1、Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒、Western blot试剂盒及TUNEL试剂盒均购自瑞士Roche公司。JNK及β肌动蛋白(β-actin)多克隆一抗以及单克隆二抗均购自美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 L02细胞培养: 用含20%的胎牛血清的DMEM(dulbecco's modified eagle medium)完全培养基稀释细胞悬液, 并留取少量的L02细胞进行纯度及活力鉴定。以 1×10^5 - 1×10^6 mL的密度接种到50 mL塑料培养瓶中, 在温度为37℃、体积分数为5%的CO₂, 95%潮湿空气的CO₂恒温培养箱中进行细胞培养。培养瓶内L02细胞24 h后第一次换新鲜的DMEM培养液, 以后每隔3 d换液1次, 将培养液换为含10%胎牛血清的DMEM完全培养基, 经3-4 d的消化传代。选择生长状态良好的L02细胞用于实验。

1.2.2 实验分组与处理: 分组: 将传代的L02细胞随机分为4组: 对照组(NC组)、PA干预组(PA组)、PA+SP 600125组(PASP组)及PA+GLP-1组(PAGLP组)。

处理: NC组为空白对照; PA组(0.5 mmol/L的PA干预24 h); PASP组(25 μmol/L的SP 600125预孵育1 h, 再予0.5 mmol/L的PA+25 μmol/L的SP 600125干预24 h); PAGLP组(50 nmol/L的GLP-1预孵育24 h, 再予0.5 mmol/L的PA及50 nmol/L的GLP-1共孵育24 h)。

1.2.3 CCK-8法检测L02细胞的增殖活性: 参照我们先前的研究方法^[5]对L02细胞进行培养。NC组加入20 μL的完全培养基, 而非对照组加入20 μL不同浓度PA(浓度分别为0.125、0.250、0.500 mmol/L)干预12、24和48 h。然后每组加入10 μL的CCK-8溶液, 继续孵育3 h。

1.2.4 TUNEL法检测L02细胞凋亡: 严格按照试剂盒操作说明对L02进行细胞凋亡的检测; 随机

研发前沿
NASH可进一步发展为终末期肝病甚至肝恶性肿瘤, 然而NASH的发病机制尚不明确。NASH发生发展过程中肝细胞凋亡越来越受到研究者的关注, 逐渐成为目前NASH发病机制研究的热点。本实验采用不同浓度的棕榈酸(palmitic acid, PA)诱导肝L02细胞的凋亡, 探寻可能机制。

相关报道
目前临床有使用口服降糖药来治疗NASH, 作用机制多为降低胰岛素抵抗及调节脂质代谢, 但均无法解决NASH发展过程中肝细胞脂性凋亡这一难题。本研究发现GLP-1可明显降低经PA诱导的肝L02细胞凋亡率, 其过程可能是通过JNK信号通路实现。

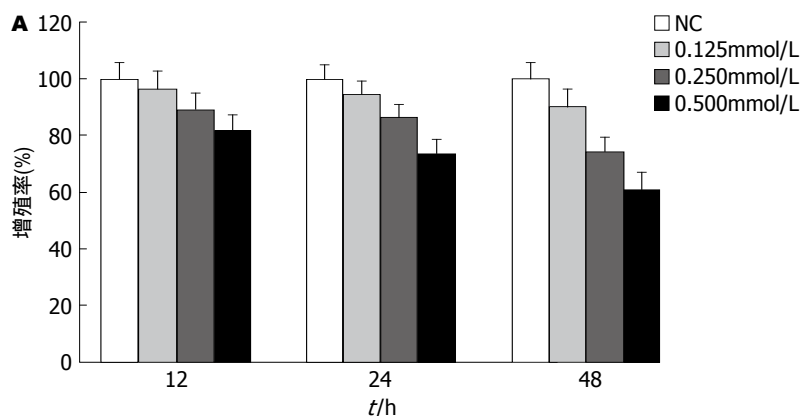


图1 PA对L02细胞增殖活性的影响. PA: 棕榈酸.

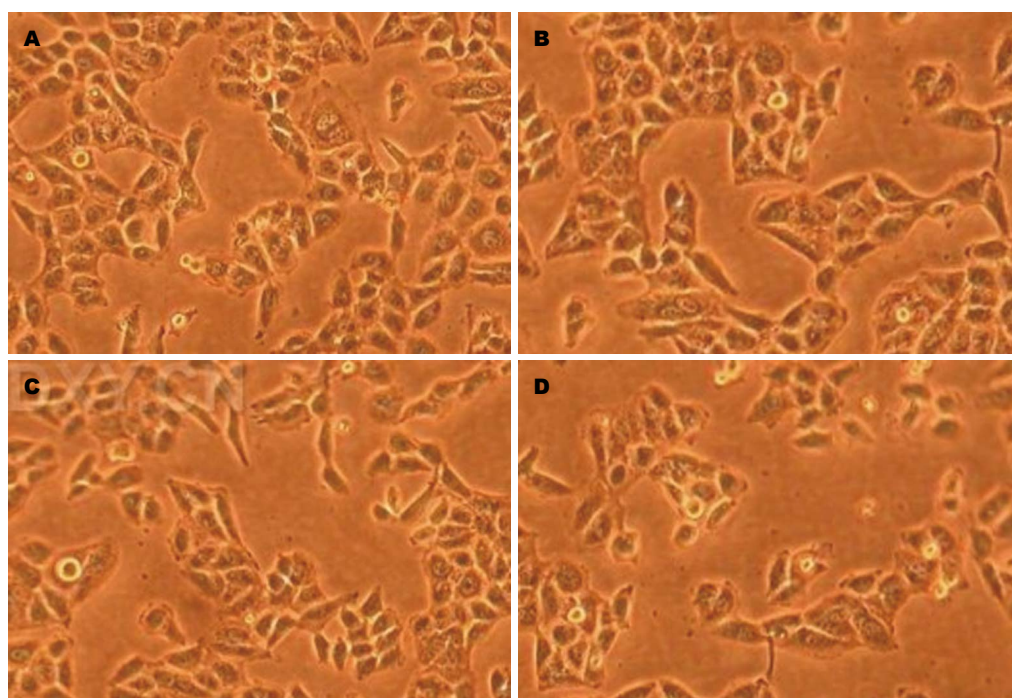


图2 PA干预24 h后L02细胞形态学及加入SP 600125或GLP-1后的变化($\times 100$). A: 对照组; B: PA干预组; C: PA+SP 600125组; D: PA+GLP-1组. PA: 棕榈酸; GLP-1: 胰高血糖素样肽-1; SP 600125: JNK抑制剂SP 600125.

选取5个视野, 计数100个细胞核. 凋亡率(%) = 凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$.

1.2.5 Western blot半定量测定p-JNK、p-c-Jun蛋白水平: 方法参照文献[5]. 使用GEI-pro 4.0软件进行灰度值定量.

统计学处理 正态计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示; 细胞增殖抑制率的比较采用重复测量数据的方差分析(ANOVA); 组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA); 两两比较采用SNK- q 法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

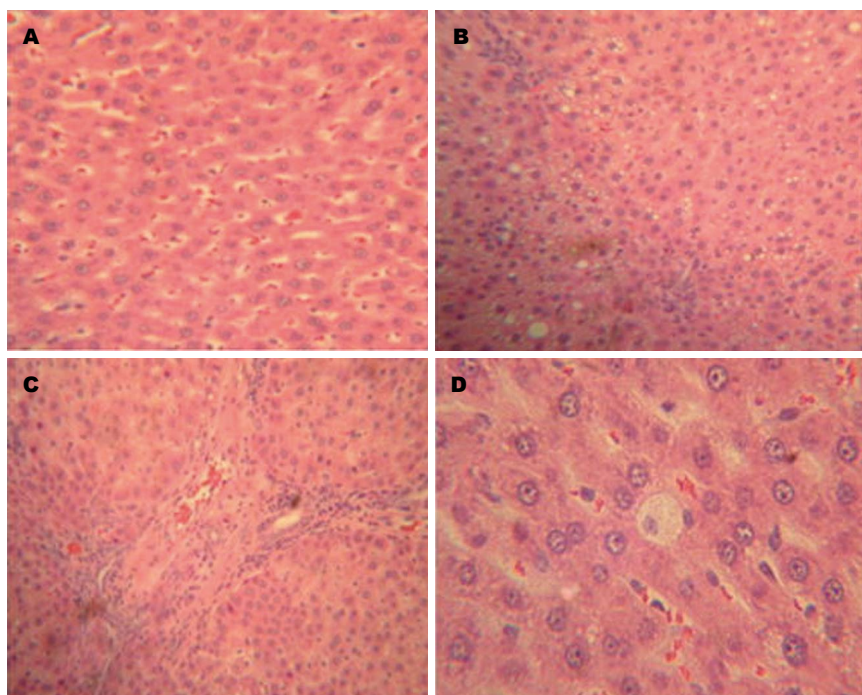
2 结果

2.1 PA抑制L02细胞增殖活性 假定NC组增殖活

性100%. 与NC组比较, 随着PA干预浓度的升高及干预时间延长, 细胞增殖活性降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(图1).

2.2 PA干预L02细胞凋亡 正常的L02细胞之间相互连接并见融合, 出现抱团. 然而经过PA干预24 h后, 可见细胞间连接减少, 并可见崩解现象. 当加入SP 600125或GLP-1后, 上述情况有所改善(图2).

2.3 TUNEL法检测凋亡 棕色为凋亡细胞. PA组凋亡率为 $27.2\% \pm 2.1\%$, NC组为 $3.2\% \pm 0.4\%$, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 加入SP 600125或GLP-1的干预组, L02细胞凋亡率分别为 $21.3\% \pm 2.6\%$ 及 $17.3\% \pm 2.8\%$, 较PA组减少, 差异有统计



同行评价
本文的科学性、
创新性及可读性
能较好地反映我
国胃肠病学临床
和基础研究的先
进水平。

图 3 各组细胞DAB染色结果. A: 对照组($\times 200$); B: PA干预组($\times 200$); C: PA+SP 600125组($\times 200$); D: PA+GLP-1组($\times 400$). PA: 棕榈酸; GLP-1: 胰高血糖素样肽-1; SP 600125: JNK抑制剂SP 600125.

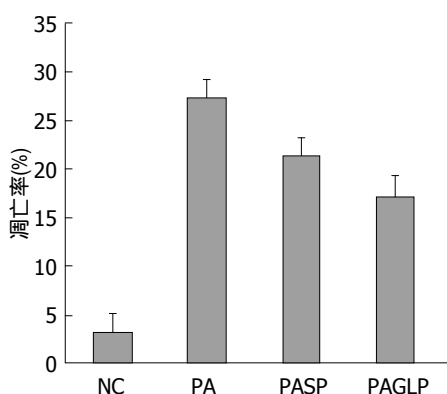


图 4 各组凋亡率比较. NC: 对照组; PA: PA干预组; PASP: PA+SP 600125组; PAGLP: PA+GLP-1组. PA: 棕榈酸; GLP-1: 胰高血糖素样肽-1; SP 600125: JNK抑制剂SP 600125.

学意义(图3, 4).

2.4 Western blot结果 各组JNK、c-Jun蛋白表达差异无统计学意义. 与对照组比较, PA干预后p-JNK与p-c-Jun表达均上升, 而应用SP 600125或GLP-1预处理后, 两蛋白表达下降, 差异有统计学意义(图5).

3 讨论

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一组临床病理综合征, 包括NASH和单纯性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver,

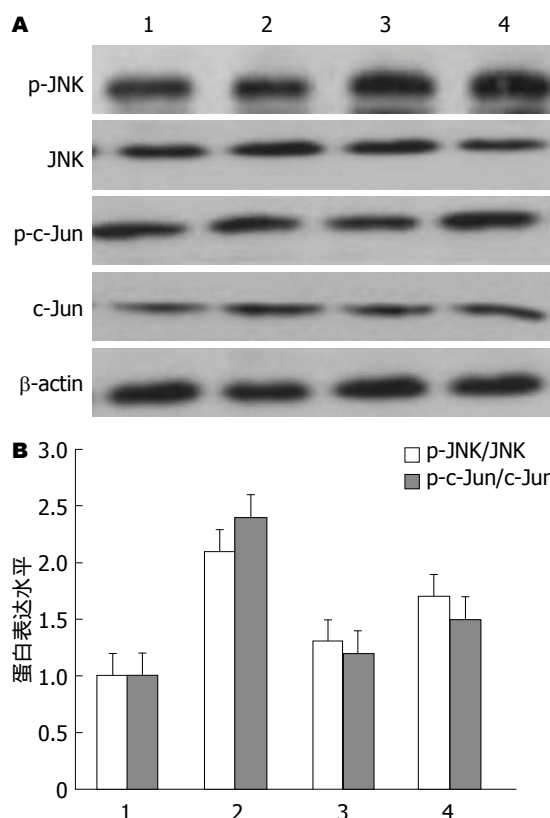


图 5 各组细胞JNK、c-Jun、p-JNK、p-c-Jun蛋白表达比较. A: 各组蛋白表达Western blot结果; B: 各组p-JNK/JNK和p-c-Jun/c-Jun的相对水平. 1: 对照组; 2: PA干预组; 3: PA+SP 600125组; 4: PA+GLP-1组. PA: 棕榈酸; GLP-1: 胰高血糖素样肽-1; SP 600125: JNK抑制剂SP 600125; JNK: c-Jun氨基末端激酶.

NAFL)^[6-10]. NASH可进一步发展为终末期肝病甚至肝恶性病变^[11-13]. 然而目前临床上有效的防治NASH的药物较少, 针对发病机制的药物研制显得尤其重要, 然而NASH的发病机制尚不明确. NASH发生发展过程中肝细胞凋亡越来越受到研究者的关注, 逐渐成为目前NASH发病机制研究的热点^[14]. 本实验采用不同浓度的PA成功诱导了肝L02细胞的凋亡, 表明高游离脂肪酸水平是促进肝L02细胞发生凋亡的重要机制之一.

JNK是位于细胞质内的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶. 研究发现, JNK参与某些神经退行性疾病(如帕金森病)、糖尿病、脂质代谢紊乱等疾病的发生^[15-17]. 作用机制可能是JNK在一些外源性因子刺激作用下(如游离脂肪酸等), 通过使其第63、73位丝氨酸残基发生磷酸化而活化. 活化的JNK与c-Jun等蛋白的氨基末端区域结合, 使转录因子活性区域发生磷酸化, 从而对细胞凋亡、分化起到调控作用^[18]. 我们发现, PA诱导L02细胞发生凋亡的过程中出现JNK活化, 当应用JNK抑制剂SP 600125抑制JNK通路后, L02凋亡率下降. 这一现象可能提示JNK通路参与了FFA诱导的肝细胞脂性凋亡, 和我们先前的研究^[5]结论一致.

GLP-1是一种肠道分泌的、促胰岛素分泌激素, 其包含30个氨基酸. GLP-1及其类似物药物的应用使得2型糖尿病的治疗获得突破性进展. 他和其他降糖药物治疗糖尿病的本质区别在于不导致胰岛B细胞凋亡. NASH和糖尿病同属代谢综合征范畴, 他是代谢综合征的肝脏的一种表现形式. 目前临床有使用口服降糖药来治疗NASH^[19], 作用机制多为降低胰岛素抵抗及调节脂质代谢, 但均无法解决NASH发展过程中肝细胞脂性凋亡这一难题.

本研究还发现加用GLP-1可明显降低经PA诱导的肝L02细胞凋亡率, 抑制了p-JNK和下游底物p-c-Jun表达水平, 提示GLP-1可拮抗PA诱导的肝L02细胞的脂性凋亡, 其过程可能是通过JNK信号通路实现. 为NASH防治药物的研制提供一定的实验基础.

4 参考文献

- Nascimento AF, Ip BC, Luvizotto RA, Seitz HK, Wang XD. Aggravation of nonalcoholic steatohepatitis by moderate alcohol consumption is associated with decreased SIRT1 activity in

- rats. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2013; 2: 252-259 [PMID: 24570955 DOI: 10.3978/j.issn.2304-3881.2013.07.05]
- Attar BM, Van Thiel DH. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease. *Scientific World Journal* 2013; 2013: 481893 [PMID: 23576902 DOI: 10.1155/2013/481893]
- Wu D, Cederbaum AI. Inhibition of autophagy promotes CYP2E1-dependent toxicity in HepG2 cells via elevated oxidative stress, mitochondria dysfunction and activation of p38 and JNK MAPK. *Redox Biol* 2013; 1: 552-565 [PMID: 24273738 DOI: 10.1016/j.redox.2013.10.008]
- Olaywi M, Bhatia T, Anand S, Singhal S. Novel anti-diabetic agents in non-alcoholic fatty liver disease: a mini-review. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 584-588 [PMID: 24322742 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60092-2]
- 王珣, 鲁新耀, 张鹏, 王明林, 于红刚, 胡义奎. c-Jun氨基末端激酶抑制剂对大鼠非酒精性脂肪性肝炎的防治及机制. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 2881-2886
- Chang E, Park CY, Park SW. Role of thiazolidinediones, insulin sensitizers, in non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Investig* 2013; 4: 517-524 [PMID: 24843703 DOI: 10.1111/jdi.12107]
- Ozturk ZA, Kadayifci A. Insulin sensitizers for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 2014; 6: 199-206 [PMID: 24799988 DOI: 10.4254/wjh.v6.i4.199]
- Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Molecular mechanisms and new treatment strategies for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci* 2014; 15: 7352-7379 [PMID: 24786095 DOI: 10.3390/ijms15057352]
- Mishra S, Yadav D, Gupta M, Mishra H, Sharma P. A Study of Carotid Atherosclerosis in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Indian J Clin Biochem* 2013; 28: 79-83 [PMID: 24381427 DOI: 10.1007/s12291-012-0286-8]
- Zarrinpar A, Loomba R. Review article: the emerging interplay among the gastrointestinal tract, bile acids and incretins in the pathogenesis of diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 909-921 [PMID: 23057494 DOI: 10.1111/apt.12084]
- Xiang Z, Chen YP, Ma KF, Ye YF, Zheng L, Yang YD, Li YM, Jin X. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 140 [PMID: 24053454 DOI: 10.1186/1471-230X-13-140]
- Walenberg SM, Koek GH, Bieghs V, Shiri-Sverdlov R. Non-alcoholic steatohepatitis: the role of oxidized low-density lipoproteins. *J Hepatol* 2013; 58: 801-810 [PMID: 23183522 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.014]
- Takahashi Y, Soejima Y, Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2300-2308 [PMID: 22654421 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2300]
- Mells JE, Anania FA. The role of gastrointestinal hormones in hepatic lipid metabolism. *Semin Liver Dis* 2013; 33: 343-357 [PMID: 24222092 DOI: 10.1055/s-0033-1358527]
- Inamdar AA, Chaudhuri A, O'Donnell J. The Protective Effect of Minocycline in a Paraquat-Induced Parkinson's Disease Model in *Drosophila*

- is Modified in Altered Genetic Backgrounds. *Parkinsons Dis* 2012; 2012: 938528 [PMID: 22900232 DOI: 10.1155/2012/938528]
- 16 Bogoyevitch MA, Ngoei KR, Zhao TT, Yeap YY, Ng DC. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 463-475 [PMID: 19900593 DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.11.002]
- 17 Yang C, Aye CC, Li X, Diaz Ramos A, Zorzano A, Mora S. Mitochondrial dysfunction in insulin resistance: differential contributions of chronic insulin and saturated fatty acid exposure in muscle cells. *Biosci Rep* 2012; 32: 465-478 [PMID: 22742515 DOI: 10.1042/BSR20120034]
- 18 Huntwork-Rodriguez S, Wang B, Watkins T, Ghosh AS, Pozniak CD, Bustos D, Newton K, Kirkpatrick DS, Lewcock JW. JNK-mediated phosphorylation of DLK suppresses its ubiquitination to promote neuronal apoptosis. *J Cell Biol* 2013; 202: 747-763 [PMID: 23979718 DOI: 10.1083/jcb.201303066]
- 19 Poon MK, Chiu PY, Mak DH, Ko KM. Metformin protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice. *J Pharmacol Sci* 2003; 93: 501-504 [PMID: 14737024 DOI: 10.1254/jphs.93.501]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-3]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,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。

泮托拉唑对二乙基亚硝胺联合四氯化碳诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型肝细胞增殖的影响

黎元, 金海, 文国容, 虞必光

背景资料
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌, 是全球位居第三的最主要癌症死因。诱发性肝癌模型中, 二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱癌成功率较高, 对肝脏致癌有较好的专一性, 且大部分癌变为肝细胞癌, 所以本实验应用DEN联合四氯化碳(carbon tetrachloride)对C57BL/6J小鼠进行肝癌诱发。

黎元, 金海, 文国容, 虞必光, 遵义医学院附属医院消化内科贵州省消化病研究所 贵州省遵义市 563000
黎元, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81360311
作者贡献分布: 本课题由虞必光与金海设计; 实验操作、数据整理、文章起草及统计分析由黎元、金海及文国容完成; 论文修改及审阅由虞必光完成。
通讯作者: 虞必光, 教授, 563000, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科。tuobiguang@aliyun.com
电话: 0852-8608230
收稿日期: 2014-10-23 修回日期: 2014-11-07
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-08

Pantoprazole inhibits cancer cell proliferation in mice with diethylnitrosamine and carbon tetrachloride-induced hepatoma

Yuan Li, Hai Jin, Guo-Rong Wen, Bi-Guang Tuo

Yuan Li, Hai Jin, Guo-Rong Wen, Bi-Guang Tuo, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Guizhou Institute of Digestive Disease, Zunyi 563000, Guizhou Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81360311
Correspondence to: Bi-Guang Tuo, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. tuobiguang@aliyun.com
Received: 2014-10-23 Revised: 2014-11-07
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of pantoprazole on the proliferation of cancer cells of mice with hepatoma induced by diethylnitrosamine (DEN) plus carbon tetrachloride.

METHODS: Seventy-eight C57 mice were treated with DEN and carbon tetrachloride (CCl_4) for 9 wk and then randomly divided into three groups: a model group, low- (40 mg/kg) and high-dose (80 mg/kg) pantoprazole groups. Twelve normal C57 mice were used as controls. The two pantoprazole groups were administrated pantoprazole for 25 wk

by intraperitoneal injection, and the mice were then sacrificed for collecting normal liver tissues, hepatoma tissues and hepatoma-adjacent tissues. All these tissues were prepared for pathological observation by HE staining. Blood levels of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), urea, and creatinine (Cr) were assayed. The mRNA levels of α -fetoprotein (AFP), Ki67, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were quantified by real-time PCR, and the protein levels of Ki67 and PCNA were tested by Western blot.

RESULTS: Hepatoma was successfully induced in all mice treated with DEN and carbon tetrachloride, and 21% of the mice were dead. Gross examination of liver tissues showed that the livers in the model group were larger and had more heterogeneous nodules than those in the pantoprazole groups. Pathological analysis showed a lower incidence of dysplasia after administration of pantoprazole. Compared with normal controls, the levels of ALT and AST were increased in the model and pantoprazole groups, and these biological indexes in the pantoprazole groups were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). The mRNA levels of AFP, Ki67 and PCNA in the model group and pantoprazole groups were significantly higher than those in normal controls ($P < 0.05$, $F = 7.94$; $P < 0.05$, $F = 15.62$; $P < 0.01$, $F = 45.58$), and pantoprazole decreased Ki67 and PCNA mRNA levels significantly compared with the model group ($P < 0.05$, $F = 5.89$, $P < 0.05$, $F = 10.34$). The expression of Ki67 and PCNA proteins was increased by treatment with DEN and carbon tetrachloride ($P < 0.05$, $F = 20.41$; $P < 0.05$, $F = 20.31$) but was decreased by pantoprazole treatment ($P < 0.05$, $F = 16.47$; $P < 0.05$, $F = 12.38$).

CONCLUSION: Pantoprazole can inhibit the growth of murine hepatoma by inhibiting cancer cell proliferation.

同行评议者
秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pantoprazole; Diethylnitrosamine; Hepatocellular carcinoma; Proliferation

Li Y, Jin H, Wen GR, Tuo BG. Pantoprazole inhibits cancer cell proliferation in mice with diethylnitrosamine and carbon tetrachloride-induced hepatoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 22-29 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/22.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.22>

摘要

目的: 探讨泮托拉唑对二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)联合四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型肝细胞增殖的影响。

方法: 将78只C57小鼠采用DEN联合CCl₄共同诱导C57BL/6J小鼠肝癌, 第9周将制模小鼠随机分为模型组、泮托拉唑低剂量组(40 mg/kg)、高剂量组(80 mg/kg), 并开始腹腔注射泮托拉唑, 同时取12只正常小鼠为对照。第25周处死小鼠, 取正常肝组织、肝癌组织和癌旁组织, 肉眼观察拍片, 并作HE染色光镜检查。采用生化法检查小鼠血清谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、尿素(urea)、肌酐(creatinine, Cr)水平; 采用Real-time PCR方法来检测正常肝、肝癌及癌旁组织甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、细胞增殖核抗原Ki67、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA) mRNA的表达, 采用Western blot法检测Ki67、PCNA蛋白的表达。

结果: 小鼠死亡率为21%, 成瘤率为100%。肝脏组织巨检: 模型组与高低剂量组肝体积增大, 表面有大小不等的结节, 与模型组比较, 高、低剂量组结节个数明显减少。HE染色显示: 与模型组比较, 高、低剂量组异型增生明显减少。血清生化检测显示: 模型组、高、低剂量组血清ALT、AST水平明显高于正常组($P<0.05$), 高剂量组ALT、AST水平明显低于模型组($P<0.05$)。RT-PCR结果提示, 与正常组相比较, 模型组和高、低剂量组AFP、Ki67和PCNA mRNA表达明显增高($P<0.05$, $F=7.94$; $P<0.05$, $F=15.62$; $P<0.01$, $F=45.58$)。与模型组比较, 高剂量组Ki67和PCNA mRNA表达降低($P<0.05$, $F=5.89$; $P<0.05$, $F=10.34$)。Western blot结果显示, 与正常肝组织比较, 模型组和高剂量组的肝癌及癌旁组

织Ki67和PCNA蛋白表达明显增高($P<0.05$, $F=20.41$; $P<0.05$, $F=20.31$)。与模型组比较, 高剂量组肝癌及癌旁组织Ki67和PCNA蛋白表达明显减少($P<0.05$, $F=16.47$; $P<0.05$, $F=12.38$)。

结论: 泮托拉唑DEN联合CCl₄诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型肝细胞增殖有抑制作用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 泮托拉唑; 二乙基亚硝胺; 肝癌; 增殖

核心提示: 通过二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine)联合四氯化碳(carbon tetrachloride)诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型, 采用RT-PCR和Western blot法来检测肝癌模型中肝癌及癌旁组织细胞增殖核抗原Ki67、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen) mRNA和蛋白的表达, 明确泮托拉唑对肝癌模型细胞增殖的影响。

黎元, 金海, 文国容, 虞必光. 泮托拉唑对二乙基亚硝胺联合四氯化碳诱导C57BL/6J小鼠肝癌模型肝细胞增殖的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(1): 22-29 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/22.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.22>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌, 全球每年发病人数在60万以上, 其死亡率占全部恶性肿瘤的18.8%, 是位居第三的最主要癌症死因^[1-5]。我国肝癌的死亡率在所有恶性肿瘤中居第2位, 每年死于肝癌的人数占全世界肝癌年死亡总数的53%, 仍居世界首位^[6-8]。泮托拉唑(pantoprazole)是第3代质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs), 研究^[9,10]发现PPIs对多种人恶性肿瘤细胞株具有化疗增敏作用, 并能选择性地诱导癌细胞凋亡, 对正常细胞则无明显影响。但目前国内外尚未就PPIs对肝癌的作用进行深入研究。PPIs有望成为一种新型的肿瘤化学治疗的佐剂, 但目前的研究尚处于细胞和动物水平, 还缺乏大量的临床试验研究。

肝癌动物模型是进行肝癌实验研究的重要材料和手段。在多种动物模型中, 二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱发大鼠肝癌前病变的阶段类似人类病程^[11]。本文亦通过DEN联合四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导

研发前沿
泮托拉唑(pantoprazole)是3代质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs), 研究发现PPIs对多种人恶性肿瘤细胞株具有化疗增敏作用, 并能选择性地诱导癌细胞凋亡, 对正常细胞则无明显影响。但目前国内外尚未就PPIs对肝癌的作用进行深入研究。质子泵抑制剂有望成为一种新型的肿瘤化学治疗的佐剂。

相关报道

本实验室前期研究发现人肝癌细胞中空泡型质子泵(vacuolar H^+ -ATPases, V-ATPase)明显上调,而且大量存在于癌细胞的细胞膜,促进了癌细胞内 H^+ 排出,V-ATPase的抑制可延缓肝癌细胞的生长。我们研究还发现,泮托拉唑能抑制肝癌HepG2细胞迁移和侵袭,其机制可能与下调MMP9 mRNA的表达有关。

建立肝癌模型来检测正常组织、癌组织、癌旁组织中Ki67、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达,进一步探讨泮托拉唑对DEN诱导C57小鼠肝癌模型细胞增殖的影响,以期为肝癌治疗提供新的思路和策略。

1 材料和方法

1.1 材料 DEN(Sigma公司)、 CCl_4 (天津市协和吴鹏色谱科技有限公司)、橄榄油(阿拉丁试剂公司)、泮托拉唑(杭州中美华东制药有限公司)、TRIzol(TakaRa公司)、Ki67单克隆抗体(Abcam公司)、PCNA多克隆抗体(Santa Cruz公司)、内参 β -actin抗体(BBI公司)、TRIzol、引物、全蛋白提取试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司], cDNA逆转录试剂盒及RNA扩增试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)、实时荧光定量PCR仪(美国BIO-RAD公司)、全波段酶标仪(美国Thermo公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物及分组: 90只健康♂ C57BL/6J小鼠, 体质量18-22 g, 购自重庆第三军医大大坪医院实验动物中心。动物许可证号: SCXK(渝)2012-0001。饲养于光照-黑暗12 h交替(光照期6:00-18:00)的SPF程控环境, 自由饮水进食, 动物房室温维持在23℃左右。适应性喂养1 wk后全部随机取12只为空白组、其余78只制模8 wk后随机分为模型组、泮托拉唑低(40 mg/kg)、高剂量组(80 mg/kg)。

1.2.2 造模及取材: 模型制备参考文献[12]。取80只制模小鼠一次性腹腔注射DEN(100 mg/kg), 3 wk后以 CCl_4 和橄榄油(20:80)灌胃, 0.05 mL/10 g, 2次/wk; 第14周再次腹腔注射DEN 1次(50 mg/kg), 同时开始每天给予含有90 mL/L乙醇的饮用水, 第4周加大 CCl_4 剂量至0.08 mL/10 g, 正常组仅自由饮用灭菌普通水, 直至实验结束。同时, 第9周将制模小鼠随机分为模型组、泮托拉唑低(40 mg/kg)、高剂量组(80 mg/kg), 每组18只(小鼠死亡率约为18%), 并开始腹腔注射泮托拉唑。第25周处死小鼠。取各组小鼠血、正常肝、肝癌组织和癌旁组织备用。

1.2.3 肝组织巨检、HE染色及肝功能测定: 取小鼠血清检测谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、尿素(urea)、肌酐(creatinine, Cr)水平, 分

别对各组肝组织拍照观察, 然后用40 g/L甲醛固定组织, 切取2 mm×4 mm×6 mm组织块; 常规石蜡包埋, 6 μ m切片; 同步烤片、脱蜡、梯度乙醇水化, HE染色。

1.2.4 Real-time PCR检测甲胎蛋白(α -feto-protein, AFP)、Ki67、PCNA mRNA的表达: 取50-100 mg的正常肝组织、癌旁组织、癌组织分别置于1 mL TRIzol中匀浆, 加入200 μ L的氯仿, 震荡混匀, 12000 r/min, 4℃离心15 min。吸取上清300 μ L转入另外去酶EP管中, 加等量异丙醇混匀后, 12000 r/min, 4℃离心10 min, 弃去上清, 在沉淀加入无RNA酶的750 mL/L乙醇洗涤2次, 每次12000 r/min, 4℃离心2 min, 去上清液, 待其干燥后加入50 μ L DEPC水溶解RNA, 用全波段酶标仪检测其纯度和浓度。取200 ng RNA按试剂盒说明配成20 μ L体系逆转录, 然后按照扩增试剂盒说明配制20 μ L扩增体系, PCR应条件为: 第1步: 95℃×3 min, 第2步: 95℃×30 s, 60℃×1 min, 循环40次, 第3步: 65℃×30 s, 循环61次。目的基因的相对表达量以“目的基因/内参基因”表示。引物序列如表1。

1.2.5 Western blot检测Ki67、PCNA的表达: 用组织蛋白质抽提试剂盒提取各组蛋白质, 用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。取40 g蛋白质样品加上样缓冲液煮沸变性后, 8%SDS-PAGE分离蛋白, 转移至硝酸纤维素膜, 用含5%脱脂奶粉的TBST封闭1 h, 分别加入Ki67单克隆抗体、PCNA多克隆抗体, 摇匀后, 4℃冰箱过夜; TBST洗膜3次, 每次10 min, 分别加入二抗室温下反应1 h, TBST洗膜3次, 每次10 min, 以化学发光法特异性检测膜上Ki67、PCNA的表达。

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行分析, 实验结果用mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝肉眼形态学观察 肝脏组织巨检: 正常组小鼠肝颜色鲜红, 有光泽, 质软, 表面光滑细腻, 边缘锐利。模型组与高、低剂量组肝体积增大, 表面有大小不等的结节, 切面灰白、实性质中, 中央可见坏死。与模型组比较, 高低剂量组结节个数明显减少, 高剂量组尤为明显(图1)。

2.2 肝组织病理学改变 HE染色显示: 正常组小

表 1 Real-time PCR底物序列

基因	基因号	上游引物	下游引物
<i>AFP</i>	NM_007423.4	5'-AGCAGGACTGCTCGAAACAT-3'	5'-AGCGAAATGTAGCAGGAGA-3'
<i>Ki67</i>	NM_001081117.2	5'-CCTTGCTGAGAACACCACAG-3'	5'-TCTGCTTCCTGGCACTTGAT-3'
<i>PCNA</i>	NM_011045.2	5'-AGCCAGACCTCGTTCCTCTT-3'	5'-AGCCTCCAGCACCTTCTTC-3'

AFP: 甲胎蛋白; PCNA: 增殖细胞核抗原.

创新盘点

本文采用Real-time PCR和Western blot法来检测肝癌模型中各组肝癌及癌旁组织Ki67、PCNA mRNA和蛋白的表达, 进一步说明泮托拉唑对肝癌模型细胞增殖的影响.

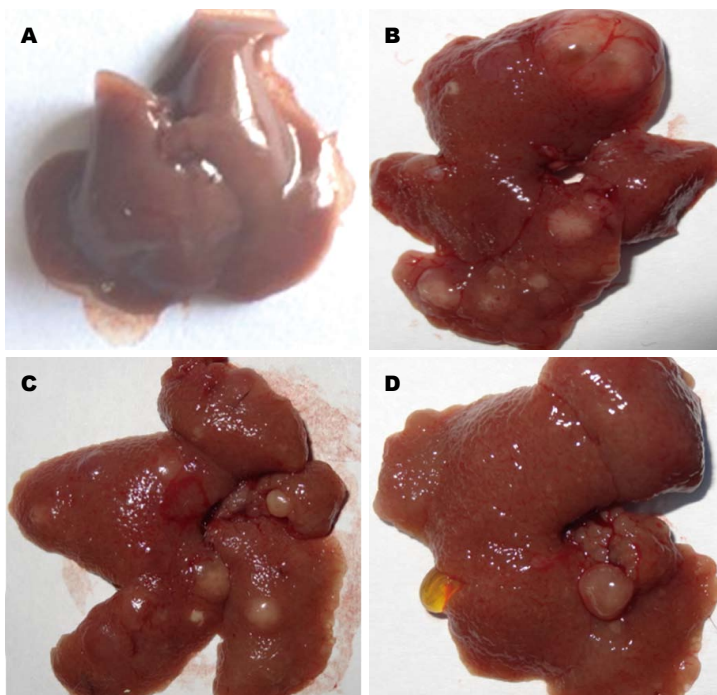


图 1 肝脏组织巨检图片. A: 正常组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 高剂量组.

鼠肝小叶结构完整, 界限清晰. 中央静脉清楚, 细胞大小均匀, 形态一致; 模型组与高、低剂量组正常组织结构消失, 细胞大小不等, 形态多样, 核大深染, 核分裂像多见, 并见病理性核分裂肝小叶结构破坏或消失, 中央静脉周围及汇管区纤维沉积增多, 纤维隔内有大量炎性细胞及成纤维细胞浸润. 与模型组比较, 高低剂量组异型增生减少, 高剂量组尤为显著(图2).

2.3 不同组间肝肾功指标水平 高、低剂量组和模型组分别与正常组比较, ALT、AST水平明显高于正常组, 两者差异均有统计学意义($P<0.05$), 与模型组相比较, 高剂量组ALT、AST水平明显降低, 两者差异均有统计学意义($P<0.05$). 各组尿素、Cr水平差异无统计学意义($P>0.05$)(表2).

2.4 Real-time PCR检测各组AFP、Ki67、PCNA mRNA相对表达水平 结果提示AFP、Ki67、PCNA mRNA(图3)在正常组、模型组和高低剂

量组肝组织中均有表达. 与正常组相比较, 高、低剂量和模型组AFP、Ki67、PCNA mRNA表达明显增高, 差异具有统计学意义($P<0.05$, $F=7.94$; $P<0.05$, $F=15.62$; $P<0.01$, $F=45.58$). 与模型组比较, 高剂量组Ki67、PCNA mRNA表达较低, 差异具有统计学意义($P<0.05$, $F=5.89$; $P<0.05$, $F=10.34$).

2.5 不同组中肝癌组织、癌旁组织和正常肝组织中Ki67、PCNA蛋白水平的表达比较 Western blot结果显示在模型组、高剂量组肝癌和癌旁组织及正常肝组织均有Ki67、PCNA的表达, 如图示Ki67、PCNA及其内参在36、43 kDa处有条带表达(图4). 与正常肝组织比较, 高剂量和模型组的肝癌及癌旁组织表达明显增高, 差别具有统计学意义($P<0.05$, $F=20.41$; $P<0.05$, $F=20.31$). 与模型组比较, 高剂量组肝癌及癌旁组织表达明显减少, 差别具有统计学意义($P<0.05$, $F=16.47$, $P<0.05$, $F=$

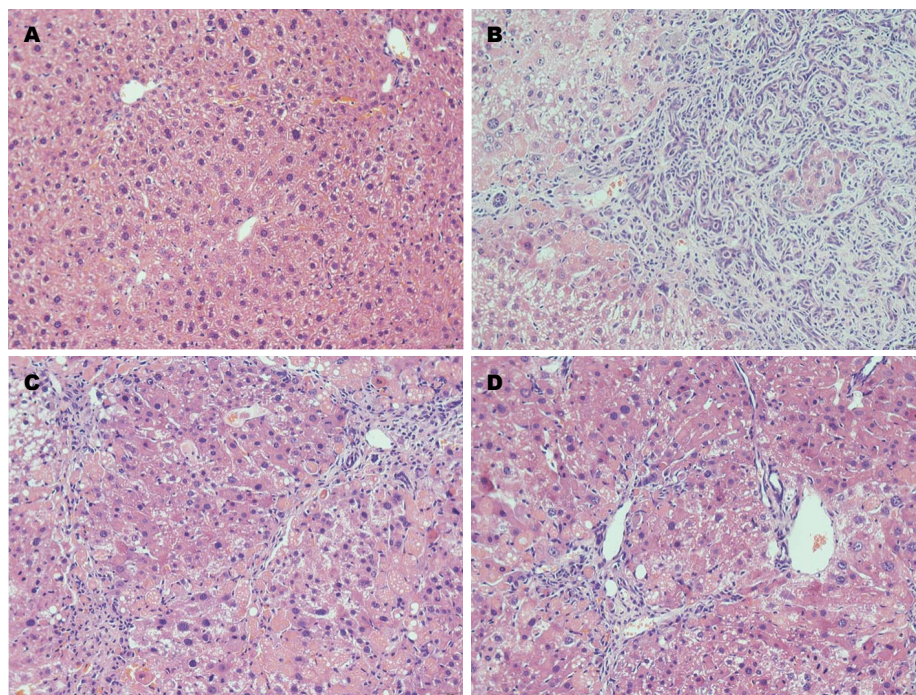
应用要点

泮托拉唑能够下调肝癌组织的AFP、Ki67、PCNA的表达,且高剂量干预后表达下调更显著。故泮托拉唑有望成为一种新型的肝癌化学治疗的佐剂。他对肝癌细胞增殖影响的进一步研究,能有助于我们对肝癌更深层的认识,为肝癌的治疗提供更多手段。

表 2 小鼠肝肾功 (mean \pm SE)

分组	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	Urea(mmol/L)	Cr(μ mol/L)
正常组	6	28.08 \pm 0.91	90.50 \pm 5.36	6.78 \pm 0.06	19.33 \pm 2.05
低剂量组	8	69.00 \pm 14.00 ^a	182.50 \pm 14.50 ^a	10.00 \pm 2.01	23.50 \pm 2.50
高剂量组	6	64.55 \pm 5.50 ^{bc}	137.00 \pm 14.00 ^{bc}	9.76 \pm 1.16	25.00 \pm 3.00
模型组	7	83.50 \pm 17.50 ^a	194.50 \pm 27.55 ^a	8.06 \pm 0.97	17.00 \pm 1.00

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^b $P < 0.05$ vs 模型组。ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; Urea: 尿素; Cr: 肌酐。

图 2 肝脏组织HE染色($\times 200$)。A: 正常组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 高剂量组。

= 12.38)。各组癌组织与癌旁组织间无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

诱发性肝癌模型中, DEN诱癌成功率较高, 对肝脏致癌有较好的专一性, 且大部分癌变为肝细胞癌, 所以本实验应用DEN联合CCl₄对C57BL/6J小鼠进行肝癌诱发。肝功能ALT和AST异常升高说明小鼠肝组织细胞在受到DEN刺激后, 发生了严重的肝脏损伤, 进而导致肝衰竭和肝脏合成功能下降。肝脏组织巨检提示模型组表面有大小不等的结节, HE染色显示模型组异型增生表现, RT-PCR结果提示模型组AFP mRNA表达明显增高, 以上结果均提示模型组小鼠已成功诱发肝癌, 模型成功率为100%。

已有研究表明, PPI可抑制肿瘤局部酸的分泌,

诱导多种肿瘤细胞的凋亡, 如胃癌^[13]、胰腺癌^[14]、结肠癌^[15]、B细胞瘤^[16]等, 但泮托拉唑对肝癌的作用尚不清楚。近年来肿瘤细胞所处的酸性微环境可能参与了肿瘤细胞多药耐药性的产生, 并成为国外的研究热点。空泡型质子泵(vacuolar H⁺-ATPases, V-ATPase)主要分布在肿瘤细胞的细胞膜和胞内酸性囊泡膜上, 且在肿瘤细胞中高度表达, 而正常组织细胞的胞膜上不表达V-ATPase, 只在其胞内酸性囊泡中少量表达^[17-19], 其主要功能就是将肿瘤细胞胞浆中糖酵解代谢的H⁺泵出细胞外或泵入胞内的酸性囊泡, 维持胞浆内的弱碱性环境, 参与肿瘤的浸润和远处转移, 且与肿瘤化疗的多药耐药密切相关^[20]。质子泵抑制剂可通过抑制空泡型质子泵的表达, 逆转肿瘤细胞内外pH梯度, 促使肿瘤细胞内酸化, 改变肿瘤细胞微环

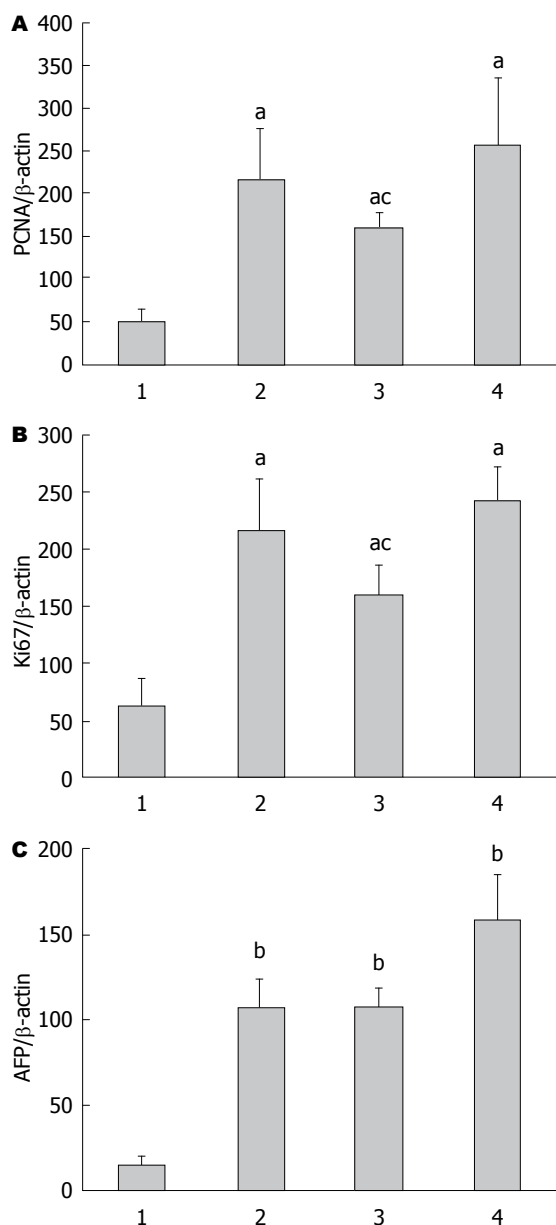


图 3 各组AFP、Ki67、PCNA的mRNA表达情况。A: Real-time PCR检测各组PCNA mRNA的相对表达水平; B: Real-time PCR检测各组Ki67 mRNA相对表达水平; C: Real-time PCR检测各组AFP mRNA相对表达水平。1: 正常组织; 2: 低剂量组; 3: 高剂量组; 4: 模型组。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。AFP: 甲胎蛋白。

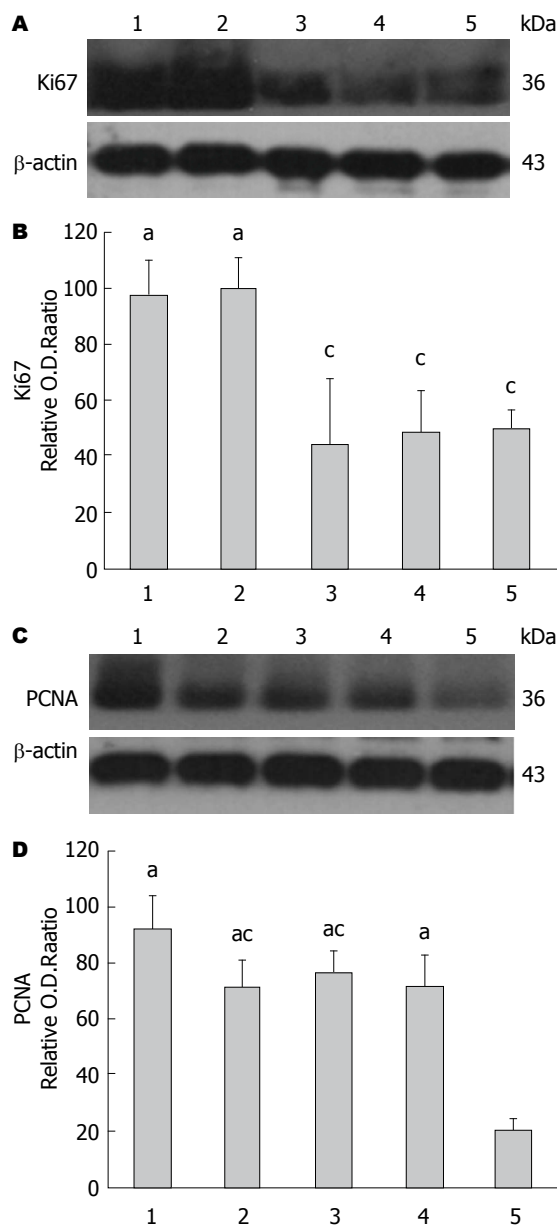


图 4 Ki67、PCNA在不同组中肝癌组织、癌旁组织和正常肝组织中相对表达水平。A: Western blot检测各组Ki67的表达; B: 各组Ki67的相对表达水平; C: Western blot检测各组PCNA的表达; D: 各组PCNA的相对表达水平。1: 模型癌组织; 2: 模型癌旁组织; 3: 高剂量癌组织; 4: 高剂量癌旁组织; 5: 正常组织。^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。

名词解释
V-ATPase: 位于小泡的膜上(动物细胞溶酶体膜、动物细胞的内吞体、高尔基体的囊泡膜、植物液泡膜), 水解ATP产生能量, 转运 H^+ 但不发生自磷酸化, 保持细胞质基质内中性pH和细胞器内的酸性pH。

境, 同时抑制缺氧诱导因子低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)及多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1, MRP1)的表达, 促进肿瘤细胞的凋亡, 提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 逆转肿瘤多药耐药^[21]。肿瘤微环境形成的细胞内外pH值梯度可激活胞内PI3K/Akt信号通路, 为我们研究逆转肿瘤多药耐药提供了新思路^[22,23]。本实验室前期研究发现人肝癌细胞中V-ATPase明显上调,

而且大量存在于癌细胞的细胞膜, 促进了癌细胞内 H^+ 排出, V-ATPase的抑制可延缓肝癌细胞的生长。研究^[24,25]表明, 鉴于V-ATPase在调节肿瘤微环境的酸度和持续清除毒性分子, 如 H^+ 和活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)所起的关键性作用, V-ATPase可能是PPI抗肿瘤作用最重要的机制。我们研究^[26]还发现, 泮托拉唑能抑制肝癌HepG2细胞迁移和侵袭, 其机制可能与下调MMP9 mRNA的表达有关。

肿瘤细胞的增殖状态及增殖能力是评判

同行评价

本文探讨PPI泮托拉唑在肝癌发生过程中对细胞增殖的影响,为肝癌细胞癌的治疗提供新的思路,具有一定的应用研究价值。

肿瘤生物学行为的重要指标。我们检测AFP、Ki67和PCNA在各组中的相对表达水平,比较各组肝组织的增殖能力。近期研究发现,AFP具有激活PI3K/AKT信号的功能,通过该信号途径诱导癌基因*Ras*、*Src*等的表达,促进肝癌细胞增殖^[27,28]。细胞增殖核抗原Ki67和PCNA均被视为评估肿瘤细胞增殖活性的重要标志物,其表达随细胞周期的变化而变化,在肿瘤的诊治与预后监测等方面均显示出重要的临床价值^[29,30]。Ki67是目前应用最广泛的增殖细胞标志之一,用于检测与增殖相关的核抗原的出现,进而辨认处于细胞循环G₁、S、G₂、M期细胞。其表达量的高低对评价细胞的增殖状态,研究肿瘤的生物行为、判断其危害性具有重要意义。有研究^[31-33]认为Ki-67在HCC中的表达情况还与预后有关,表达越高,预后越差。PCNA又称周期抗原,是评价细胞增殖状态的常用指标。其表达在细胞增殖周期G₁后期开始升高,G₁/S期时达高峰,S期持续高水平,能与DNA多聚酶辅助蛋白结合,参与细胞DNA的复制^[34,35]。本实验中用Real-time PCR(图3)分别检测各组AFP、Ki67和PCNA mRNA相对表达水平,Western blot(图4)分别检测Ki67和PCNA蛋白相对表达量,结果显示,与正常组相比较,其余组表达明显上调($P<0.05$)。与模型组比较,高剂量组表达显著下调($P<0.05$)。以上共同表明了高剂量的泮托拉唑可以显著抑制肝癌细胞的增殖。

总之,泮托拉唑能够下调肝癌组织的AFP、Ki67、PCNA的表达,且高剂量干预后表达下调更显著。同时泮托拉唑可以降低肝癌细胞增殖速率,抑制肿瘤生长。故泮托拉唑有望成为一种新型的肝癌化学治疗的佐剂,但目前的研究尚处于细胞和动物水平,还缺乏大量的临床试验研究。相信泮托拉唑对肝癌细胞增殖影响的进一步研究,能有助于我们对肝癌更深层的认识,为肝癌的治疗提供更多手段。

4 参考文献

- Martí-Bonmatí L, Sanz-Requena R, de Gracia BP, Carot-Sierra JM. Magnetic resonance pharmacokinetic imaging clusterization of hepatocellular carcinomas as a means to grade tumor aggressiveness. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 711-716 [PMID: 23237256 DOI: 10.1586/egh.12.51]
- 董志珍, 姚登福, 吴玮, 邱历伟, 姚宁华, 严晓娣, 蔚丹丹, 陈洁. 肝癌胰岛素样生长因子-1 表达遗传改变与其基因转录、表达的相关性分析. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 593 -597

- Xiong JJ, Altat K, Javed MA, Huang W, Mukherjee R, Mai G, Sutton R, Liu XB, Hu WM. Meta-analysis of laparoscopic vs open liver resection for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6657-6668 [PMID: 23236242 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6657]
- Yoon AJ, Kuo WH, Lin CW, Yang SF. Role of ERCC5 polymorphism in risk of hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett* 2011; 2: 911-914 [PMID: 22866149]
- Cotoi CG, Khorsandi SE, Pleșea IE, Quaglia A. Histological aspects of post-TACE hepatocellular carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 677-682 [PMID: 23188425]
- Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.11.002]
- Jang KY, Noh SJ, Lehwald N, Tao GZ, Bellovin DI, Park HS, Moon WS, Felsner DW, Sylvester KG. SIRT1 and c-Myc promote liver tumor cell survival and predict poor survival of human hepatocellular carcinomas. *PLoS One* 2012; 7: e45119 [PMID: 23024800]
- 李玉英, 贾海燕, 郭慧, 王转花. rBTI蛋白对人肝癌 HepG2细胞增殖、迁移及ROS产生的影响. *细胞与分子免疫学杂志* 2012; 28: 358-360
- Luciani F, Spada M, De Milito A, Molinari A, Rivoltini L, Montinaro A, Marra M, Lugini L, Logozzi M, Lozupone F, Federici C, Iessi E, Parmiani G, Arancia G, Belardelli F, Fais S. Effect of proton pump inhibitor pretreatment on resistance of solid tumors to cytotoxic drugs. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1702-1713 [PMID: 15547183]
- Yeo M, Kim DK, Kim YB, Oh TY, Lee JE, Cho SW, Kim HC, Hahm KB. Selective induction of apoptosis with proton pump inhibitor in gastric cancer cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8687-8696 [PMID: 15623654]
- Ogawa K. Molecular pathology of early stage chemically induced hepatocarcinogenesis. *Pathol Int* 2009; 59: 605-622 [PMID: 19712128 DOI: 10.1111/j.1440-1827]
- 匡志鹏, 谢裕安, 杨帆, 梁安民, 罗小玲, 吴继宁. C57BL/6小鼠肝癌动物模型的建立. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 657-660
- Xu J, Xie R, Liu X, Wen G, Jin H, Yu Z, Jiang Y, Zhao Z, Yang Y, Ji B, Dong H, Tuo B. Expression and functional role of vacuolar H(+)-ATPase in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2432-2440 [PMID: 22962303 DOI: 10.1093/carcin/bgs277]
- Yeo M, Kim DK, Park HJ, Cho SW, Cheong JY, Lee KJ. Retraction: Blockage of intracellular proton extrusion with proton pump inhibitor induces apoptosis in gastric cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 185 [PMID: 17956591]
- Udelnow A, Kreyes A, Ellinger S, Landfester K, Walther P, Klapperstueck T, Wohlrab J, Henne-Bruns D, Knippschild U, Würfl P. Omeprazole inhibits proliferation and modulates autophagy in pancreatic cancer cells. *PLoS One* 2011; 6: e20143 [PMID: 21629657 DOI: 10.1371/journal.pone.0020143]
- Marino ML, Fais S, Djavaheri-Mergny M, Villa A, Meschini S, Lozupone F, Venturi G, Della Mina P, Pattingre S, Rivoltini L, Codogno P, De Milito A.

- Proton pump inhibition induces autophagy as a survival mechanism following oxidative stress in human melanoma cells. *Cell Death Dis* 2010; 1: e87 [PMID: 21368860 DOI: 10.1038/cddis.2010.67]
- 17 Sennoune SR, Luo D, Martínez-Zaguilán R. Plasmalemmal vacuolar-type H⁺-ATPase in cancer biology. *Cell Biochem Biophys* 2004; 40: 185-206 [PMID: 15054222]
- 18 Sun-Wada GH, Wada Y. Vacuolar-type proton pump ATPases: roles of subunit isoforms in physiology and pathology. *Histol Histopathol* 2010; 25: 1611-1620 [PMID: 20886440]
- 19 Toei M, Saum R, Forgac M. Regulation and isoform function of the V-ATPases. *Biochemistry* 2010; 49: 4715-4723 [PMID: 20450191 DOI: 10.1021/bi100397s]
- 20 You H, Jin J, Shu H, Yu B, De Milito A, Lozupone F, Deng Y, Tang N, Yao G, Fais S, Gu J, Qin W. Small interfering RNA targeting the subunit ATP6L of proton pump V-ATPase overcomes chemoresistance of breast cancer cells. *Cancer Lett* 2009; 280: 110-119 [PMID: 19299075 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.023]
- 21 李建琦, 陈敏, 邹晓平. PPIs抑制空泡型质子泵逆转胃癌化疗多药耐药. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3201-3206
- 22 Emerling BM, Akcakanat A. Targeting PI3K/mTOR signaling in cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 7351-7359 [PMID: 21987725 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1699]
- 23 Zhou Q, Lui VW, Yeo W. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2011; 7: 1149-1167 [PMID: 21992728 DOI: 10.2217/fon.11.95]
- 24 De Milito A, Iessi E, Logozzi M, Lozupone F, Spada M, Marino ML, Federici C, Perdicchio M, Matarrese P, Lugini L, Nilsson A, Fais S. Proton pump inhibitors induce apoptosis of human B-cell tumors through a caspase-independent mechanism involving reactive oxygen species. *Cancer Res* 2007; 67: 5408-5417 [PMID: 17545622]
- 25 Fais S. Proton pump inhibitor-induced tumour cell death by inhibition of a detoxification mechanism. *J Intern Med* 2010; 267: 515-525 [PMID: 20433578 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2010.02225.x]
- 26 文国荣, 金海, 计蓓, 杨媛, 周姝, 陈萍, 虞必光. 泮托拉唑对人肝癌HepG2细胞体外迁移和侵袭的影响. 中国新药与临床杂志 2013; 32: 749-752
- 27 Yang X, Zhang Y, Zhang L, Zhang L, Mao J. Silencing alpha-fetoprotein expression induces growth arrest and apoptosis in human hepatocellular cancer cell. *Cancer Lett* 2008; 271: 281-293 [PMID: 18657899 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.06.017]
- 28 Li M, Li H, Li C, Wang S, Jiang W, Liu Z, Zhou S, Liu X, McNutt MA, Li G. Alpha-fetoprotein: a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2011; 128: 524-532 [PMID: 20473866 DOI: 10.1002/ijc.25373]
- 29 Masuda H, Masuda N, Kodama Y, Ogawa M, Karita M, Yamamura J, Tsukuda K, Doihara H, Miyoshi S, Mano M, Nakamori S, Tsujinaka T. Predictive factors for the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy and prognosis in triple-negative breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 911-917 [PMID: 20593180 DOI: 10.1007/s00280-010-1371-4]
- 30 Zhao H, Ho PC, Lo YH, Espejo A, Bedford MT, Hung MC, Wang SC. Interaction of proliferation cell nuclear antigen (PCNA) with c-Abl in cell proliferation and response to DNA damages in breast cancer. *PLoS One* 2012; 7: e29416 [PMID: 22238610 DOI: 10.1371/journal.pone.0029416]
- 31 Jakobsen JN, Sørensen JB. Clinical impact of ki-67 labeling index in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2013; 79: 1-7 [PMID: 23137549 DOI: 10.1016/j.lungcan.2012.10.008]
- 32 Buchynska LG, Nesina IP, Yurchenko NP, Bilyk OO, Grinkevych VN, Svintitsky VS. Expression of p53, p21WAF1/CIP1, p16INK4A and Ki-67 proteins in serous ovarian tumors. *Exp Oncol* 2007; 29: 49-53 [PMID: 17431389]
- 33 Zheng Y, Wang L, Zhang JP, Yang JY, Zhao ZM, Zhang XY. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 339-344 [PMID: 20082479]
- 34 Mailand N, Gibbs-Seymour I, Bekker-Jensen S. Regulation of PCNA-protein interactions for genome stability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 269-282 [PMID: 23594953 DOI: 10.1038/nrm3562]
- 35 Wang K, Shi Z, Zhang M, Cheng D. Structure of PCNA from *Drosophila melanogaster*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 2013; 69: 387-392 [PMID: 23545643 DOI: 10.1107/S1744309113004971]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



miR-181a、miR-181b在人胃癌细胞和组织中的表达

姚育红, 廖爱军, 陈娟, 戴勇

背景资料
RAS相关结构域家族蛋白1A(ras association domain family 1A, RASSF1A)是一种已被确认的抑癌基因, 本课题前期在建立高表达RASSF1A基因胃癌SGC-7901细胞株后, 利用微小RNA(microRNA, miRNA)芯片筛选转染前后细胞株中miRNA的差异表达, 发现与转染前细胞株相比miR-181a、miR-181b在转染后细胞株中的表达均显著下调, 为进一步探索miR-181a、miR-181b在胃癌发生发展中的作用, 因而研究其在不同分化程度人胃癌细胞株和胃癌组织中的表达情况。

同行评议者
赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室

姚育红, 廖爱军, 陈娟, 戴勇, 南华大学附属第一医院消化内科 湖南省衡阳市 421001
姚育红, 副教授, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的防治研究。湖南省卫生厅科研基金资助项目, No. B2011-048
作者贡献分布: 此课题由姚育红与廖爱军设计; 研究过程由姚育红、陈娟及戴勇操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姚育红与廖爱军提供; 数据分析由姚育红与廖爱军完成; 本论文写作由姚育红与陈娟完成。
通讯作者: 廖爱军, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市船山路69号, 南华大学附属第一医院消化内科。aijun.liao@163.com
电话: 0734-8578711
收稿日期: 2014-11-04 修回日期: 2014-11-30
接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-08

Expression of miR-181a and miR-181b in human gastric cancer cells and tissues

Yu-Hong Yao, Ai-Jun Liao, Juan Chen, Yong Dai

Yu-Hong Yao, Ai-Jun Liao, Juan Chen, Yong Dai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Supported by: Science Foundation of Hunan Provincial Health Department, No. B2011-048
Correspondence to: Ai-Jun Liao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanhua University, 69 Chuanshan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. aijun.liao@163.com
Received: 2014-11-04 Revised: 2014-11-30
Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of miR-181a and miR-181b in human gastric cancer cell lines and tissues, and to explore their role in the development and progression of gastric cancer.

METHODS: Three gastric cancer cell lines with different degrees of differentiation (AGS, SGC-7901, MGC-803) and normal gastric mucosa cell line GES-1 were cultured *in vitro*, and gastric cancer tissue and normal tissue samples from 28 patients who underwent surgical operation were collected. The expression levels of miR-181a and miR-181b in the above cell lines and tissues were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and compared among different groups.

RESULTS: The expression of miR-181a and miR-181b in AGS, SGC-7901 and MGC-803 cells was significantly higher than that in GES-1 cells ($P < 0.05$), but had no significant difference among the three gastric cancer cell lines ($P > 0.05$). Compared with normal gastric tissues, the expression of miR-181a and miR-181b in gastric cancer tissues was significantly higher ($P < 0.05$). The expression of miR-181a and miR-181b was significantly higher in stage III/IV gastric cancer tissues than in stage I/II ($P < 0.05$), and in gastric cancer patients with lymph node metastasis than in patients without ($P < 0.05$). There was no significant correlation between the expression of miR-181a/miR-181b and age, gender, or degree of tumor differentiation ($P > 0.05$).

CONCLUSION: MiR-181a and miR-181b are highly expressed in gastric cancer cell lines and tissues, and their expression levels in gastric cancer are associated with tumor stage and lymph node metastasis. They might play a role as oncogenes in gastric carcinogenesis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miR-181a; miR-181b; Gastric cancer

Yao YH, Liao AJ, Chen J, Dai Y. Expression of miR-181a and miR-181b in human gastric cancer cells and tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 30-36 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/30.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.30>

摘要

目的: 研究miR-181a、miR-181b在不同分化程度人胃癌细胞株和胃癌组织中的表达情况, 探索其在胃癌发生发展过程中的作用。

方法: 体外培养3种不同分化程度的胃癌细胞株(AGS、SGC-7901、MGC-803)及正常胃黏膜细胞GES-1, 收集28例胃癌患者手术切除的癌组织及正常组织样本, 通过实时定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase

chain reaction, qRT-PCR)方法检测上述细胞和组织中miR-181a、miR-181b的表达量, 比较胃癌细胞与正常胃黏膜细胞、胃癌组织与正常胃组织中miR-181a、miR-181b表达的差异性.

结果: 经qRT-PCR方法检测发现, AGS、SGC-7901、MGC-803 3种胃癌细胞中miR-181a及miR-181b的表达量均高于GES-1细胞中的表达量($P<0.05$), 而AGS、SGC-7901、MGC-803 3种胃癌细胞之间miR-181a及miR-181b的表达量差异均无统计学意义($P>0.05$). 与正常胃组织相比, miR-181a、miR-181b在胃癌组织中的表达量显著升高($P<0.05$). III/IV期组胃癌组织中miR-181a、miR-181b的相对表达量高于I/II期组($P<0.05$). 有淋巴结转移组胃癌组织中miR-181a、miR-181b的相对表达量高于无淋巴结转移组($P<0.05$). miR-181a、miR-181b的相对表达量与年龄、性别、胃癌的分化程度无明显关系($P>0.05$).

结论: miR-181a、miR-181b在胃癌细胞和组织中高表达, 两者的表达水平与胃癌的分期、淋巴结转移相关, 可能在胃癌的发生发展中发挥癌基因的作用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: miR-181a; miR-181b; 胃癌

核心提示: miR-181a、miR-181b在胃癌中表达上调, 表现为癌基因的作用; 两者的表达水平与胃癌的分期、淋巴结转移显著相关, 与胃癌的发生发展、侵袭转移有着密切关系.

姚育红, 廖爱军, 陈娟, 戴勇. miR-181a、miR-181b在人胃癌细胞和组织中的表达. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 30-36
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/30.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.30>

0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类约19-23个核苷酸大小的非编码单链微小RNA^[1,2], 调控人类约20%-30%的基因^[3,4]. 他能与靶mRNA的3'端非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)序列不完全互补结合^[5-8], 抑制靶mRNA翻译、导致目标蛋白表达减少, 在转录后水平调控靶基因的表达. miRNA能调控广泛的一系列生物学过程, 包括细胞分化、增殖和凋亡^[9], 他的表达

异常与肿瘤的发生、发展、转移有密切相关性. 每个miRNA可调控数百个靶基因的表达, 这些靶基因有可能是癌基因也有可能是抑癌基因, 相应的miRNA可能起到抑癌基因或是癌基因的作用^[10].

miR-181家族是一种人类细胞中存在比较广泛的miRNA, 目前发现的miR-181家族成员主要有4种: miR-181a、miR-181b、miR-181c和miR-181d^[11]. miR-181家族成员的表达与多种肿瘤显著相关. 大量研究结果显示, miR-181在急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)^[3]、肝癌^[12]、大肠癌^[13]、前列腺癌^[14]等多种肿瘤中表达水平上调, 发挥癌基因的作用. 本实验为明确miR-181a、miR-181b与胃癌发生发展的相关性, 采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测不同分化程度胃癌细胞株及胃癌组织中miR-181a、miR-181b的表达情况, 研究其在胃癌发生发展中的作用, 为探索胃癌诊断和治疗的新途径提供方向.

1 材料和方法

1.1 材料 GES-1正常胃黏膜细胞, AGS人胃癌细胞, SGC-7901人胃癌细胞, MGC-803人胃癌细胞; 28例胃癌患者的胃癌组织及相应正常胃黏膜组织标本; RPMI-1640培养基, DMEM培养基, 胎牛血清, 胰蛋白酶; TRIzol试剂, U6、miR-181a、miR-181b基因引物, One Step PrimeScript[®] miRNA cDNA Synthesis Kit, SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和组织收集: GES-1、SGC-7901、MGC-803细胞用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液, AGS细胞用含10%胎牛血清的DMEM培养液, 于37℃、50 mL/L CO₂浓度、充分饱和湿度的CO₂培养箱中培养, 取对数生长期细胞进行实验. 28例胃癌患者的胃癌组织及相应正常胃黏膜组织标本均来自于南华大学附属第一医院和南华大学附属第二医院肿瘤外科.

1.2.2 RNA的提取与检测: 提取细胞和组织中的总RNA, 采用紫外线吸收法检测RNA的浓度及纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性, 取浓度合适且纯度比值在1.8-2.2之间的、完整性好的RNA样本进行下一步实验.

研究前沿
胃癌是我国三大癌症之一, 其发生发展与多种癌基因的激活、抑癌基因的失活密切相关, 是现代肿瘤学研究的热点之一; 多种miRNA的表达及调控在胃癌的发生发展中具有重要意义, miR-181是广泛存在于人类细胞中的一种miRNA, 其在胃癌的发生发展中有着怎样的作用及其可能的作用机制尚不明确, 亟待人们进一步研究.

相关报道

Guo等通过研究miR-181在人胃癌细胞系中的表达差异, 及其能通过调节金属蛋白酶组织抑制因子3(tissue inhibitor-3 of matrix metalloproteinases)的蛋白表达, 调控胃癌细胞的增殖、侵袭与转移, 对研究miR-181在胃癌中的作用机制有指导价值, 有一定的创新性。

表 1 细胞和组织RNA样品浓度和纯度信息

样品来源	A_{260}	A_{280}	$A_{260/280}$	浓度(ng/ μ L)
GES-1	0.331	0.172	1.92	1324
MGC-803	0.516	0.260	1.98	2064
SGC-7901	0.494	0.243	2.03	1976
AGS	0.442	0.212	2.08	1768
癌组织	0.658	0.337	1.95	2632
正常组织	0.576	0.285	2.02	2304

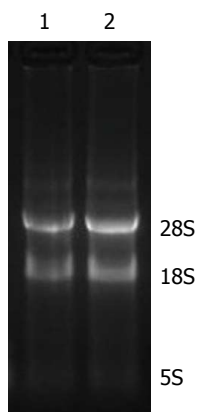


图 1 细胞中总RNA的电泳图. 1: 正常胃黏膜细胞; 2: 胃癌细胞。

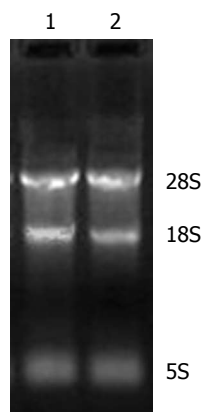


图 2 组织中总RNA的电泳图. 1: 正常胃组织; 2: 胃癌组织。

1.2.3 qRT-PCR: 按37 °C 60 min、85 °C 5 s条件进行RT反应合成cDNA后, U6、miR-181a、miR-181b按下列条件进行PCR反应: 预变性: 95 °C 30 s; PCR反应: 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 50个循环; 融解曲线分析: 95 °C 60 s, 60 °C 60 s, 然后从60 °C开始每10 s加热0.5 °C直至95 °C。

1.2.4 结果处理及分析: 以每个样本的U6作为内参, 以正常胃黏膜细胞(GES-1)、正常组织作为对照组, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算分析。其中 $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{胃癌细胞/胃癌组织}} - \Delta Ct_{\text{正常细胞/配对正常组织}}$, $\Delta Ct = Ct_{\text{miR-181a/miR-181b}} - Ct_{\text{U6}}$ 。

统计学处理 所得数据采用mean \pm SD表示, 应用SPSS13.0软件进行统计分析, 两组间差异分别采用配对样本 t 检验、两样本 t 检验, 多组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RNA质量结果

2.1.1 紫外线吸收法检测RNA的浓度及纯度: 经紫外线吸收测定法检测表明所用细胞和组织RNA样品的纯度较好, $A_{260/280}$ 值均在1.8-2.2之间, 无明显蛋白质等有机物的污染及降解, RNA的

浓度及纯度均符合实验要求(表1)。

2.1.2 琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性: 经琼脂糖凝胶电泳检测表明所用细胞和组织RNA样品均显示28S rRNA、18S rRNA、5S rRNA三条带, 且28S条带的亮度约为18S条带的2倍, RNA无明显降解, 完整性较好, 符合实验要求(图1, 2)。

2.2 细胞中miR-181a、miR-181b的表达分析

2.2.1 人胃癌细胞和正常胃黏膜细胞中miR-181a的表达比较: 如图3所示, 人胃癌细胞AGS、SGC-7901、MGC-803中miR-181a的表达量均高于其在GES-1细胞中的表达量, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而AGS、SGC-7901、MGC-803人胃癌细胞之间miR-181a的表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.2 人胃癌细胞和正常胃黏膜细胞中miR-181b的表达比较: 如图4所示, AGS、SGC-7901、MGC-803人胃癌细胞中miR-181b的表达量均高于其在GES-1细胞中的表达量, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而AGS、SGC-7901、MGC-803人胃癌细胞之间miR-181b的表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 组织中miR-181a、miR-181b的表达分析

表 2 人胃癌组织中miR-181a的表达与临床病理的相关性 (mean \pm SD)

分组	n	miR-181a表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	P值
年龄(岁)			0.320
60	15	3.02 \pm 1.15	
<60	13	3.46 \pm 1.14	
性别			0.588
男	15	3.12 \pm 1.31	
女	13	3.36 \pm 0.97	
分化程度			0.897
高/中	12	3.19 \pm 1.22	
低/未	16	3.25 \pm 1.13	
分期 ¹			0.005
I / II	13	2.60 \pm 1.16	
III/IV	15	3.77 \pm 0.84	
淋巴结转移			0.000
无	11	2.34 \pm 1.07	
有	17	3.80 \pm 0.80	

¹分期按国际抗癌联盟-美国癌症联合委员会(UICC-AJCC)胃癌TNM分期标准(2010年版)。

表 3 人胃癌组织中miR-181b的表达与临床病理的相关性 (mean \pm SD)

分组	n	miR-181b表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	P值
年龄(岁)			0.201
60	15	3.02 \pm 1.33	
<60	13	3.66 \pm 1.23	
性别			0.425
男	15	3.13 \pm 1.48	
女	13	3.53 \pm 1.09	
分化程度			0.189
高/中	12	2.94 \pm 1.31	
低/未	16	3.60 \pm 1.27	
分期 ¹			0.042
I / II	13	2.78 \pm 1.36	
III/IV	15	3.78 \pm 1.10	
淋巴结转移			0.003
无	11	2.45 \pm 1.19	
有	17	3.88 \pm 1.07	

¹分期按国际抗癌联盟-美国癌症联合委员会(UICC-AJCC)胃癌TNM分期标准(2010年版)。

创新盘点

国内研究miR-181与胃癌发生发展关系的报道比较少,本课题通过研究miR-181a、miR-181b在胃癌细胞与正常胃黏膜细胞、胃癌组织与正常胃组织中的表达差异及其与临床病理的相关性,分析其在胃癌中可能发挥的作用,为胃癌诊断和治疗探索新途径,具有一定的创新性。

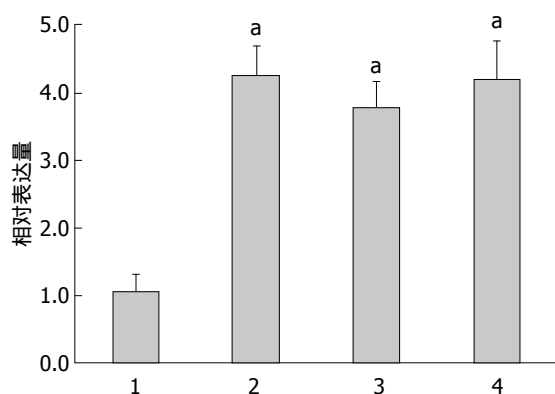


图 3 4种细胞中miR-181a的表达比较. ^a $P < 0.05$ vs 组1. 1: GES-1; 2: AGS; 3: SGC-7901; 4: MGC-803.

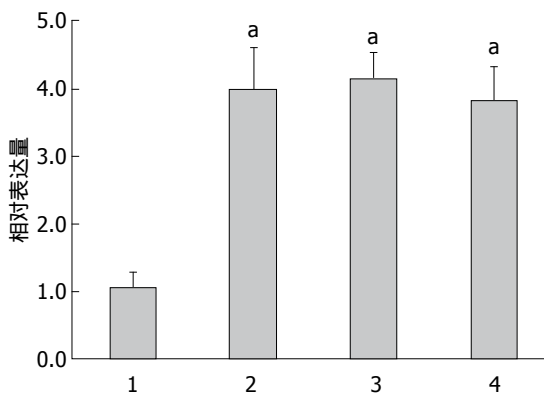


图 4 4种细胞中miR-181b的表达比较. ^a $P < 0.05$ vs 组1. 1: GES-1; 2: AGS; 3: SGC-7901; 4: MGC-803.

2.3.1 人胃癌组织和正常胃组织中miR-181a、miR-181b的表达比较: 如图5所示, 人胃癌组织中miR-181a、miR-181b的表达量均高于正常胃组织中的表达量, 差异有统计学意义($P < 0.05$).

2.3.2 人胃癌组织中miR-181a、miR-181b的表达与临床病理的相关性: 本实验共收集到28例胃癌患者手术组织样本, 其中男性15例、平均年龄59.8岁 \pm 7.2岁, 女性13例、平均年龄55.3岁 \pm 13.6岁。如表2、3所示, III/IV期组胃癌组织中miR-181a、miR-181b的相对表达量高于I / II期组($P < 0.05$)。有淋巴结转移组中miR-181a、miR-181b的相对表达量高于无淋巴结转移组($P < 0.05$)。miR-181a、miR-181b的相

对表达量与年龄、性别、胃癌分化程度无关($P > 0.05$)。

3 讨论

miRNA是一种广泛存在于真核生物中的内源性小分子RNA, 是由经核糖核酸酶Drosha切割、约70-90个碱基长度、具有发夹结构的前体miRNA通过Dicer核糖核酸酶切割生成^[15,16], 由19-25个核苷酸组成。以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中, 绝大部分定位于基因间隔区, 部分在内含子及编码区的互补链区, 具有高度保守性和组织、阶段特异性。miRNA有两种作用方式, 主要通过5'端与

应用要点
miR-181在胃癌中高表达,可能发挥癌基因的作用,研究其可能的作用机制,有成为诊断和治疗胃癌的重要分子靶标的前景,为胃癌特异性诊治提供新途径。

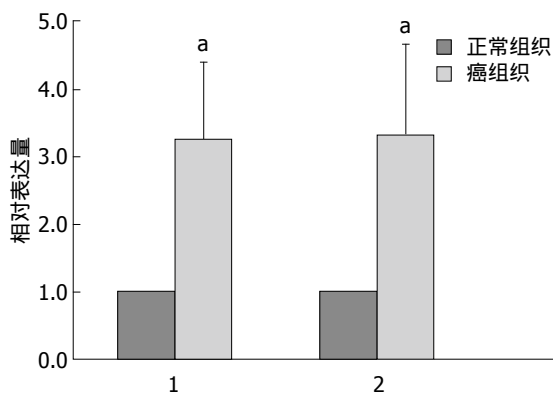


图5 不同组织中miR-181a、miR-181b的表达比较. 1: miR-181a; 2: miR-181b. ^a $P < 0.05$ vs 正常胃组织.

靶mRNA 3'UTR序列匹配互补,抑制靶mRNA翻译、降低蛋白表达水平,从而调节基因的表达,不影响mRNA的稳定性;也可以通过类似于siRNA的方式,与靶mRNA序列互补后引起mRNA互补区特异性断裂,导致基因沉默,从而调控基因的表达^[10,17,18]. 研究^[19]发现,miRNA的表达水平在不同组织、不同发育阶段有明显差异性,在细胞分化、增殖与凋亡、生长发育、新陈代谢、肿瘤形成等过程中扮演着重要角色.

miR-181家族是近年来受到众多关注的miRNA之一,人类miR-181家族目前已知的有hsa-miR-181a-1、hsa-miR-181a-2、hsa-miR-181b-1、hsa-miR-181b-2、hsa-miR-181c和hsa-miR-181d 6个前体序列,在转运至细胞质内后,经Dicer酶切割,加工成成熟序列,参与细胞增殖、分化等一系列生物学过程. miR-181a、miR-181b是miR-181家族的重要成员,能通过靶向调节*K-ras*、*p27kip1*^[20]及*Bcl-2*^[21]等基因,调控肿瘤的发生发展,在胃癌、肝癌、食管癌^[22]、白血病^[3]、神经胶质瘤^[23]、口腔癌、肺癌^[24]等多种肿瘤的形成及进展过程中发挥重要作用. Wang等^[12]研究发现miR-181b在肝癌形成早期表达水平上调,抑制miR-181b的表达能抑制肝癌细胞的增殖. Yang等^[25]研究发现miR-181可通过调节细胞的运动,参与口腔鳞状细胞癌的发生发展,他的高表达与口腔癌的淋巴结转移、血管侵袭及不良预后密切相关. Zhang等^[26]在研究miR-181a与胃癌的关系时,发现胃癌中miR-181a的表达上调,miR-181a能通过调节肿瘤抑制基因*KLF6*促进胃癌细胞的增殖及转移,在胃癌的进展中起癌基因的作用. Guo等^[27]通

过qRT-PCR等方法揭示:与正常胃黏膜细胞相比,miR-181a、miR-181b、miR-181c、miR-181d在人胃癌细胞系中均表达上调. 其中miR-181b呈显著高表达,他能通过调节基质金属蛋白酶组织抑制因子3(tissue inhibitor-3 of matrix metalloproteinases, TIMP-3)的蛋白表达,调控胃癌细胞的增殖、侵袭与转移,有可能成为抗胃癌治疗的一个潜在分子靶标.

RAS相关结构域家族蛋白1A(ras association domain family 1A, *RASSF1A*)是一种已被确认的抑癌基因^[28,29],本课题组前期研究在建立高表达*RASSF1A*基因胃癌SGC-7901细胞株[pcDNA3.1(+)-*RASSF1A*-SGC-7901细胞株]后,利用miRNA芯片筛选转染前后细胞株中miRNA的差异表达,发现与转染前细胞株相比miR-181a、miR-181b在pcDNA3.1(+)-*RASSF1A*-SGC-7901细胞株中的表达均显著下调,并通过qRT-PCR验证,结果与基因芯片结果一致^[30]. 提示miR-181a、miR-181b的表达异常与胃癌的发生相关,两者可能在胃癌中具有癌基因的作用. 本实验以前期研究为理论基础,通过qRT-PCR SYBR Green I方法,检测3种不同分化程度的胃癌细胞,高分化胃癌细胞系(AGS)^[31]、中分化胃癌细胞系(SGC-7901)、低分化胃癌细胞系(MGC-803),与正常人胃黏膜上皮细胞系(GES-1)中miR-181a、miR-181b的表达情况,以表达稳定的*U6*作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行分析后,发现AGS、SGC-7901、MGC-803胃癌细胞中miR-181a及miR-181b的相对表达量均高于GES-1细胞中的表达量($P < 0.05$),而AGS、SGC-7901、MGC-803 3种胃癌细胞之间miR-181a及miR-181b的表达量差异均无统计学意义($P > 0.05$). 并且通过研究分析28例人胃癌组织样本中miR-181a、miR-181b的表达量,发现与正常胃组织相比较,miR-181a、miR-181b在胃癌组织中表达水平显著升高($P < 0.05$),两者的表达水平与胃癌的分期、淋巴结转移显著相关($P < 0.05$),与年龄、性别、胃癌的分化程度无明显相关性($P > 0.05$). 表明miR-181a、miR-181b在胃癌中表达上调,表现为癌基因的作用,且两者的表达水平与胃癌的发生发展、侵袭转移有着密切关系. miR-181家族作为一种新发现的非蛋白编码基因,其在肿瘤的发生发展、临床诊疗及预后判断等方面的研究价值已得到

广泛的认可, 有可能成为胃癌的重要分子靶标, 为探索胃癌特异性诊断和治疗的新方法提供了理论依据。

志谢: 感谢陈鳞、胡洪赛在本试验中给予的大力帮助。

4 参考文献

- 1 le Sage C, Agami R. Immense promises for tiny molecules: uncovering miRNA functions. *Cell Cycle* 2006; 5: 1415-1421 [PMID: 16775415 DOI: 10.4161/cc.5.13.2890]
- 2 Takayama S, Wakasugi T, Funahashi H, Takeyama H. Strategies for gastric cancer in the modern era. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2: 335-341 [PMID: 21160804 DOI: 10.4251/wjgo.v2.i9.335]
- 3 Chen H, Chen Q, Fang M, Mi Y. microRNA-181b targets MLK2 in HL-60 cells. *Sci China Life Sci* 2010; 53: 101-106 [PMID: 20596961 DOI: 10.1007/s11427-010-0002-y]
- 4 Su H, Yang JR, Xu T, Huang J, Xu L, Yuan Y, Zhuang SM. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity. *Cancer Res* 2009; 69: 1135-1142 [PMID: 19155302 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2886]
- 5 Shi XB, Tepper CG, deVere White RW. Cancerous miRNAs and their regulation. *Cell Cycle* 2008; 7: 1529-1538 [PMID: 18469525 DOI: 10.4161/cc.7.11.5977]
- 6 Ishida M, Shimabukuro M, Yagi S, Nishimoto S, Kozuka C, Fukuda D, Soeki T, Masuzaki H, Tsutsui M, Sata M. MicroRNA-378 Regulates Adiponectin Expression in Adipose Tissue: A New Plausible Mechanism. *PLoS One* 2014; 9: e111537 [PMID: 25379946 DOI: 10.1371/journal.pone.0111537]
- 7 Wu XL, Cheng B, Li PY, Huang HJ, Zhao Q, Dan ZL, Tian DA, Zhang P. MicroRNA-143 suppresses gastric cancer cell growth and induces apoptosis by targeting COX-2. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7758-7765 [PMID: 24616567 DOI: 10.3748/wjg.v19.i43.7758]
- 8 Yang J, Zhang JY, Song NH. [The role of miRNAs in androgen-independent progression of prostate cancer]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2013; 19: 831-834 [PMID: 24386864]
- 9 Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell* 2009; 136: 586-591 [PMID: 19239879 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.005]
- 10 Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res* 2006; 66: 7390-7394 [PMID: 16885332 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0800]
- 11 Ji J, Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Jia HL, Li C, Deng C, Wauthier E, Reid LM, Ye QH, Qin LX, Yang W, Wang HY, Tang ZY, Croce CM, Wang XW. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells. *Hepatology* 2009; 50: 472-480 [PMID: 19585654 DOI: 10.1002/hep.22989]
- 12 Wang B, Hsu SH, Majumder S, Kutay H, Huang W, Jacob ST, Ghoshal K. TGFbeta-mediated upregulation of hepatic miR-181b promotes hepatocarcinogenesis by targeting TIMP3. *Oncogene* 2010; 29: 1787-1797 [PMID: 20023698 DOI: 10.1038/onc.2009.468]
- 13 Nakajima G, Hayashi K, Xi Y, Kudo K, Uchida K, Takasaki K, Yamamoto M, Ju J. Non-coding MicroRNAs hsa-let-7g and hsa-miR-181b are Associated with Chemoresponse to S-1 in Colon Cancer. *Cancer Genomics Proteomics* 2006; 3: 317-324 [PMID: 18172508]
- 14 Tong SJ, Liu J, Wang X, Qu LX. microRNA-181 promotes prostate cancer cell proliferation by regulating DAX-1 expression. *Exp Ther Med* 2014; 8: 1296-1300 [PMID: 25187843]
- 15 Rahimi G, Jafari N, Khodabakhsh M, Shirzad Z, Dogaheh HP. Upregulation of microRNA Processing Enzymes Drosha and Dicer in Gestational Diabetes Mellitus. *Gynecol Endocrinol* 2014 Oct 8:1-4. [Epub ahead of print] [PMID: 25295740 DOI: 10.3109/09513590.2014.969700]
- 16 Moreno-Moya JM, Vilella F, Simón C. MicroRNA: key gene expression regulators. *Fertil Steril* 2014; 101: 1516-1523 [PMID: 24314918 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.042]
- 17 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035]
- 18 Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. *Genes Dev* 2003; 17: 438-442 [PMID: 12600936 DOI: 10.1101/gad.1064703]
- 19 O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 1604-1609 [PMID: 17242365 DOI: 10.1073/pnas.0610731104]
- 20 Wang X, Gocek E, Liu CG, Studzinski GP. MicroRNAs181 regulate the expression of p27Kip1 in human myeloid leukemia cells induced to differentiate by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Cell Cycle* 2009; 8: 736-741 [PMID: 19221487 DOI: 10.4161/cc.8.5.7870]
- 21 Ouyang YB, Lu Y, Yue S, Giffard RG. miR-181 targets multiple Bcl-2 family members and influences apoptosis and mitochondrial function in astrocytes. *Mitochondrion* 2012; 12: 213-219 [PMID: 21958558 DOI: 10.1016/j.mito.2011.09.001]
- 22 李书军, 牛秀兰, 崔爱荣, 和宇峥, 吴文新. miR-181a对人食管癌TE11细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响. *肿瘤* 2011; 31: 613-618
- 23 Conti A, Aguenouz M, La Torre D, Tomasello C, Cardali S, Angileri FF, Maio F, Cama A, Germanò A, Vita G, Tomasello F. miR-21 and 221 upregulation and miR-181b downregulation in human grade II-IV astrocytic tumors. *J Neurooncol* 2009; 93: 325-332 [PMID: 19159078 DOI: 10.1007/s11060-009-9797-4]
- 24 Gao W, Yu Y, Cao H, Shen H, Li X, Pan S, Shu Y. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non small cell lung cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 399-408 [PMID: 20363096 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.018]
- 25 Yang CC, Hung PS, Wang PW, Liu CJ, Chu

名词解释

miRNA: 是一类约19-23个核苷酸大小的非编码单链微小RNA; miR-181: 是一种人类细胞中存在比较广泛的miRNA, 目前发现的miR-181家族成员主要有四种: miR-181a、miR-181b、miR-181c和miR-181d; 实时荧光定量PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR): 是一种通过对PCR扩增反应中的每一个循环产物的荧光信号的实时检测, 实现对起始模板定量及定性的分析方法。

同行评价

本文通过研究 miR-181a、miR-181b 在胃癌中的表达, 分析其与胃癌的相关性, 对胃癌诊断和治疗新途径的探索具有一定的指导价值, 试验设计比较合理, 文字表达比较规范, 具有一定的创新性。

- TH, Cheng HW, Lin SC. miR-181 as a putative biomarker for lymph-node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2011; 40: 397-404 [PMID: 21244495 DOI: 10.1111/j.1600-0714.2010.01003.x]
- 26 Zhang X, Nie Y, Du Y, Cao J, Shen B, Li Y. MicroRNA-181a promotes gastric cancer by negatively regulating tumor suppressor KLF6. *Tumour Biol* 2012; 33: 1589-1597 [PMID: 22581522 DOI: 10.1007/s13277-012-0414-3]
- 27 Guo JX, Tao QS, Lou PR, Chen XC, Chen J, Yuan GB. miR-181b as a potential molecular target for anticancer therapy of gastric neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2263-2267 [PMID: 22901205]
- 28 Donninger H, Clark J, Rinaldo F, Nelson N, Barnoud T, Schmidt ML, Hobbing KR, Vos MD, Sils B, Clark GJ. The RASSF1A Tumor Suppressor Regulates XPA-Mediated DNA repair. *Mol Cell Biol* 2014 Nov 3. pii: MCB.00202-14. [Epub ahead of print] [PMID: 25368379]
- 29 Bilgrami SM, Qureshi SA, Pervez S, Abbas F. Promoter hypermethylation of tumor suppressor genes correlates with tumor grade and invasiveness in patients with urothelial bladder cancer. *Springerplus* 2014; 3: 178 [PMID: 24790823 DOI: 10.1186/2193-1801-3-178]
- 30 陈麟. RASSF1A 基因对人胃癌 SGC-7901 细胞 miRNA 表达谱的影响. 衡阳: 南华大学, 2012
- 31 Barranco SC, Townsend CM, Casartelli C, Macik BG, Burger NL, Boerwinkle WR, Gourley WK. Establishment and characterization of an in vitro model system for human adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1983; 43: 1703-1709 [PMID: 6831414]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部)

溃疡性结肠炎患者血清降钙素原检测的临床价值

袁柏思, 金鑫鑫, 路又可, 刘炯, 王少东, 王震凯, 吴琳, 汪芳裕

袁柏思, 金鑫鑫, 路又可, 刘炯, 王少东, 王震凯, 吴琳, 汪芳裕, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科 江苏省南京市 210002

袁柏思, 医师, 主要从事消化系统疾病的基础和临床研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81270453

作者贡献分布: 此论文由袁柏思与汪芳裕设计; 资料收集、统计分析以及图表制作由袁柏思、金鑫鑫、路又可、刘炯、王少东、王震凯及吴琳完成; 本论文写作由袁柏思完成.

通讯作者: 汪芳裕, 教授, 210002, 江苏省南京市中山东路305号, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科.

cat409@126.com

电话: 025-80863384

收稿日期: 2014-10-29 修回日期: 2014-11-24

接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-08

Clinical significance of serum procalcitonin in patients with ulcerative colitis

Bo-Si Yuan, Xin-Xin Jin, You-Ke Lu, Jiong Liu, Shao-Dong Wang, Zhen-Kai Wang, Lin Wu, Fang-Yu Wang

Bo-Si Yuan, Xin-Xin Jin, You-Ke Lu, Jiong Liu, Shao-Dong Wang, Zhen-Kai Wang, Lin Wu, Fang-Yu Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81270453

Correspondence to: Fang-Yu Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of PLA, 305 Zhongshan East Road, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. cat409@126.com

Received: 2014-10-29 Revised: 2014-11-24

Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the association of serum procalcitonin (PCT) level with disease activity and inflammatory markers in ulcerative colitis (UC).

METHODS: Serum PCT levels, white blood cell count, platelet count, erythrocyte sedimentation rate (ESR), albumin, C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) levels were analyzed in 31 patients with UC and 18 healthy volunteers. Severity assessments were based on the Truelove and Witts' severity index. Spearman's rank correlation and receiver operating characteristic

(ROC) analysis were used to evaluate correlations between variables and diagnostic accuracy, respectively.

RESULTS: Serum PCT level in severe UC patients ($n = 11$, $0.426 \mu\text{g/mL} \pm 0.506 \mu\text{g/mL}$) was significantly higher than those in mild-to-moderate UC patients ($n = 20$, $0.079 \mu\text{g/mL} \pm 0.085 \mu\text{g/mL}$) and healthy volunteers ($n = 18$, $0.03 \mu\text{g/mL} \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$) ($P = 0.047$, 0.027 , respectively). Serum PCT level in UC patients was positively correlated with CRP levels, IL-6 levels and ESR, negatively with albumin levels ($P < 0.05$), but showed no statistically significant correlation with white blood cell count or platelet count ($P > 0.05$). PCT performed well in the prediction of UC, and was superior to CRP, ESR and white blood cell count for diagnosing severe UC. The area under the ROC curve was 0.895 (95%CI: 0.782-1.000, $P < 0.001$), 0.727 (95%CI: 0.548-0.906, $P = 0.041$), 0.856 (95%CI: 0.721-0.992, $P = 0.001$) and 0.665 (95%CI: 0.463-0.867, $P = 0.138$), respectively. A threshold of $0.1 \mu\text{g/L}$ for PCT may detect the most severe form of UC, and the sensitivity, specificity, predictive positive value and negative predictive value were 90.91%, 80.00%, 71.43% and 94.12%, respectively.

CONCLUSION: Serum PCT level correlates with disease activity markers ESR and CRP in UC, and a cut-off of $0.1 \mu\text{g/L}$ could distinguish the most severe form of UC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Procalcitonin; Inflammatory makers

Yuan BS, Jin XX, Lu YK, Liu J, Wang SD, Wang ZK, Wu L, Wang FY. Clinical significance of serum procalcitonin in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 37-43 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/37.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.37>

摘要

目的: 研究溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,

背景资料

降钙素原(procalcitonin, PCT)是降钙素的前体, 是一种无激素活性的糖蛋白, 正常情况下主要由甲状腺C细胞和肺的神经内分泌细胞产生, 当严重细菌、真菌、寄生虫感染以及脓毒症和多脏器功能衰竭时他在血浆中的水平升高. 细菌内毒素在诱导过程中担任了至关重要的作用.

同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

研究背景
重度溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)死亡率高,临床上缺乏UC病情严重程度判断简便、特异的指标,寻找一种能够预测重度UC的指标非常重要。

UC)患者降钙素原(procalcitonin, PCT)水平的变化与病情活动和炎症相关指标的关系。

方法:检测31例UC患者与18例健康对照者外周血PCT水平,与检测的炎症相关指标[白细胞计数(white blood count, WBC)、血小板计数(blood platelet count, PLT)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、白蛋白、C-反应蛋白(C reactive protein, CRP)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)]进行相关性分析。Truelove-Witts评分标准区分轻、中、重度UC。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析诊断的准确性。

结果:重度UC患者的PCT水平($n = 11$, $0.426 \mu\text{g/L} \pm 0.506 \mu\text{g/L}$)明显高于轻中度UC($n = 20$, $0.079 \mu\text{g/L} \pm 0.085 \mu\text{g/L}$)和健康对照组($n = 18$, $0.03 \mu\text{g/L} \pm 0.01 \mu\text{g/L}$)(相应的 P 值为0.047和0.027)。UC患者PCT水平与CRP、IL-6水平、ESR呈明显正相关,与白蛋白水平呈明显负相关($P < 0.05$);与WBC和PLT的相关性无统计学意义($P > 0.05$)。血清PCT水平预测重度UC优于ESR、CRP水平和WBC,相应的ROC曲线下面积(95%可信区间)分别为0.895(0.782-1.000)、0.727(0.548-0.906)、0.856(0.721-0.992)和0.665(0.463-0.867),相应的 P 值为 < 0.001 、0.041、0.001和0.138。PCT $> 0.1 \mu\text{g/L}$ 对预测重度UC具有较高的准确性,他的敏感性、特异性、阳性预测值及阴性预测值分别为90.91%、80.00%、71.43%和94.12%。

结论:PCT水平是一个判断UC病情活动和反映UC病情严重程度的较好指标,与炎症标志物CRP和ESR具有良好的相关性,PCT $> 0.1 \mu\text{g/L}$ 作为阈值能够预测大部分重度UC。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:溃疡性结肠炎;降钙素原;炎症标志物

核心提示:降钙素原(procalcitonin, PCT)水平是一个判断溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病情活动和反映UC病情严重程度的较好指标,与炎症标志物C-反应蛋白(C reactive protein)和血沉(erythrocyte sedimentation rate)具有良好的相关性,PCT $> 0.1 \mu\text{g/L}$ 作为阈值能够预测大部分重度UC。

袁柏思, 金鑫鑫, 路又可, 刘炯, 王少东, 王震凯, 吴琳, 汪芳裕. 溃疡性结肠炎患者血清降钙素原检测的临床价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 37-43 URL: <http://www.wjgnet.com>

wjgnet.com/1009-3079/23/37.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.37>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因不明的慢性非特异性肠道炎症性疾病。降钙素原(procalcitonin, PCT)是降钙素的前体,是一种无激素活性的糖蛋白,正常情况下主要由甲状腺C细胞和肺的神经内分泌细胞产生^[1]。作为一种炎症标志物,在败血症或其他细菌感染性疾病病情严重程度和预后中得到广泛的应用^[2-12]。同时,PCT亦可作为判断一些慢性炎症及自身免疫性疾病病情活动的指标^[13-18]。但在肠道炎症性疾病的UC中的研究较少,本研究拟探讨UC患者血清PCT水平与UC病情严重程度判断以及和炎症相关指标的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 研究人群为2014-01/2014-09中国人民解放军南京军区南京总医院住院的UC患者,本研究临床数据摘自医院的电子病历、内镜诊断、影像学 and 实验室检测资料。UC诊断标准参照中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组2012年制订的《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州)》^[19]。UC的蒙特利尔分型^[20]为E1:局限于直肠,未达乙状结肠;E2:累及左半结肠(脾曲以远);E3:广泛病变累及脾曲以近乃至全结肠。将符合标准的患者资料纳入本研究进行统计分析,纳入研究的31例UC患者中,根据Truelove-Witts评分标准^[21]分为轻、中、重度UC。对照组为健康人群共18例,男8例,女10例,平均年龄为50.3岁 \pm 13.8岁,既往无肝炎、结核、自身免疫性疾病等病史,近3 mo无特殊服药史。收集所有入选者入院时的外周血标本。本研究得到中国人民解放军南京军区南京总医院伦理委员会批准,入选者均知情同意。

1.2 方法 标本采集和检测:受检者均于早晨空腹采集静脉血4 mL,电化学发光免疫分析法检测血清PCT(参考值 $< 0.046 \mu\text{g/L}$)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)水平(参考值 $< 7 \text{ ng/L}$),免疫比浊法检测C-反应蛋白(C reactive protein, CRP)水平(参考值 $< 8 \text{ mg/L}$),另通过血细胞分析仪检测白细胞计数(white blood count, WBC)(参考值 $4 \times 10^9 - 10 \times 10^9/\text{L}$)、血小板计数(blood platelet count,

表 1 31例溃疡性结肠炎患者临床特征

特征	UC
<i>n</i>	31
性别(<i>n</i> , 男/女)	19/12
平均年龄(岁, 范围)	41.2(16-64)
平均病程(mo, 范围)	59.7(1 mo-23年)
病变范围(<i>n</i>)	
E1(直肠)	1
E2(左半结肠)	10
E3(广泛结肠)	20
治疗[<i>n</i> (%)]	
5-氨基水杨酸	11(35.5)
激素+免疫抑制剂	2(6.5)
激素+5-氨基水杨酸	16(51.6)
抗-TNF α 抗体	2(6.5)
手术 ¹	11(35.5)

¹手术病例为其他药物治疗效果欠佳后进行。UC: 溃疡性结肠炎; TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

PLT)(参考值 100×10^9 - 300×10^9 /L), 自动化生化分析仪检测血清白蛋白水平(参考值35-55 g/L), 魏氏法检测血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)结果(参考值0-15 mm/h)。

统计学处理 采用SPSS22.0软件包进行统计学处理。两组均数的比较采用 t 检验, 相关性分析采用Spearman检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 纳入研究的31例UC患者相应的临床特征如表1。

2.2 血清PCT及外周血炎症相关指标检测 本研究检测轻中度和重度UC患者的PCT水平与病情活动相关的几个炎症相关指标(WBC、PLT、ESR、CRP、白蛋白和IL-6), 并将结果与对照人群相比。结果显示, UC患者PCT水平、WBC、PLT、CRP、ESR和IL-6水平均明显高于健康对照组, 白蛋白水平明显低于健康对照组($P < 0.05$); 重度UC患者的PCT水平、CRP和ESR明显高于轻中度UC, 白蛋白水平明显低于轻中度UC($P < 0.05$), WBC和PLT的差异无统计学意义($P > 0.05$); 健康对照人群与UC患者的各个指标比较以及相应的 P 值如图1。

2.3 炎症标志物预测重度UC的检验效能 我们对炎症标志物(PCT、CRP、ESR)在不同的水平预测重度UC的敏感性、特异性、阳性预测值及

阴性预测值进行分析, 相应的结果以及95%可信区间如表2。炎症标志物预测重度UC的ROC曲线如图2, PCT、ESR、CRP、IL-6、WBC和PLT的ROC曲线下面积(95%可信区间)分别为0.895(0.782-1.000)、0.727(0.548-0.906)、0.856(0.721-0.992)、0.952(0.876-1.000)、0.665(0.463-0.867)、0.636(0.421-0.852), 相应的 P 值为 < 0.001 、0.041、0.001、 < 0.001 、0.138和0.22。

2.4 血清降钙素原与外周血炎症相关指标相关性分析 我们对PCT水平与病情活动相关的几个炎症相关指标(WBC、PLT、ESR、CRP、白蛋白、IL-6)进行相关性分析, 结果显示PCT水平和CRP、IL-6水平、ESR呈明显正相关, 和白蛋白水平呈明显负相关($P < 0.05$)(图3); PCT水平和WBC、PLT的相关性无统计学意义($P > 0.05$, 数据未列出)。

3 讨论

UC疾病活动伴有一系列炎症指标的变化, 但传统的判断炎症活动的指标如WBC、PLT、CRP和ESR, 由于灵敏度和特异性均较低, 难以反映疾病活动状态^[22,23], 为此寻找一种能反映UC疾病活动的炎症指标具有重要的临床价值。PCT是细菌感染所引起的败血症和相关状态的一种可靠标志物^[2], 越来越多的证据表明肠腔内的细菌对UC病情的活动具有促进作用^[24], 这一现象提示PCT水平可能作为UC病情活动的判断指标。本研究对UC患者的PCT水平进行检测, 结果显示, UC患者PCT、WBC、PLT、ESR、CRP和IL-6水平均明显高于健康对照组, 白蛋白水平明显低于健康对照组($P < 0.05$); 重度UC患者的PCT水平、CRP、ESR明显高于轻中度UC患者及健康人群, 白蛋白水平明显低于轻中度UC患者和健康人群($P < 0.05$), 提示血清PCT水平和血液中的炎症指标一致, PCT升高的程度与UC患者的病情活动和严重程度密切相关。

我们对PCT水平与病情活动相关的炎症相关指标进行相关性分析, 结果显示PCT和CRP、IL-6水平、ESR呈明显正相关, 和白蛋白水平呈明显负相关($P < 0.05$)。先前的有关PCT在IBD中的研究结果显示, PCT水平和克罗恩病(Crohn's disease, CD)的疾病活动指数CDAI呈正相关^[24], 且和UC的CRP水平、内镜下评分及核磁共振结肠成像评分呈正相关^[25,26]。因此, 我们的结果和先前的研究结果一致提示PCT水

相关报道
PCT水平和克罗恩病(Crohn's disease, CD)的疾病活动指数CDAI呈正相关, 且和UC的C-反应蛋白(C reactive protein, CRP)水平、内镜下评分及核磁共振结肠成像评分呈正相关。

创新盘点
PCT水平在判断UC的严重程度优于传统的炎症指标CRP、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、白细胞计数(white blood count, WBC)和血小板计数(blood platelet count, PLT). PCT > 0.1 $\mu\text{g/L}$ 是预测重度UC的较好阈值.

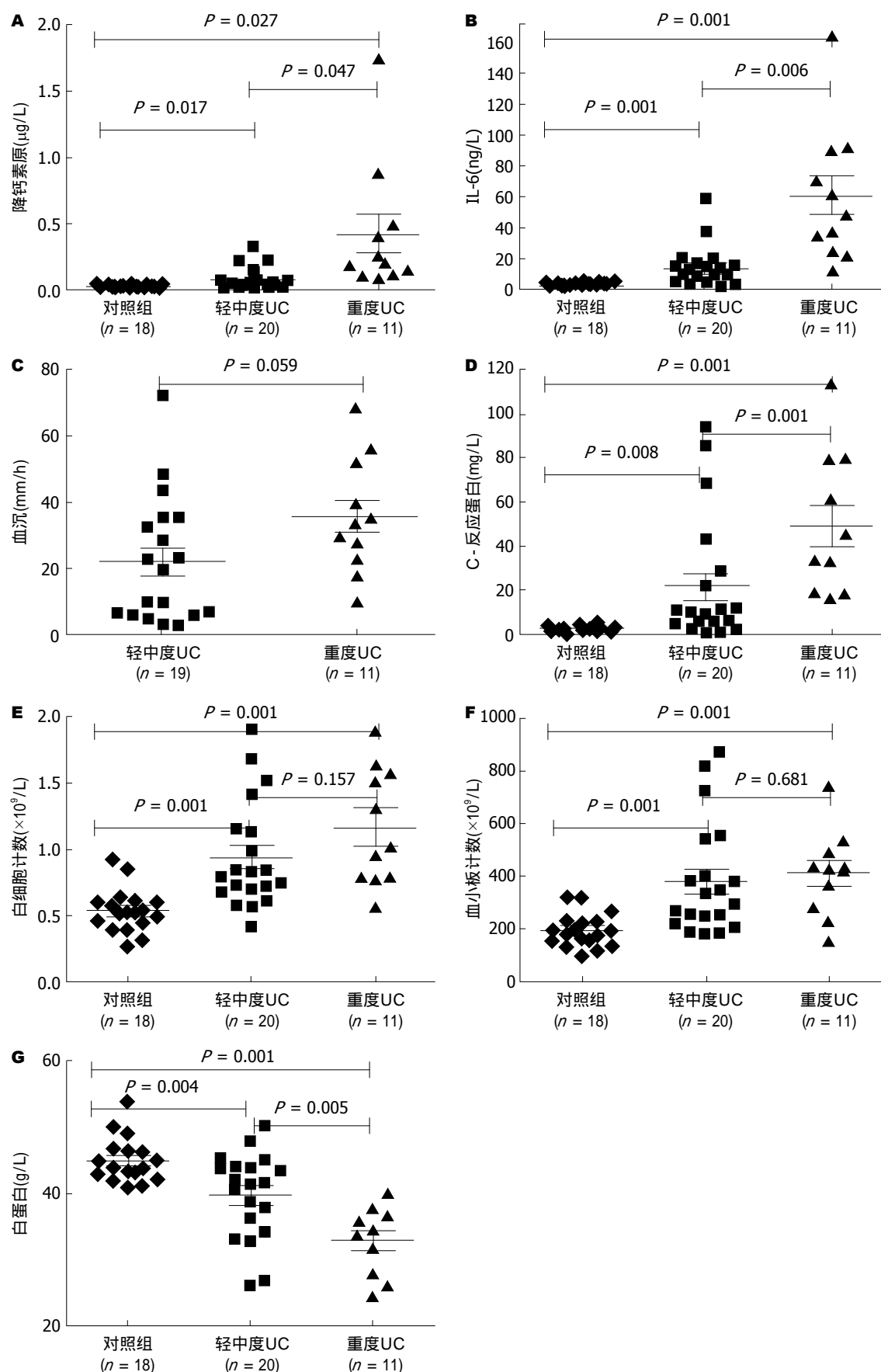


图1 不同程度溃疡性结肠炎炎症相关指标比较图. A: 降钙素原; B: 白介素-6; C: 血沉; D: C-反应蛋白; E: 白细胞计数; F: 血小板计数; G: 白蛋白. IL: 白介素.

表 2 炎症标志物预测重度溃疡性结肠炎的检验效能 (%)

炎症标志物	敏感性(95%CI)	特异性(95%CI)	阳性预测值(95%CI)	阴性预测值(95%CI)
PCT($\mu\text{g/L}$)				
0.050	100.00(67.86 - 100.00)	50.00(27.85 - 72.15)	52.381(30.34 - 73.61)	100.00(65.55 - 100.00)
0.075	100.00(67.86 - 100.00)	80.00(55.73 - 93.39)	73.33(44.83 - 91.09)	100.00(75.93 - 100.00)
0.100	90.91(57.12 - 99.52)	80.00(55.73 - 93.39)	71.43(42.00 - 90.42)	94.12(69.24 - 99.69)
0.125	72.73(39.32 - 92.67)	80.00(55.73 - 93.39)	66.67(35.44 - 88.73)	84.21(59.51 - 95.83)
0.150	63.64(31.61 - 87.63)	85.00(61.14 - 96.04)	70.00(35.37 - 91.91)	80.95(57.42 - 93.71)
0.200	45.45(18.14 - 75.44)	85.00(61.14 - 96.04)	62.50(25.89 - 89.76)	73.91(51.31 - 88.92)
0.300	36.37(12.37 - 68.39)	95.00(73.06 - 99.74)	80.00(29.88 - 98.95)	73.08(51.95 - 87.65)
0.400	36.37(12.37 - 68.39)	100.00(79.95 - 100.00)	100.00(39.58 - 100.00)	74.07(53.41 - 88.13)
CRP(mg/L)				
8	100.00(67.86 - 100.00)	45.00(23.83 - 67.95)	50.00(28.80 - 71.20)	100.00(62.88 - 100.00)
15	100.00(67.86 - 100.00)	70.00(45.67 - 87.16)	64.71(38.62 - 84.74)	100.00(73.24 - 100.00)
20	72.73(39.32 - 92.67)	70.00(45.67 - 87.16)	57.14(29.65 - 81.19)	82.35(55.80 - 95.33)
30	72.73(39.32 - 92.67)	80.00(55.73 - 93.39)	66.67(35.44 - 88.73)	84.21(59.51 - 95.83)
40	54.55(24.56 - 81.86)	80.00(55.73 - 93.39)	60.00(27.37 - 86.31)	76.19(52.45 - 90.88)
60	36.36(12.37 - 68.39)	85.00(61.14 - 96.04)	57.14(20.24 - 88.19)	70.83(48.75 - 86.56)
ESR(mm/h)				
10	100.00(67.86 - 100.00)	36.84(17.23 - 61.37)	47.26(27.42 - 68.92)	100.00(56.09 - 100.00)
20	81.82(47.76 - 96.79)	47.37(25.21 - 70.50)	47.37(25.21 - 70.50)	81.82(47.76 - 96.79)
30	63.64(31.61 - 87.63)	68.42(43.50 - 86.44)	53.85(26.12 - 79.60)	76.47(49.76 - 92.18)
40	36.36(12.37 - 68.39)	84.21(59.51 - 95.83)	57.14(20.24 - 88.19)	69.57(46.99 - 85.94)
50	27.27(7.33 - 60.68)	94.74(71.89 - 99.72)	75.00(21.94 - 98.68)	69.23(48.10 - 84.91)

CI: 可信区间; PCT: 降钙素原; CRP: C-反应蛋白; ESR: 血沉。

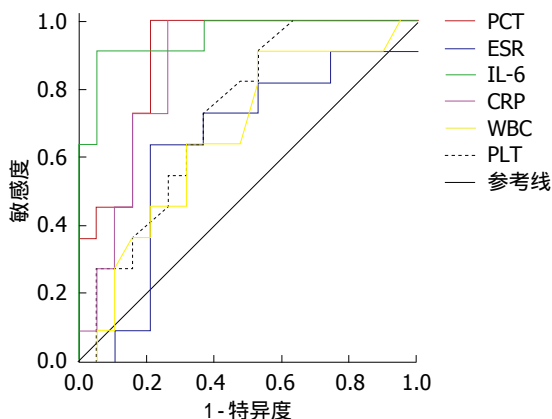


图 2 预测重度溃疡性结肠炎的ROC曲线。PCT: 降钙素原; ESR: 血沉; IL-6: 白介素-6; CRP: C-反应蛋白; WBC: 白细胞计数; PLT: 血小板计数。

平和炎症相关指标随病情活动的变化而变化, PCT水平的高低能够反映UC患者疾病的严重程度。

我们同时对PCT、CRP、IL-6、ESR预测重度UC的敏感性、特异性进行比较分析, PCT的ROC面积要高于CRP、ESR、WBC和PLT这些传统的炎症指标, 提示PCT水平在判断UC的严重程度优于CRP、ESR、WBC和PLT。根

应用要点
在临床上通过检测PCT水平作为一个判断UC病情严重程度和反映UC病情严重程度的指标, PCT $>0.1 \mu\text{g/L}$ 作为阈值预测重度UC。

据本研究中PCT的分级检验效能和ROC曲线, PCT $>0.1 \mu\text{g/L}$ 是预测重度UC的较好阈值, 此水平预测重度UC的敏感性、特异性、阳性预测值及阴性预测值分别为90.91%、80%、71.43%和94.12%, 与文献[25]报道预测重度CD的PCT $\geq 0.14 \mu\text{g/L}$ 较接近, 优于另一文献[27]报道的PCT $\geq 0.05 \mu\text{g/L}$ (敏感性67%; 特异性42%)预测CD活动和重度UC的阈值。在本研究中我们还发现炎症细胞因子IL-6水平与病情的活动和UC的严重程度呈正相关, 而且在预测重度UC的敏感性和特异性的ROC面积要优于PCT, 提示该指标可能是另一个判断UC严重程度的较好指标。

由于本研究纳入的研究病例较少, 部分入选病例为外院诊治过的患者, 入院前已经给予各种药物治疗, 对研究的结果可能会产生一些影响, 需要更大宗的病例及多中心的研究进一步证实。

总之, 我们的研究结果提示PCT是一种判断UC病情活动以及反映UC患者病情严重程度的较好指标, PCT $>0.1 \mu\text{g/L}$ 作为阈值能够预测大部分重度UC。

同行评价
文章设计科学, 有
一定的前沿性和
临床应用性。

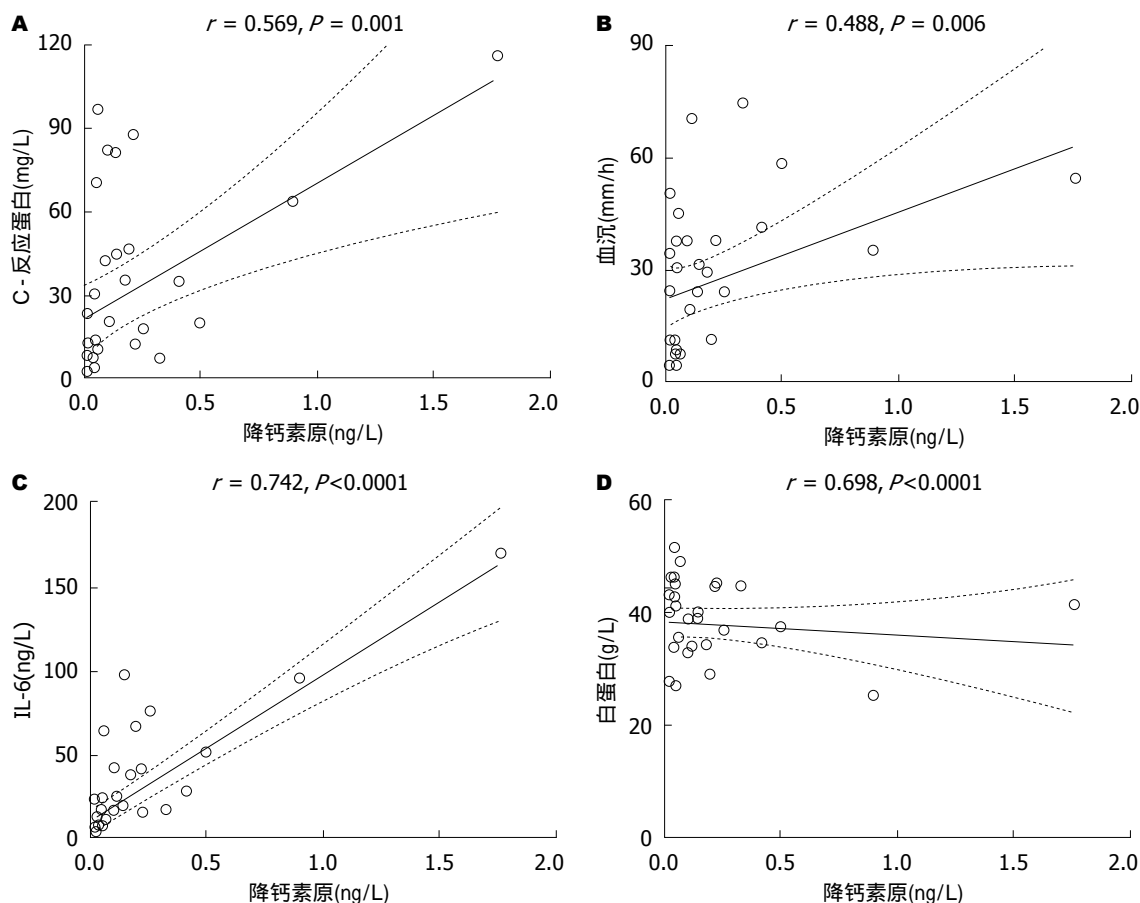


图3 降钙素原与炎症相关指标相关性分析。A: 降钙素原与C-反应蛋白; B: 降钙素原与血沉; C: 降钙素原与白介素-6; D: 降钙素原与白蛋白。

4 参考文献

- Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 253-264 [PMID: 20002097 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00433.x]
- Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 483-493 [PMID: 11587126]
- Schlattmann P, Brunkhorst FM. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 189 [PMID: 24571977 DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70325-6]
- Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013; 13: 426-435 [PMID: 23375419 DOI: 10.1016/S1473-3099(12)70323-7]
- van Vugt SF, Broekhuizen BD, Lammens C, Zuithoff NP, de Jong PA, Coenen S, Ieven M, Butler CC, Goossens H, Little P, Verheij TJ. Use of serum C reactive protein and procalcitonin concentrations in addition to symptoms and signs to predict pneumonia in patients presenting to primary care with acute cough: diagnostic study. *BMJ* 2013; 346: f2450 [PMID: 23633005 DOI: 10.1136/bmj.f2450]
- Yoon SY, Baek SH, Kim S, Lee YS, Lee T, Bae YJ, Kwon HS, Huh JW, Hong SB, Cho YS, Chun S, Lim CM, Koh Y, Moon HB, Kim TB. Serum procalcitonin as a biomarker differentiating delayed-type drug hypersensitivity from systemic bacterial infection. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 981-983 [PMID: 23768571 DOI: 10.1016/j.jaci.2013.04.038]
- Mitsuma SF, Mansour MK, Dekker JP, Kim J, Rahman MZ, Tweed-Kent A, Schuetz P. Promising new assays and technologies for the diagnosis and management of infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 996-1002 [PMID: 23223587 DOI: 10.1093/cid/cis1014]
- Sakata KK, Grys TE, Chang YH, Vikram HR, Blair JE. Serum procalcitonin levels in patients with primary pulmonary coccidioidomycosis. *Ann Am Thorac Soc* 2014; 11: 1239-1243 [PMID: 25168059 DOI: 10.1513/AnnalsATS.201404-180BC]
- Cotoi OS, Manjer J, Hedblad B, Engström G, Melander O, Schiopu A. Plasma procalcitonin is associated with all-cause and cancer mortality in apparently healthy men: a prospective population-based study. *BMC Med* 2013; 11: 180 [PMID: 23937962 DOI: 10.1186/1741-7015-11-180]
- Schiopu A, Hedblad B, Engström G, Struck J, Morgenthaler NG, Melander O. Plasma procalcitonin and the risk of cardiovascular events and death: a prospective population-based study. *J Intern Med* 2012; 272: 484-491 [PMID: 22530956 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02548.x]
- Mofidi R, Suttie SA, Patil PV, Ogston S, Parks RW. The value of procalcitonin at predicting the severity

- of acute pancreatitis and development of infected pancreatic necrosis: systematic review. *Surgery* 2009; 146: 72-81 [PMID: 19541012 DOI: 10.1016/j.surg.2009.02.013]
- 12 Bezmarevic M, Mirkovic D, Soldatovic I, Stamenkovic D, Mitrovic N, Perisic N, Marjanovic I, Mickovic S, Karanikolas M. Correlation between procalcitonin and intra-abdominal pressure and their role in prediction of the severity of acute pancreatitis. *Pancreatol* 2012; 12: 337-343 [PMID: 22898635 DOI: 10.1016/j.pan.2012.05.007]
 - 13 Wu JY, Lee SH, Shen CJ, Hsieh YC, Yo PH, Cheng HY, Chan RC, Lee CC, Chang SS. Use of serum procalcitonin to detect bacterial infection in patients with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 3034-3042 [PMID: 22605405 DOI: 10.1002/art.34512]
 - 14 Buhaescu I, Yood RA, Izzedine H. Serum procalcitonin in systemic autoimmune diseases--where are we now? *Semin Arthritis Rheum* 2010; 40: 176-183 [PMID: 20132965 DOI: 10.1016/j.semarthrit.2009.10.004]
 - 15 Quintana G, Medina YF, Rojas C, Fernandez A, Restrepo JF, Rondon F, Iglesias A. The use of procalcitonin determinations in evaluation of systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol* 2008; 14: 138-142 [PMID: 18525431 DOI: 10.1097/RHU.0b013e3181772cca]
 - 16 Breda L, Nozzi M, De Sanctis S, Chiarelli F. Laboratory tests in the diagnosis and follow-up of pediatric rheumatic diseases: an update. *Semin Arthritis Rheum* 2010; 40: 53-72 [PMID: 19246077 DOI: 10.1016/j.semarthrit.2008.12.001]
 - 17 Zycinska K, Wardyn KA, Zielonka TM, Tyszko P, Straburzynski M. Procalcitonin as an indicator of systemic response to infection in active pulmonary Wegener's granulomatosis. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 Suppl 6: 839-844 [PMID: 19218712]
 - 18 Eberhard OK, Haubitz M, Brunkhorst FM, Kliem V, Koch KM, Brunkhorst R. Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease (systemic lupus erythematosus/systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis) and invasive bacterial infection. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1250-1256 [PMID: 9214425 DOI: 10.1002/art.1780400709]
 - 19 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年•广州). 中华内科杂志 2012; 51: 818-831
 - 20 Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, Caprilli R, Colombel JF, Gasche C, Geboes K, Jewell DP, Karban A, Loftus EV, Peña AS, Riddell RH, Sachar DB, Schreiber S, Steinhardt AH, Targan SR, Vermeire S, Warren BF. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005; 19 Suppl A: 5A-36A [PMID: 16151544]
 - 21 Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J* 1955; 2: 1041-1048 [PMID: 13260656 DOI: 10.1136/bmj.2.4947.1041]
 - 22 Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-431 [PMID: 16474109 DOI: 10.1136/gut.2005.069476]
 - 23 Linskens RK, van Bodegraven AA, Schoorl M, Tuynman HA, Bartels P. Predictive value of inflammatory and coagulation parameters in the course of severe ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 644-648 [PMID: 11318546 DOI: 10.1023/A:1005628005734]
 - 24 Herrlinger KR, Dittmann R, Weitz G, Wehkamp J, Ludwig D, Schwab M, Stange EF, Fellermann K. Serum procalcitonin differentiates inflammatory bowel disease and self-limited colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 229-233 [PMID: 15290916 DOI: 10.1097/00054725-200405000-00008]
 - 25 Oussalah A, Laurent V, Bruot O, Guéant JL, Régent D, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Additional benefit of procalcitonin to C-reactive protein to assess disease activity and severity in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1135-1144 [PMID: 21039675 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04459.x]
 - 26 Koido S, Ohkusa T, Takakura K, Odahara S, Tsukinaga S, Yukawa T, Mitobe J, Kajihara M, Uchiyama K, Arakawa H, Tajiri H. Clinical significance of serum procalcitonin in patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8335-8341 [PMID: 24363525 DOI: 10.3748/wjg.v19.i45.8335]
 - 27 Oruç N, Ozütemiz O, Osmanoğlu N, İlter T. Diagnostic value of serum procalcitonin in determining the activity of inflammatory bowel disease. *Turk J Gastroenterol* 2009; 20: 9-12 [PMID: 19330729]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



循环肿瘤细胞及游离DNA甲基化在胃癌中的研究进展

方超萍, 颜宏利, 谷明莉, 贾音, 贺玲雯, 田兆峰, 符永叶, 邓安梅

背景资料
胃癌是源自胃黏膜上皮的恶性肿瘤, 占全部恶性肿瘤的第3位, 占消化系统恶性肿瘤的首位。近年来我国胃癌的发病率呈明显上升趋势, 严重威胁人类健康。早期胃癌多无症状或仅有轻微症状。当临床症状明显时, 病变已属晚期。因此寻找新的分子标志物, 进行肿瘤的早期诊断和分子分型是胃癌研究的热点。

方超萍, 颜宏利, 谷明莉, 贾音, 贺玲雯, 田兆峰, 符永叶, 邓安梅, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科上海市 200433
方超萍, 副主任技师, 主要从事分子诊断方面的临床检测和研究。国家重点基础研究发展计划基金资助项目(973计划), No. 2013CB531600
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81273282, 81202353
作者贡献分布: 文献查阅、分析及论文写作由方超萍、谷明莉、贾音、贺玲雯、田兆峰及符永叶完成; 颜宏利与邓安梅负责审校。
通讯作者: 邓安梅, 教授, 主任医师, 博士生导师, 200433, 上海市长海路168号长海医院17号楼1311室, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科。amdeng@163.com
电话: 021-31162079
收稿日期: 2014-10-21 修回日期: 2014-11-07
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-08

Circulating tumor cells and cell tumor DNA methylation in gastric cancer: From bench to bedside

Chao-Ping Fang, Hong-Li Yan, Ming-Li Gu, Yin Jia, Cheng-Wen He, Zhao-Feng Tian, Yong-Ye Fu, An-Mei Deng

Chao-Ping Fang, Hong-Li Yan, Ming-Li Gu, Yin Jia, Cheng-Wen He, Zhao-Feng Tian, Yong-Ye Fu, An-Mei Deng, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of PLA, Shanghai 200433, China

Supported by: National Program of Key Basic Research Project (973 Program), No. 2013CB531600; and National Nature Science Foundation of China, Nos. 81273282 and 81202353

Correspondence to: An-Mei Deng, Professor, Chief Physician, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of PLA, Room 1311, Building 17, Changhai Hospital, 168 Changhai Road, Shanghai 200433, China. amdeng@163.com

Received: 2014-10-21 Revised: 2014-11-07

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-08

Abstract

Gastric cancer is still one of malignant tumors with the highest morbidity and mortality in China, and the 5-year survival rate is only 10%. Circulating tumor cells (CTCs) and cell tumor DNA (ctDNA) have gained increasing interests during the past decade. A wealth of information indicating the potential value of CTCs and ctDNA for cancer diagnosis, monitoring of the efficacy of anticancer therapies and prognosis

has emerged. In this review, we discuss the biology and potential clinical use of CTCs and ctDNA in gastric cancer, as well as their role in the management of cancer patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Circulating tumor cells; Cell tumor DNA; Gastric cancer

Fang CP, Yan HL, Gu ML, Jia Y, He CW, Tian ZF, Fu YY, Deng AM. Circulating tumor cells and cell tumor DNA methylation in gastric cancer: From bench to bedside. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 44-50 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/44.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.44>

摘要

胃癌目前仍是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一, 5年生存率仅10%左右, 因此肿瘤早期诊断是临床亟待解决的问题。近十年来, 血液循环肿瘤细胞(circulating tumour cell, CTCs)和循环肿瘤DNA(circulating tumour DNA, ctDNA)因其具有无创、实时检测和早于影像学检查结果等优点, 得到了肿瘤学界的广泛关注, 被称为“液体活检”。大量的文献报道CTCs和ctDNA甲基化在肿瘤诊断、疗效监测和预后评估方面具有价值。本综述系统介绍CTCs和ctDNA的生物学特性以及在胃癌临床中意义、临床转化前景和挑战。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 循环肿瘤细胞; 游离肿瘤DNA; 胃癌

核心提示: 循环肿瘤细胞(circulating tumour cell)和循环肿瘤DNA(circulating tumour DNA)能够对肿瘤的早期诊断、放化疗药物的疗效评估、肿瘤负荷和进展监测提供可靠的信息, 具有无创、实时检测和早于影像学检查结果等优点, 在肿瘤诊断、疗效监测和预后评估方面具有价值。

方超萍, 颜宏利, 谷明莉, 贾音, 贺玲雯, 田兆峰, 符永叶, 邓安

同行评议者
郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

梅. 循环肿瘤细胞及游离DNA甲基化在胃癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 44-50 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/44.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.44>

0 引言

胃癌目前仍是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤. 全球每年新发100余万例, 死亡约80万例, 文献资料显示胃癌5年生存率仅为10%左右^[1]. 近年来, 检测手段和治疗方法上的进步使胃癌患者的临床效果有所改善, 但其确诊太晚、极高的转移和复发率仍是临床需要解决的主要问题. 研究表明在肿瘤形成的早期阶段, 即可释放肿瘤细胞和DNA至外周血, 形成循环肿瘤细胞(circulating tumour cell, CTC)及游离DNA^[2-4], 这为我们对胃癌的进一步深入研究、早期诊断、疗效观察及转移复发预测等提供了新的平台.

1 CTC及血液游离DNA

CTC是指自发或因诊疗操作进入外周血循环的肿瘤细胞. 关于CTC的报道, 最早可以追溯到1869年, Ashworth^[5]在1例转移性癌症患者的外周血中发现存在和原发肿瘤组织相似的细胞, 目前认为这种脱离原发肿瘤组织进入外周血的CTC是引起肿瘤转移的原因之一. 这种脱离原发肿瘤组织的CTC可以转移至远处其他组织形成病灶再次入血形成CTC, 这也是CTC的主要来源, 而这两种方式来源的CTC具有一定的异质性^[6-8]. 进入循环的肿瘤细胞绝大多数在短期内死亡, 只有极少数具有高度活力、高度转移潜能的肿瘤细胞在循环系统中存活下来, 相互聚集形成微小癌栓, 并在一定条件下发展为转移灶. 因此, 在外周血中检测到肿瘤细胞预示着有可能发生肿瘤转移. CTC检测技术近年来发展迅速, 被认为是一个可靠的预后指标, 目前已在乳腺癌、肺癌和结直肠癌中广泛应用, 能够为临床进展和预后等提供极具价值的判断依据^[9-11].

游离DNA是一种无细胞状态的胞外DNA, 主要是由单链或双链DNA以及单链与双链DNA的混合物组成, 以DNA-蛋白质复合物或游离DNA两种形式存在^[12]. CTC及转移灶中的肿瘤细胞也会因为坏死和凋亡向外周血释放DNA, 形成循环游离肿瘤细胞DNA. 肿瘤患者中循环肿瘤细胞DNA只是循环游离DNA的一部分, 其他非肿瘤细胞在坏死和凋亡时也可以向外周血

释放DNA形成循环游离DNA. 研究发现肿瘤患者循环中游离DNA的水平通常要高于健康个体, 并且游离DNA表现出与肿瘤组织相同的生物学特性, 说明肿瘤患者中循环肿瘤细胞DNA是循环游离DNA的主要来源. 健康人外周血游离DNA大多来源于血细胞. 目前, 关于恶性肿瘤患者循环肿瘤细胞DNA的来源及其发生机制有以下3种观点: (1)肿瘤细胞不断释放DNA进入血液循环. 肿瘤在生长过程中能持续自发释放肿瘤细胞DNA进入外周血液, 成为循环血DNA的主要来源; (2)循环中肿瘤细胞或微转移灶的裂解. 常见的观点是认为肿瘤患者存在循环肿瘤细胞或者微转移灶细胞, 其裂解是血浆中DNA的主要来源, 但外周血中显然没有足够的肿瘤细胞能产生如此高水平的游离DNA; (3)肿瘤细胞的坏死或凋亡. 通过对胃肠肿瘤、乳腺癌、肺癌、头颈肿瘤、泌尿系统肿瘤、妇科肿瘤和皮肤癌等多种肿瘤的研究, 游离循环肿瘤细胞DNA的检测被认为是一个潜在的肿瘤早期诊断和预后判断的有力手段.

2 CTC检测和胃癌

CTC的检测主要包括两个步骤: 分离富集与鉴定. 由于CTC在外周血中密度较低, 为提高检测的效率, 必须先将CTC与血细胞分离出来并富集. 分离的方法主要有两种. 第一种方法是利用肿瘤细胞与血细胞的形态学差异来分离CTC; 不破坏细胞的结构, 分离后的细胞可继续进行免疫组织化学或免疫荧光等相关研究. 但该方法特异性较差, 易出现假阳性, 因而较为少用; 第二种方法是采用免疫学手段进行分离. 大部分上皮来源的肿瘤细胞都有表达上皮细胞黏附分子(epithelial cells adhesion molecule, EpCAM)以及细胞角蛋白(cytokeratin, CK)等抗原, 而血液中骨髓来源的细胞则表达CD45等分子^[13]. 利用包被了抗体的磁颗粒结合特异性抗原并加以分选的方法, 可将CTC从外周血中分离富集出来.

CellSearch循环肿瘤细胞检测系统为强生(veridex)旗下产品, 是全球首个也是唯一经过美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于检测血液中CTC的商品化产品. 其基本原理: 利用免疫纳米磁颗粒富集上皮来源的细胞, 纳米磁颗粒包被了抗EpCAM特异性抗体, 通过抗原抗体反应纳米

研发前沿
近年来的研究发现, 在胃癌发生发展的早期阶段即有肿瘤细胞及其DNA释放入血, 检测血液循环肿瘤细胞(circulating tumour cell, CTCs)和循环肿瘤DNA(circulating tumour DNA, ctDNA)能够对肿瘤的早期诊断、放化疗药物的疗效评估、肿瘤负荷和进展监测提供可靠的信息. 因其具有无创、实时检测和早于影像学检查结果等优点, 得到了肿瘤学界的广泛关注, 被称为“液体活检”. 大量的文献报道CTCs和ctDNA甲基化在肿瘤诊断、疗效监测和预后评估方面具有价值.

相关报道

Cristofanilli、Cohen等通过多中心、双盲、前瞻性的临床研究,利用CellSearch检测CTCs,在转移性乳腺癌、转移性结直肠癌中建立了评判预后的CTCs阈值。Misale等发现在给予肿瘤组织*K-RAS*野生型的转移性结直肠癌患者靶向EGFR的治疗药物,部分耐药患者的ctDNA中检出*K-RAS*的突变。

磁颗粒会与血液中表达EpCAM的细胞结合,从而捕获CTC,细胞内角蛋白荧光抗体识别上皮细胞、白细胞荧光抗体识别白细胞以及DAPI染料用来对细胞核进行染色生成细胞图像共同识别CTC。CK-PE⁺、DAPI⁺和CD45⁻的细胞即为CTC。该检测可自动分选从上皮性肿瘤脱落后进入血液中的肿瘤细胞^[14,15],只需7.5 mL血液样本,即可从400多亿血细胞中检测到一个CTC。已被国外临床试验证明可有效预测转移性乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌的预后及无进展生存期(progression free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)。该系统对CTC的检测特异性好(99.7%),重复率高(99.4%),可用于临床及科研上对CTC的检测。FDA认证, CellSearch-CTC计数可作为转移性乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌患者生存率的独立预测因子。通过对CTC进行连续监测,能够在治疗期间随时评估患者的预后情况。CTC计数和影像学一样是良好的诊断指标,且CTC计数可以更早的提示患者的预后信息。

除了CTC计数以外,对CTC的分子改变也引起了研究者的极大兴趣。Cui等^[16]发现CTC中piR-651和piR-823水平在胃癌患者的外周血中显著低于正常对照组。Zhou等^[17]发现胃癌CTC中的miR-421水平显著高于健康组,miR-421抑制剂的转染能显著抑制体内的肿瘤生长。Cao等^[18]研究了98例胃癌患者外周血CTC中的Survivin的表达,认为Survivin mRNA状态和病理性肿瘤标记一样是无病生存期的独立预测因素。Survivin mRNA高表达预示着根治性切除术后肿瘤的复发。Arigami等^[19]用定量RT-PCR评价B7-H3 mRNA在4种胃癌细胞株、95例胃癌患者和21例健康人外周血中的表达。结果证实B7-H3 mRNA在4种胃癌细胞株中均有表达;胃癌患者外周血中B7-H3 mRNA的拷贝数明显高于健康组,在高B7-H3 mRNA表达的患者中5年生存率显著低于低表达者。有人收集了53例胃癌术前患者和20例健康志愿者外周血,采用RT-PCR检测miR-21、miR-106a和miR-17水平,结果胃癌患者的上述microRNA水平明显高于对照组,且microRNA水平与TNM分期、肿瘤大小、组织学分类有关联。提示检测外周血中miR-21、miR-106a和miR-17可能是监测胃癌患者CTC的一种新的工具^[20-22]。Wang等^[23]用RT-PCR检测胃癌患

者外周血和肿瘤组织中MAGE-1和MAGE-3 mRNA的表达,结果40例患者中,MAGE-1和MAGE-3 mRNA的阳性率外周血中分别为47.5%和25%;在胃癌组织中分别为62.5%和30%;MAGE mRNA在肿瘤组织中不表达的在外周血中也不表达。20例健康者中未检测到MAGE mRNA表达。提示他们可能作为检测循环胃癌细胞的特异肿瘤标志物。

3 游离DNA甲基化和胃癌

抑癌基因启动子甲基化是抑癌基因失活的一个重要机制,他在多种肿瘤的发生、发展过程中起到了非常重要的作用。基因的异常甲基化在头颈癌、鼻咽癌、乳腺癌、食管癌、胃癌和大肠癌患者的血浆中均已检测到。*p14*属于INK4a/ARF位点的肿瘤抑制基因。通过对胃癌细胞株的分析发现^[24,25]:7个细胞株中有5个不表达该基因mRNA,进一步分析发现,启动子甲基化是*p14*基因沉默的重要调节机制。对胃癌标本分析发现^[26],扩散型胃癌*p14*启动子甲基化率为45.5%。*p15*为CDKIs抑制剂,属于肿瘤抑制基因。在胃癌中*p15*缺失或突变十分少见,但由于其CpG岛甲基化而导致其mRNA转录异常,这样就导致该基因失活,从而成为影响胃癌形成的一种方式。Leung等^[27]研究发现68%的胃癌患者肿瘤组织中可以发现*p15*启动子甲基化,而相应的患者血浆中有81%发现*p15*启动子甲基化。在胃癌患者血浆中O₆-甲基鸟嘌呤-甲基转移酶(O₆-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)、*p15*、错配修复基因1的异常甲基化检出率分别为59%、40%、41%。而在正常人体内相应基因的异常甲基化检出率仅有34%、13%、8%。Kolesnikova等^[28]、Tani等^[29]采用甲基化特异聚合酶链反应(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)法检测MGMT、*p15*、*hMLH1*的甲基化状态,并以22例健康者作对照。结果在20例胃癌患者血浆中检测到MGMT、*p15*和*Hm-LH1*基因甲基化阳性率分别为50%、70%和25%,III、IV期及远处转移患者甲基化阳性率分别为90%、90%和60%,而健康对照者血浆中均无异常甲基化。Leung等^[30,31]用甲基化特异的PCR法对5种胃癌细胞株,26例冰冻胃癌组织的*p15*和*p16*的甲基化状态进行检测发现,4个胃癌细胞株有*p15*的甲基化紊乱,3个

细胞株有 $p16$ 的甲基化紊乱, 26例胃癌患者有73.1%存在 $p15$ 的高甲基化, 64.5%存在 $p16$ 的高甲基化. 这一结果表明多肿瘤抑制基因 $p15$ 和 $p16$ 基因的失活与胃癌的发生有关. 有作者^[32-34]发现原发性胃癌中 $p15$ 和 $p16$ 基因的突变并不多见. mRNA表达下调多因DNA甲基化的紊乱所致. 他们认为DNA甲基化可能是 $p16$ 基因失活的一条途径. Shim等^[35]用MSP检测胃癌中的 $p16$ 甲基化水平, 42%胃癌有高甲基化, 甲基化阳性病例中22例有19例完全的 $p16$ 免疫活性丢失, 而甲基化阴性病例19例只有2例. $p16$ 高甲基化同免疫活性的相关性表明, 甲基化是胃癌中 $p16$ 失活的重要机制. Song等^[36]分析了9个胃癌细胞系, 发现 $p16$ 表达失活伴有启动子区的高甲基化. 28例患者中的6例有 $p16$ 表达缺失, 5例有启动子区的高甲基化. 体外研究表明, 胃癌患者因 $p16$ 启动子甲基化而不表达 $p16$ 蛋白的为22%, 而胃炎患者该基因启动子没有甲基化现象, 43%的胃癌和59%的癌组织附近的癌前病变组织出现 $p16$ 启动子甲基化现象, 这说明该基因启动子甲基化发生在胃癌形成的早期, 而且频率较高, 可成为胃癌危险性的预测性生物标记^[37-42]. Sakakura等^[43]检测了65例胃癌患者术前与术后血清中 $Runx3$ (Runt related transcription factor 3 gene)的甲基化水平, 发现29%(19/65)的患者术前血清中能够检测到 $Runx3$ 甲基化, 并且 $Runx3$ 的甲基化系数与肿瘤的级别、组织类型、有无淋巴及浸润转移相关, 其敏感性较CEA高. 而术后血清中 $Runx3$ 甲基化水平明显下降. 由此可见, DNA甲基化异常同样可作为肿瘤标志物用于血游离DNA的检测. 通过对胃癌 APC 基因的分析发现 APC 基因没有发生突变, 通过MSP对胃癌标本和胃癌细胞株的分析发现: 82.5%的原发性胃癌、97.5%胃癌患者的癌旁胃黏膜和10个胃癌细胞株 APC 启动子1A呈高甲基化, 而启动子1B却没有发生甲基化^[44-49]. 由于甲基化, 在10个细胞株中, 外显子1A没有出现 APC 表达, 而外显子1B却出现 APC 表达. 说明 APC 启动子1A甲基化在胃癌形成的早期就出现, 是有用的生物标记.

4 结论

CTCs检测是实时、动态反映疾病分子特征的窗口, 简单无创, 被称为“液体活检”, 越来越多的研究表明, 循环肿瘤细胞在肿瘤的早期诊

断、预后判断、药效检测等方面具有重要作用. 尤其是患者化疗或靶向治疗后, 肿瘤组织已经难以获得, 检测CTCs就成为动态监测药物疗效和肿瘤进展情况无可替代的工具. 但是, 应该明确的是CTCs和循环肿瘤DNA在肿瘤患者血液中的含量很低. 目前有不同的商业化技术平台或方法用于CTCs或循环肿瘤DNA的检测. 由于不同检测方法的敏感性和特异性的差异, 未实现标准化, 因此难以对不同研究机构的检出结果进行比对; 其次, 使用单一上皮分子标志物来检测CTCs, 极有可能漏检一部分完成EMT的CTCs, 这也使得现如今研究者们对利用CellSearch计数CTCs评判转移性肿瘤预后和疗效监测存在质疑; 其三, 肿瘤是一个高度异质性的细胞群体, 在不同肿瘤、肿瘤的不同发展阶段, CTCs和循环肿瘤DNA具有不同的分子特征, 这无疑增加了CTCs和循环DNA作用肿瘤标志物的临床转化难度. 随着高通量测序平台以及单细胞基因组扩增技术的进步, CTCs的未来朝着单细胞组学发展; 循环肿瘤DNA的发展方向则是在二代测序的基础上明确新的分子标志物^[50].

近几年由于研究甲基化手段的进步, 使更多的胃癌相关基因甲基化情况得以明确, 但迄今为止尚未见临床上利用上述胃癌相关基因甲基化状态的改变进行胃癌的早期诊断及干预甲基化的基因治疗来防治胃肠系肿瘤的发生. 目前循环DNA甲基化主要是在全血中检测, 如能在富集分离的CTC中检测或许能有更高的阳性率, 胃癌的分子特征也有待进一步明确. 希望通过CTC计数和循环胃癌细胞DNA及其甲基化的检测和分析, 寻找并筛选出一些敏感性和特异性更高的分子指标, 为实现胃癌的早期诊断, 提供良好的靶点进行个体化治疗, 为肿瘤学的临床应用开辟一个新的领域.

5 参考文献

- 1 Nardone G. Review article: molecular basis of gastric carcinogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17 Suppl 2: 75-81 [PMID: 12786617]
- 2 Schwarzenbach H, Alix-Panabières C, Müller I, Letang N, Vendrell JP, Rebillard X, Pantel K. Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1032-1038 [PMID: 19188176 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1910]
- 3 Schwarzenbach H, Chun FK, Lange I, Carpenter S, Gottberg M, Erbersdobler A, Friedrich MG, Hülnd H, Pantel K. Detection of tumor-specific DNA in

创新盘点

本文系统介绍了血液循环肿瘤细胞和血液肿瘤DNA在胃癌早期诊断、病情监测、药物疗效评估的应用, 并着重介绍了血液肿瘤DNA的甲基化在胃癌诊断和发病中的作用, 给临床医生提供了一个新的视野, 具有较好的创新性.

应用要点

由于美国FDA最初批准CellSearch系统的临床应用是乳腺癌、结直肠癌和前列腺癌,所以CTCs在这3种肿瘤的研究较多。随着人们对CTCs和ctDNA在肿瘤诊断、疗效监测等领域的认识不断深入,CTCs和ctDNA在胃癌、胰腺癌和肺癌等其他肿瘤中的诊断价值也逐渐得到了人们的重视。

- blood and bone marrow plasma from patients with prostate cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1465-1471 [PMID: 17205532]
- 4 Heitzer E, Auer M, Ulz P, Geigl JB, Speicher MR. Circulating tumor cells and DNA as liquid biopsies. *Genome Med* 2013; 5: 73 [PMID: 23998943 DOI: 10.1186/gm477]
- 5 Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Aust Med J* 1869; 14: 146-147
- 6 Alix-Panabières C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annu Rev Med* 2012; 63: 199-215 [PMID: 22053740 DOI: 10.1146/annurev-med-062310-094219]
- 7 Maheswaran S, Haber DA. Circulating tumor cells: a window into cancer biology and metastasis. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 96-99 [PMID: 20071161 DOI: 10.1016/j.gde.2009.12.002]
- 8 Yuan D, Chen L, Li M, Xia H, Zhang Y, Chen T, Xia R, Tang Q, Gao F, Mo X, Liu M, Bi F. Isolation and characterization of circulating tumor cells from human gastric cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014 Oct 18. [Epub ahead of print] [PMID: 25326346]
- 9 Fleischhacker M, Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer--a survey. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775: 181-232 [PMID: 17137717]
- 10 Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, Biggs H, Rueda OM, Chin SF, Dunning MJ, Gale D, Forshew T, Mahler-Araujo B, Rajan S, Humphray S, Becq J, Halsall D, Wallis M, Bentley D, Caldas C, Rosenfeld N. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2013; 368: 1199-1209 [PMID: 23484797]
- 11 Punnoose EA, Atwal S, Liu W, Raja R, Fine BM, Hughes BG, Hicks RJ, Hampton GM, Amler LC, Pirzkall A, Lackner MR. Evaluation of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in non-small cell lung cancer: association with clinical endpoints in a phase II clinical trial of pertuzumab and erlotinib. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2391-2401 [PMID: 22492982]
- 12 Tsujiura M, Ichikawa D, Konishi H, Komatsu S, Shiozaki A, Otsuji E. Liquid biopsy of gastric cancer patients: circulating tumor cells and cell-free nucleic acids. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3265-3286 [PMID: 24696609 DOI: 10.3748/wjg.v20.i12.3265]
- 13 Sleijfer S, Gratama JW, Sieuwerts AM, Kraan J, Martens JW, Foekens JA. Circulating tumour cell detection on its way to routine diagnostic implementation? *Eur J Cancer* 2007; 43: 2645-2650 [PMID: 17977713]
- 14 Naoe M, Ogawa Y, Morita J, Omori K, Takeshita K, Shichijo T, Okumura T, Igarashi A, Yanaiharu A, Iwamoto S, Fukagai T, Miyazaki A, Yoshida H. Detection of circulating urothelial cancer cells in the blood using the CellSearch System. *Cancer* 2007; 109: 1439-1445 [PMID: 17326057]
- 15 Racila E, Euhus D, Weiss AJ, Rao C, McConnell J, Terstappen LW, Uhr JW. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4589-4594 [PMID: 9539782]
- 16 Cui L, Lou Y, Zhang X, Zhou H, Deng H, Song H, Yu X, Xiao B, Wang W, Guo J. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using piRNAs as markers. *Clin Biochem* 2011; 44: 1050-1057 [PMID: 21704610 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.06.004]
- 17 Zhou H, Xiao B, Zhou F, Deng H, Zhang X, Lou Y, Gong Z, Du C, Guo J. MiR-421 is a functional marker of circulating tumor cells in gastric cancer patients. *Biomarkers* 2012; 17: 104-110 [PMID: 22263628 DOI: 10.3109/1354750X.2011.614961]
- 18 Cao W, Yang W, Li H, Lou G, Jiang J, Geng M, Xi W, Ren R, Qu Q, Jin X, Zhu Y, Jin Y. Using detection of survivin-expressing circulating tumor cells in peripheral blood to predict tumor recurrence following curative resection of gastric cancer. *J Surg Oncol* 2011; 103: 110-115 [PMID: 21259243 DOI: 10.1002/jso.21777]
- 19 Arigami T, Uenosono Y, Hirata M, Yanagita S, Ishigami S, Natsugoe S. B7-H3 expression in gastric cancer: a novel molecular blood marker for detecting circulating tumor cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 1019-1024 [PMID: 21251161 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01877.x]
- 20 Zheng Y, Cui L, Sun W, Zhou H, Yuan X, Huo M, Chen J, Lou Y, Guo J. MicroRNA-21 is a new marker of circulating tumor cells in gastric cancer patients. *Cancer Biomark* 2011-2012; 10: 71-77 [PMID: 22430134 DOI: 10.3233/CBM-2011-0231]
- 21 Zhou H, Guo JM, Lou YR, Zhang XJ, Zhong FD, Jiang Z, Cheng J, Xiao BX. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 709-717 [PMID: 20349219 DOI: 10.1007/s00109-010-0617-2]
- 22 Zhu A, Xia J, Zuo J, Jin S, Zhou H, Yao L, Huang H, Han Z. MicroRNA-148a is silenced by hypermethylation and interacts with DNA methyltransferase 1 in gastric cancer. *Med Oncol* 2012; 29: 2701-2709 [PMID: 22167392 DOI: 10.1007/s12032-011-0134-3]
- 23 Wang WX, Li YB, Xie XL, Shu XL, Ouyang XH. [Detection of tumor cells in peripheral blood of patients with gastric cancer using mRNA of MAGE genes as markers]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2009; 12: 611-614 [PMID: 19921576]
- 24 Philipp AB, Nagel D, Stieber P, Lamerz R, Thalhammer I, Herbst A, Kolligs FT. Circulating cell-free methylated DNA and lactate dehydrogenase release in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2014; 14: 245 [PMID: 24708595 DOI: 10.1186/1471-2407-14-245]
- 25 Ahn JB, Rha SY, Shin SJ, Jeung HC, Kim TS, Zhang X, Park KH, Noh SH, Roh JK, Chung HC. Circulating endothelial progenitor cells (EPC) for tumor vasculogenesis in gastric cancer patients. *Cancer Lett* 2010; 288: 124-132 [PMID: 19619937 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.06.031]
- 26 Esteller M, Cordon-Cardo C, Corn PG, Meltzer SJ, Pohar KS, Watkins DN, Capella G, Peinado MA, Matias-Guiu X, Prat J, Baylin SB, Herman JG. p14ARF silencing by promoter hypermethylation mediates abnormal intracellular localization of MDM2. *Cancer Res* 2001; 61: 2816-2821 [PMID: 11306450]
- 27 Leung WK, To KF, Chu ES, Chan MW, Bai AH,

- Ng EK, Chan FK, Sung JJ. Potential diagnostic and prognostic values of detecting promoter hypermethylation in the serum of patients with gastric cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 2190-2194 [PMID: 15942635]
- 28 Kolesnikova EV, Tamkovich SN, Bryzgunova OE, Shelestyuk PI, Permyakova VI, Vlassov VV, Tuzikov AS, Laktionov PP, Rykova EY. Circulating DNA in the blood of gastric cancer patients. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1137: 226-231 [PMID: 18837952 DOI: 10.1196/annals.1448.009]
- 29 Tani N, Ichikawa D, Ikoma D, Ikoma H, Sai S, Tomita H, Okamoto K, Kikuchi S, Fujiwara H, Ochiai T, Ueda Y, Otsuji E, Hagiwara A, Yamagishi H. [An early detection of recurrence using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and methylation-specific polymerase chain reaction (MSP) from peripheral blood in patients after gastrectomy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006; 33: 1720-1722 [PMID: 17212086]
- 30 Leung WK, Yu J, Ng EK, To KF, Ma PK, Lee TL, Go MY, Chung SC, Sung JJ. Concurrent hypermethylation of multiple tumor-related genes in gastric carcinoma and adjacent normal tissues. *Cancer* 2001; 91: 2294-2301 [PMID: 11413518]
- 31 Leung WK, To KF, Man EP, Chan MW, Bai AH, Hui AJ, Chan FK, Sung JJ. Quantitative detection of promoter hypermethylation in multiple genes in the serum of patients with colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2274-2279 [PMID: 16181380]
- 32 Wu YC, Lv P, Han J, Yu JL, Zhu X, Hong LL, Zhu WY, Yu QM, Wang XB, Li P, Ling ZQ. Enhanced serum methylated p16 DNAs is associated with the progression of gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 1553-1562 [PMID: 24817951]
- 33 Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, Lai PB, Lau WY, Hjelm NM, Johnson PJ. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res* 1999; 59: 71-73 [PMID: 9892188]
- 34 Wang M, Li Y, Gao J, Li Y, Zhou J, Gu L, Shen L, Deng D. p16 Methylation is associated with chemosensitivity to fluorouracil in patients with advanced gastric cancer. *Med Oncol* 2014; 31: 988 [PMID: 24816738 DOI: 10.1007/s12032-014-0988-2]
- 35 Shim YH, Kang GH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinomas. *Lab Invest* 2000; 80: 689-695 [PMID: 10830779]
- 36 Song SH, Jong HS, Choi HH, Kang SH, Ryu MH, Kim NK, Kim WH, Bang YJ. Methylation of specific CpG sites in the promoter region could significantly down-regulate p16(INK4a) expression in gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2000; 87: 236-240 [PMID: 10861481]
- 37 Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 629-656 [PMID: 15822191]
- 38 Jang TJ, Kim DI, Shin YM, Chang HK, Yang CH. p16(INK4a) Promoter hypermethylation of non-tumorous tissue adjacent to gastric cancer is correlated with glandular atrophy and chronic inflammation. *Int J Cancer* 2001; 93: 629-634 [PMID: 11477571]
- 39 Lee TL, Leung WK, Chan MW, Ng EK, Tong JH, Lo KW, Chung SC, Sung JJ, To KF. Detection of gene promoter hypermethylation in the tumor and serum of patients with gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1761-1766 [PMID: 12060614]
- 40 Chan AW, Chan MW, Lee TL, Ng EK, Leung WK, Lau JY, Tong JH, Chan FK, To KF. Promoter hypermethylation of Death-associated protein-kinase gene associated with advance stage gastric cancer. *Oncol Rep* 2005; 13: 937-941 [PMID: 15809761]
- 41 Yu J, Leung WK, Lee TL, Tse PC, To KF, Sung JJ. Promoter hypermethylation of cyclooxygenase-2 in gastric carcinoma. *Int J Oncol* 2003; 22: 1025-1031 [PMID: 12684668]
- 42 Kim YS, Kim JS, Jung HC, Lee CH, Kim CW, Song IS, Kim CY. Regression of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma after eradication of *Helicobacter pylori*: possible association with p16 hypermethylation. *J Gastroenterol* 2002; 37: 17-22 [PMID: 11824795]
- 43 Sakakura C, Hamada T, Miyagawa K, Nishio M, Miyashita A, Nagata H, Ida H, Yazumi S, Otsuji E, Chiba T, Ito K, Ito Y. Quantitative analysis of tumor-derived methylated RUNX3 sequences in the serum of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 2619-2625 [PMID: 19596937]
- 44 Kang GH, Lee S, Kim WH, Lee HW, Kim JC, Rhyu MG, Ro JY. Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2002; 160: 787-794 [PMID: 11891177]
- 45 Tsuchiya T, Tamura G, Sato K, Endoh Y, Sakata K, Jin Z, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Nishizuka S, Wilson KT, James SP, Yin J, Fleisher AS, Zou T, Silverberg SG, Kong D, Meltzer SJ. Distinct methylation patterns of two APC gene promoters in normal and cancerous gastric epithelia. *Oncogene* 2000; 19: 3642-3646 [PMID: 10951570]
- 46 Hong B, Zu Y. Detecting circulating tumor cells: current challenges and new trends. *Theranostics* 2013; 3: 377-394 [PMID: 23781285 DOI: 10.7150/thno.5195]
- 47 Forshew T, Murtaza M, Parkinson C, Gale D, Tsui DW, Kaper F, Dawson SJ, Piskorz AM, Jimenez-Linan M, Bentley D, Hadfield J, May AP, Caldas C, Brenton JD, Rosenfeld N. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA. *Sci Transl Med* 2012; 4: 136ra68 [PMID: 22649089 DOI: 10.1126/scitranslmed.3003726]
- 48 Murtaza M, Dawson SJ, Tsui DW, Gale D, Forshew T, Piskorz AM, Parkinson C, Chin SF, Kingsbury Z, Wong AS, Marass F, Humphray S, Hadfield J, Bentley D, Chin TM, Brenton JD, Caldas C, Rosenfeld N. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature* 2013; 497: 108-112 [PMID: 23563269 DOI: 10.1038/nature12065]
- 49 Leary RJ, Kinde I, Diehl F, Schmidt K, Clouser C, Duncan C, Antipova A, Lee C, McKernan K, De La Vega FM, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA, Velculescu VE. Development of personalized tumor biomarkers using massively parallel sequencing. *Sci Transl Med* 2010; 2: 20ra14 [PMID: 20371490 DOI:

同行评价
本综述系统介绍 CTCs和ctDNA的生物学特性以及在胃癌临床中意义、临床转化前景和挑战。本文写作规范, 引用文献权威, 对临床医师了解该领域的进展有较大的帮助。

- 10.1126/scitranslmed.300070]
50 Wang K, Yuen ST, Xu J, Lee SP, Yan HH, Shi ST, Siu HC, Deng S, Chu KM, Law S, Chan KH, Chan AS, Tsui WY, Ho SL, Chan AK, Man JL, Foglizzo V, Ng MK, Chan AS, Ching YP, Cheng GH, Xie

T, Fernandez J, Li VS, Clevers H, Rejto PA, Mao M, Leung SY. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat Genet* 2014; 46: 573-582 [PMID: 24816253 DOI: 10.1038/ng.2983]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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)

胃癌自噬靶向治疗的研究进展

张方信, 王彬彬, 武承凤, 郑晓凤, 马 强

张方信, 王彬彬, 武承凤, 郑晓凤, 马强, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化科 甘肃省兰州市 730050
王彬彬, 武承凤, 甘肃中医学院临床医学院 甘肃省兰州市 730000
郑晓凤, 兰州大学第二临床医学院消化科 甘肃省兰州市 730030
张方信, 主任医师, 医学博士, 主要从事消化系统肿瘤诊治的免疫学与分子生物学研究及高原胃肠病防治研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81374019
甘肃省自然科学基金资助项目, No. 145RJZA049
作者贡献分布: 本文综述由张方信与王彬彬完成; 文献查找及汇总由武承凤与郑晓凤完成; 马强审校.
通讯作者: 王彬彬, 在读硕士, 730000, 甘肃省兰州市城关区定西东路35号, 甘肃中医学院临床医学院.
wy4287_1976@163.com
电话: 0931-8765376
收稿日期: 2014-10-11 修回日期: 2014-11-08
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-08

Targeting autophagy for therapy of gastric cancer

Fang-Xin Zhang, Bin-Bin Wang, Cheng-Feng Wu, Xiao-Feng Zheng, Qiang Ma

Fang-Xin Zhang, Bin-Bin Wang, Cheng-Feng Wu, Xiao-Feng Zheng, Qiang Ma, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command, PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China
Bin-Bin Wang, Cheng-Feng Wu, College of Clinical Medicine, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu province, China
Xiao-Feng Zheng, Department of Gastroenterology, the Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81374019; the Natural Science Foundation of Gansu Province, No. 145RJZA049
Correspondence to: Bin-Bin Wang, Department of Clinical Medicine, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, 35 Dingxi East Road, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. wy4287_1976@163.com.
Received: 2014-10-11 Revised: 2014-11-08
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-08

Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignant neoplasms. Surgery represents the main approach for this disease. Notwithstanding the advances in surgical techniques, there has been still a minimal improvement in overall survival with a significant increase in relapse rates. Although the development of new drugs

has significantly improved the effectiveness of chemotherapy, the prognosis of patients with unresectable or metastatic gastric carcinoma remains poor. Therefore, it is necessary to find some new ways against gastric carcinogenesis. It has been shown that autophagy plays a dual role in the transformation and progression of gastric cancer; activation and induction of autophagy can lead to gastric carcinogenesis. Recently, several agents targeting autophagy molecules in gastric carcinogenesis have been investigated. This article reviews the regulation of autophagy with inhibitors or inducers to treat gastric cancer, and discusses how they regulate autophagy as a targeted therapy for gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Autophagy; Gastric cancer; Inhibitor; Inducer; Therapy

Zhang FX, Wang BB, Wu CF, Zheng XF, Ma Q. Targeting autophagy for therapy of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 51-57 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/51.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.51>

摘要

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一。外科手术是本病的主要治疗方法。虽然外科手术已取得了一定进展,但对于胃癌复发明显增加的患者来说总体生存率改善甚微。尽管新药物的开发已显著提高胃癌化疗的效果,但病灶不能切除或转移性胃癌的患者预后仍较差。因此,有必要找出一些有效针对胃癌的新方法。现已证明自噬在胃癌的转化和进展扮演双重角色:自噬的激活和诱导均可导致胃癌的发生。最近,一些自噬分子靶向药物治疗胃癌进行了研究。本文综述了两种调控细胞自噬方法来互补治疗胃癌:抑制剂和诱导剂,并讨论他们如何调控自噬靶向治疗胃癌。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自噬; 胃癌; 抑制剂; 诱导剂; 治疗

背景资料
目前胃癌的各种治疗都不尽如人意,尤其其中晚期胃癌患者的疗效及预后不容乐观。尽管最近一些新的治疗方案已经推出,但是个体间的变异反应和耐药性仍然是一个挑战。寻求一种新方法治疗胃癌是目前研究的重中之重。自噬是细胞维持内环境稳定的一种代谢过程。自噬在胃癌中的角色很复杂,自噬可能促进或抑制胃癌细胞死亡。因此,如何调控自噬治疗胃癌是目前研究的重点,以提高胃癌的治疗。

同行评议者
郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

研发前沿

近年来,人们在肿瘤、炎症、应激等损伤的调控途径中均发现自噬现象,其调控的分子机制过程极其复杂,如何通过自噬相关调控机制治疗相关疾病值得深入研究.

核心提示:胃癌的治疗除了手术及放化疗之外,还可通过自噬调控的抑制剂可打破自噬对于胃癌的保护作用及其诱导剂增强胃癌细胞的代谢毒性来互补治疗胃癌.

张方信, 王彬彬, 武承凤, 郑晓凤, 马强. 胃癌自噬靶向治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 51-57 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/51.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.51>

0 引言

自噬是一种通过降解受损的细胞器和蛋白质的代谢途径,产生一定的能量以维持内环境的稳定;他是指非选择性降解过程巨自噬,其他形式的自噬包括微自噬和分子伴侣介导的自噬.自噬在肿瘤的作用存在争议,目前还未完全阐明.肿瘤微环境是缺氧和较差的营养物质,自噬作用可能有助于肿瘤细胞以适应变化的条件,从而防止其凋亡,而自噬作用的压力过重或时间太长,可成为细胞毒性进而导致细胞死亡^[1,2].激素治疗、多重化疗、放射治疗和一些有针对性的治疗通过诱导增强自噬来治疗不同类型的肿瘤^[2-5].但在治疗过程中也出现了生存优势的癌细胞,自噬干扰是比较合理的治疗策略^[6,7].自噬调控剂可以抵消双重作用以提高抗肿瘤的效果.本文通过介绍自噬调控剂作为靶向治疗胃癌策略,希望能对胃癌的预防和诊治提供新的途径.

1 自噬分子机制

自噬分子机制依赖于庞大复杂的信号通路网,可分解成几个阶段,但详细机制尚未完全阐明^[8].自噬囊泡起始、延伸、成熟和物质降解的各个阶段都需要一系列多种自噬相关蛋白(autophagy-related proteins, ATG)的参与;起始阶段通过抑制雷帕霉素靶点受体(mechanistic target of rapamycin, mTOR)触发Unc51-样激酶(Unc51-like kinase, ULK)复合物(包括ULK1/2、ATG13和ATG101)从细胞质向内质网易位;抑制mTOR使ULK复合物去磷酸化,激活200 kDa相互作用蛋白家族(family interacting protein of 200 kDa, FIP200)-ATG13-ULK复合物,形成一个将自噬信号整合到自噬体的节点;接着,磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)复合物[包括液泡分选蛋白(vacuolar protein sorting, VPS)34、VPS15、

Beclin 1及ATG14]、双FYVE包含蛋白1(double FYVE-containing protein 1, DFCP1)和WD重复结构域磷酸肌醇交互(WD-repeat domain phosphoinositide-interacting, WIPI)家族蛋白也被聚集到向内质网;自噬泡的延伸和闭合需要ATG12-ATG5-ATG16L1和ATG7-ATG3-ATG8-微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, MAPLC3)-磷脂(phosphatidylethanolamine, PE)复合物的参与;细胞质中的LC3称为LC3- I; ATG5-ATG12-ATG16L1复合物促使自噬囊泡伸长后, LC3缀合到膜的内外侧,被称为LC3- II.伸长的后期, ATG5-ATG12-ATG16L复合物从自噬囊泡上解离,最终形成闭合成熟的双膜结构,称为自噬体;相比之下, LC3参与整个自噬体形成的过程,广泛用于哺乳动物细胞中自噬的监测;最后,在自噬体与溶酶体对接和融合,形成自噬溶酶体,最终将包裹的物质降解成小分子物质被循环利用^[8-12].

2 自噬靶向治疗胃癌

在应激条件下,自噬是一种进化上保守的作用,通过调节代谢促进细胞存活.这激发了研究自噬作用是否可促进细胞毒性来治疗耐药性.抑制自噬可阻止其作为生存机制的使用,可能激活凋亡信号,推动细胞进入凋亡^[13].干扰自噬可通过多个途径调制来实现自噬靶向治疗肿瘤,主要通过ATGs的敲出或抑制药物抑制.自噬抑制剂有溶酶体抑制剂氯喹与羟氯喹、PI3K抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)和导致辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸耗竭的化合物FK866^[14-16].超活化细胞自噬的能量可导致肿瘤细胞成自噬性死亡,后者不同于细胞凋亡,是胱天蛋白酶非依赖性的死亡,与自噬体的形成增加相关联^[17].而自噬诱导剂包括mTOR抑制剂、磷酸腺苷活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)诱导剂等^[18,19].目前,自噬相关的药物主要用于实验研究,用于临床疾病治疗的甚少.

2.1 自噬抑制剂在胃癌的应用 氯喹是一种常用的自噬抑制剂,其机制主要是通过改变溶酶体的pH值,并阻断自噬小体与溶酶体的融合从而导致自噬小体聚集^[20].氯喹作为新型的抗肿瘤药物已用于治疗乳腺癌、宫颈癌等多种肿瘤,且与化疗药物联合增强肿瘤的杀伤能力^[14,21].

Zhang等^[22]研究自噬对于顺铂诱导胃癌凋亡的机制发现, 通过氯喹抑制自噬后, 细胞凋亡率、Caspase3和P53蛋白的蛋白表达水平明显增加, 而Bcl-2蛋白表达减少. 自噬防止顺铂诱导胃癌细胞凋亡, 形成保护性机制, 而抑制自噬能促进细胞凋亡. 因此自噬抑制剂氯喹并联合顺铂治疗胃癌可能是一种很有前途的治疗策略.

3-MA是一种自噬抑制剂, 主要通过抑制PI3K, 减少磷脂酰肌醇3-磷酸的生成, 进而抑制隔离膜或自噬小泡招募ATG的合成. 最近研究^[23]证实, 3-MA通过抑制自噬增强胃癌细胞的凋亡. Li等^[24]研究发现, 苦参碱诱导胃癌细胞产生保护性自噬; 但联合自噬抑制剂3-MA可通过细胞凋亡途径增强苦参碱对肿瘤细胞的杀伤力. Humbert等^[25]研究发现, 在胃癌细胞株GTL-16过度表达MET, 而MET抑制剂PHA665752和EMD1214063通过抑制自噬导致胃癌细胞死亡; MET抑制剂联合自噬抑制剂3-MA或敲除自噬基因*ATG7*可进一步降低胃癌细胞的细胞活力. Liu等^[26]研究表明, β -榄香烯通过诱导自噬的保护, 防止人胃癌细胞发生凋亡, 但 β -榄香烯联合自噬抑制剂3-MA, 或敲除自噬基因*Beclin-1*, 可显著增强 β -榄香烯的抗肿瘤效果. 这些数据表明, 抗癌药物激活肿瘤细胞适应应激条件的自噬以保护细胞免于死亡, 可联合自噬抑制剂3-MA增强肿瘤细胞的杀伤力.

2.2 自噬诱导剂在胃癌的应用

2.2.1 mTOR抑制剂: mTOR的抑制剂通过激活ULK复合物诱导自噬的发生. 雷帕霉素作为mTOR抑制剂主要通过抑制移植瘤血管的生成而发挥抗肿瘤的作用^[27], 并能降低小鼠人肺癌模型肿瘤的复发^[28]. mTOR抑制剂逐渐作为新型抗肿瘤药物用于各种肿瘤的治疗.

胃癌晚期患者常常伴有腹膜转移, 经过任何治疗依然预后不佳, 目前已知趋化因子在肿瘤生长和转移发挥重要作用. Hashimoto等^[29]研究发现, 趋化因子CXCL12在腹膜转移的胃癌组织中的发生发展中具有重要作用; 这项研究中, 腹膜转移癌信号途径通过趋化因子CXCL12其受体CXCR4相互作用, 诱导AKT迅速磷酸化, 激活mTOR途径抑制细胞自噬, 产生大量基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP), 最终促进胃癌细胞腹膜转移及生长, 而mTOR特异性抑制剂雷帕霉素可明显抑制胃癌细胞转

移并诱导细胞发生自噬性细胞死亡. 另外, 雷帕霉素也抑制决定癌细胞侵袭的驱动力的MMP的生产, 并通过自噬作用引发的细胞死亡. Yu等^[30]通过1072例胃癌患者免疫组织化学染色和蛋白免疫印迹方法研究发现, 总mTOR和磷酸化mTOR的过表达率分别是50.8%(545/1072)和46.5%(499/1072), 磷酸化mTOR的表达比总mTOR更有意义; 总mTOR与肿瘤大小及疾病所处状态有关, 而磷酸化mTOR则与淋巴结转移和胃癌细胞血管表型生成密切相关, 并且他还可以作为胃癌患者预后的独立因子. 因此, 雷帕霉素阻止mTOR信号通路可能是腹膜播散性胃癌的一种治疗方法.

依维莫司(everolimus, RAD001)是mTOR的一种变构抑制剂, 已经证实具有抗肿瘤活性, 用于多种肿瘤的治疗, 包括结节性硬化症相关的肾细胞癌、乳腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤和胶质母细胞瘤等^[31-34]. 依维莫司在抑制mTOR信号的同时可导致Akt激活, 联合Akt的抑制剂MK-2206增强抗肿瘤的功能^[35]. Ji等^[36]研究发现, 依维莫司和MK-2206的组合通过增强Akt/mTOR的抑制效应, 激活有丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/ERK信号通路介导的自噬途径, 并通过下调周期蛋白D1来增强人第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10, PTEN)突变型胃癌细胞的抗肿瘤活性. Xu等^[37]研究发现, 依维莫司通过下调p70s6k和磷酸化的p70s6k的表达促进癌细胞自噬, 并上调p53的表达抑制胃癌细胞逃逸细胞周期, 从而抑制胃癌细胞的生长. 由此可以推测依维莫司通过可能抑制mTOR途径抑制胃癌细胞的增殖, 但是其中的详细机制尚不完全明确, 需要进一步深入研究.

E铂(E platinum)是一种新合成的铂类抗肿瘤药物, 但抗肿瘤的详细机制尚不明确. 近来一些研究发现他参与细胞自噬的相关调控过程来杀死癌细胞. Hu等^[38]研究发现, E铂处理的胃癌细胞胞质中发现大自噬泡积累, 而且水溶性的LC3-I向脂溶性的LC3-II转化, 自噬相关蛋白Beclin-1的表达也增加了; 此外, 用3-MA、氯喹和RNA干扰下调LC3和Beclin-1的表达抑制细胞自噬, 可增强胃癌细胞的杀伤性; 该研究进一步探索了E铂可能参与自噬的信号通路, E铂

相关报道
Nagelkerke等系统地总结了自噬的分子机制及自噬靶向治疗肿瘤的药理机制.

创新盘点
本文比较系统地总结了自噬抑制剂和诱导剂靶向治疗胃癌的相关分子靶点及药理机制。但是目前的自噬调控治疗处于实验阶段,临床应用的相对很少,需要更进一步研究。

通过抑制mTOR和p70S6K的活化,减少Akt、ERK1/2、JNK和p38的磷酸化,阻断MAPK信号传导致使自噬激活,抑制胃癌细胞的生长。因此,E铂可作为一个有前途的具有诱导自噬参与的抗肿瘤药物,但是其介导与mTOR连接相关激酶的活化仍有待于阐明,这一发现提供了E铂治疗癌细胞新的见解。

2.2.2 AMPK诱导剂: AMPK是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的家族性激酶,他能致敏细胞应激,调节代谢和细胞增殖^[39]。在应激条件下,细胞通过AMPK/mTOR信号通路调控自噬,激活自噬启动激酶导致细胞死亡^[40]。

替加环素(tigecycline)作为一种甘氨酸四环素类抗菌剂,抵抗一系列的细菌,特别是耐药细菌。越来越多的证据表明,四环素和其如多西环素和米诺环素衍生物具有抗癌性质^[41]。Tang等^[42]研究发现,替加环素通过诱导的自噬而不是凋亡显著抑制胃癌细胞增殖。用替加环素干预体外胃癌细胞后,AMPK信号通路被激活,进一步抑制mTOR的磷酸化,通过调节下游效应因子p70S6K的磷酸化,最终诱导细胞自噬并抑制细胞的生长,这是替加环素涉及自噬诱导传感途径之一;另外,他们还用人胃癌细胞转移瘤小鼠模型进一步证实替加环素能够抑制肿瘤的生长。因此,替加环素通过AMPK/mTOR信号通路诱导自噬抑制肿瘤生长的策略为胃癌患者的治疗提供了新线索。

木通皂苷PA(akebia saponin PA, AS)是一种从续断分离出来的天然产物,具有抗氧化、抗炎和骨保护等作用^[43-45]。最近一项研究^[46]发现,AS能够诱导胃癌细胞死亡,其机制可能是通过诱导细胞自噬和凋亡的双重作用;AS通过激活AMPK/mTOR信号转导通路诱导自噬性死亡;同时还发现,AS通过激活MAPK信号通路促进Caspase3依赖性凋亡的发生,这些结果表明,天然存在的化合物AS诱导自噬和凋亡发挥抗肿瘤的作用。

2.2.3 核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)抑制剂: NF- κ B是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子,存在于多种组织的多种细胞中,具有广泛的生物学活性,激活后参与许多基因的转录调控。近年来的研究表明NF- κ B与细胞凋亡和自噬的关系密切,在肿瘤的发生发展中发挥着重要作用^[47]。

SN50作为可抑制NF- κ B的核转导致细

胞死。Zhu等^[48]研究发现,SN50通过上调LC3、Beclin-1和P53蛋白表达抑制胃癌细胞的增殖;而p53抑制剂PFT- α 可阻断SN50抑制LC3和Beclin-1的表达,进一步证明在抑制NF- κ B的条件下,p53可激活细胞自噬和凋亡;这项研究阐明了NF- κ B抑制剂抗肿瘤分子机制的新亮点,深入研究NF- κ B抑制剂、自噬活化与细胞凋亡三者之间抗肿瘤的关系,为胃癌的治疗推出新策略。

姜黄素(curcumin)是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚性色素,属于天然酚类抗氧化剂,具有多种药理功效,如抗氧化、消炎、抗肿瘤等作用。邓淑文等^[49]研究发现,姜黄素对人胃癌细胞增殖具有抑制作用,主要通过上调Beclin-1/LC3-II水平调控并诱导癌细胞发生自噬,同时发现NF- κ B的表达也增高。而现在又发现NF- κ B具有促进细胞凋亡的作用,可能也参与了自噬调控的细胞凋亡。因此,该研究为姜黄素用于临床肿瘤的治疗提供了一个新的依据,但与自噬和NF- κ B之间的详细机制仍需要进一步研究。

2.2.4 环氧化酶抑制剂: 塞来昔布(celecoxib)属于选择性抑制环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的非甾体类抗炎药,此药在临床上既用于治疗骨关节炎和关节风湿疼痛缓解,又用于家族性腺瘤性息肉病患者的化疗^[50,51]。塞来昔布在几种肿瘤模型中的主要机制包括诱导细胞周期停滞,细胞线粒体介导的通路,内质网应激和自噬,但在胃癌细胞中的详细作用与机制还没有得到充分的探讨^[52-55]。Liu等^[56]研究发现,塞来昔布可能参与抑制PI3K/Akt信号通路同时诱导胃癌细胞的凋亡和自噬,用塞来昔布处理的细胞可发现自噬小体和凋亡小体同时存在,并且Caspase8和Caspase9的信使RNA表达随时间和剂量显著增加,而Akt的信使RNA表达则降低。这些结果表明,塞来昔布通过PI3K/Akt信号途径诱发胃癌细胞自噬和凋亡的发生。这项研究的结果提供了塞来昔布抗肿瘤机制的新的理论基础,并提供了治疗癌症的新目标,虽然这些研究结果应该在今后的调查核实但是塞来昔布诱导细胞自噬和凋亡的具体机制以及凋亡与自噬之间的联系并未完全阐明,今后仍需深入研究。

3 结论

自噬调节可以通过多层次多路径的干扰来实现。

因此, 自噬调节特性的化合物的数量是巨大的, 而且这些不同化合物之间相互作用是不同的。由于肿瘤微环境的复杂性, 目前自噬调控剂对于肿瘤的治疗大多处于基础研究水平, 并且对于患者来说, 自噬水平的测量难度大, 因此自噬调节剂尚未进入临床病例研究。并且自噬靶向治疗胃癌刚刚起步, 有待于进一步探索自噬靶向治疗胃癌详细情况, 最终促进胃癌治疗新方法的诞生。

4 参考文献

- Gewirtz DA. The four faces of autophagy: implications for cancer therapy. *Cancer Res* 2014; 74: 647-651 [PMID: 24459182 DOI: 10.1158/0008-5472]
- Ziparo E, Petrungaro S, Marini ES, Starace D, Conti S, Facchiano A, Filippini A, Giampietri C. Autophagy in prostate cancer and androgen suppression therapy. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 12090-12106 [PMID: 23743823 DOI: 10.3390/ijms140612090]
- Chaachouay H, Ohneseit P, Toulany M, Kehlbach R, Multhoff G, Rodemann HP. Autophagy contributes to resistance of tumor cells to ionizing radiation. *Radiother Oncol* 2011; 99: 287-292 [PMID: 21722986 DOI: 10.1016/j.radonc.2011.06.002]
- Li X, Lu Y, Pan T, Fan Z. Roles of autophagy in cetuximab-mediated cancer therapy against EGFR. *Autophagy* 2010; 6: 1066-1077 [PMID: 20864811 DOI: 10.4161/auto.6.8.13366]
- Goldberg SB, Supko JG, Neal JW, Muzikansky A, Digumarthy S, Fidias P, Temel JS, Heist RS, Shaw AT, McCarthy PO, Lynch TJ, Sharma S, Settleman JE, Sequist LV. A phase I study of erlotinib and hydroxychloroquine in advanced non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7: 1602-1608 [PMID: 22878749 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318262de4a]
- Jiang PD, Zhao YL, Shi W, Deng XQ, Xie G, Mao YQ, Li ZG, Zheng YZ, Yang SY, Wei YQ. Cell growth inhibition, G2/M cell cycle arrest, and apoptosis induced by chloroquine in human breast cancer cell line Bcap-37. *Cell Physiol Biochem* 2008; 22: 431-440 [PMID: 19088425 DOI: 10.1159/000185488]
- Cufí S, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Corominas-Faja B, Cuyàs E, López-Bonet E, Martin-Castillo B, Joven J, Menendez JA. The anti-malarial chloroquine overcomes primary resistance and restores sensitivity to trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *Sci Rep* 2013; 3: 2469 [PMID: 23965851 DOI: 10.1038/srep02469]
- Nagelkerke A, Sweep FC, Geurts-Moespot A, Bussink J, Span PN. Therapeutic targeting of autophagy in cancer. Part I: Molecular pathways controlling autophagy. *Semin Cancer Biol* 2014 May 29. [Epub ahead of print] [PMID: 24879905 DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.05.004]
- Guan JL, Simon AK, Prescott M, Menendez JA, Liu F, Wang F, Wang C, Wolvetang E, Vazquez-Martin A, Zhang J. Autophagy in stem cells. *Autophagy* 2013; 9: 830-849 [PMID: 23486312 DOI: 10.4161/auto.24132]
- Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, Harper JW. Network organization of the human autophagy system. *Nature* 2010; 466: 68-76 [PMID: 20562859 DOI: 10.1038/nature09204]
- Liu B, Wen X, Cheng Y. Survival or death: disequilibrating the oncogenic and tumor suppressive autophagy in cancer. *Cell Death Dis* 2013; 4: e892 [PMID: 24176850 DOI: 10.1038/cddis.2013.422]
- Greenfield LK, Jones NL. Modulation of autophagy by *Helicobacter pylori* and its role in gastric carcinogenesis. *Trends Microbiol* 2013; 21: 602-612 [PMID: 24156875 DOI: 10.1016/j.tim.2013.09.004]
- Rebecca VW, Massaro RR, Fedorenko IV, Sondak VK, Anderson AR, Kim E, Amaravadi RK, Maria-Engler SS, Messina JL, Gibney GT, Kudchadkar RR, Smalley KS. Inhibition of autophagy enhances the effects of the AKT inhibitor MK-2206 when combined with paclitaxel and carboplatin in BRAF wild-type melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2014; 27: 465-478 [PMID: 24490764 DOI: 10.1111/pcmr.12227]
- Liu Q, Luo XY, Jiang H, Yang MH, Yuan GH, Tang Z, Wang H. Hydroxychloroquine facilitates autophagosome formation but not degradation to suppress the proliferation of cervical cancer SiHa cells. *Oncol Lett* 2014; 7: 1057-1062 [PMID: 24944668]
- Liu D, Yang Y, Liu Q, Wang J. Inhibition of autophagy by 3-MA potentiates cisplatin-induced apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Med Oncol* 2011; 28: 105-111 [PMID: 20041317 DOI: 10.1007/s12032-009-9397-3]
- Travelli C, Drago V, Maldi E, Kaludercic N, Galli U, Boldorini R, Di Lisa F, Tron GC, Canonico PL, Genazzani AA. Reciprocal potentiation of the antitumoral activities of FK866, an inhibitor of nicotinamide phosphoribosyltransferase, and etoposide or cisplatin in neuroblastoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 829-840 [PMID: 21685314 DOI: 10.1124/jpet.111.184630]
- Nagelkerke A, Bussink J, Geurts-Moespot A, Sweep FC, Span PN. Therapeutic targeting of autophagy in cancer. Part II: Pharmacological modulation of treatment-induced autophagy. *Semin Cancer Biol* 2014 Jun 14. [Epub ahead of print] [PMID: 24933034 DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.06.001]
- Xie ZG, Xie Y, Dong QR. Inhibition of the mammalian target of rapamycin leads to autophagy activation and cell death of MG63 osteosarcoma cells. *Oncol Lett* 2013; 6: 1465-1469 [PMID: 24179542]
- Liu H, Scholz C, Zang C, Scheffe JH, Habel P, Regierer AC, Schulz CO, Possinger K, Eucker J. Metformin and the mTOR inhibitor everolimus (RAD001) sensitize breast cancer cells to the cytotoxic effect of chemotherapeutic drugs in vitro. *Anticancer Res* 2012; 32: 1627-1637 [PMID: 22593441]
- Maes H, Kuchnio A, Peric A, Moens S, Nys K, De Bock K, Quaegebeur A, Schoors S, Georgiadou M, Wouters J, Vinckier S, Vankelecom H, Garmyn M, Vion AC, Radtke F, Boulanger C, Gerhardt H, Dejana E, Dewerchin M, Ghesquière B, Annaert W, Agostinis P, Carmeliet P. Tumor vessel normalization by chloroquine independent of autophagy. *Cancer Cell* 2014; 26: 190-206 [PMID: 25117709 DOI: 10.1016/j.ccr.2014.06.025]
- Maycotte P, Aryal S, Cummings CT, Thorburn J, Morgan MJ, Thorburn A. Chloroquine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy independent of autophagy. *Autophagy* 2012; 8: 200-212 [PMID:

应用要点
通过研制各种自噬抑制剂或诱导剂, 为胃癌的靶向治疗提供新策略。

同行评价

本文综述了抑制剂和诱导剂调控细胞自噬方法来互补治疗胃癌, 对我们了解细胞自噬与胃癌治疗有一定帮助。

- 22252008 DOI: 10.4161/auto.8.2.18554]
- 22 Zhang HQ, He B, Fang N, Lu S, Liao YQ, Wan YY. Autophagy inhibition sensitizes cisplatin cytotoxicity in human gastric cancer cell line SGC7901. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 4685-4688 [PMID: 24083726]
- 23 Liu H, He Z, Simon HU. Targeting autophagy as a potential therapeutic approach for melanoma therapy. *Semin Cancer Biol* 2013; 23: 352-360 [PMID: 23831275 DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.06.008]
- 24 Li Y, Zhang J, Ma H, Chen X, Liu T, Jiao Z, He W, Wang F, Liu X, Zeng X. Protective role of autophagy in matrine induced gastric cancer cell death. *Int J Oncol* 2013; 42: 1417-1426 [PMID: 23404079 DOI: 10.3892/ijo.2013.1817]
- 25 Humbert M, Medová M, Aebersold DM, Blaukat A, Bladt F, Fey MF, Zimmer Y, Tschan MP. Protective autophagy is involved in resistance towards MET inhibitors in human gastric adenocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 431: 264-269 [PMID: 23313490 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.12.120]
- 26 Liu J, Zhang Y, Qu J, Xu L, Hou K, Zhang J, Qu X, Liu Y. β -Elemene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis. *BMC Cancer* 2011; 11: 183 [PMID: 21595977 DOI: 10.1186/1471-2407-11-183]
- 27 Seront E, Boidot R, Bouzin C, Karroum O, Jordan BF, Gallez B, Machiels JP, Feron O. Tumour hypoxia determines the potential of combining mTOR and autophagy inhibitors to treat mammary tumours. *Br J Cancer* 2013; 109: 2597-2606 [PMID: 24157830 DOI: 10.1038/bjc.2013.644]
- 28 Gardner EE, Connis N, Poirier JT, Cope L, Dobromilskaya I, Gallia GL, Rudin CM, Hann CL. Rapamycin rescues ABT-737 efficacy in small cell lung cancer. *Cancer Res* 2014; 74: 2846-2856 [PMID: 24614082 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3460]
- 29 Hashimoto I, Koizumi K, Tatematsu M, Minami T, Cho S, Takeno N, Nakashima A, Sakurai H, Saito S, Tsukada K, Saiki I. Blocking on the CXCR4/mTOR signalling pathway induces the anti-metastatic properties and autophagic cell death in peritoneal disseminated gastric cancer cells. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1022-1029 [PMID: 18375114 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.02.043]
- 30 Yu G, Wang J, Chen Y, Wang X, Pan J, Li G, Jia Z, Li Q, Yao JC, Xie K. Overexpression of phosphorylated mammalian target of rapamycin predicts lymph node metastasis and prognosis of chinese patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1821-1829 [PMID: 19223493 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2138]
- 31 Park K, Kim HJ, Lee JL, Lee KH, Jeong IG, Song C, Hong BS, Hong J, Kim CS, Ahn H. Changes in the Diffusion Capacity for Carbon Monoxide and the Development of Non-infectious Pneumonitis in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Everolimus. *Anticancer Res* 2014; 34: 5723-5728 [PMID: 25275080]
- 32 Noguchi S, Masuda N, Iwata H, Mukai H, Horiguchi J, Puttawibul P, Srimuninnimit V, Tokuda Y, Kuroi K, Iwase H, Inaji H, Ohsumi S, Noh WC, Nakayama T, Ohno S, Rai Y, Park BW, Panneerselvam A, El-Hashimy M, Taran T, Sahmoud T, Ito Y. Efficacy of everolimus with exemestane versus exemestane alone in Asian patients with HER2-negative, hormone-receptor-positive breast cancer in BOLERO-2. *Breast Cancer* 2014; 21: 703-714 [PMID: 23404211 DOI: 10.1007/s12282-013-0444-8]
- 33 Yao JC, Phan AT, Jehl V, Shah G, Meric-Bernstam F. Everolimus in advanced pancreatic neuroendocrine tumors: the clinical experience. *Cancer Res* 2013; 73: 1449-1453 [PMID: 23436795 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3923]
- 34 Chinnaiyan P, Won M, Wen PY, Rojiani AM, Wendland M, Dipetrillo TA, Corn BW, Mehta MP. RTOG 0913: a phase 1 study of daily everolimus (RAD001) in combination with radiation therapy and temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 86: 880-884 [PMID: 23725999 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2013.04.036]
- 35 Tanaka C, O'Reilly T, Kovarik JM, Shand N, Hazell K, Judson I, Raymond E, Zumstein-Mecker S, Stephan C, Boulay A, Hattenberger M, Thomas G, Lane HA. Identifying optimal biologic doses of everolimus (RAD001) in patients with cancer based on the modeling of preclinical and clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic data. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1596-1602 [PMID: 18332467 DOI: 10.1200/JCO.2007.14.1127]
- 36 Ji D, Zhang Z, Cheng L, Chang J, Wang S, Zheng B, Zheng R, Sun Z, Wang C, Zhang Z, Liu R, Zhang X, Liu X, Wang X, Li J. The combination of RAD001 and MK-2206 exerts synergistic cytotoxic effects against PTEN mutant gastric cancer cells: involvement of MAPK-dependent autophagic, but not apoptotic cell death pathway. *PLoS One* 2014; 9: e85116 [PMID: 24416349 DOI: 10.1371/journal.pone.0085116]
- 37 Xu DZ, Geng QR, Tian Y, Cai MY, Fang XJ, Zhan YQ, Zhou ZW, Li W, Chen YB, Sun XW, Guan YX, Li YF, Lin TY. Activated mammalian target of rapamycin is a potential therapeutic target in gastric cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 536 [PMID: 20929525 DOI: 10.1186/1471-2407-10-536]
- 38 Hu C, Zou MJ, Zhao L, Lu N, Sun YJ, Gou SH, Xi T, Guo QL. E Platinum, a newly synthesized platinum compound, induces autophagy via inhibiting phosphorylation of mTOR in gastric carcinoma BGC-823 cells. *Toxicol Lett* 2012; 210: 78-86 [PMID: 22322152 DOI: 10.1016/j.toxlet.2012.01.019]
- 39 Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 85-95 [PMID: 21258394 DOI: 10.1038/nrc2981]
- 40 Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13: 132-141 [PMID: 21258367 DOI: 10.1038/ncb2152]
- 41 Skrtić M, Sriskanthadevan S, Jhas B, Gebbia M, Wang X, Wang Z, Hurren R, Jitkova Y, Gronda M, Maclean N, Lai CK, Eberhard Y, Bartoszek J, Spagnuolo P, Rutledge AC, Datti A, Ketela T, Moffat J, Robinson BH, Cameron JH, Wrana J, Eaves CJ, Minden MD, Wang JC, Dick JE, Humphries K, Nislow C, Gilever G, Schimmer AD. Inhibition of mitochondrial translation as a therapeutic strategy for human acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2011; 20: 674-688 [PMID: 22094260 DOI: 10.1016/j.ccr.2011.10.015]
- 42 Tang C, Yang L, Jiang X, Xu C, Wang M, Wang Q,

- Zhou Z, Xiang Z, Cui H. Antibiotic drug tigecycline inhibited cell proliferation and induced autophagy in gastric cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 446: 105-112 [PMID: 24582751 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.043]
- 43 Hung TM, Na M, Thuong PT, Su ND, Sok D, Song KS, Seong YH, Bae K. Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of *Dipsacus asper* Wall. *J Ethnopharmacol* 2006; 108: 188-192 [PMID: 16809011]
- 44 Jung HW, Jung JK, Son KH, Lee DH, Kang TM, Kim YS, Park YK. Inhibitory effects of the root extract of *Dipsacus asperoides* C.Y. Cheng et al T.M.Ai on collagen-induced arthritis in mice. *J Ethnopharmacol* 2012; 139: 98-103 [PMID: 22041103 DOI: 10.1016/j.jep.2011.10.020]
- 45 Liu ZG, Zhang R, Li C, Ma X, Liu L, Wang JP, Mei QB. The osteoprotective effect of *Radix Dipsaci* extract in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol* 2009; 123: 74-81 [PMID: 19429343 DOI: 10.1016/j.jep.2009.02.025]
- 46 Xu MY, Lee DH, Joo EJ, Son KH, Kim YS. Akebia saponin PA induces autophagic and apoptotic cell death in AGS human gastric cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2013; 59: 703-708 [PMID: 23850994 DOI: 10.1016/j.fct.2013.06.059]
- 47 Ishaq M, Khan MA, Sharma K, Sharma G, Dutta RK, Majumdar S. Gambogic acid induced oxidative stress dependent caspase activation regulates both apoptosis and autophagy by targeting various key molecules (NF- κ B, Beclin-1, p62 and NBR1) in human bladder cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840: 3374-3384 [PMID: 25218692 DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.08.019]
- 48 Zhu BS, Xing CG, Lin F, Fan XQ, Zhao K, Qin ZH. Blocking NF- κ B nuclear translocation leads to p53-related autophagy activation and cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 478-487 [PMID: 21274377 DOI: 10.3748/wjg.v17.i4.478]
- 49 邓淑文, 殷清华, 苏琦, 庄英帆. 姜黄素诱导人胃癌 SGC7901 细胞自噬性凋亡的研究. *中国现代医学杂志* 2012; 31: 30-35
- 50 Shi S, Klotz U. Clinical use and pharmacological properties of selective COX-2 inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 233-252 [PMID: 17999057]
- 51 Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, Wakabayashi N, Saunders B, Shen Y, Fujimura T, Su LK, Levin B, Godio L, Patterson S, Rodriguez-Bigas MA, Jester SL, King KL, Schumacher M, Abbruzzese J, DuBois RN, Hittelman WN, Zimmerman S, Sherman JW, Kelloff G. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1946-1952 [PMID: 10874062]
- 52 Wang YJ, Niu XP, Yang L, Han Z, Ma YJ. Effects of celecoxib on cycle kinetics of gastric cancer cells and protein expression of cytochrome C and caspase-9. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2343-2347 [PMID: 23725138]
- 53 Suzuki K, Gerelchuluun A, Hong Z, Sun L, Zenkoh J, Moritake T, Tsuboi K. Celecoxib enhances radiosensitivity of hypoxic glioblastoma cells through endoplasmic reticulum stress. *Neuro Oncol* 2013; 15: 1186-1199 [PMID: 23658321 DOI: 10.1093/neuonc/not062]
- 54 Gao M, Yeh PY, Lu YS, Hsu CH, Chen KF, Lee WC, Feng WC, Chen CS, Kuo ML, Cheng AL. OSU-03012, a novel celecoxib derivative, induces reactive oxygen species-related autophagy in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 9348-9357 [PMID: 19010909 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1642]
- 55 Huang KH, Kuo KL, Ho IL, Chang HC, Chuang YT, Lin WC, Lee PY, Chang SC, Chiang CK, Pu YS, Chou CT, Hsu CH, Liu SH. Celecoxib-induced cytotoxic effect is potentiated by inhibition of autophagy in human urothelial carcinoma cells. *PLoS One* 2013; 8: e82034 [PMID: 24349176 DOI: 10.1371/journal.pone.0082034]
- 56 Liu M, Li CM, Chen ZF, Ji R, Guo QH, Li Q, Zhang HL, Zhou YN. Celecoxib regulates apoptosis and autophagy via the PI3K/Akt signaling pathway in SGC-7901 gastric cancer cells. *Int J Mol Med* 2014; 33: 1451-1458 [PMID: 24676394 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1713]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



Visfatin、锌- α 2糖蛋白在NAFLD发病机制中的研究进展

陈 韵, 李昌平

背景资料
随着肥胖及其相关代谢综合征全球化的流行趋势, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)现已成为欧美等发达国家和我国富裕地区慢性肝病的重要病因。目前NAFLD其发病机制尚不完全清楚, 可能是遗传环境、代谢应激等所致。

陈韵, 李昌平, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

陈韵, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由陈韵撰写; 李昌平审校。

通讯作者: 李昌平, 教授, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 506854209@qq.com

电话: 0830-3161276

收稿日期: 2014-10-11 修回日期: 2014-11-11

接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-08

Role of visfatin and zinc- α 2-glycoprotein in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease

Yun Chen, Chang-Ping Li

Yun Chen, Chang-Ping Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Chang-Ping Li, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 506854209@qq.com

Received: 2014-10-11 Revised: 2014-11-11

Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-08

Abstract

Visfatin is a novel adipokine which was discovered in 2005 by Fukuhara. Visfatin is highly enriched in the visceral fat of humans and mice with obesity, which was previously called pre-B-cell colony-enhancing factor, and exhibits nicotinamide phosphoribosyl transferase enzymatic activity. Visfatin regulates insulin secretion in pancreatic β cells. Visfatin is not only an adipocyte-specific protein, and it has a close relation with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Zinc- α 2-glycoprotein (ZAG), which is identical to the previously named lipid-mobilising factor, is a single-chain polypeptide. It is secreted by both brown and white adipocytes. ZAG possibly functions as a novel protein factor responsible for the decomposition of tissue lipids. ZAG also has a close relationship with NAFLD. This paper will review the advances in understanding the role of visfatin and ZAG in the pathogenesis of NAFLD.

同行评议者
陈国凤, 主任医师, 中国人民解放军第302医院感染七科

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Visfatin; Zinc- α 2-glycoprotein; Non-alcoholic fatty liver disease

Chen Y, Li CP. Role of visfatin and zinc- α 2-glycoprotein in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 58-63 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/58.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.58>

摘要

内脏脂肪素(visfatin)是一种新的脂肪因子, 于2005年被Fukuhara等发现高度富集在人类和小鼠的内脏脂肪, 之前被称为前B细胞集落增强因子(pre-B-cell colony-enhancing factor, PBEF), 表现出烟酰胺磷酸酶(nicotinamide phosphoribosyl transferase, Nampt)的活性, 并具有调节 β 细胞分泌胰岛素作用, 研究显示其与非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)有密切的关系; 锌- α 2糖蛋白(zinc- α 2-glycoprotein, ZAG)是一种从人类血浆中分离出来的单链多肽, 以前称为脂质动员因子(lipid-mobilising factor, LMF), 他是由褐色和白色脂肪细胞分泌的脂肪因子。ZAG可能作为一种新的蛋白因子在组织内影响脂质的分解, 同时其与非酒精性脂肪性肝病也有着密切关系。本文综述了visfatin、ZAG在NAFLD发病机制中作用研究进展。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内脏脂肪素; 锌- α 2糖蛋白; 非酒精性脂肪性肝病

核心提示: 内脏脂肪素(visfatin)及锌- α 2糖蛋白(zinc- α 2-glycoprotein, ZAG)在非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)具体机制仍未阐明。Visfatin可能是病态肥胖和脂肪肝病相关的分子, 促使肝脏细胞脂肪变性导致NAFLD的发生; ZAG可能为NAFLD保护因子, 其机制可能是通过影响体内脂质代谢。

陈韵, 李昌平. Visfatin、锌- α 2糖蛋白在NAFLD发病机制中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 58-63 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/58.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.58>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征, 包括单纯性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)及其相关脂肪性肝纤维化、肝硬化^[1-4]. 随着肥胖及其相关代谢综合征全球化的流行趋势, NAFLD现已成为欧美等发达国家和我国富裕地区慢性肝病的重要病因^[5,6]. 目前NAFLD其发病机制尚不完全清楚, 可能是遗传环境、代谢应激等所致^[7,8]. 国内外已有较多内脏脂肪素(visfatin)及锌- α 2糖蛋白(zinc- α 2-glycoprotein, ZAG)与NAFLD发病关系的研究, 期望探讨visfatin及ZAG在NAFLD发病中的关系, 本文就visfatin、ZAG在NAFLD发病机制中作用研究进展作一综述.

1 Visfatin

2005年Fukuhara等^[9]使用差异显示方法, 检测到一种RNA丰富地表达于内脏脂肪, 从而分离出了一种新的脂肪因子, 称为内脏脂肪素, 之前被称为前B细胞集落增强因子(pre-B-cell colony enhancing factor, PBEF), 是一种生物物种中广泛存在的高度保守的蛋白质^[10].

1.1 Visfatin分布、结构 通过Western印迹法分析细胞内visfatin蛋白在小鼠体内的组织分布, 所检验的组织中, 棕色脂肪组织、肝脏、肾脏呈最高水平的visfatin蛋白表达, 心脏呈visfatin中间水平, 白色脂肪组织、肺、脾、睾丸、肌肉显示非常低的visfatin水平, 而visfatin在大脑和胰腺水平几乎不可检测^[11]. Visfatin的晶体结构是一种同源二聚体蛋白, 该二聚体蛋白各亚基由十段组成二聚体接口, 总表面积为80772 Å²(其中1 Å = 0.1 nm)^[12,13]. 每个单体由491残基形成, 包括19个 β -链和13个 α -螺旋, 并被分为两个结构域, 第一结构域被布置成7链反平行 β 片层, 2条反平行 β -链和一个 α -螺旋束, 而第二个结构域则是另一种经典的(β/α)8-筒折叠式^[13].

1.2 Visfatin的功能 在3T3-L1和3T3-F442A细胞, visfatin诱导脂肪细胞分化及前脂肪细胞甘油三酯积累和加速甘油三酯合成葡萄糖. Visfatin治疗也诱导脂肪标志物如脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)和脂联素的表达^[9]. 对成骨细胞而言visfatin是一类胰岛素活性的生长因子^[14]. 循环visfatin表现出烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的生物合成的活性^[11]. 在生理和病理条件下, 循环visfatin可能通过维持循环烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)水平, 调节胰岛 β 细胞功能^[15,16]. Visfatin是炎症的重要介质, 能通过p38, 磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)1/2途径诱导单核细胞趋化蛋白-1的产生^[17], 重组visfatin在人类单核细胞剂量依赖性诱导促炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α), 白介素(interleukin, IL)-6以及抗炎因子如IL-10、IL-1受体拮抗剂. 小鼠腹腔注射重组visfatin显著增加循环IL-6水平和IL-6 mRNA在小肠的表达^[18].

1.3 Visfatin表达及调控 Visfatin的编码基因位于7号染色体的长臂7q22.1和7q31.33之间, 长37.4 kb, 包含11个外显子, 和10个内显子^[19], 编码491个氨基酸组成的52 kDa的分子量的多肽. 最近, 我国学者Li等^[20]首次成功克隆了鸡visfatin基因. Berndt等^[21]研究163名不同肥胖程度、身体脂肪的分布、胰岛素敏感性和葡萄糖耐受性试者血浆内脏脂肪素浓度, 发现血清visfatin浓度与体质量指数(body mass index, BMI)和身体脂肪含量显著相关, 但与腰围或腰臀比关系不大. 内脏visfatin与体质量指数、体脂肪百分比、腰围的表达之间显著正相关. Visfatin的血清浓度与内脏visfatin呈正相关性和皮下visfatin的表达呈负相关^[22,23]. 同时内脏visfatin的表达与空腹胰岛素浓度相关, 但胰岛素敏感性的存在对循环visfatin无明显影响. 通过逆转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)定量测定, 地塞米松增加了3T3-L1细胞visfatin表达, 用100 nmol/L的地塞米松治疗16 h显著增加约1.5倍visfatin mRNA表达, 而生长激素、肿瘤坏死因子和异丙肾上腺素表达减少3T3-L1细胞visfatin表达, 500 ng/mL的生长激素、10 ng/mL的TNF α 和10 μ mol/L异丙肾

研发前沿
内脏脂肪素(visfatin)是一种新的脂肪因子, 具有调节 β 细胞分泌胰岛素作用, 研究显示其与NAFLD有密切的关系; 锌- α 2糖蛋白(zinc- α 2-glycoprotein, ZAG)是一种从人类血浆中分离出来的单链多肽, 可能作为一种新的蛋白因子在组织内影响脂质的分解, 同时其与NAFLD也有着密切关系.

相关报道

2005年Fukuhara等分离出了一种新的脂肪因子,称为visfatin, Jarrar等研究发现相比非肥胖组,肥胖组血清visfatin水平显著增高, NASH患者visfatin水平低于SS患者和肥胖者;肖新华等检测NAFLD模型小鼠及正常小鼠肝脏ZAG mRNA的水平,发现前者低于后者。

上腺素16 h, visfatin表达分别降为45%、36%和43%^[24]。同时30 ng/mL IL-6使用4 h后显著下调40%内脏脂肪素合成^[25]。JAZF1(juxtaposed with another zinc finger protein 1)可能活化visfatin的转录表达^[26]。

1.4 Visfatin在NAFLD发病中的作用 相较于正常对照组, NAFLD组血清visfatin浓度显著增高^[27-29]。Jarrar等^[30]研究95例患者(NASH患者26例, 单纯性脂肪病患者19例, 肥胖无NAFLD患者38例, 非肥胖无肝病患者12例), 通过酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中visfatin水平, 相比非肥胖组, 肥胖组血清visfatin水平显著增高, NASH患者的visfatin水平低于SS患者和肥胖者^[31], 大鼠实验可见类似规律^[32,33]。根据多变量分析, TNF- α 与NAFLD患者正相关, 但与visfatin水平相互依存。同时不同NAFLD病理组IL-6和visfatin水平相关, 可能由于正、负反馈回路的存在^[30]。Visfatin诱导人CD14⁺单核细胞产生IL-6, 而IL-6在3T3-L1脂肪细胞对visfatin基因表达负调控^[34]。两者相互作用促进了前脂肪细胞的分化成熟同时加重胰岛素抵抗(insulin resistance, IR), 反过来IR时的高胰岛素血症又促使了visfatin和IL-6水平的增高, 进一步促使肝脏细胞脂肪变性导致NAFLD的发生。另一方面, visfatin还可促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生^[35], 导致脂肪肝发生炎症、坏死和纤维化。但Genc等^[36]发现相比健康对照组NAFLD组患者visfatin水平差异无统计学意义。

2 ZAG

ZAG以前称为脂质动员因子(lipid-mobilising factor, LMF), 他由脂肪细胞及上皮细胞分泌^[37]。在某些恶性肿瘤中过度表达, 也被作为肿瘤标志物^[38,39]。

2.1 ZAG的结构及功能 ZAG是MHC I类样蛋白折叠脂肪因子。ZAG在靠近 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 螺旋槽包含一个强结合锌离子。紫外线和荧光光谱检测弱的锌结合完整ZAG, 他可以连接多达15个锌离子^[40]。在体内, ZAG快速诱导小鼠减少身体脂肪和增加血清自由脂肪酸水平。在体外, ZAG剂量依赖性刺激小鼠脂肪细胞脂肪分解。 $\beta 3$ -肾上腺素受体拮抗剂能减弱ZAG的脂解作用, 表明ZAG活性是通过肾上腺素 $\beta 3$ 受体介导上调cAMP途径^[41]。此外, 在HepG2细胞中ZAG以剂量依赖的方式诱导脂解作用^[42]。ZAG刺

激细胞增殖和抑制3T3-L1小鼠前脂肪细胞分化, 后者可能是PPAR γ 、C/EBP α 和脂肪生成的FAS表达的衰减的结果^[43]。ZAG导致AMPK α 和ACC磷酸化, 从而激活能量代谢的调节途径核心部分^[44]。

2.2 ZAG表达及调控 ZAG在3T3-L1分化时表达增加, 分化第10天达到高峰。将3T3-L1细胞在含有 $\beta 3$ -肾上腺素拮抗剂BRL37344的培养基培养24 h, 通过RT-PCR定量发现, 相对于未经处理的细胞BRL37344治疗导致了3.3倍的ZAG mRNA水平。在3T3-L1脂肪细胞用地塞米松(20 nmol/L)培养24 h, 造成了近5倍的ZAG mRNA水平显著增加^[38]。体外(HepG2细胞中)实验表明甲状腺激素以剂量依赖的方式上调ZAG的产生; 体内(C57BL6/小鼠)实验证实了甲状腺激素诱导上调肝脏ZAG。然而, 甲状腺激素没有调节人或小鼠脂肪细胞ZAG的产生^[42]。ZAG血浆水平与胰岛素负相关, 与胰岛素抵抗指数的稳态模型评估相关。与体型消瘦者相比, 超重和肥胖者血浆ZAG的表达显著降低。血浆ZAG主要受脂联素mRNA表达和血浆甘油三酯水平的影响。内脏ZAG表达主要受脂联素的表达和激素敏感性甘油三酯(hormone-sensitive triglyceride lipase, HSL)水平影响^[45]。

2.3 ZAG在NAFLD发病中的作用 Gong等^[46]研究发现肥胖小鼠模型中脂肪组织ZAG表达减少。反之, 诱导肥胖小鼠ZAG过表达, 其脂肪组织明显减少, 体质量明显减轻, 肖新华等^[47]通过荧光定量聚合酶链反应检测NAFLD模型小鼠及正常小鼠肝脏ZAG mRNA的水平, 发现前者低于后者, 第8周时NAFLD模型小鼠肝脏ZAG mRNA表达水平最低。ZAG表达减少可能与TNF- α 表达增加有关^[48]。ZAG通过调节脂类代谢关键酶FAS的活性, 维持肝脂类代谢的平衡^[46]。肝ZAG表达下降以后, 脂类分解通路中乙酰辅酶A羧化酶2(acetyl-coa carboxylase 2, ACC2)和脂酸 β 氧化的肉毒碱棕榈酰转移酶(carnitine palmitoyl transferase 1, CPT1)活性受抑制, 而脂类合成通路中, 乙酰辅酶A羧化酶1(acetyl-coa carboxylase 1, ACC1)和苹果酸酶(malic enzyme, ME)活性增强^[49], 引起肝脂代谢紊乱, 使脂肪在肝过度蓄积, 导致肝脂肪变性, 从而形成NAFLD。但Yilmaz等^[50]认为NAFLD患者与健康对照组相比血清ZAG浓度没有差异。

3 结论

国内外虽有较多研究, 但visfatin及ZAG在NAFLD具体机制仍未阐明。Visfatin可能是病态肥胖和脂肪肝疾病相关的分子, 促使肝脏细胞脂肪变性导致NAFLD的发生; ZAG可能为NAFLD保护因子, 其机制可能是通过影响体内脂质代谢。未来仍需更多研究来证实visfatin和ZAG对NAFLD的致病和病变发展的影响, 对他们在NAFLD中的作用机制的深入研究, 将有利于为NAFLD等疾病的治疗提供新的作用靶点及理论依据, 成为解决这系列健康问题的新途径。

4 参考文献

- 1 Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 195-203 [PMID: 20195271 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.21]
- 2 Lam B, Younossi ZM. Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 121-137 [PMID: 21180596 DOI: 10.1177/1756283x09359964]
- 3 Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 155-161 [PMID: 20460905 DOI: 10.1159/000282080]
- 4 Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S4-S8 [PMID: 19381118]
- 5 Fan JG. [Advances in research on nonalcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2008; 16: 801-803 [PMID: 19032857]
- 6 Fan JG, Saibara T, Chitturi S, Kim BI, Sung JJ, Chutaputti A. What are the risk factors and settings for non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific? *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 794-800 [PMID: 17498218]
- 7 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1038-1041
- 8 Nannipieri M, Gonzales C, Baldi S, Posadas R, Williams K, Haffner SM, Stern MP, Ferrannini E. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: the Mexico City diabetes study. *Diabetes Care* 2005; 28: 1757-1762 [PMID: 15983331]
- 9 Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005; 307: 426-430 [PMID: 15604363]
- 10 Ray A. Adipokine leptin in obesity-related pathology of breast cancer. *J Biosci* 2012; 37: 289-294 [PMID: 22581334]
- 11 Revollo JR, Körner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, Dasgupta B, Sasaki Y, Wolberger C, Townsend RR, Milbrandt J, Kiess W, Imai S. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* 2007; 6: 363-375 [PMID: 17983582]
- 12 Wang T, Zhang X, Bheda P, Revollo JR, Imai S, Wolberger C. Structure of Nampt/PBEF/visfatin, a mammalian NAD⁺ biosynthetic enzyme. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13: 661-662 [PMID: 16783373]
- 13 Kim MK, Lee JH, Kim H, Park SJ, Kim SH, Kang GB, Lee YS, Kim JB, Kim KK, Suh SW, Eom SH. Crystal structure of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1/nicotinamide phosphoribosyltransferase, free and in complex with the anti-cancer agent FK-866. *J Mol Biol* 2006; 362: 66-77 [PMID: 16901503]
- 14 Xie H, Tang SY, Luo XH, Huang J, Cui RR, Yuan LQ, Zhou HD, Wu XP, Liao EY. Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts. *Calcif Tissue Int* 2007; 80: 201-210 [PMID: 17340225]
- 15 Tanaka T, Nabeshima Y. Nampt/PBEF/Visfatin: a new player in beta cell physiology and in metabolic diseases? *Cell Metab* 2007; 6: 341-343 [PMID: 17983577]
- 16 Revollo JR, Grimm AA, Imai S. The regulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis by Nampt/PBEF/visfatin in mammals. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 164-170 [PMID: 17268245]
- 17 Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, Liu DQ. Visfatin stimulates production of monocyte chemotactic protein-1 and interleukin-6 in human vein umbilical endothelial cells. *Horm Metab Res* 2009; 41: 281-286 [PMID: 19009499 DOI: 10.1055/s-0028-1102914]
- 18 Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, Tilg H. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol* 2007; 178: 1748-1758 [PMID: 17237424]
- 19 Jia SH, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, Rotstein OD, Marshall JC. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest* 2004; 113: 1318-1327 [PMID: 15124023]
- 20 Li J, Meng F, Song C, Wang Y, Leung FC. Characterization of chicken visfatin gene: cDNA cloning, tissue distribution, and promoter analysis. *Poult Sci* 2012; 91: 2885-2894 [PMID: 23091147 DOI: 10.3382/ps.2012-02315]
- 21 Berndt J, Klötting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, Stumvoll M, Blüher M. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 2005; 54: 2911-2916 [PMID: 16186392]
- 22 Haider DG, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1578-1581 [PMID: 16449335]
- 23 Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 295-299 [PMID: 16234302]
- 24 Kralisch S, Klein J, Lossner U, Blüher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol* 2005; 185: R1-R8 [PMID: 15930160]

创新盘点

国内外已有较多visfatin及ZAG与NAFLD发病关系的研究, 期望探讨visfatin及ZAG在NAFLD发病中的关系, 本文就visfatin、ZAG在NAFLD发病机制中作用研究进展作一综述。

应用要点
未来仍需更多研究来证实visfatin和ZAG对NAFLD的致病和病变发展的影响, 对他们在NAFLD中的作用机制的深入研究, 将有利于为NAFLD等疾病的治疗提供新的作用靶点及理论依据, 成为解决这系列健康问题的新途径。

- 25 Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Interleukin-6 is a negative regulator of visfatin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289: E586-E590 [PMID: 15899942]
- 26 Ming GF, Li X, Yin JY, Ai YH, Xu DM, Ma XH, Liu ZY, Liu HX, Zhou HH, Liu ZQ. JAZF1 regulates visfatin expression in adipocytes via PPAR α and PPAR β/δ signaling. *Metabolism* 2014; 63: 1012-1021 [PMID: 24930994 DOI: 10.1016/j.metabol.2014.05.006]
- 27 Wen H, Wang HJ, Dong B, Ma J. [Relationship between serum visfatin level and children and adolescent obesity and non-alcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2012; 33: 269-272 [PMID: 22613376]
- 28 Auguet T, Terra X, Porras JA, Orellana-Gavaldà JM, Martínez S, Aguilar C, Lucas A, Pellitero S, Hernández M, Del Castillo D, Richart C. Plasma visfatin levels and gene expression in morbidly obese women with associated fatty liver disease. *Clin Biochem* 2013; 46: 202-208 [PMID: 23174488 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.11.006]
- 29 Akbal E, Koçak E, Taş A, Yüksel E, Köklü S. Visfatin levels in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Lab Anal* 2012; 26: 115-119 [PMID: 22467327 DOI: 10.1002/jcla.21491]
- 30 Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodman Z, Chandhoke V, Younossi ZM. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 412-421 [PMID: 18081738]
- 31 Gaddipati R, Sasikala M, Padaki N, Mukherjee RM, Sekaran A, Jayaraj-Mansard M, Rabella P, Rao-Guduru V, Reddy-Duvvuru N. Visceral adipose tissue visfatin in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2010; 9: 266-270 [PMID: 20720266]
- 32 李笑岩, 曲洪林, 于振海, 刘蛟, 王利民, 白咸勇. 大鼠非酒精性脂肪性肝病发展过程中Visfatin水平及其相关因素分析. *中国药业* 2012; 21: 27-28
- 33 曲洪林, 白咸勇, 王东, 刘同慎, 李雅娜, 李笑岩. Visfatin在非酒精性脂肪性肝病发展过程中的表达及意义. *生命科学研究* 2012; 6: 511-515
- 34 Teoh N, Field J, Farrell G. Interleukin-6 is a key mediator of the hepatoprotective and proliferative effects of ischaemic preconditioning in mice. *J Hepatol* 2006; 45: 20-27 [PMID: 16600417]
- 35 Oita RC, Ferdinando D, Wilson S, Bunce C, Mazzatti DJ. Visfatin induces oxidative stress in differentiated C2C12 myotubes in an Akt- and MAPK-independent, NF κ B-dependent manner. *Pflugers Arch* 2010; 459: 619-630 [PMID: 19898975 DOI: 10.1007/s00424-009-0752-1]
- 36 Genc H, Dogru T, Kara M, Tapan S, Ercin CN, Acikel C, Karslioglu Y, Bagci S. Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2013; 12: 548-555 [PMID: 23813132]
- 37 Bing C, Mracek T, Gao D, Trayhurn P. Zinc- α 2-glycoprotein: an adipokine modulator of body fat mass? *Int J Obes (Lond)* 2010; 34: 1559-1565 [PMID: 20514048 DOI: 10.1038/ijo.2010.105]
- 38 Bing C, Bao Y, Jenkins J, Sanders P, Manieri M, Cinti S, Tisdale MJ, Trayhurn P. Zinc- α 2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2500-2505 [PMID: 14983038]
- 39 黄钟琳, 张波, 吴国豪. 锌- α 2-糖蛋白与胃癌及恶病质的相关性研究. *外科理论与实践* 2012; 2: 113-119
- 40 Kumar AA, Hati D, Thaker TM, Miah L, Cunningham P, Domene C, Bui TT, Drake AF, McDermott LC. Strong and weak zinc binding sites in human zinc- α 2-glycoprotein. *FEBS Lett* 2013; 587: 3949-3954 [PMID: 24188824 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.10.026]
- 41 Russell ST, Hirai K, Tisdale MJ. Role of beta3-adrenergic receptors in the action of a tumour lipid mobilizing factor. *Br J Cancer* 2002; 86: 424-428 [PMID: 11875710]
- 42 Simó R, Hernández C, Sáez-López C, Soldevila B, Puig-Domingo M, Selva DM. Thyroid hormone upregulates zinc- α 2-glycoprotein production in the liver but not in adipose tissue. *PLoS One* 2014; 9: e85753 [PMID: 24465683 DOI: 10.1371/journal.pone.0085753]
- 43 Zhu HJ, Ding HH, Deng JY, Pan H, Wang LJ, Li NS, Wang XQ, Shi YF, Gong FY. Inhibition of preadipocyte differentiation and adipogenesis by zinc- α 2-glycoprotein treatment in 3T3-L1 cells. *J Diabetes Investig* 2013; 4: 252-260 [PMID: 24843663 DOI: 10.1111/jdi.12046]
- 44 Eckardt K, Schöber A, Platzbecker B, Mracek T, Bing C, Trayhurn P, Eckel J. The adipokine zinc- α 2-glycoprotein activates AMP kinase in human primary skeletal muscle cells. *Arch Physiol Biochem* 2011; 117: 88-93 [PMID: 21457004 DOI: 10.3109/13813455.2011.560950]
- 45 Ceperuelo-Mallafre V, Näf S, Escoté X, Caubet E, Gomez JM, Miranda M, Chacon MR, Gonzalez-Clemente JM, Gallart L, Gutierrez C, Vendrell J. Circulating and adipose tissue gene expression of zinc- α 2-glycoprotein in obesity: its relationship with adipokine and lipolytic gene markers in subcutaneous and visceral fat. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 5062-5069 [PMID: 19846741 DOI: 10.1210/jc.2009-0764]
- 46 Gong FY, Deng JY, Zhu HJ, Pan H, Wang LJ, Yang HB. Fatty acid synthase and hormone-sensitive lipase expression in liver are involved in zinc- α 2-glycoprotein-induced body fat loss in obese mice. *Chin Med Sci J* 2010; 25: 169-175 [PMID: 21180279]
- 47 肖新华, 李茜, 杨娇娇, 冉莉, 杨靖, 刘江华, 文格波. 锌- α 2-糖蛋白在小鼠NAFLD发展中的动态变化. *中南医学科学杂志* 2013; 41: 336-340
- 48 Mracek T, Gao D, Tzanavari T, Bao Y, Xiao X, Stocker C, Trayhurn P, Bing C. Downregulation of zinc- α 2-glycoprotein in adipose tissue and liver of obese ob/ob mice and by tumour necrosis factor- α in adipocytes. *J Endocrinol* 2010; 204: 165-172 [PMID: 19934249 DOI: 10.1677/JOE-09-0299]
- 49 Choi JW, Liu H, Mukherjee R, Yun JW. Downregulation of fetuin-B and zinc- α 2-glycoprotein is linked to impaired fatty acid metabolism in liver cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30: 295-306 [PMID: 22739111 DOI: 10.1159/000339065]

- 50 Yilmaz Y, Yonal O, Eren F, Kurt R, Celikel CA, Ozdogan O, Imeryuz N, Kalayci C, Avsar E. Serum zinc- α 2-glycoprotein concentrations in patients

with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 93-97 [PMID: 21077793 DOI: 10.1515/CCLM.2011.022]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



同行评价
本文对两种脂肪代谢相关成分在NAFLD中的作用进展进行了综述, 内容有一定学术价值。

肝干细胞的研究进展

周 阳, 陈嘉勇

背景资料
终末期肝病是人类健康的杀手, 发病率正在全世界逐渐增加。肝移植因供肝短缺、手术损伤、免疫排斥反应、手术难度高以及费用高昂等问题临床应用受限。干细胞移植具有供体细胞来源丰富、手术损伤小、免疫排斥少等优点, 为终末期肝病的治疗开辟了新的道路。

周阳, 陈嘉勇, 昆明医科大学第二附属医院胃肠外科 云南省昆明市 650101

周阳, 在读硕士, 主要从事普外科疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由周阳完成; 陈嘉勇审校。

通讯作者: 陈嘉勇, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院胃肠外科。

zy88517788@126.com

电话: 0871-65352826

收稿日期: 2014-10-31 修回日期: 2014-11-27

接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-08

Progress in research of hepatic stem cells

Yang Zhou, Jia-Yong Chen

Yang Zhou, Jia-Yong Chen, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jia-Yong Chen, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. zy88517788@126.com

Received: 2014-10-31 Revised: 2014-11-27

Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-08

Abstract

Liver disease is a rising cause of mortality and morbidity, and treatment options remain limited. Liver transplantation is curative but limited by donor organ availability, operative risk and long-term complications. There is currently a clear need for new therapies for liver disease, and it is possible that hepatic stem cell (HSC) therapy represents an exciting new therapeutic option. HSCs are undifferentiated cells with the unique ability to self-renew and potentially provide a source of human hepatocytes for regeneration of the injured liver. Evidence from pre-clinical studies is encouraging, but conclusive evidence that this translates into humans remains lacking. Further studies of the mechanisms responsible for the beneficial effects of HSC therapy are needed.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic stem cell; Liver disease

Zhou Y, Chen JY. Progress in research of hepatic stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 64-70
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/64.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.64>

摘要

肝脏疾病相关的死亡率及发病率仍在逐渐上升, 目前, 肝移植仍是终末期肝病的唯一有效的治疗方法, 但供肝短缺、手术风险、长期并发症等问题严重限制其临床发展。目前迫切需要新的治疗方法, 而肝干细胞(hepatic stem cell, HSC)是一种具有自我更新能力及分化为肝细胞潜能的细胞, 因此成为细胞治疗的新选择。虽然HSC临床前研究获得较好的结果, 但用于人类的证据仍然缺乏, 目前需要更多关于HSC的研究为人类带来福音。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝干细胞; 肝病

核心提示: 肝干细胞(hepatic stem cell, HSC)是一种多源性兼性细胞, 具有分化成肝细胞、胆管上皮细胞及其他类型细胞的潜力。HSC的研究在肝病的基础与临床研究中有极为重要的意义。利用HSC可改进目前生物人工肝支持系统, 通过肝细胞移植和基因治疗, 使之在肝病相关的疾病治疗中发挥重要的作用。

周阳, 陈嘉勇. 肝干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 64-70 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/64.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.64>

0 引言

终末期肝病是人类健康的杀手, 发病率正在全世界逐渐增加。目前, 肝移植仍是终末期肝病的唯一有效的治疗方法^[1], 但供肝短缺、手术损伤、免疫排斥反应、手术难度高以及费用高昂等问题严重阻碍了肝移植技术的发展^[2,3]。与之

同行评议者
许戈良, 教授, 安徽省立医院

相比, 干细胞移植具有供体细胞来源丰富、手术损伤小、免疫排斥少、费用低等优点, 为终末期肝病的治疗开辟新的道路, 也可作为肝移植前后肝功能支持的有效手段之一^[4,5]。

1 干细胞与肝干细胞

干细胞是一种能自我更新并具有多项分化潜能的细胞。根据其原始程度又可分为全能干细胞、多能干细胞和专能干细胞。肝干细胞(hepatic stem cell, HSC)并非特指某一类细胞的细胞, 而是与肝脏发育及再生有关的各类具有干细胞特性细胞类型的总称。HSC是一类具有双向分化(可同时向肝细胞和胆管细胞分化)、自我更新的原始细胞, 参与肝脏损伤后的结构重建与功能修复, 与肝脏的发育、再生、纤维化及癌变等生理、病理过程密切相关。HSC是多源的, 据其起源不同, 可分为肝源性HSC和非肝源性HSC, 肝源性HSC包括成熟肝细胞、肝卵圆细胞、小肝细胞、胎HSC等。非肝源性HSC主要包括胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)、骨髓干细胞等。

人肝源性干细胞在正常肝脏中处于静止状态, 当肝脏受到严重损伤, 且肝细胞的增殖受到抑制时才会被活化, 分裂增殖^[6], 分化为肝实质细胞和胆管上皮细胞, 使得肝功能得以重建^[7]。非肝源性HSC主要来源于ESC、骨髓干细胞等。

1.1 肝卵原细胞(hepatic oval cell, HOC) 1956年Farber揭开了HSC研究的新篇章, 他首次提出在肝内存在小上皮细胞, 在由化学因素诱导的肝细胞癌早期, 这种细胞大量增殖, 修复受损肝脏。因其形态学特征为细胞体积小、胞质少、核大呈卵圆形故命名为卵圆细胞。随后人们在啮齿类动物的肝组织中发现了具有双向分化潜能的卵圆细胞^[8], HOC高度表达白蛋白(albumin, ALB)、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)等肝细胞表面标志物, 也表达细胞角蛋白(cytokeratin, CK)7、19胆管上皮细胞的表面标志物及骨髓干细胞CD34等表面标志物, 但目前无特定的细胞表面标志物^[9]。HOC具有自我复制及双向分化能力, 许多体内研究表明卵原细胞能分化为肝细胞和胆管上皮细胞^[10,11]。Li等^[12]采用2-乙酰氨基苄/四氯化碳方法建立HOC增殖模型, 证明了大鼠HOC体外可大量增殖并且保留其干细胞的双向分化潜能HOC主要位于哺乳动物肝脏胆管末端的Hering管。细胞周围微环境在肝再生中发挥重要作用^[9], 细胞外基质重构促进卵原细胞的激

活、增殖及修复过程^[13]。

1.2 小肝细胞 Chen等^[14]在肝细胞原代培养的培养基中加入尼克酰胺和表皮生长因子时, 出现单个核小细胞增生, 并形成克隆, 被称为小肝细胞。小肝细胞具有增殖潜能, 能双向分化为肝细胞和胆管上皮细胞。有观点认为小肝细胞是肝祖细胞分化成熟为肝细胞过程中的一种中间细胞, 有研究认为他可能是肝细胞的专能祖细胞^[15], 小肝细胞在肝内无确切定位, 目前对其来源及定位有待进一步研究。

1.3 成熟肝细胞 以往认为成熟肝细胞为终末细胞, 但近年认为它具有高度增殖和分化能力。成熟肝细胞来源于肝母细胞, 肝母细胞可分化为肝细胞和胆管上皮细胞^[1], 成熟的肝细胞高度表达细胞色素P450、ALB, 并能储存糖原, 合成尿素及结合游离胆红素, 但表达AFP的能力降低^[16,17]。分化成熟的肝细胞属于稳定细胞, 在生理情况下增殖现象不明显, 只有极少数量的成熟肝细胞分裂, 参与正常肝组织的更新, 当肝脏受损时或给予恰当刺激, 肝细胞被激活, 通过增殖、分化、再生, 以完成肝脏结构重建和功能修复。但此类细胞分裂增殖能力有限, 在许多疾病或肝脏严重受损情况下增殖能力不能满足机体需要, 此外, 某些疾病如脂肪肝时的高氧化应激反应也可以抑制肝细胞的增殖。

1.4 胎HSC 胎HSC在早期胚胎肝脏出现, 是一类来源于腹侧前肠内胚层、具有自我更新和双向分化潜能的原始细胞, 可分化为肝细胞和胆管上皮细胞。胎HSC除表达ALB和CK19外, 还多表达造血干细胞相关分子标志物如CD133、CD34等, 及间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)相关标志物如CD90、CD29等, 三者之间的谱系关系目前尚无定论^[18,19]。

1.5 ESC ESC是从早期囊胚的内胚层中分离出来的一类多潜能干细胞, 具有强大的自我增殖及分化潜能^[1]。Touboul等^[20]应用激活素、成纤维细胞生长因子等诱导ESC分化, 并成功获得了成熟肝细胞。目前可以通过简化的3个步骤将ESC直接分化为肝细胞样细胞, 且有效性达到90%^[20,21]。国际上虽对胚胎HSC的研究取得巨大进步, 但对其生物学特性、体外诱导分化及其应用于肝硬化治疗等方面的研究仍不充分^[22]。且其主要来源于体外受精的胚胎和流产的胎儿, 临床应用面临伦理学挑战, 而ESC无限增殖可能致畸胎瘤等问题也有待解决。

研发前沿
生物人工肝可过滤和转化体内有毒物质, 从而为等待肝移植患者争取时间, 也可用于辅助治疗急性肝功能衰竭, 生物人工肝支持治疗较传统的治疗方法能降低急性肝功能衰竭的死亡率。体外培养肝干细胞(hepatic stem cell, HSC)其强大的增殖能力及多生物学特点, 为生物人工肝提供了一种新的细胞来源。

相关报道
诱导型多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是一项通过基因转染技术把一些特定的转录因子导入体细胞而获得干细胞样特性的体细胞。我国胡以平等实现了小鼠成纤维细胞向HSC分化的重编程,并证明了获得的iPSC具有与活体内自然存在的HSC相似的生物学特性。

1.6 脐血干细胞(umbilical cord blood stem cell, UCBSC) 脐血中含有无限制成体干细胞、造血干细胞等多种干细胞成分。脐血中干细胞比例明显高于成人骨髓及外周血^[23],且来源为产后丢弃的脐带,采取脐带血对母体及婴幼儿无任何损伤。目前,UCBSC分化为成熟肝细胞的可行性及其移植的疗效也已经得以证实^[24]。

1.7 骨髓源性HSC 骨髓干细胞主要包括骨髓造血干细胞和骨髓MSC,具有多向分化潜能,可以分化为多种组织细胞,包括肝细胞、神经细胞、心肌细胞和骨骼肌细胞等^[25]。最早Petersen等^[26]报道了关于骨髓来源干细胞可促进肝再生,逐渐有较多的研究表明骨髓干细胞分化为肝细胞用于肝再生^[27-29]。关于粒细胞集落刺激因子动员自体骨髓和造血干细胞移植用于治疗人类终末期肝硬化也出现了明显的效益^[30],白介素-8、基质金属蛋白酶等已被证明是促进对肝造血干细胞的归巢和植入^[31]。最新的研究还发现骨髓MSC具有免疫调节功能,通过免疫调节可抑制肿瘤的发生及生长^[25,32]。目前,骨髓MSC用于治疗终末期肝病的一期和二期临床实验均获得较好的结果^[33]。

1.8 诱导型多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC) iPSC是一项通过基因转染技术把一些特定的转录因子导入体细胞而获得干细胞样特性的体细胞^[1]。Takahashi等^[34]首次报道iPSC,目前已证明iPSC可分化为多种细胞类型^[9,35],包括肝细胞。Sullivan等^[36]证实iPSC可分化为肝脏内胚层细胞,且有效分化率为70%-90%,iPSC源性肝细胞可合成ALB、AFP等肝脏功能性蛋白。iPSC衍生的肝细胞携带原代细胞的所有异常或疾病的表型,可用于探讨疾病发病机制及药物个体化使用^[37,38]。我国Yu等^[39]实现了小鼠成纤维细胞向HSC分化的重编程,并证明了获得的iPSC具有与活体内自然存在的HSC相似的生物学特性。因其体外获得而被广泛接受,但其具体分化目的不确定性及潜在的致癌性需进一步研究。

2 HSC与慢性肝病

尽管目前临床诊治技术及肝移植有所发展,但急性肝功能衰竭死亡率仍高。有数据表明,暴发性肝衰竭可能从人HSC移植治疗中获益^[40]。在急性肝损伤大鼠模型,人类MSC培养液治疗可导致肝细胞凋亡减少90%,显著降低大鼠死

亡率^[41,42]。此外,干细胞也可分泌一些如肝细胞生长因子、表皮生长因子和神经生长因子等刺激肝细胞增殖并维持肝细胞功能,在暴发性肝衰竭和肝损伤模型中这些分泌可促进肝脏再生^[43]。而在慢性肝损伤方面,较多的研究表明HSC治疗能降低肝脏炎症程度^[44],促进肝细胞再生,降低肝纤维化及死亡率^[44-48]。Li等^[43]研究发现,移植骨髓MSC及造血干细胞均能增高存活率及降低肝纤维化,但MSC治疗效果较HSC好,并提出MSC与HSC有协同增强效应。

目前细胞治疗可作为肝移植的替代疗法,大量的实验室及临床研究鼓励细胞移植用于临床治疗各种肝病^[27]。Kim等^[49]一项关于10例乙型肝炎相关肝硬化研究表明,自体骨髓干细胞移植能改善肝硬化患者ALB水平,Child-Pugh评分及磁共振测量下肝容积,并能改善生活质量,且无严重并发症发生。Peng等^[50]对527例乙型肝炎相关肝硬化患者进行研究,53例治疗组(经肝动脉自体骨髓干细胞移植)与105例空白对照组比较,短期内(1-48 wk)治疗组肝功能得到改善,且长期观察治疗组未发现肿瘤发生率增高。一项关于熊去氧胆酸不完全应答原发性胆汁性肝硬化患者的研究显示,接受脐血MSC移植后部分患者瘙痒、乏力症状明显改善^[51]。Ivantes等^[52]报道259例丙型肝炎患者在进行骨髓干细胞移植后,10年随访91例存活,术后存活率明显提高。

3 HSC与肝癌的关系

尽管干细胞的使用受益颇多,但其使用长期安全性仍需进一步研究,特别是肿瘤发生的可能性。肝癌发病率在全球十大恶性肿瘤中位居第5位,而死亡率仅次于肺癌和结肠癌位居第3位^[53]。目前公认的肝癌发生机制有两种:(1)由肝脏干细胞的异常分化引起;(2)由成熟肝细胞去分化导致。肝癌细胞表达与HSC相关的蛋白,其增殖的调节有某些相同的信号通路,如Wnt、Shh、Notch等信号通路。目前,经典Wnt信号通路与肝癌干细胞的增殖、凋亡研究较多^[54],经典Wnt信号途径的异常激活可能导致肝癌的发生^[55,56]。肿瘤发生也可能源于肿瘤干细胞,而肿瘤干细胞的来源可能是正常干细胞的凋亡失调,使得干细胞突变积累等原因所致^[57]。干细胞也可能通过抑制免疫反应及直接供给肿瘤细胞营养而促进肿瘤的发生^[58]。Shinagawa等^[59]研究表明对健康裸鼠移植结肠肿瘤细胞及干细胞肿瘤明显较

对照组(单独移植肿瘤细胞)大, 可能与干细胞促进血管生成及阻碍肿瘤细胞凋亡导致。而Jensen等^[60]研究发现增加移植干细胞数量并未促进肿瘤的发生。

4 HSC与生物型人工肝

过去几年关于干细胞生物型人工肝研究较多, 但其应用于临床仍存在许多问题, 包括干细胞的获得及保持体外存活及分化能力^[1]。生物人工肝可过滤和转化体内有毒物质, 从而为等待肝移植患者争取时间, 也可用于辅助治疗急慢性肝功能衰竭^[9]。Stutchfield等^[61]研究表明, 生物人工肝支持治疗较传统的治疗方法能降低急性肝功能衰竭的死亡率, 但因其应用于人工肝肝细胞体外功能障碍而限制其临床应用。体外培养HSC其强大的增殖能力及多生物学特点为生物人工肝提供了一种新的细胞来源, ES和iPS细胞可作为一种混合型人工肝细胞来源。

5 HSC与先天性代谢性肝病的基因治疗

HSC用于治疗先天性代谢性肝病治疗的基础为具有高度增殖能力及双向分化潜能, 通过将缺陷基因导入HSC, 筛选出阳性细胞移植入肝脏可纠正肝脏代谢紊乱, 用于治疗代谢性肝病^[1,62]。大量干细胞移植实验获得成功, 促进临床应用干细胞治疗急慢性肝衰竭、肝硬化及成人和儿童代谢性肝病治疗的发展^[63], Muraca等^[64]报道干细胞成功治疗糖原累积综合症一例。Song等^[65]也报告利用腺相关病毒技术对鼠源性肝前体细胞进行基因修饰, 认为利用基因修饰的HSC可作为治疗 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏等肝病的独特途径。

6 结论

HSC可以为肝衰竭患者度过危险期、等待肝源进行肝移植的一个过渡方法, 又能直接修复损伤肝脏, 作为细胞疗法应用于临床治疗肝衰竭及各种终末期肝病。HSC是目前肝病基础研究的重点之一, 但其应用于临床仍有许多问题, 如人HSC建系困难, 不易分离、纯化, 人HSC生长缓慢, 体外培养易分化, 失去分裂增殖能力, 且干细胞治疗的长期有效及安全性缺乏相关资料。在克服了一系列困难之后, HSC移植将为生物人工肝、终末期肝病治疗、药物研究以及肝脏肿瘤预防等领域的研究带来新的曙光和希望。

7 参考文献

- 1 Russo FP, Parola M. Stem cells in liver failure. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 35-45 [PMID: 22482524 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.01.001]
- 2 Levine P, McDaniel K, Francis H, Kennedy L, Alpini G, Meng F. Molecular mechanisms of stem cell therapy in alcoholic liver disease. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 391-397 [PMID: 24440312]
- 3 King A, Newsome PN. Bone marrow stem cell therapy for liver disease. *Dig Dis* 2014; 32: 494-501 [PMID: 25034281 DOI: 10.1159/000360491]
- 4 Russo FP, Parola M. Stem and progenitor cells in liver regeneration and repair. *Cytotherapy* 2011; 13: 135-144 [PMID: 21235295 DOI: 10.3109/14653249.2010.545386]
- 5 Hughes RD, Mitry RR, Dhawan A. Current status of hepatocyte transplantation. *Transplantation* 2012; 93: 342-347 [PMID: 22082820 DOI: 10.1097/TP.0b013e31823b72d6]
- 6 Malato Y, Naqvi S, Schürmann N, Ng R, Wang B, Zape J, Kay MA, Grimm D, Willenbring H. Fate tracing of mature hepatocytes in mouse liver homeostasis and regeneration. *J Clin Invest* 2011; 121: 4850-4860 [PMID: 22105172 DOI: 10.1172/JCI59261]
- 7 Wang P, Cong M, Liu TH, Yang AT, Cong R, Wu P, Tang SZ, Xu Y, Wang H, Wang BE, Jia JD, You H. Primary isolated hepatic oval cells maintain progenitor cell phenotypes after two-year prolonged cultivation. *J Hepatol* 2010; 53: 863-871 [PMID: 20739084 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.014]
- 8 Pournasr B, Mohamadnejad M, Bagheri M, Aghdami N, Shahsavani M, Malekzadeh R, Baharvand H. In vitro differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Arch Iran Med* 2011; 14: 244-249 [PMID: 21726099]
- 9 Zhou WL, Medine CN, Zhu L, Hay DC. Stem cell differentiation and human liver disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2018-2025 [PMID: 22563188 DOI: 10.3748/wjg.v18.i17.2018]
- 10 Mazzini L, Ferrero I, Luparello V, Rustichelli D, Gunetti M, Mareschi K, Testa L, Stecco A, Tarletti R, Miglioretti M, Fava E, Nasuelli N, Cisari C, Massara M, Vercelli R, Oggioni GD, Carriero A, Cantello R, Monaco F, Fagioli F. Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial. *Exp Neurol* 2010; 223: 229-237 [PMID: 19682989 DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.08.007]
- 11 Duijvestein M, Vos AC, Roelofs H, Wildenberg ME, Wendrich BB, Verspaget HW, Kooy-Winkelaar EM, Koning F, Zwaginga JJ, Fidder HH, Verhaar AP, Fibbe WE, van den Brink GR, Hommes DW. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut* 2010; 59: 1662-1669 [PMID: 20921206 DOI: 10.1136/gut.2010.215152]
- 12 Li Y, Zhao LJ, Li YX, Shi C, Lu YL. Characteristics of stem cells from hepatic oval cells in rats. *Journal of Shanghai Jiaotong University* 2011; 31: 561-566 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2011.05.008]
- 13 Kallis YN, Robson AJ, Fallowfield JA, Thomas HC, Alison MR, Wright NA, Goldin RD, Iredale

创新盘点

HSC用于治疗先天性代谢性肝病, 通过将缺陷基因导入HSC, 筛选出阳性细胞移植入肝脏可纠正肝脏代谢紊乱。目前已有关于治疗糖原累积综合症、 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏等肝病的报道。

应用要点

HSC可以为肝衰竭患者度过危险期、等待肝源进行肝移植的一个过渡方法,又能直接修复损伤肝脏,促进生物人工肝、终末期肝病治疗、药物研究以及肝脏肿瘤预防等领域的发展。

- JP, Forbes SJ. Remodelling of extracellular matrix is a requirement for the hepatic progenitor cell response. *Gut* 2011; 60: 525-533 [PMID: 21106552 DOI: 10.1136/gut.2010.224436]
- 14 Chen Q, Kon J, Ooe H, Sasaki K, Mitaka T. Selective proliferation of rat hepatocyte progenitor cells in serum-free culture. *Nat Protoc* 2007; 2: 1197-1205 [PMID: 17546015 DOI: 10.1038/nprot.2007.118]
- 15 Alison MR. Liver regeneration with reference to stem cells. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13: 385-387 [PMID: 12468237 DOI: 10.1016/S1084952102001246]
- 16 Duncan AW, Dorrell C, Grompe M. Stem cells and liver regeneration. *Gastroenterology* 2009; 137: 466-481 [PMID: 19470389 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.044]
- 17 Lemaigre FP. Mechanisms of liver development: concepts for understanding liver disorders and design of novel therapies. *Gastroenterology* 2009; 137: 62-79 [PMID: 19328801 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.035]
- 18 Dan YY, Riehle KJ, Lazaro C, Teoh N, Haque J, Campbell JS, Fausto N. Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 9912-9917 [PMID: 16782807 DOI: 10.1073/pnas.0603824103]
- 19 Gridelli B, Vizzini G, Pietrosi G, Luca A, Spada M, Gruttadauria S, Cintonio D, Amico G, Chinnici C, Miki T, Schmelzer E, Conaldi PG, Triolo F, Gerlach JC. Efficient human fetal liver cell isolation protocol based on vascular perfusion for liver cell-based therapy and case report on cell transplantation. *Liver Transpl* 2012; 18: 226-237 [PMID: 22034152 DOI: 10.1002/lt.22322]
- 20 Touboul T, Hannan NR, Corbineau S, Martinez A, Martinet C, Branchereau S, Mainot S, Strick-Marchand H, Pedersen R, Di Santo J, Weber A, Vallier L. Generation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells under chemically defined conditions that recapitulate liver development. *Hepatology* 2010; 51: 1754-1765 [PMID: 20301097 DOI: 10.1002/hep.23506]
- 21 Medine CN, Hannoun Z, Greenhough S, Payne CM, Fletcher J, Hay DC. Deriving Metabolically Active Hepatic Endoderm from Pluripotent Stem Cells. *Human Embryonic and Induced Pluripotent Stem Cells*; New York: Springer, 2012: 369-386 [DOI: 10.1007/978-1-61779-267-0_27]
- 22 Bin WT, Ma LM, Xu Q, Shi XL. Embryonic hepatocyte transplantation for hepatic cirrhosis: efficacy and mechanism of action. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 309-322 [PMID: 22294837 DOI: 10.3748/wjg.v18.i4.309]
- 23 de Pauw ES, Verwoerd NP, Duinkerken N, Willemze R, Raap AK, Fibbe WE, Tanke HJ. Assessment of telomere length in hematopoietic interphase cells using in situ hybridization and digital fluorescence microscopy. *Cytometry* 1998; 32: 163-169 [PMID: 9667504 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0320(19980701)32:3<163::AID-CYTO1>3.0.CO;2-L]
- 24 Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103: 1669-1675 [PMID: 14576065 DOI: 10.1182/blood-2003-05-1670]
- 25 Puglisi MA, Tesori V, Lattanzi W, Piscaglia AC, Gasbarrini GB, D'Ugo DM, Gasbarrini A. Therapeutic implications of mesenchymal stem cells in liver injury. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 860578 [PMID: 22228987 DOI: 10.1155/2011/860578]
- 26 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170 [PMID: 10325227 DOI: 10.1126/science.284.5417.1168]
- 27 Muraca M. Evolving concepts in cell therapy of liver disease and current clinical perspectives. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 180-187 [PMID: 20869923 DOI: 10.1016/j.dld.2010.08.007]
- 28 Wan Z, You S, Rong Y, Zhu B, Zhang A, Zang H, Xiao L, Xie G, Xin S. CD34+ hematopoietic stem cells mobilization, paralleled with multiple cytokines elevated in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 448-457 [PMID: 23095991]
- 29 Piryaei A, Valojerdi MR, Shahsavani M, Baharvand H. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells on nanofibers and their transplantation into a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 103-118 [PMID: 20182823 DOI: 10.1007/s12015-010-9126-5]
- 30 Nikeghbalian S, Pournasr B, Aghdami N, Rasekhi A, Geramizadeh B, Hosseini Asl SM, Ramzi M, Kakaei F, Namiri M, Malekzadeh R, Vosough Dizaj A, Malek-Hosseini SA, Baharvand H. Autologous transplantation of bone marrow-derived mononuclear and CD133(+) cells in patients with decompensated cirrhosis. *Arch Iran Med* 2011; 14: 12-17 [PMID: 21194255]
- 31 Ismail A, Fouad O, Abdelnasser A, Chowdhury A, Selim A. Stem cell therapy improves the outcome of liver resection in cirrhotics. *J Gastrointest Cancer* 2010; 41: 17-23 [PMID: 20012230 DOI: 10.1007/s12029-009-9092-9]
- 32 Gao P, Ding Q, Wu Z, Jiang H, Fang Z. Therapeutic potential of human mesenchymal stem cells producing IL-12 in a mouse xenograft model of renal cell carcinoma. *Cancer Lett* 2010; 290: 157-166 [PMID: 19786319 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.031]
- 33 El-Ansary M, Mogawer Sh, Abdel-Aziz I, Abdel-Hamid S. Phase I Trial: Mesenchymal Stem Cells Transplantation in End Stage Liver Disease. *J Am Sci* 2010; 6: 135-144
- 34 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676 [PMID: 16904174 DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024]
- 35 Wu SM, Hochedlinger K. Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nat Cell Biol* 2011; 13: 497-505 [PMID: 21540845 DOI: 10.1038/ncb0511-497]
- 36 Sullivan GJ, Hay DC, Park IH, Fletcher J, Hannoun Z, Payne CM, Dalgetty D, Black JR, Ross JA, Samuel K, Wang G, Daley GQ, Lee JH, Church GM, Forbes SJ, Iredale JP, Wilmot I. Generation of functional human hepatic endoderm from human induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2010; 51: 329-335 [PMID: 19877180 DOI: 10.1002/hep.23335]
- 37 Rashid ST, Corbineau S, Hannan N, Marciniak SJ,

- Miranda E, Alexander G, Huang-Doran I, Griffin J, Ahrlund-Richter L, Skepper J, Semple R, Weber A, Lomas DA, Vallier L. Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells. *J Clin Invest* 2010; 120: 3127-3136 [PMID: 20739751 DOI: 10.1172/JCI43122]
- 38 Soto-Gutierrez A, Tafaleng E, Kelly V, Roy-Chowdhury J, Fox IJ. Modeling and therapy of human liver diseases using induced pluripotent stem cells: how far have we come? *Hepatology* 2011; 53: 708-711 [PMID: 21274892 DOI: 10.1002/hep.24143]
- 39 Yu B, He ZY, You P, Han QW, Xiang D, Chen F, Wang MJ, Liu CC, Lin XW, Borjigin U, Zi XY, Li JX, Zhu HY, Li WL, Han CS, Wangenstein KJ, Shi Y, Hui LJ, Wang X, Hu YP. Reprogramming fibroblasts into bipotential hepatic stem cells by defined factors. *Cell Stem Cell* 2013; 13: 328-340 [PMID: 23871605 DOI: 10.1016/j.stem.2013.06.017]
- 40 Herrera MB, Fonsato V, Bruno S, Grange C, Gilbo N, Romagnoli R, Tetta C, Camussi G. Human liver stem cells improve liver injury in a model of fulminant liver failure. *Hepatology* 2013; 57: 311-319 [PMID: 22829291 DOI: 10.1002/hep.25986]
- 41 Cui L, Shi Y, Han Y, Fan D. Immunological basis of stem cell therapy in liver diseases. *Expert Rev Clin Immunol* 2014; 10: 1185-1196 [PMID: 24964800 DOI: 10.1586/1744666X.2014.930665]
- 42 Lin H, Xu R, Zhang Z, Chen L, Shi M, Wang FS. Implications of the immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in the treatment of human liver diseases. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 19-22 [PMID: 21200380 DOI: 10.1038/cmi.2010.57]
- 43 Li Q, Zhou X, Shi Y, Li J, Zheng L, Cui L, Zhang J, Wang L, Han Z, Han Y, Fan D. In vivo tracking and comparison of the therapeutic effects of MSCs and HSCs for liver injury. *PLoS One* 2013; 8: e62363 [PMID: 23638052 DOI: 10.1371/journal.pone.0062363]
- 44 Forbes SJ, Newsome PN. New horizons for stem cell therapy in liver disease. *J Hepatol* 2012; 56: 496-499 [PMID: 21798218 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.06.022]
- 45 Kanazawa H, Fujimoto Y, Teratani T, Iwasaki J, Kasahara N, Negishi K, Tsuruyama T, Uemoto S, Kobayashi E. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate hepatic ischemia reperfusion injury in a rat model. *PLoS One* 2011; 6: e19195 [PMID: 21559442 DOI: 10.1371/journal.pone.0019195]
- 46 Tanimoto H, Terai S, Taro T, Murata Y, Fujisawa K, Yamamoto N, Sakaida I. Improvement of liver fibrosis by infusion of cultured cells derived from human bone marrow. *Cell Tissue Res* 2013; 354: 717-728 [PMID: 24104560 DOI: 10.1007/s00441-013-1727-2]
- 47 Iwamoto T, Terai S, Hisanaga T, Takami T, Yamamoto N, Watanabe S, Sakaida I. Bone-marrow-derived cells cultured in serum-free medium reduce liver fibrosis and improve liver function in carbon-tetrachloride-treated cirrhotic mice. *Cell Tissue Res* 2013; 351: 487-495 [PMID: 23183782 DOI: 10.1007/s00441-012-1528-z]
- 48 Miryounesi M, Piryaee A, Pournasr B, Aghdami N, Baharvand H. Repeated versus single transplantation of mesenchymal stem cells in carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Cell Biol Int* 2013 Jan 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23408711 DOI: 10.1002/cbin.10048]
- 49 Kim JK, Park YN, Kim JS, Park MS, Paik YH, Seok JY, Chung YE, Kim HO, Kim KS, Ahn SH, Kim do Y, Kim MJ, Lee KS, Chon CY, Kim SJ, Terai S, Sakaida I, Han KH. Autologous bone marrow infusion activates the progenitor cell compartment in patients with advanced liver cirrhosis. *Cell Transplant* 2010; 19: 1237-1246 [PMID: 20525430 DOI: 10.3727/096368910X506863]
- 50 Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828 [PMID: 21608000 DOI: 10.1002/hep.24434]
- 51 Wang L, Li J, Liu H, Li Y, Fu J, Sun Y, Xu R, Lin H, Wang SY, Lv S, Chen L, Zou ZS, Li B, Shi M, Zhang Z, Wang FS. A pilot study of umbilical cord-derived esenchymal stem cell transfusion in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 85-92 [DOI: 10.1111/jgh.12029]
- 52 Ivantes CA, Amarante H, Ioshii SO, Pasquini R. Hepatitis C virus in long-term bone marrow transplant survivors. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 1181-1185 [PMID: 15094751 DOI: 10.1038/sj.bmt.1704519]
- 53 Xu X, Xing B, Hu M, Xu Z, Xie Y, Dai G, Gu J, Wang Y, Zhang Z. Recurrent hepatocellular carcinoma cells with stem cell-like properties: possible targets for immunotherapy. *Cytotherapy* 2010; 12: 190-200 [PMID: 19929456 DOI: 10.3109/14653240903390803]
- 54 Shen Y, Cao D. Hepatocellular carcinoma stem cells: origins and roles in hepatocarcinogenesis and disease progression. *Front Biosci (Elite Ed)* 2012; 4: 1157-1169 [PMID: 22201943 DOI: 10.2741/448]
- 55 Dahmani R, Just PA, Perret C. The Wnt/ β -catenin pathway as a therapeutic target in human hepatocellular carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 709-713 [PMID: 21778132 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.05.010]
- 56 Kim W, Kim M, Jho EH. Wnt/ β -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus. *Biochem J* 2013; 450: 9-21 [PMID: 23343194 DOI: 10.1042/BJ20121284]
- 57 Blanpain C. Tracing the cellular origin of cancer. *Nat Cell Biol* 2013; 15: 126-134 [PMID: 23334500 DOI: 10.1038/ncb2657]
- 58 Patel SA, Meyer JR, Greco SJ, Corcoran KE, Bryan M, Rameshwar P. Mesenchymal stem cells protect breast cancer cells through regulatory T cells: role of mesenchymal stem cell-derived TGF- β . *J Immunol* 2010; 184: 5885-5894 [PMID: 20382885 DOI: 10.4049/jimmunol.0903143]
- 59 Shinagawa K, Kitadai Y, Tanaka M, Sumida T, Kodama M, Higashi Y, Tanaka S, Yasui W, Chayama K. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 2323-2333 [PMID: 20473928 DOI: 10.1002/ijc.25440]
- 60 Jensen W, Henderson R, Schulze H, Schmer G. Hemodynamic measurements in a sheep model with a hollow fiber artificial kidney containing modified cellulose. *Life Support Syst* 1985; 3 Suppl 1: 404-408 [PMID: 3870598 DOI: 10.1089/

同行评价

本文参考文献较新, 能够很好地反映当前关于HSC的研究进展和方向。详细阐述了HSC研究与生物人工肝、终末期肝病治疗、药物研究以及肝脏肿瘤预防等领域的相关问题。

- scl.2013.0202]
- 61 Stutchfield BM, Simpson K, Wigmore SJ. Systematic review and meta-analysis of survival following extracorporeal liver support. *Br J Surg* 2011; 98: 623-631 [PMID: 21462172 DOI: 10.1002/bjs.7418]
 - 62 Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, Varela I, Liu PQ, Paschon DE, Miranda E, Ordóñez A, Hannan NR, Rouhani FJ, Darche S, Alexander G, Marciniak SJ, Fusaki N, Hasegawa M, Holmes MC, Di Santo JP, Lomas DA, Bradley A, Vallier L. Targeted gene correction of α 1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; 478: 391-394 [PMID: 21993621 DOI: 10.1038/nature10424]
 - 63 Fisher RA, Strom SC. Human hepatocyte transplantation: worldwide results. *Transplantation* 2006; 82: 441-449 [PMID: 16926585 DOI: 10.1097/01.tp.0000231689.44266.ac]
 - 64 Muraca M, Gerunda G, Neri D, Vilei MT, Granato A, Feltracco P, Meroni M, Giron G, Burlina AB. Hepatocyte transplantation as a treatment for glycogen storage disease type 1a. *Lancet* 2002; 359: 317-318 [PMID: 11830200 DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07529-3]
 - 65 Song S, Witek RP, Lu Y, Choi YK, Zheng D, Jorgensen M, Li C, Flotte TR, Petersen BE. Ex vivo transduced liver progenitor cells as a platform for gene therapy in mice. *Hepatology* 2004; 40: 918-924 [PMID: 15382177 DOI: 10.1002/hep.20404]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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t_{1/2}或T, V_{max}不能写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} *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。

溃疡性结肠炎PTPN2和NF-κB单核苷酸多态性的研究进展

刘昌恩, 黄玉红

刘昌恩, 黄玉红, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

刘昌恩, 在读硕士, 主要从事溃疡性结肠炎单核苷酸基因多态性研究。

作者贡献分布: 本文综述由刘昌恩完成; 黄玉红审校。

通讯作者: 黄玉红, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科。huangyuhong66@hotmail.com

电话: 024-83282563

收稿日期: 2014-10-28 修回日期: 2014-11-25

接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-08

PTPN2 and NF-κB single nucleotide polymorphisms associated with susceptibility to ulcerative colitis

Chang-En Liu, Yu-Hong Huang

Chang-En Liu, Yu-Hong Huang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Yu-Hong Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. huangyuhong66@hotmail.com

Received: 2014-10-28 Revised: 2014-11-25

Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-08

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a form of chronic and recurrent bowel disease with unknown etiology. Pieces of evidence suggest that UC should be evolved as a result of inappropriate and ongoing activation of the mucosal immune system driven by the luminal commensal microflora in a genetically susceptible host. Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2 (PTPN2) and nuclear factor-kappa B (NF-κB) play important roles not only in inflammatory pathways, but also in the development of UC. In recent years, association of PTPN2 and NF-κB gene polymorphisms with susceptibility to UC has become a research focus in Western countries, but the studies are controversial in southern China. This paper reviews the

PTPN2 and NF-κB gene single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with susceptibility to UC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2; Nuclear factor kappa B; Single nucleotide polymorphism; Ulcerative colitis

Liu CE, Huang YH. PTPN2 and NF-κB single nucleotide polymorphisms associated with susceptibility to ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 71-77
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/71.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.71>

摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发病机制尚不十分明确且病情反复的肠道疾病。目前众多学者认为, UC是遗传易感性、环境暴露、胃肠道菌群失调及炎症过度反应的共同作用后的结果。非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶2(protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2, PTPN2)和核因子-κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)在炎症中均扮演重要的角色。这两种炎症因子在UC的发生与发展过程中也起到了重要的作用。近些年, UC基因多态性研究已成为热点, 西方人群中UC与PTPN2和NF-κB单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)的相关性多有报道, 我国南方地区也有报道但结果存在争议。现就UC易感基因: PTPN2和NF-κB的基因多态性进行综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶2; 核因子-κB; 单核苷酸多态性; 溃疡性结肠炎

核心提示: 基因多态性的研究不仅仅只为发现易感基因, 同时为进一步进行蛋白功能研究提供实验线索。

背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发病机制尚不十分明确且病情反复的肠道疾病, 我国近10年来UC的就诊人数及确诊率呈逐年增加的趋势, 严重影响患者的生活质量。基因多态性与UC的相关性研究, 有助于成为UC风险预测及预防诊治的一条新线索和途径。

同行评议者
袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

研究前沿
随着全基因组关联分析的发展, 基因多态性与UC的遗传易感性研究已成为国内外学者研究的热点, 其结果有较强的地域和种族特征, 多民族、多地域的大样本广泛深入的协同研究, 有可能成为UC预防及诊疗提供新线索和途径。

刘昌恩, 黄玉红. 溃疡性结肠炎PTPN2和NF- κ B单核苷酸多态性的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 71-77 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/71.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.71>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是我国常见的消化系疾病之一^[1], 是一种原因尚不十分明确的慢性结肠炎症, 常常始自直肠, 可沿结肠近端向全结肠以连续的方式扩展, 主要以结肠黏膜及黏膜下层炎症为主要特点. 与克罗恩病(Crohn's disease, CD)共称为炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD). 临床上, UC以腹泻、黏液脓血便为主要临床特点, 常伴里急后重和腹痛, 且腹痛常于便后缓解, 也可伴发诸多肠外表现, 如高热、消瘦、贫血、外周关节炎、结节性红斑、坏疽性脓皮病等. UC可见于任何年龄, 轻重不一, 偶有急性起病, 病程长且反复, 很难治愈. 我国近10年来IBD的就诊人数及确诊率呈逐年增加的趋势, 且UC所占比重较大. 大规模的人群研究已证实, UC具有家族易感性, 但不同于单基因异常的遗传性疾病, 国内外学者们认为UC是遗传易感性、环境暴露^[2]、胃肠道菌群失调及炎症过度反应^[3-5]的共同作用后的结果. 目前对UC的诊断是综合了临床表现、影像学检查、内镜、组织活检及实验室检查, 并排除其他各种原因引起的肠道炎症基础上做出的.

UC发现已有100多年的历史, 但其真正的病因仍不十分清楚. 近些年, 随着全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)的发展, 对基因研究的重点已由全基因组序列的测定转移到了对基因组中个体基因多态性的研究. 一些复杂疾病的遗传学特性成为了众多学者研究的热点, 也取得了较大的进展. 关于IBD, 现已成功分析出99个非重复的易感基因位点, 其中包括UC和CD的共同易感位点28个^[6,7]. 随着免疫学和分子生物学技术的成熟, 国内外众多研究小组不仅确定了UC很多易感基因, 同时发现易感基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与UC患者发病易感性、临床特征及预后的关系. 现就UC在非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶2(protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2, PTPN2)基因与核因子- κ B(nuclear factor kappa

B, NF- κ B)基因SNP方面的相关性研究进展综述如下.

1 PTPN2

1.1 PTPN2的生物学功能及其在炎症反应中的作用 蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)家族在调节基本细胞信号通路中作用非常关键, 涉及细胞增殖、分化以及细胞存活^[8]. PTPN2作为PTPs家族中的一员, 其基因位于染色体18p11, 表达于肠上皮细胞, 维持肠黏膜的屏障功能^[9,10], 同时可编码一种关键炎症负性调节因子: T细胞蛋白酪氨酸磷酸酶(T-cell protein tyrosine phosphatase, TCPTP)可参与免疫系统的调节. 有研究显示: PTPN2可负性调控多条信号通路及生理进程, 如炎症反应^[11]、细胞增殖与分化及造血功能^[12]等. 因PTPN2有两种mRNA编码方式, 形成相对分子质量为 4.8×10^4 的蛋白质(即TC48)和相对分子质量为 4.5×10^4 的蛋白质(即TC45), 故人类细胞中存在着48 kDa和45 kDa两种形式的TCPTP, 其中TC45发挥着主要的生物学作用. 无刺激情况下TC48大多位于内质网和高尔基复合体上, TC45常存在于细胞核内. 当免疫、炎症反应的信号刺激肠道细胞时, TC45出核, 可将受体/非受体型蛋白酪氨酸磷酸激酶, 如胰岛素受体(insulin receptor, INSR)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、集落刺激因子受体(colony stimulating factor 1 receptor, CSF1R)、血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、激酶(Janus kinase, JAK)、信号传导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)^[13]等去磷酸化, 从而抑制免疫及炎症相关信号通路的转导.

有研究^[14,15]表明, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)水平在PTPN2基因敲除的小鼠血清中显著升高, 并出现较为严重的炎症反应. 国内有研究^[16]指出, PTPN2的低表达可能加剧炎症反应、加重组织损伤. 提示PTPN2可能抑制TNF- α 的表达水平, 并与TNF受体相关因子相互作用, 进而抑制TNF- α 介导的炎症免疫反应, 除此之外还可影响造血系统的造血功能^[12,17]. 也有研究显示^[18,19], PTPN2可调节肠上皮细胞的通透性, 通过指导细胞因子的分泌降低JAK的酪氨酸磷酸化程度, 使得

STAT1和STAT3上的酪氨酸去磷酸化来调节STAT的活性, 通过调节JAK/STAT信号通路的传导以抑制细胞因子, 如干扰素- γ (interferon gamma, INF- γ)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)介导的基因表达, 同时可使CSF1R及Src家族酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinases, PTKs)去磷酸化, 从而调节细胞外调节激酶(extracellular signal-regulated kinase 1 and 2, ERK1/2)的信号转导通路, 抑制单核细胞增殖和分化, 从而减轻炎症反应及炎症反应对组织的损害。由于PTPN2 SNP信号转导作用与IBD患者抗炎能力呈显著相关性, GWAS认为PTPN2是IBD的候选基因。

1.2 PTPN2基因多态性与UC的相关性 近些年西方发达国家GWAS荟萃分析^[20]提示PTPN2基因下游5.5 kb处^[21]存在与UC发病相关的rs2542151位点, 是UC的易感基因。国外GWAS^[22]和病例控制协会(Wellcome Trust Case Control Consortium, WTCCC)^[23]均有研究报道, PTPN2 SNP rs2542151与IBD可能存在相关性。Glas等^[24]报道PTPN2 SNP rs2542151与德国白种人UC和CD存在显著相关性。Franke等^[25]研究发现, 德国人群中PTPN2 SNP rs2542151与UC存在显著相关性。2012年国内有研究^[26]显示, 广东汉族人群PTPN2 rs2542151位点的多态性与UC相关, 这支持了西方国家的观点, 但不能完全确定该基因是我国UC患者的一个易感基因, 因并未发现其与UC的临床特征的关系。Yu等^[27]研究显示在美国高加索人群中IBD患者PTPN2 rs2542151位点的多态性, 与CD存在显著相关性, 与UC无明显相关性。Waterman等^[28]报道加拿大人群中, PTPN2 SNP rs2542151与UC和CD均无显著相关性。Zhang等^[29]经荟萃分析发现PTPN2 rs2542151位点等位基因G可增加UC和CD的发病风险, 该研究结果与欧洲高加索人有关, 而与亚洲人群无关, 但不除外样本量过小所导致的阴性结果。除rs2542151位点外, PTPN2 SNP rs1893217^[30]和rs7234029^[24]也是高加索人IBD的易感基因。但PTPN2基因多态性如何影响UC的易感性, 还需进一步进行功能分析。

2 NF- κ B

2.1 NF- κ B的生物学功能及其在炎症反应中的作用 1986年, Sen等^[31]第1次于B细胞核提取物

中发现的一种具有基因转录调节作用的核蛋白, 能与免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子 κ B序列特异性结合, 通过与多种细胞因子(如TNF- α 、IL-6、IL-8)基因启动子或增强子序列特定位点结合从而促进转录和表达, 参与细胞新陈代谢及免疫、炎症反应等重要的病理生理过程^[32,33]。NF- κ B基因位于4号染色体(4q24)上, 在哺乳动物细胞中, NF- κ B由2组共5个家族成员组成, NF- κ B1(p50)、NF- κ B2(p52)为一组; 另一组包括RelA(p65)、RelB和c-Rel, 其中RelA(p65)促进炎症发生发展的作用较其他4个显著^[34]。在无刺激条件下, NF- κ B在细胞质中与抑制蛋白分子(inhibitor of κ B, I κ B)结合在一起, 以非活性形式存在。当刺激触发信号通路时, I κ B就被激酶磷酸化, NF- κ B随即从聚合体中解离出来, 经泛素化修饰后, 通过蛋白酶降解。脱离I κ B后, 迅速移入核内, 与核内DNA上的特异性序列相结合, 从而启动或增强相关基因的转录。促进下游细胞因子(如IL-6、IL-8、IL-10等)的分泌效应, 从而加重免疫反应。Kaci等^[35]的研究发现, 唾液链球菌的上清液中含有某种活化代谢产物, 可以通过抑制肠上皮细胞和巨噬细胞中NF- κ B的活性, 进而减少IL-8的分泌。

众多研究指出, NF- κ B在UC患病过程中起到了非常重要的作用, 特异性的灭活NF- κ B信号通路, 能够减弱肿瘤相关的炎症反应^[36]。1997年Conner等^[37]研究发现, 通过选择性蛋白酶抑制剂阻断NF- κ B的活性, 可以抑制慢性肉芽肿性肠炎炎症的发生。Neurath等^[38]研究显示, 抑制NF- κ B家族中RelA(p65)的表达可以相对减弱小鼠肠炎模型中的炎症反应。提示NF- κ B转录因子的敲除可能对人类IBD有较大的治疗价值。

2.2 NF- κ B基因多态性与UC的相关性 Karban等^[39]研究确定了NF- κ B启动子区域-94ins/del ATTG多态性与UC的患病风险相关。Borm等^[40]研究提示, UC在荷兰白种人患者中启动子区域NF- κ B上游94 kb ATTG的缺失的多态性与UC显著有关。德国一项研究^[41]表明, NF- κ B启动子区域-94ins/del ATTG多态性与UC和CD无相关性。而Oliver等^[42]研究表明, NF- κ B启动子区域-94ins/del ATTG多态性与西班牙人UC的易感性及表型均无关。中国湖北一项研究^[43]表明NF- κ B启动子区域-94ins/del ATTG多态性较健康人群差异无统计学意义, 研究者提出NF- κ B基因可能与UC真正致病基因存在紧密关联。提

相关报道
Franke等及Anderson等对炎症性肠病(inflammatory bowel disease)相关研究, 已成功分析出99个非重复的易感基因位点, 其中包括UC和CD的共同易感位点28个。

创新盘点
UC蛋白酪氨酸磷酸酶2(protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2)和核因子- κ B(nuclear factor- κ B)基因组多态性研究结果在国内汉族人群中存在很大争议, 本文对其最新研究进展进行了综述, 为揭开UC的致病机制奠定了基础。

示*NF- κ B*启动子区域多态性存在种族差异。国内南方有研究^[44]显示*NF- κ B*基因rs3774963C>G位点, UC患者的GG基因型和G等位基因频率明显高于对照组, 提示*NF- κ B*基因rs3774963C>G基因多态性与UC的发病具有相关性, 其中G等位基因可能是UC的遗传危险因素, *NF- κ B*基因rs3774963位点的多态性可以作为UC的遗传易感的标记。

3 结论

UC是一种发病机制尚不十分明确且反复发作的肠道疾病, 通过检测基因型来筛查具有易患UC的高危人群, 从而避免易患人群接触UC可控的易感因素, 对早期发现和及时预防具有重要意义。*NOD2/CARD15*^[45,46](nucleotide binding oligomerisation domain 2/caspase recruitment domains 15)、人类白细胞抗原^[47,48](human leukocyte antigen, *HLA*)、肿瘤坏死因子超家族成员15(tumor necrosis factor-superfamily 15, *TNFSF15*)^[49,50]、白细胞介素-23受体(interleukin-23 receptor, *IL-23R*)^[51]、细胞毒性T淋巴细胞抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4, *CTLA-4*)^[52]、谷胱甘肽S转移酶P1(glutathione S transferase P1, *GSTP1*)等基因上的单个或多个基因位点多态性已被证实与人群IBD的易感性相关, *PTPN2*、*NF- κ B*基因多态性与UC的研究才刚刚起步, 有待于进行多民族、多地域的大样本广泛深入的协同研究, 有可能成为UC风险预测及预防的一条新线索和途径。未来很有必要在我国更多的人群中开展IBD易感基因多态性的研究, 为我国IBD的诊治及研发相关靶向药物提供线索^[53]。

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年. 广州). 胃肠病学 2012; 17: 763-780
- 2 Bridger S, Lee JC, Bjarnason I, Jones JE, Macpherson AJ. In siblings with similar genetic susceptibility for inflammatory bowel disease, smokers tend to develop Crohn's disease and non-smokers develop ulcerative colitis. *Gut* 2002; 51: 21-25 [PMID: 12077086 DOI: 10.1136/gut.51.1.21]
- 3 Hammer HF. Gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2011; 29: 550-553 [PMID: 22179210 DOI: 10.1159/000332981]
- 4 Cooney R, Jewell D. The genetic basis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 428-442 [PMID: 19897957 DOI: 10.1159/000234909]
- 5 Leone V, Chang EB, Devkota S. Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2013; 48: 315-321

- [PMID: 23475322 DOI: 10.1007/s00535-013-0777-2]
- 6 Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, Lees CW, Balschun T, Lee J, Roberts R, Anderson CA, Bis JC, Bumpstead S, Ellinghaus D, Festen EM, Georges M, Green T, Haritunians T, Jostins L, Latiano A, Mathew CG, Montgomery GW, Prescott NJ, Raychaudhuri S, Rotter JI, Schumm P, Sharma Y, Simms LA, Taylor KD, Whiteman D, Wijmenga C, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Cohen A, Colombel JF, Cottone M, Stronati L, Denson T, De Vos M, D'Inca R, Dubinsky M, Edwards C, Florin T, Franchimont D, Gearry R, Glas J, Van Gossum A, Guthery SL, Halfvarson J, Verspaget HW, Hugot JP, Karban A, Laukens D, Lawrance I, Lemann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, Mowat C, Newman W, Panés J, Phillips A, Proctor DD, Regueiro M, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Seibold F, Steinhart AH, Stokkers PC, Torkvist L, Kullak-Ublick G, Wilson D, Walters T, Targan SR, Brant SR, Rioux JD, D'Amato M, Weersma RK, Kugathasan S, Griffiths AM, Mansfield JC, Vermeire S, Duerr RH, Silverberg MS, Satsangi J, Schreiber S, Cho JH, Annesse V, Hakonarson H, Daly MJ, Parkes M. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42: 1118-1125 [PMID: 21102463 DOI: 10.1038/ng.717]
 - 7 Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, Lee JC, Goyette P, Imielinski M, Latiano A, Lagacé C, Scott R, Amininejad L, Bumpstead S, Baidoo L, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Colombel JF, Denson LA, De Vos M, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Fehrmann RS, Floyd JA, Florin T, Franchimont D, Franke L, Georges M, Glas J, Glazer NL, Guthery SL, Haritunians T, Hayward NK, Hugot JP, Jobin G, Laukens D, Lawrance I, Lemann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, McGovern DP, Milla M, Montgomery GW, Morley KI, Mowat C, Ng A, Newman W, Ophoff RA, Papi L, Palmieri O, Peyrin-Biroulet L, Panés J, Phillips A, Prescott NJ, Proctor DD, Roberts R, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Schumm P, Seibold F, Sharma Y, Simms LA, Seielstad M, Steinhart AH, Targan SR, van den Berg LH, Vatn M, Verspaget H, Walters T, Wijmenga C, Wilson DC, Westra HJ, Xavier RJ, Zhao ZZ, Ponsioen CY, Andersen V, Torkvist L, Gazouli M, Anagnou NP, Karlsen TH, Kupcinskis L, Sventoraityte J, Mansfield JC, Kugathasan S, Silverberg MS, Halfvarson J, Rotter JI, Mathew CG, Griffiths AM, Garry R, Ahmad T, Brant SR, Chamaillard M, Satsangi J, Cho JH, Schreiber S, Daly MJ, Barrett JC, Parkes M, Annesse V, Hakonarson H, Radford-Smith G, Duerr RH, Vermeire S, Weersma RK, Rioux JD. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43: 246-252 [PMID: 21297633 DOI: 10.1038/ng.764]
 - 8 Tonks NK, Neel BG. Combinatorial control of the specificity of protein tyrosine phosphatases. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 182-195 [PMID: 11248552 DOI: 10.1016/S0955-0674(00)00196-4]

- 9 Scharl M, Paul G, Weber A, Jung BC, Docherty MJ, Hausmann M, Rogler G, Barrett KE, McCole DF. Protection of epithelial barrier function by the Crohn's disease associated gene protein tyrosine phosphatase n2. *Gastroenterology* 2009; 137: 2030-2040.e5 [PMID: 19818778 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.078]
- 10 Scharl M, Wojtal KA, Becker HM, Fischbeck A, Frei P, Arikkat J, Pesch T, Kellermeier S, Boone DL, Weber A, Loessner MJ, Vavricka SR, Fried M, McCole DF, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2 regulates autophagosome formation in human intestinal cells. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1287-1302 [PMID: 21987459 DOI: 10.1002/ibd.21891]
- 11 Bourdeau A, Dubé N, Tremblay ML. Cytoplasmic protein tyrosine phosphatases, regulation and function: the roles of PTP1B and TC-PTP. *Curr Opin Cell Biol* 2005; 17: 203-209 [PMID: 15780598 DOI: 10.1016/j.ceb.2005.02.001]
- 12 Heinonen KM, Nestel FP, Newell EW, Charette G, Seemayer TA, Tremblay ML, Lapp WS. T-cell protein tyrosine phosphatase deletion results in progressive systemic inflammatory disease. *Blood* 2004; 103: 3457-3464 [PMID: 14726372 DOI: 10.1182/blood-2003-09-3153]
- 13 Diaz-Gallo LM, Palomino-Morales RJ, Gómez-García M, Cardeña C, Rodrigo L, Nieto A, Alcain G, Cueto I, López-Nevot MA, Martin J. STAT4 gene influences genetic predisposition to ulcerative colitis but not Crohn's disease in the Spanish population: a replication study. *Hum Immunol* 2010; 71: 515-519 [PMID: 20153791 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.02.005]
- 14 Heinonen KM, Bourdeau A, Doody KM, Tremblay ML. Protein tyrosine phosphatases PTP-1B and TC-PTP play nonredundant roles in macrophage development and IFN- γ signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 9368-9372 [PMID: 19474293 DOI: 10.1073/pnas.0812109106]
- 15 Scharl M, McCole DF, Weber A, Vavricka SR, Frei P, Kellermeier S, Pesch T, Fried M, Rogler G. Protein tyrosine phosphatase N2 regulates TNF α -induced signalling and cytokine secretion in human intestinal epithelial cells. *Gut* 2011; 60: 189-197 [PMID: 21115548 DOI: 10.1136/gut.2010.216606]
- 16 李昊, 李伟, 丁一, 郭斌, 谢红慧, 付敏, 王琪. 非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶2与核因子- κ B在糖尿病牙周炎牙周组织破坏中的作用研究. *华西口腔医学杂志* 2012; 30: 598-602
- 17 You-Ten KE, Muise ES, Itié A, Michaliszyn E, Wagner J, Jothy S, Lapp WS, Tremblay ML. Impaired bone marrow microenvironment and immune function in T cell protein tyrosine phosphatase-deficient mice. *J Exp Med* 1997; 186: 683-693 [PMID: 9271584]
- 18 van Vliet C, Bukczynska PE, Puryer MA, Sadek CM, Shields BJ, Tremblay ML, Tiganis T. Selective regulation of tumor necrosis factor-induced Erk signaling by Src family kinases and the T cell protein tyrosine phosphatase. *Nat Immunol* 2005; 6: 253-260 [PMID: 15696169 DOI: 10.1038/ni1169]
- 19 Chistiakov DA, Chistiakova EI. T-cell protein tyrosine phosphatase: A role in inflammation and autoimmunity. *Int J Diabetes Mellit* 2010; 2: 114-118 [DOI: 10.1016/j.ijdm.2010.05.012]
- 20 Latiano A, Palmieri O, Latiano T, Corritore G, Bossa F, Martino G, Biscaglia G, Scimeca D, Valvano MR, Pastore M, Marseglia A, D'Inca R, Andriulli A, Annese V. Investigation of multiple susceptibility loci for inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *PLoS One* 2011; 6: e22688 [PMID: 21818367 DOI: 10.1371/journal.pone]
- 21 Marciel V, Mack DR, Kumar V, Faure C, Carlson CS, Beaulieu P, Israel D, Krupoves A, Costea I, Lambrette P, Grimard G, Dong J, Seidman EG, Amre DK, Levy E. Association between the PTPN2 gene and Crohn's disease: dissection of potential causal variants. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1149-1155 [PMID: 23518806 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318280b181]
- 22 Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, Roberts RG, Nimmo ER, Cummings FR, Soars D, Drummond H, Lees CW, Khawaja SA, Bagnall R, Burke DA, Todhunter CE, Ahmad T, Onnie CM, McArdle W, Strachan D, Bethel G, Bryan C, Lewis CM, Deloukas P, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Satsangi J, Mansfield JC, Cardon L, Mathew CG. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007; 39: 830-832 [PMID: 17554261 DOI: 10.1038/ng2061]
- 23 Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678 [PMID: 17554300 DOI: 10.1038/nature05911]
- 24 Glas J, Wagner J, Seiderer J, Olszak T, Wetzke M, Beigel F, Tillack C, Stallhofer J, Friedrich M, Steib C, Göke B, Ochsenkühn T, Karbalai N, Diegelmann J, Czamara D, Brand S. PTPN2 gene variants are associated with susceptibility to both Crohn's disease and ulcerative colitis supporting a common genetic disease background. *PLoS One* 2012; 7: e33682 [PMID: 22457781 DOI: 10.1371/journal.pone.0033682]
- 25 Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Hedderich J, May S, Lu T, Schuldt D, Nikolaus S, Rosenstiel P, Krawczak M, Schreiber S. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. *Nat Genet* 2008; 40: 713-715 [PMID: 18438405 DOI: 10.1038/ng.148]
- 26 Lv C, Yang X, Zhang Y, Zhao X, Chen Z, Long J, Zhang Y, Zhong C, Zhi J, Yao G, Jiang B, Zhi F. Confirmation of three inflammatory bowel disease susceptibility loci in a Chinese cohort. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1465-1472 [PMID: 22426692 DOI: 10.1007/s00384-012-1450-6]
- 27 Yu W, Hegarty JP, Berg A, Kelly AA, Wang Y, Poritz LS, Franke A, Schreiber S, Koltun WA, Lin Z. PTPN2 is associated with Crohn's disease and its expression is regulated by NKX2-3. *Dis Markers* 2012; 32: 83-91 [PMID: 22377701 DOI: 10.3233/DMA-2011-0867]
- 28 Waterman M, Xu W, Stempak JM, Milgrom R, Bernstein CN, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Silverberg MS. Distinct and overlapping genetic loci in Crohn's disease and ulcerative colitis: correlations with pathogenesis.

同行评价
本文选题符合当前研究的热点, 观点明确, 有助于读者了解相关基因多态性在UC发病中的作用及与UC易感性的关系. 对于从事相关研究者有一定的指导和借鉴意义.

- Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1936-1942 [PMID: 21830272 DOI: 10.1002/ibd.21579]
- 29 Zhang JX, He JH, Wang J, Song J, Lei HB, Wang J, Dong WG. Associations between PTPN2 polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease: a meta-analysis. *Inflamm Res* 2014; 63: 71-79 [PMID: 24127071 DOI: 10.1007/s00011-013-0673-5]
 - 30 Amre DK, Mack DR, Morgan K, Israel D, Deslandres C, Seidman EG, Lambrette P, Costea I, Krupoves A, Fegury H, Dong J, Grimard G, Levy E. Susceptibility loci reported in genome-wide association studies are associated with Crohn's disease in Canadian children. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1186-1191 [PMID: 20222910 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04294.x]
 - 31 Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* 1986; 46: 705-716. *J Immunol* 2006; 177: 7485-7496 [PMID: 17114415 DOI: 10.1016/0092-8674(86)90346-6]
 - 32 Chen F, Castranova V, Shi X. New insights into the role of nuclear factor-kappaB in cell growth regulation. *Am J Pathol* 2001; 159: 387-397 [PMID: 11485895 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61708-7]
 - 33 Li Q, Verma IM. NF-kappaB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 725-734 [PMID: 12360211 DOI: 10.1038/nri910]
 - 34 Baldwin AS. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 649-683 [PMID: 8717528 DOI: 10.1146/annurev.immunol.14.1.649]
 - 35 Kaci G, Lakhdari O, Doré J, Ehrlich SD, Renault P, Blottière HM, Delorme C. Inhibition of the NF-kappaB pathway in human intestinal epithelial cells by commensal *Streptococcus salivarius*. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77: 4681-4684 [PMID: 21602373 DOI: 10.1128/AEM.03021-10]
 - 36 Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li ZW, Egan LJ, Kagnoff MF, Karin M. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 2004; 118: 285-296 [PMID: 15294155 DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.013]
 - 37 Conner EM, Brand S, Davis JM, Laroux FS, Palombella VJ, Fuseler JW, Kang DY, Wolf RE, Grisham MB. Proteasome inhibition attenuates nitric oxide synthase expression, VCAM-1 transcription and the development of chronic colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1615-1622 [PMID: 9316879]
 - 38 Neurath MF, Pettersson S, Meyer zum Büschenfelde KH, Strober W. Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF-kappa B abrogates established experimental colitis in mice. *Nat Med* 1996; 2: 998-1004 [PMID: 8782457 DOI: 10.1038/nm0996-998]
 - 39 Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CI, Gallegos T, Potter JJ, Bailey-Wilson JE, Silverberg MS, Duerr RH, Cho JH, Gregersen PK, Wu Y, Achkar JP, Dassopoulos T, Mezey E, Bayless TM, Novet FJ, Brant SR. Functional annotation of a novel NFKB1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 35-45 [PMID: 14613970 DOI: 10.1093/hmg/ddh008]
 - 40 Borm ME, van Bodegraven AA, Mulder CJ, Kraal G, Bouma G. A NFKB1 promoter polymorphism is involved in susceptibility to ulcerative colitis. *Int J Immunogenet* 2005; 32: 401-405 [PMID: 16313306 DOI: 10.1111/j.1744-313X.2005.00546.x]
 - 41 Glas J, Török HP, Tonenchi L, Müller-Myhsok B, Mussack T, Wetzke M, Klein W, Epplen JT, Griga T, Schiemann U, Lohse P, Seiderer J, Schnitzler F, Brand S, Ochsenkühn T, Folwaczny M, Folwaczny C. Role of the NFKB1 -94ins/delATTG promoter polymorphism in IBD and potential interactions with polymorphisms in the CARD15/NOD2, IKBL, and IL-1RN genes. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 606-611 [PMID: 16804398 DOI: 10.1097/01.ibd.0000225346.23765.6b]
 - 42 Oliver J, Gómez-García M, Paco L, López-Nevot MA, Piñero A, Corroero F, Martín L, Brieva JA, Nieto A, Martín J. A functional polymorphism of the NFKB1 promoter is not associated with ulcerative colitis in a Spanish population. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 576-579 [PMID: 15905705 DOI: 10.1097/01.MIB.0000161916.20007.76]
 - 43 雷媛, 邓长生. NFKB1基因启动子区域多态性与中国湖北汉族人溃疡性结肠炎的关系. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2212-2216
 - 44 郭俊宇, 韦叶生, 周喜汉, 杨昌谋, 覃安强. NF-κB1基因多态性与溃疡性结肠炎相关性研究. *广东医学* 2010; 31: 724-726
 - 45 Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606 [PMID: 11385577 DOI: 10.1038/35079114]
 - 46 Zaahl MG, Winter T, Warnich L, Kotze MJ. Analysis of the three common mutations in the CARD15 gene (R702W, G908R and 1007fs) in South African colored patients with inflammatory bowel disease. *Mol Cell Probes* 2005; 19: 278-281 [PMID: 15967635 DOI: 10.1016/j.mcp.2005.03.001]
 - 47 Okada Y, Yamazaki K, Umeno J, Takahashi A, Kumasaka N, Ashikawa K, Aoi T, Takazoe M, Matsui T, Hirano A, Matsumoto T, Kamatani N, Nakamura Y, Yamamoto K, Kubo M. HLA-Cw*1202-B*5201-DRB1*1502 haplotype increases risk for ulcerative colitis but reduces risk for Crohn's disease. *Gastroenterology* 2011; 141: 864-871. e1-5 [PMID: 21699788 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.048]
 - 48 Achkar JP, Klei L, de Bakker PI, Bellone G, Rebert N, Scott R, Lu Y, Regueiro M, Brzezinski A, Kamboh MI, Fiocchi C, Devlin B, Trucco M, Ringquist S, Roeder K, Duerr RH. Amino acid position 11 of HLA-DRβ1 is a major determinant of chromosome 6p association with ulcerative colitis. *Genes Immun* 2012; 13: 245-252 [PMID: 22170232 DOI: 10.1038/gene.2011.79]
 - 49 Thiébaud R, Kotti S, Jung C, Merlin F, Colombel JF, Lemann M, Almer S, Tysk C, O'Morain M, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Pascoe L, Hugot JP. TNFSF15 polymorphisms are associated with susceptibility to inflammatory bowel disease in a new European cohort. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 384-391 [PMID: 19174806 DOI: 10.1038/ajg.2008.36]
 - 50 Picornell Y, Mei L, Taylor K, Yang H, Targan SR, Rotter JI. TNFSF15 is an ethnic-specific IBD gene.

- 51 *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1333-1338 [PMID: 17663424 DOI: 10.1002/ibd.20223]
- Ballester V, Guo X, Vendrell R, Haritunians T, Klonmhaus AM, Li D, McGovern DP, Rotter JI, Torres EA, Taylor KD. Association of NOD2 and IL23R with inflammatory bowel disease in Puerto Rico. *PLoS One* 2014; 9: e108204 [PMID: 25259511 DOI: 10.1371/journal.pone.0108204]
- 52 Luo Y, Xia B, Li C, Chen Z, Ge L, Jiang T, Zhou F, Zhao Y. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 promoter -658CT gene polymorphism is associated with ulcerative colitis in Chinese patients. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 489-493 [PMID: 19089435 DOI: 10.1007/s00384-008-0626-6]
- 53 李彩霞, 郑秀芬. 单核苷酸多态性研究进展及其在医学中的应用. *医学分子生物学杂志* 2002; 24: 206-209

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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29个省、市、自治区、特别行政区和美国的409位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

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

miRNA-210在胃癌转移细胞株中的表达及功能预测

张小静, 冯先玲, 黄勇, 高燕, 曹子一, 黄伟玲, 张媛, 简千贺, 钟锦成, 杨梦婷, 范新民, 金哲

背景资料
胃癌是一种严重威胁人类健康的恶性肿瘤, 且发病率逐年上升, 目前以手术为主, 但总体疗效不佳。本课题利用微小RNA(microRNA, miRNA)表达谱芯片筛选胃癌(gastric cancer, GC)转移相关的差异表达miRNA, 探讨差异表达的miRNA miRNA-210与GC转移的可能机制, 为胃癌的基础研究提供新的研究靶点。

张小静, 冯先玲, 范新民, 金哲, 深圳大学医学院病理教研室 深圳天然小分子创新药物工程实验室 深圳市肿瘤转化医学重点实验室 广东省深圳市 518060
黄勇, 曹子一, 黄伟玲, 张媛, 杨梦婷, 深圳大学医学院临床医学系 广东省深圳市 518060
高燕, 深圳市第六人民医院(南山医院)消化科 广东省深圳市 518060
简千贺, 钟锦成, 深圳大学医学院药理学系 广东省深圳市 518060
金哲, 北京大学深圳研究生院化学基因组学重点实验室 广东省深圳市 518060
张小静, 讲师, 主要从事消化系统疾病的病理研究。
国家自然科学基金面上资助项目, No. 81172282
国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 81302151
深圳市海外高层次人才创新创业专项基金资助项目, No. KQCX20130621101141669
深圳市科技研发资金国家和省计划配套基金资助项目, No. GJHS20120621142654087
深圳市肿瘤转化医学重点实验室建设基金资助项目, No. ZDSY20130329101130496
深圳大学科研基金资助面上资助项目, No. 80100035905
深圳大学基础研究科研基金资助项目, No. 201108
深圳大学科技创新团队基金资助项目, No. T201202
作者贡献分布: 张小静、冯先玲及黄勇对此文所作贡献均等; 此课题由张小静、冯先玲、黄勇、高燕、范新民及金哲设计; 研究过程由曹子一、黄伟玲、张媛、简千贺、钟锦成及杨梦婷操作完成; 研究所用试剂及分析工具由杨梦婷提供; 数据分析有张小静、冯先玲及黄勇完成; 本论文写作由张小静、范新民及金哲完成。
通讯作者: 金哲, 教授, 518060, 广东省深圳市南山区南海大道3688号, 深圳大学医学院病理教研室, 深圳天然小分子创新药物工程实验室, 深圳市肿瘤转化医学重点实验室, zhejin@szu.edu.cn
电话: 0755-86671904 传真: 0755-86671906
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-14
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-08

Expression of miRNA-210 in gastric cancer cell lines and its function prediction

Xiao-Jing Zhang, Xian-Ling Feng, Yong Huang, Yan Gao, Zi-Yi Cao, Wei-Ling Huang, Yuan Zhang, Qian-He Jian, Jin-Cheng Zhong, Meng-Ting Yang, Xin-Min Fan, Zhe Jin

Xiao-Jing Zhang, Xian-Ling Feng, Xin-Min Fan, Zhe Jin, Department of Pathology, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen Key Laboratory of Innovative Natural Small-molecule Drugs, Shenzhen Key Laboratory of Translational Medicine of Tumor, Shenzhen 518060, Guangdong Province, China
Yong Huang, Zi-Yi Cao, Wei-Ling Huang, Yuan Zhang, Meng-Ting Yang, Department of Clinical Medicine, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, China
Yan Gao, Department of Gastroenterology, Sixth People's Hospital of Shenzhen (Nanshan Hospital), Shenzhen 518060, Guangdong Province, China

同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

Qian-He Jian, Jin-Cheng Zhong, Department of Pharmacy, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, China

Zhe Jin, Key Laboratory of Chemical Genomics, Shenzhen Graduate School, Peking University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81172282 and 81302151; Shenzhen Peacock Plan, No. KQCX20130621101141669; Science and Technology Project of Shenzhen, No. GJHS20120621142654087; the Key Laboratory Project of Shenzhen, No. ZDSY20130329101130496; Natural Science Foundation of SZU, Nos. 80100035905 and 201108; Technological Innovation Team Fund of SZU, No. T201202

Correspondence to: Zhe Jin, Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen Key Laboratory of Innovative Natural Small-molecule Drugs, Shenzhen Key Laboratory of Translational Medicine of Tumor, Key Laboratory of Chemical Genomics, Shenzhen Graduate School, Peking University, 3688 Nanshan Avenue, Nanshan District, Shenzhen 518060, Guangdong Province, China. zhejin@szu.edu.cn

Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-14

Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To screen microRNAs (miRNAs) associated with metastasis of gastric cancer (GC) by miRNA microarray and to explore the possible role of miRNA-210 in GC metastasis by bioinformatics.

METHODS: GC cell lines with low (RF1) or high metastatic potential (RF48) were used for miRNA expression profiling using human miRNA microarray. Expression of miRNA-210 in 7 GC cell lines was detected by RT-PCR. MiRNA-210 targets were obtained using miRWalk, and functions of these targets in GC were predicted with David online.

RESULTS: Compared with RF1 cells, 21 and 15 miRNAs were up-regulated and down-regulated in RF48 cells, respectively. Expression of miRNA-210 was further validated by real-time quantitative RT-PCR in multiple GC cell lines with different metastatic potential, which showed that miRNA-210 was overexpressed in GC cell lines with high metastatic potential. Bioinformatics analysis suggested that miRNA-210 was related with tumorigenesis and metastasis.

CONCLUSION: Screening miRNAs associated with metastasis lays a foundation for identifying early diagnostic markers and new therapeutic targets for GC metastasis. Expression profile of miRNAs associated with metastasis was obtained by miRNA microarray; dysregulated expression of miRNA-210 may be related with GC metastasis, and may serve as an early diagnostic biomarker and new treatment target.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Stomach neoplasms; miRNA-210; Microarray analysis; Neoplasm metastasis; Computational biology

Zhang XJ, Feng XL, Huang Y, Gao Y, Cao ZY, Huang WL, Zhang Y, Jian QH, Zhong JC, Yang MT, Fan XM, Jin Z. Expression of miRNA-210 in gastric cancer cell lines and its function prediction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 78-84 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/78.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.78>

摘要

目的: 筛选胃癌(gastric cancer, GC)转移相关的差异表达微小RNA(microRNA, miRNA), 探讨miRNA-210与GC转移的可能机制。

方法: 应用miRNA表达谱芯片筛选GC高转移细胞株RF48及低转移细胞株RF1的差异表达miRNAs, RT-PCR检测miRNA-210在7种GC细胞株中的表达情况, 利用miRWalk软件获得miRNA-210的靶基因, 通过David在线软件(包括GO分析及KEGG通路预测)分析miR-210靶基因的可能生物学功能。

结果: 与RF1相比, miRNA芯片在RF48细胞中共筛选出21个表达上调和15个表达下调的miRNA, 其中miRNA-210在高转移细胞株RF48中的表达增高; RT-PCR结果显示miRNA-210在高转移GC细胞株中表达增高($P<0.05$); miRWalk共获得155个miRNA-210靶基因; GO分析及KEGG pathway分析得到miRNA-210靶基因功能, 这些靶基因参与了肿瘤的发生、发展及转移。

结论: 利用miRNA芯片技术获得了GC转移相关miRNA表达谱; miRNA-210的异常表达可能与GC的转移有关, 为GC转移的早期诊断及发现新的治疗靶点奠定了基础。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肿瘤; miRNA-210; 微阵列分析; 肿瘤转移; 计算生物学

核心提示: 本文利用微小RNA(microRNA, miRNA)芯片技术获得了胃癌(gastric cancer, GC)转移相关miRNA表达谱; miRNA-210的异常表达可能与GC的转移有关, 为GC转移的早期诊断及发现新的治疗靶点奠定了基础。

张小静, 冯先玲, 黄勇, 高燕, 曹子一, 黄伟玲, 张媛, 简千贺, 钟锦成, 杨梦婷, 范新民, 金哲. miRNA-210在胃癌转移细胞株中的表达及功能预测. *世界华人消化杂志* 2015; 23(1): 78-84 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/78.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.78>

0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长约18-25个核苷酸, 具有转录后调控作用的非编码RNA, 通过与靶基因的结合, 直接降解或抑制靶基因的mRNA的表达而发挥作用^[1,2]. 至从1993年被首次报导, 已有上千种人miRNA相继被发现, 这些miRNA能调节人类的蛋白编码基因的表达. 大量文献[3-5]报道人类肿瘤中存在miRNA的异常表达, 例如, 在乳腺癌、结直肠癌、肝癌等多种癌症中miRNA的异常表达相继被报道. miRNA的异常表达与肿瘤的形成、细胞的增殖、凋亡、侵袭及血管形成等过程密切相关^[6,7]. miR-449a能诱导前列腺癌细胞的生长阻滞^[8]. miR-24通过抑制靶基因*RegIV*的活性, 限制GC细胞的增殖及侵袭^[9]. miR-378能增强恶性胶质瘤细胞存活, 降低Caspase3的活性, 从而促进肿瘤细胞的生长及血管形成^[10]. 本课题采用miRNA表达谱芯片技术, 筛选胃癌(gastric cancer, GC)高转移细胞株RF48及低转移细胞株RF1的差异表达miRNA, 以发现可能参与调控GC细胞转移相关的miRNA, 并对差异表达miRNA-210的生物学功能进行生物信息学分析, 为阐明miRNA在GC细胞转移过程中的调控机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人GC细胞株MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87、RF48、MNK28及RF1由本课题组保存. 7株GC细胞株中, RF-1和RF-48分别为同一个患者的原发灶和转移灶, MNK28来自GC原发灶, MGC803、BGC823均来自低分化胃腺癌^[11,12], KATO III、NCI-N87分别来

研发前沿
miRNA具有转录后调控作用的非编码RNA, 通过与靶基因的结合, 直接降解或抑制靶基因的mRNA的表达而发挥作用, 越来越多的研究表明miRNA参与基因的表达调控, 与肿瘤的发生发展密切相关而成为当前的研究热点。

相关报道
国外研究发现多种miRNA在胃癌组织中异常表达,且在胃癌的发生过程中多种的miRNA通过不同途径发挥着各自的重要作用,但关于胃癌中差异表达的miRNA生物信息预测报道鲜见。

自GC的淋巴结和肝脏的转移灶,因此,RF-1和MNK28为低转移细胞株,MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87和RF48均为高转移细胞株。本课题利用具有强转移对比性的RF48及RF1进行miRNA芯片表达谱的筛选,采用Taqman荧光定量RT-PCR检测miRNA-210在高转移细胞株(MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87、RF48)和低转移细胞株(MNK28和RF1)中的表达情况,且对芯片结果进行验证。BGC823、MNK28用含有10%胎牛血清的1640培养液进行培养,其余5株细胞株均用含10%胎牛血清的DMEM培养液进行培养,在37℃、95%湿度、50 mL/L CO₂条件下生长,取生长状态良好的细胞进行后续实验。

1.2 方法

1.2.1 细胞总RNA的提取及质量检测:取生长状态良好的RF48及RF1细胞株按每毫升 1×10^4 个细胞接种于25 cm²培养瓶,离心后弃上清液,加TRIzol试剂(Invitrogen),48 h后利用TRIzol抽取总RNA,步骤按照说明书进行。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测总RNA的完整性,测定A_{260/280}比值检测RNA纯度,RNA产物置-80℃保存,备用。

1.2.2 miRNA芯片实验和数据分析:取约100 ng的总RNA,利用小分子RNA的分离试剂盒(Ambion's miRNA Isolation Kit)进行小分子RNA的分离,利用小分子RNA的Cy3荧光标记试剂盒(Agilent's miRNA Complete Labeling and Hyb Kit)将小分子RNA进行3-pCp荧光标记(Agilent, Santa Clara, CA, USA)。将标记好的小分子RNA与miRNA芯片进行杂交反应,芯片采用美国Agilent公司的Human microRNA Microarray(V2)对样品进行杂交。Human microRNA Microarray(V2)芯片为Human miRNA芯片,含有723条人microRNA。每张miRNA芯片中包含有至少1500个特异性探针、对照探针以及无探针的空白对照。杂交后的芯片应用Agilent Microarray Scanner(Agilent, version A.7.0.1)进行扫描分析。miRNA相对表达量大于或等于对照组2倍的为差异基因筛选标准。

1.2.3 荧光实时定量RT-PCR反应:取100 ng总RNA,应用TaqMan miRNA Reverse Transcription Kit逆转录合成cDNA,再进行定量PCR检测。25 μL反应体系,PCR条件如下:95℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 3 s,共35个循环。U6 RNA作为内参照,所有样品设3次重复。

1.2.4 差异表达miRNA生物信息学分析:首先应用miRWalk数据库(<http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/index.html>)获得差异表达miRNA-210的靶基因。miRWalk数据库集成了DIANA-mT、miRanda、miRDB、RNAhybrid、PICTAR4、PICTAR5、PITA、RNA22、TargetScan及miRWalk等10大miRNA靶基因的软件预测数据库,并且涵盖了来源于实验验证后及文献报导的“Experimental Validated”数据,收录了包括miRNA靶基因以及miRNA与信号通路、遗传性的基因疾病及组织特异性表达相关的数据信息,是一个miRNA相关的综合数据库。本研究中利用Experimental Validated数据获得miRNA-210的靶基因,随后利用David数据库对miRNA-210靶基因进行GO(Gene ontology)分析及KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)信号通路分析。

统计学处理 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析miRNA的相对基因表达量, $\Delta Ct_{\text{sample}} = Ct_{\text{sample}} - Ct_{U6 \text{ sample}}$, $\Delta Ct_{\text{control}} = Ct_{\text{control}} - Ct_{U6 \text{ control}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{sample}} - \Delta Ct_{\text{control}}$,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 获得相对基因表达差异的倍数。所有数据均采用统计软件SPSS13.0处理,以mean±SD表示,组间两两比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA芯片筛选结果 miRNA芯片筛选结果显示,与RF1细胞株相比,RF48细胞株中共有21个miRNA表达上调,15个miRNA表达下调,其中miRNA-210在高转移细胞株RF48中的表达水平高于低转移细胞株RF1 3.359倍(表1),且miRNA-210在GC中表达及机制研究在国内尚未见报道,因此,本课题后续验证了miRNA-210的表达水平,并对其功能进行了生物信息预测。

2.2 miRNA-210在GC细胞株中的表达情况通过RT-PCR检测miRNA-210在GC细胞株MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87、RF48、MNK28及RF1中的表达情况,且对芯片结果进行验证。结果表明miRNA-210在高转移细胞株(MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87、RF48)中的表达明显高于低转移细胞株MNK28及RF1(MNK28和RF1的表达量的均数及各自分别表达量),差异具有统计学意义($P < 0.05$)(图1),与芯片结果一致。

2.3 miRNA-210靶基因的获得及生物学功能

表 1 miRNA芯片检测RF48及RF1中差异表达的miRNA

MicroRNA	RF48/RF1	MicroRNA	RF48/RF1
Up regulaiton	Fold change	Down regulaiton	Fold change
miRNA - 193	5.133	miRNA - 455	0.065
miRNA - 30b	4.632	miRNA - 196b	0.187
miRNA - 194	4.513	miRNA - 744 - 3p	0.355
miRNA - 551b	3.866	miRNA - 139 - 3p	0.365
miRNA - 215	3.559	miRNA - 885	0.386
miRNA - 210 ¹	3.359	miRNA - 630	0.389
miRNA - 301a	3.305	miRNA - 196a	0.412
miRNA - 33a	3.205	miRNA - 432	0.417
miRNA - 192	3.038	miRNA - 1227	0.447
miRNA - 100	2.871	miRNA - 223	0.451
miRNA - 23b	2.757	miRNA - 30b*	0.454
miRNA - 145	2.742	miRNA - 197	0.455
miRNA - 342	2.708	miRNA - 181d	0.470
hsa - let - 7e	2.405	miRNA - 574	0.487
miRNA - 192	2.189	hsa - let - 7b	0.499
miRNA - 30a	2.160		
miRNA - 324	2.110		
miRNA - 425	2.072		
miRNA - 27b	2.034		
miRNA - 24	2.032		
miRNA - 125a	2.005		

创新盘点

本文作者针对胃癌的miRNA表达谱进行研究,发现胃癌有特异miRNA表达谱,且利用生物信息技术队差异miRNA进行功能预测,具有重要的创新价值。

¹miR-210在转移株RF48中表达上调明显, 选作研究靶点。

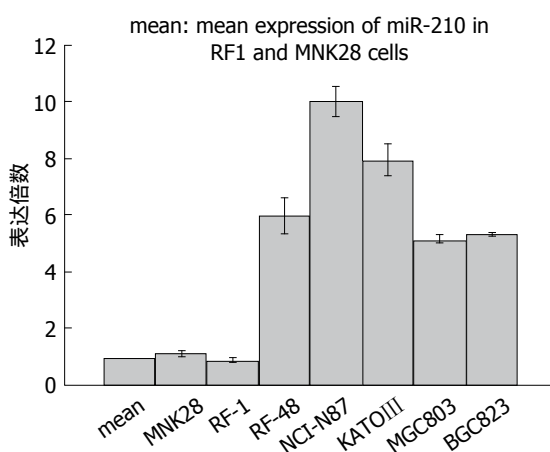


图 1 RT-PCR检测miRNA-210在GC细胞株中的表达水平。

预测 首先应用miRWalk数据库的Experimental Validated数据萃取并整合miRNA-210的靶基因,结果显示共有155个相关靶基因。进一步将获得的靶基因输入David数据库,分别进行靶基因的GO聚类分析及KEGG通路的预测。GO聚类分析结果显示,相关靶基因的分子功能(molecule function, MF)、生物学过程(biological progress, BP)和细胞组分(cellular component, CC)分别得

到51条、407条及31条相关注释描述,其主要功能与细胞的增殖、凋亡、坏死及有丝分裂等有关,参与细胞器的膜及胞质内囊泡的形成,且与膜受体蛋白络氨酸激酶活力、酶的结合及转录因子的结合等密切相关(表2)。

KEGG信号通路分析[$P < 0.05$, FDR(false discovery rate) < 0.05]结果显示, miRNA-210的靶基因可能参与多种肿瘤的发生发展及转移等过程,例如:前列腺癌、膀胱癌、胰腺癌、子宫内膜癌及结直肠癌等,且与ErbB信号通路关系密切(表3)。

3 讨论

肿瘤的侵袭和转移是一个多因素、多步骤、连续的复杂过程, miRNA芯片技术是一种高通量、集成化、自动化的检测手段,能在同一时间对多个miRNA进行检测,可在仅有微量样品的条件下,实现同时对成百上千条基因的研究,并且现已应用在基因表达检测、基因功能研究、疾病相关的生物标志等多个研究领域。本研究中,我们应用miRNA芯片技术结合生物信息学相关方法探讨GC在发生、进展、转移过程

应用要点

对miRNA的深入研究,将有助于对胃癌发病机制的理解,对差异表达miRNA miRNA-210的生物信息的预测将为其作为肿瘤治疗的新的靶位点提供理论依据,为胃癌的诊治提供了新的思路。

表 2 miRNA-210靶基因GO分析

名称	基因数	P值	富集倍数
GOTERM_BP_FAT $n = 407$			
GO:0042127 - regulation of cell proliferation	29	1.85×10^{-11}	4.491
GO:0043066 - negative regulation of apoptosis	17	2.58×10^{-8}	5.853
GO:0043069 - negative regulation of programmed cell death	17	3.13×10^{-8}	5.771
GO:0060548 - negative regulation of cell death	17	3.26×10^{-8}	5.755
GO:0051329 - interphase of mitotic cell cycle	10	1.48×10^{-7}	11.832
GOTERM_CC_FAT $n = 31$			
GO:0031967 - organelle envelope	12	0.005	2.660
GO:0031975 - envelope	12	0.005	2.652
GO:0031410 - cytoplasmic vesicle	12	0.006	2.569
GO:0031982 - vesicle	12	0.008	2.462
GO:0030141 - secretory granule	6	0.009	4.581
GOTERM_MF_FAT $n = 51$			
GO:0004714 - transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity	6	1.95×10^{-4}	11.073
GO:0019899 - enzyme binding	14	2.70×10^{-4}	3.310
GO:0008134 - transcription factor binding	13	8.06×10^{-4}	3.133
GO:0004672 - protein kinase activity	14	0.001	2.857
GO:0043566 - structure - specific DNA binding	7	0.001	5.969

表 3 miRNA-210靶基因的KEGG通路分析

名称	百分比(%)	P值	富集倍数	FDR值
hsa05200: Pathways in cancer	16.40	5×10^{-9}	5.167	5.769×10^{-6}
hsa05215: Prostate cancer	9.48	3×10^{-8}	11.026	3.263×10^{-5}
hsa05219: Bladder cancer	6.90	3×10^{-7}	16.992	0.293
hsa04012: ErbB signaling pathway	8.62	3×10^{-7}	10.254	0.356×10^{-3}
hsa05212: Pancreatic cancer	7.76	9×10^{-7}	11.151	0.984×10^{-3}
hsa05213: Endometrial cancer	6.90	10^{-6}	13.724	0.133×10^{-2}
hsa05220: Chronic myeloid leukemia	7.76	10^{-6}	10.705	0.135×10^{-2}
hsa05210: Colorectal cancer	6.90	3×10^{-5}	8.4962	0.034

中的miRNA差异表达的变化趋势,试图找出GC转移过程中的关键miRNA及其相互作用的靶基因和相互作用的通路。

在本研究中,首先对高转移GC细胞株RF48及低转移GC细胞株RF1中差异表达的miRNA进行了表达谱芯片筛选,得到21个表达上调miRNA, 15个表达下调miRNA,然而目前,国内尚未见关于GC中miRNA表达谱的文献报道,因此本课题为GC的转移相关的细胞表达谱奠定了基础(表1)。差异表达的miRNA中,miRNA-210在RF48中的表达增高3.359倍,加之目前关于miRNA-210在GC中报道较少,因此,本课题将对miRNA-210在GC细胞中的表达情况及生物学功能等方面进行进一步研究。

miRNA-210在实体瘤中研究较多,在多种

恶性实体瘤中的表达上调,例如乳腺癌、非小细胞肺癌、头颈部癌、胰腺癌、口腔癌、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、肾上腺皮质癌(adrenal cortical carcinoma, ACC)、结肠癌、卵巢癌、恶性胶质瘤及肾细胞癌等^[13,14],但在食管癌鳞癌尤其在低分化食管癌中,表达明显下调^[15]。通过研究miRNA-210在乳腺癌中的表达情况,结合患者的生存随访的调查,结果显示miRNA-210在肿瘤中的表达是一个独立的危险因素,表达越高患者的预后越差,生存率越低^[16]。同样在乳腺癌中,Camps等^[17]也发现,miRNA-210的表达与无疾病存活率及总生存率呈现负相关,随着miRNA-210表达的增高,患者的无疾病存活率及总生存率则越低。本研究利用TagMan法RT-PCR对miRNA-210在7种

GC细胞株中的表达, 结果表明, 在高转移细胞株MGC803、BGC823、KATO III、NCI-N87、RF48中miR-210呈高表达, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 验证了其在芯片中的表达情况, 与芯片结果一致. 目前, 关于GC中miRNA-210的文献报道国内仅1篇, 刘福国等^[18]采用实时定量RT-PCR检测miRNA-210在60例GC组织中的表达, 结果显示miRNA-210在GC组织中表达明显增高, 且miRNA-210的表达与淋巴结转移、远处转移等密切相关, 提示miRNA-210在GC的发生发展及转移过程中发挥了重要作用. 最新研究^[19]表明, miRNA-210在结直肠癌组织中的表达显著增高, 在与临床病理指标相关性分析中发现, 其表达与淋巴结转移等密切相关, 即miRNA-210表达越高, 预示预后越差, 且在结直肠癌的高转移细胞株中表达明显高于低转移细胞株, 从而促进结直肠癌细胞的侵袭和转移. 综合本研究结果及相关文献报道, 我们提出miRNA-210与GC的转移关系密切, 可能成为GC转移的早期诊断标志物.

由于miRNA通过对靶基因的表达调控而发挥作用, 因此我们对miRNA-210的155个靶基因进行GO分析, 从而探讨miRNA-210在GC转移中的作用机制. 利用Daivd数据库分析得知, miRNA-210靶基因的主要功能集中在细胞的增殖、凋亡、坏死及有丝分裂等方面. 有文献报道, miRNA-210通过诱导细胞的死亡及细胞周期捕获, 在G₁/G₀及G₂/M期来抑制肿瘤细胞的增殖及存活^[20]. 此外, 这些靶基因参与了细胞器膜及胞质内囊泡的形成, 且与膜受体蛋白络氨酸激酶活力、酶的结合及转录因子的结合等相关方面的功能密切相关(表2). 同时通过David数据库预测miRNA-210相关靶基因可能参与的KEGG信号通路, 由于本研究中选取 $P<0.05$ 、FDR<0.05的信号通路, 因此预测信号通路具有较强的可信性.

KEGG通路结果显示, miRNA-210的靶基因参与了众多的肿瘤相关通路, 例如, miRNA与前列腺癌或结直肠癌相关的通路等, 提示miRNA-210通过其靶基因参与了多种肿瘤的发生发展及侵袭转移. KEGG通路结果还显示miRNA-210的靶基因参与ErbB信号通路, ErbB通路通过ErbB3与受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)相结合, 并且被ErbB2等磷酸化, 从而激活包括AKT, MEK/MAPK及

Jak/Stat通路等一系列致癌通路. 在细胞增殖、分化、凋亡等过程中, 信号通路中任何组分的变化都会导致细胞的恶性增生, 发生癌变, 尤其是RTKs系统, 调控着其下游多个信号通路^[21]. 因此, miRNA-210的靶基因可能通过ErbB信号通路促进GC等多种肿瘤的发生及转移.

总之, 本研究通过miRNA表达谱芯片筛选了GC高转移和低转移细胞株之间的差异表达miRNA表达谱, 共筛选出36个表达失调的miRNA, 为GC转移相关的miRNA表达谱的建立奠定了基础. 此外, 本课题通过对miRNA-210的表达检测及生物学功能的信息学分析, 提出miRNA-210在肿瘤的发生、发展、侵袭及转移中起到一定的作用, 且有望成为GC转移相关的特异性miRNA, 从而为GC转移的早期临床诊断及治疗提供了新的研究靶点, 具有潜在的应用前景.

4 参考文献

- Hutvagner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex. *Science* 2002; 297: 2056-2060 [PMID: 12154197]
- 石磊, 程子昊, 张军霞, 李瑞, 尤永平, 傅震. miR-181家族的表达与人脑胶质瘤恶性程度的关系. *中国肿瘤临床* 2008; 35: 877-880
- Corcoran C, Friel AM, Duffy MJ, Crown J, O'Driscoll L. Intracellular and extracellular microRNAs in breast cancer. *Clin Chem* 2011; 57: 18-32 [PMID: 21059829 DOI: 10.1373/clinchem.2010.150730]
- Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25: 2537-2545 [PMID: 16331254]
- Wang YX, Zhang XY, Zhang BF, Yang CQ, Chen XM, Gao HJ. Initial study of microRNA expression profiles of colonic cancer without lymph node metastasis. *J Dig Dis* 2010; 11: 50-54 [PMID: 20132431 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009]
- Hong L, Han Y, Li S, Yang J, Zheng J, Zhang H, Zhao Q, Wu K, Fan D. The malignant phenotype-associated microRNA in gastroenteric, hepatobiliary and pancreatic carcinomas. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 1693-1701 [PMID: 20977295 DOI: 10.1517/14712598.2010.532482]
- 苏娟, 张庆瑜, 康春生, 张安玲, 王涛, 张洁. miR-200a通过 β -catenin/TCF-4信号通路抑制胃癌细胞系生长侵袭能力的体外研究. *中国肿瘤临床* 2012; 39: 65-69
- Noonan EJ, Place RF, Pookot D, Basak S, Whitson JM, Hirata H, Giardina C, Dahiya R. miR-449a targets HDAC-1 and induces growth arrest in prostate cancer. *Oncogene* 2009; 28: 1714-1724 [PMID: 19252524 DOI: 10.1038/onc.2009.19]
- Duan Y, Hu L, Liu B, Yu B, Li J, Yan M, Yu Y, Li C, Su L, Zhu Z, Xiang M, Liu B, Yang Q. Tumor suppressor miR-24 restrains gastric cancer progression by downregulating RegIV. *Mol Cancer* 2014; 13: 127

名词解释

Gene ontology: GO注释分析, 即基因本体论分析, 也就是gene ontology annotation, 按照了三个大的标准(相当于前面所说的属性)将每个基因聚类(分别是根据基因的功能, 参与代谢的过程, 以及这个基因产物的定位)进行分析; KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes): 是系统分析基因功能、基因组信息数据库, 他有助于研究者把基因及表达信息作为一个整体网络进行研究.

同行评价
本文内容全面, 可读性较好, 有利于读者对miRNA在胃癌中的作用全面了解。

- [PMID: 24886316 DOI: 10.1007/s11033-013-2871-1]
- 10 Lee DY, Deng Z, Wang CH, Yang BB. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 20350-20355 [PMID: 18077375]
 - 11 王凯华. 人体胃低分化粘液腺癌细胞系MGC-803的建立及其生物学特性的初步研究. *实验生物学报* 1983; 16: 257
 - 12 蔡玉晖, 谷钰之, 张嘉庆, 卢平, 周庆环. 人体胃癌细胞系BGC-823的建立. *北京医科大学学报* 1986; 18: 136-139
 - 13 Devlin C, Greco S, Martelli F, Ivan M. miR-210: More than a silent player in hypoxia. *IUBMB Life* 2011; 63: 94-100 [PMID: 21360638 DOI: 10.1002/iub.427]
 - 14 McCormick R, Buffa FM, Ragoussis J, Harris AL. The role of hypoxia regulated microRNAs in cancer. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 345: 47-70 [PMID: 20549470 DOI: 10.1007/82_2010_76]
 - 15 Tsuchiya S, Fujiwara T, Sato F, Shimada Y, Tanaka E, Sakai Y, Shimizu K, Tsujimoto G. MicroRNA-210 regulates cancer cell proliferation through targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 (FGFRL1). *J Biol Chem* 2011; 286: 420-428 [PMID: 21044961 DOI: 10.1074/jbc.M110]
 - 16 Toyama T, Kondo N, Endo Y, Sugiura H, Yoshimoto N, Iwasa M, Takahashi S, Fujii Y, Yamashita H. High expression of microRNA-210 is an independent factor indicating a poor prognosis in Japanese triple-negative breast cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 256-263 [PMID: 22323552 DOI: 10.1093/jjco/hys001]
 - 17 Camps C, Buffa FM, Colella S, Moore J, Sotiriou C, Sheldon H, Harris AL, Gleadle JM, Ragoussis J. hsa-miR-210 Is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1340-1348 [PMID: 18316553 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1755]
 - 18 刘福团, 滕勇, 张晓旭, 黎瀚, 刘璐, 孙瑞佳, 徐惠绵. miR-210在胃癌组织中的表达及临床意义. *中华临床医师杂志* 2011; 5: 2701-2703
 - 19 Qu A, Du L, Yang Y, Liu H, Li J, Wang L, Liu Y, Dong Z, Zhang X, Jiang X, Wang H, Li Z, Zheng G, Wang C. Hypoxia-inducible MiR-210 is an independent prognostic factor and contributes to metastasis in colorectal cancer. *PLoS One* 2014; 9: e90952 [PMID: 24632577 DOI: 10.1371/journal.pone.0090952]
 - 20 Kim HW, Haider HK, Jiang S, Ashraf M. Ischemic preconditioning augments survival of stem cells via miR-210 expression by targeting caspase-8-associated protein 2. *J Biol Chem* 2009; 284: 33161-33168 [PMID: 19721136 DOI: 10.1074/jbc.M109]
 - 21 Emre H, Tekin SB, Doğan H, Çayır K, Bilici M, Sipal S, Pirim I. Investigation of ErbB-2 overexpression on patients with gastric cancer in Eastern Anatolia of Turkey. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 211-217 [PMID: 24226713]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



Peg-IFN α 2b联合伊马替尼对耐伊马替尼胃肠间质瘤细胞株的抑制作用

张磊屹, 黄江生, 皮执民, 喻梅英, 王群伟, 段伦喜, 刘威

张磊屹, 黄江生, 皮执民, 喻梅英, 王群伟, 段伦喜, 刘威, 中南大学湘雅二医院微创外科中心 湖南省长沙市 410011
湖南省科技厅基金资助项目, No. 2013FJ4078
作者贡献分布: 此课题由张磊屹与黄江生设计; 研究过程由张磊屹、皮执民、喻梅英及王群伟操作完成; 研究用新试剂及分析工具由黄江生提供; 数据分析由段伦喜与刘威完成; 本文写作由张磊屹与黄江生完成。
通讯作者: 黄江生, 教授, 主任医师, 410011, 湖南省长沙市人民中路139号, 中南大学湘雅二医院微创外科中心。
zndxbsmail@163.com
电话: 0731-85295164
收稿日期: 2014-08-12 修回日期: 2014-10-15
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Inhibitory effects of Peg-IFN α 2b and imatinib, alone or in combination, on imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor cell line PC9/GR

Lei-Yi Zhang, Jiang-Sheng Huang, Zhi-Min Pi, Mei-Ying Yu, Qun-Wei Wang, Lun-Xi Duan, Wei Liu

Lei-Yi Zhang, Jiang-Sheng Huang, Zhi-Min Pi, Mei-Ying Yu, Qun-Wei Wang, Lun-Xi Duan, Wei Liu, Department of Spinal Surgery, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Supported by: the Bureau of Science and Technology of Hunan Province, No. 2013FJ4078

Correspondence to: Jiang-Sheng Huang, Professor, Chief Physician, Department of Spinal Surgery, the Second Xiangya Hospital of Central South University, 139 Renmin Middle Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. zndxbsmail@163.com

Received: 2014-08-12 Revised: 2014-10-15

Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the inhibition effects of polyethylene glycol interferon α 2b (Peg-IFN α 2b) and imatinib, alone or in combination, on imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor (GIST) cell line (GIST-R), and to explore the possible mechanism.

METHODS: GIST-R cells were exposed to Peg-

IFN α 2b and imatinib, alone or in combination. The rate of reduced proliferation and the combination index (CI) in different treatment groups were detected by MTT assay. The apoptotic rate was detected by flow cytometry. The expression of phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR) and Bcl-2 was analyzed by Western blot.

RESULTS: GIST-R cells presented remarkable resistance to imatinib, and the resistance index (RI) was 46.14. The rate of reduced proliferation in the combination group was significantly higher than those in the Peg-IFN α 2b or imatinib alone groups ($P < 0.05$). The calculated CI values in the combination group suggested a synergistic effect. Compared with non-treated GIST-R cells, the expression levels of p-mTOR and Bcl-2 proteins in GIST-R cells treated with Peg-IFN α 2b and imatinib significantly decreased ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The combination of Peg-IFN α 2b and imatinib generates a synergistic effect in GIST-R cells. This effect may be related with apoptosis and the down-regulation of the expression of p-mTOR.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: GIST; Drug resistance; Polyethylene glycol interferon α 2b; Imatinib; Combination; Sensitization

Zhang LY, Huang JS, Pi ZM, Yu MY, Wang QW, Duan LX, Liu W. Inhibitory effects of Peg-IFN α 2b and imatinib, alone or in combination, on imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor cell line PC9/GR. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 85-92 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/85.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.85>

摘要

目的: 探讨聚乙二醇(polyethylene glycol, Peg)

背景资料

随着免疫治疗的日益重视, 加强自身抗肿瘤免疫力帮助根除耐药的衍生型克隆和有自我更新能力的干细胞成为新的关注模式。聚乙二醇-干扰素 α 2b(polyethylene glycol-interferon α 2b, Peg-IFN α 2b)具有广泛的抗病毒、抗肿瘤、调节免疫作用, 比IFN α -2b有更长的血浆半衰期和低毒性与抗耐受作用。几乎所有初始治疗有效的胃肠道间质瘤患者都会在少于20 mo伊马替尼肿瘤后出现病情进展, 产生获得性耐药。

同行评议者

赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室

研发前沿
此文重点研究免疫治疗联合靶向治疗, 是肿瘤耐药治疗的新模式。

修饰重组人干扰素 α 2b[Peg-(interferon α , IFN α) 2b]联合伊马替尼对耐伊马替尼胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)细胞株的增殖和凋亡的影响及其可能机制。

方法: 培养C-kit二次突变所致继发性耐药的GISTs患者的原代细胞株GIST-R和对伊马替尼敏感GIST-T1细胞株模拟临床胃肠间质瘤获得性耐药过程; Peg-IFN α 2b和伊马替尼单独或联合组处理细胞; MTT法检测细胞的增殖并计算耐药指数、联合指数, FCM法检测细胞凋亡率, Western blot检测p-mTOR和Bcl-2蛋白表达水平。

结果: GIST-R细胞株对伊马替尼高度耐药, 其耐药指数(RI = 46.14), Peg-IFN α 2b单独用药对GISTs细胞株均无明显增殖抑制作用; INF- α 与伊马替尼联合用药组对GIST-R抑制率明显高于伊马替尼单独用药, 耐药指数下降(RI = 14.79), 表现明显的协同增敏效应(CI = 0.79)。FCM检测结果表明, Peg-IFN α 2b与伊马替尼联合用药具有明显的促细胞凋亡的作用。与单药组比较, Peg-IFN α 2b与伊马替尼联合用药可明显下调耐伊马替尼细胞p-mTOR和Bcl-2蛋白表达水平($P < 0.01$)。

结论: Peg-IFN α 2b可以提高GISTs耐药细胞株细胞对伊马替尼的敏感性, 这一协同增敏效应可能与下调p-mTOR蛋白表达水平以及诱导细胞凋亡有关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠间质瘤; 耐药; 聚乙二醇-干扰素 α 2b; 伊马替尼; 联合; 增敏

核心提示: 探讨聚乙二醇-干扰素 α 2b(polyethylene glycol-interferon α 2b)和伊马替尼联合用药对耐伊马替尼获得性耐药的胃肠间质瘤细胞株的抗肿瘤效应及其可能机制。

张磊屹, 黄江生, 皮执民, 喻梅英, 王群伟, 段伦喜, 刘威. Peg-IFN α 2b联合伊马替尼对耐伊马替尼胃肠道间质瘤细胞株的抑制作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 85-92 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/85.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.85>

0 引言

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是胃肠道最常见的间叶组织源性的肿

瘤。他占消化系恶性肿瘤的2.2%, 在他们中有80%-90%通过干细胞生长因子受体基因KIT, 5%-10%通过血小板源性生长受体 α (platelet derived growth factor receptor α , PDGFR α)另外有5%-10%通过野生型的KIT和PDGFR α 进行突变^[1]。伊马替尼甲磺酸盐(imatinib, IM)是现今推荐治疗GIST的首选药物。Gleevec是小分子酪氨酸激酶抑制剂, 他能选择性地抑制KIT、BCR-ABL和PDGFR。IM结合于胞质内酪氨酸激酶功能区的ATP结合位点, 阻断磷酸基团由ATP向蛋白质底物信号传导, 抑制细胞增殖, 恢复正常细胞凋亡。但几乎所有初始治疗有效的患者都会在少于20 mo后出现病情进展, 产生获得性耐药^[2]。KIT或PDGFR α 基因发生二次突变, 从而导致蛋白构象发生改变, 与IM结合受阻是胃肠道间质瘤伊马替尼获得性耐药的最主要机制^[3,4]。Peg-IFN α 2b是重组人干扰素 α -2b与单甲氧基聚乙二醇的一种共价结合物, 比IFN α -2b有更长的血浆半衰期和低毒性与抗耐受作用, 主要用于慢性肝炎的治疗。目前GIST对IM的耐药问题没有明确的治疗指南, 是当前GIST临床治疗亟待解决的难题。随着免疫治疗的日益重视, 加强自身抗肿瘤免疫力帮助根除耐药的衍生型克隆和有自我更新能力的干细胞成为新的关注模式。因此, 本研究通过探讨Peg-IFN α 2b和伊马替尼联合用药对耐伊马替尼获得性耐药的胃肠间质瘤细胞株的抗肿瘤效应及其可能机制, 以期寻找一种能克服伊马替尼获得性耐药的治疗方案, 为胃肠间质瘤的临床治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-12/2014-02在中南大学湘雅二医院进行活检的5例GIST患者新鲜标本。其中, 男性3例、女性2例; 年龄45-60岁, 平均年龄53岁; 患者既往口服伊马替尼甲磺酸盐进行分子靶向治疗, 平均治疗时间为13 mo。病例纳入标准: 患者既往行c-kit基因检测提示有外显子11药物敏感性突变, 口服IM治疗后病灶进展或局部复发, 再次行c-kit基因检测提示发生二次突变, 突变区域集中在外显子13、14和17。所有患者均签署治疗知情同意书, 此研究得到湘雅二医院药物临床实验伦理委员会批准。人GISTs细胞系GIST-T1购自深圳百恩维(Biowit)生物科技公司。IM为瑞士诺华公司产品。RPMI-1640培养

液、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国GIBCO公司; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)等购自美国sigma公司; Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技有限公司; 人体癌细胞原代培养试剂盒购自武汉原生原代生物医药科技有限公司; 兔抗人p-mTOR和 β -actin多克隆抗体以及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG购自美国Cell Signal Technology公司; 鼠抗人Bcl-2购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 GIST原代获得性耐药细胞的提取和培养: 应用人体癌细胞原代培养试剂盒进行GIST原代细胞的培养。将穿刺获得的5例GIST患者的组织标本剪碎并制备成糊状, 加入Hank's液; 离心; 加入Hank's液和10倍稀释的细胞分散素反应2 h, 在光学显微镜下观察细胞团块的分散情况; 细胞分散后加入含胎牛血清的RPMI-1640细胞培养液, 终止反应; 弃去悬液中的脂肪及纤维组织, 离心; 加入等量的Hank's液和RPMI-1640培养液, 滤网过滤, 收集细胞悬液, 离心获取细胞沉淀; 将回收的细胞重悬在预培养液PCM-1中, 移入I型胶原凝胶涂布的细胞培养瓶中, 置于细胞培养箱中培养24 h后, 弃去血细胞及死细胞, 获得单细胞悬液。细胞传代3次后为进行后续实验, 耐药细胞株命名为GIST-R。

1.2.2 四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定细胞活性及药物半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration of a substance, IC₅₀): 取处于对数生长期的GIST-T1和GIST-R细胞株, 消化制成 3×10^4 个/mL的细胞悬液, 每孔150 μ L接种于96孔培养板中, 每列的第一孔不加细胞, 为调零孔。待细胞贴壁后, 单药组加入不同浓度的伊马替尼(0.0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 μ mol/L)和Peg-IFN α 2b(0.0、 1×10^3 、 2×10^3 、 4×10^3 、 8×10^3 、 16×10^3 U/mL), 与与单药组的药物浓度一致, 联合组以相应终浓度1:1的比例联合给药, 每组设置6个平行复孔。置37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养箱中培养48 h后, 避光条件下每孔加MTT 20 μ L(5 mg/mL), 混匀, 37 $^{\circ}$ C孵育; 去除上清后, 每孔加150 μ L的DMSO, 振荡10 min, 酶标仪检测波长492 nm的每孔吸光度(A)值求其平均值。据吸光度值计算细胞抑制率。抑制率(E): $E = (\text{对照组}A\text{值} - \text{实验组平均}A\text{值} / \text{对照组}A\text{值}) \times 100\%$,

以药物浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标, 绘制细胞生长抑制曲线。应用SPSS16.0软件计算各药物的IC₅₀值; 计算耐药指数(resistance index, RI) = 耐药细胞株药物IC₅₀/亲代细胞株药物IC₅₀。以CompuSyn软件计算联合用药组的联合指数(combination index, CI), CI>1表示2种药物有拮抗效应, CI=1表示2种药物有相加效应, CI<1表示2种药物有协同效应。实验重复3次。

1.2.3 流式细胞术检测细胞的凋亡率: 取处于对数生长期的GIST-R细胞, 实验分组和药物处理: 实验分为对照组(仅含细胞和培养液, 不含药物)、IM组(终浓度为10 μ mol/L)、Peg-IFN α 2b组(终浓度为 4×10^3 U/mL)和联合组。24 h后用胰酶消化并收集细胞, 用冷PBS洗涤2次, 加入结合缓冲液重悬细胞, 制成细胞悬液, 调整细胞密度为 1×10^6 个/mL。吸取100 μ L细胞悬液, 加入Annexin V-FITC 5 μ L和碘化丙啶(propidium iodide, PI)5 μ L, 混匀后避光并室温下孵育15 min, 加入结合缓冲液400 μ L, 立即上流式细胞仪分析。以未染色细胞调零, 以Annexin V-FITC单染管和PI单染管作为基准对照, 测定每个上样管数据, 测定凋亡细胞百分比。实验重复3次。

1.2.4 Western印迹法检测p-mTOR和Bcl-2蛋白表达水平: 取处于对数生长期的GIST-R细胞, 实验分组和药物处理方法与1.2.3节相同, 24 h后收集各组细胞, 提取细胞总蛋白。用Western印迹法分别检测p-mTOR和Bcl-2蛋白的表达: 细胞总蛋白经8%SDS-PAGE电泳分离后, 转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF)膜上, 用含0.5%脱脂奶粉的TBST溶液封闭1 h, 加入1:2000稀释的抗磷酸化mTOR抗体以及1:1000稀释的抗Bcl-2和 β -actin(内参照)抗体, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST漂洗3次后加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5000), 室温摇床孵育1 h, TBST漂洗3次后DAB显色, 曝光, 显影。实验重复3次。应用Image J软件分析目的蛋白质条带的灰度值, 以目的蛋白质条带的灰度值与内参照 β -actin蛋白质条带灰度值的比值表示目的蛋白质的相对表达水平。

统计学处理 数值以mean \pm SD来表示, 采用SPSS11.5软件进行统计学分析。以配对t检验进行统计学比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Peg-IFN α 2b和伊马替尼单独或联合对

相关报道
Chen报道了6例Peg-IFN α 2b联合IM治疗III/IV期GISTs的患者发现, 与经典的单独使用IM治疗GIST试验(B2222)相比, 联合治疗的临床有效期更长, 并且在因IM耐药引起的疾病进展期再次使用Peg-IFN α 2b, 逆转耐药, 诱发了第2次PR的现象。

创新盘点
免疫调教药物联合靶向药物治疗胃肠道间质瘤伊马替尼耐药, 是一种全新的关注模式。

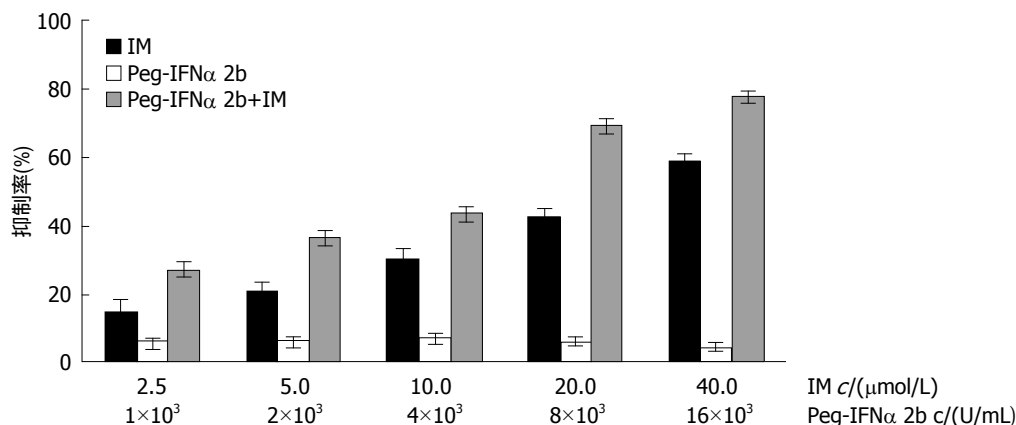


图1 不同浓度Peg-IFNα 2b和伊马替尼单独和联合用药对GIST-R细胞株的增殖抑制作用. IM: 伊马替尼; Peg-IFNα 2b: 聚乙二醇干扰素α 2b.

表1 Peg-IFNα 2b和IM单独或联合处理GIST-T1和GIST-R细胞株IC₅₀值及RI

药物	GIST-T1 IC ₅₀ (μmol/L)	GIST-R IC ₅₀ (μmol/L)	RI
IM	0.75	34.65	46.14
Peg-IFNα 2b	-	-	-
Peg-IFNα 2b+IM	0.68	10.06	14.79

IM: 伊马替尼; Peg-IFNα 2b: 聚乙二醇干扰素α 2b组; Peg-IFNα 2b+IM: 聚乙二醇干扰素α 2b+伊马替尼联合用药; RI: 耐药指数; GIST-R: 耐伊马替尼胃肠道间质瘤细胞株.

表2 不同浓度Peg-IFNα 2b和伊马替尼作用GIST-R细胞株的联合指数

Peg-IFNα 2b+IM (U/mL+μmol/L)	CI
1 × 10 ³ +2.5	1.23
2 × 10 ³ +5.0	0.95
4 × 10 ³ +10.0	0.73
8 × 10 ³ +20.0	0.42
16 × 10 ³ +40.0	0.64

CI: 联合指数; IM: 伊马替尼; Peg-IFNα 2b: 聚乙二醇干扰素α 2b.

GIST-T1及GIST-R细胞增殖的影响 MTT法检测结果显示: Peg-IFNα 2b单独用药对GIST-T1及GIST-R细胞株均无明显增殖抑制作用; 伊马替尼对GIST-R细胞株高度耐药, 其增殖抑制作用明显低于敏感株GIST-T1, 其RI为46.14(表1). Peg-IFNα 2b和伊马替尼联合应用对GIST-R细胞的增殖抑制作用明显强于各单药组(图1). 且耐药指数(RI = 14.79)明显低于伊马替尼组(表1). 通过计算各药物浓度组的CI值发现, 不同浓度的药物联合组CI值的均值为0.79, 表现出明显的协同效应(表2).

2.2 Peg-IFNα 2b和伊马替尼促进GIST-R细胞的凋亡 FCM法检测结果(图2)显示, 对照组GIST-R细胞的凋亡率为2.70%±0.62%, 伊马替尼和Peg-IFNα 2b对GIST-R细胞的凋亡率分别为9.5%±1.57%和5.66%±0.76%, 联合用药组GIST-R细胞的凋亡率为16.06%±3.24%. 联合用药组的细胞凋亡率高于单独用药组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 以上结果表明, Peg-IFNα 2b和伊马替尼具有明显促进GIST-R细胞凋亡的作用.

2.3 Peg-IFNα 2b和伊马替尼作用GIST-R细胞后p-mTOR和Bcl-2蛋白表达 蛋白质印迹法检测结果(图3)显示, 与对照组比较, 伊马替尼处理组GIST-R细胞中p-mTOR蛋白表达水平平均下调, 差异有统计学意义($P<0.05$), Peg-IFNα 2b处理组GIST-R细胞中p-mTOR蛋白表达水平平均明显上调, 差异有统计学意义($P<0.05$); 联合处理组PC9/GR细胞中GIST-R蛋白表达水平显著下调低于伊马替尼单药组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 同时, 与对照组和Peg-IFNα 2b和伊马替尼单药组比较, Peg-IFNα 2b联合伊马替尼处理组GIST-R细胞中Bcl-2蛋白的表达水平明显下调, 差异均有统计学意义($P<0.01$). 这一结

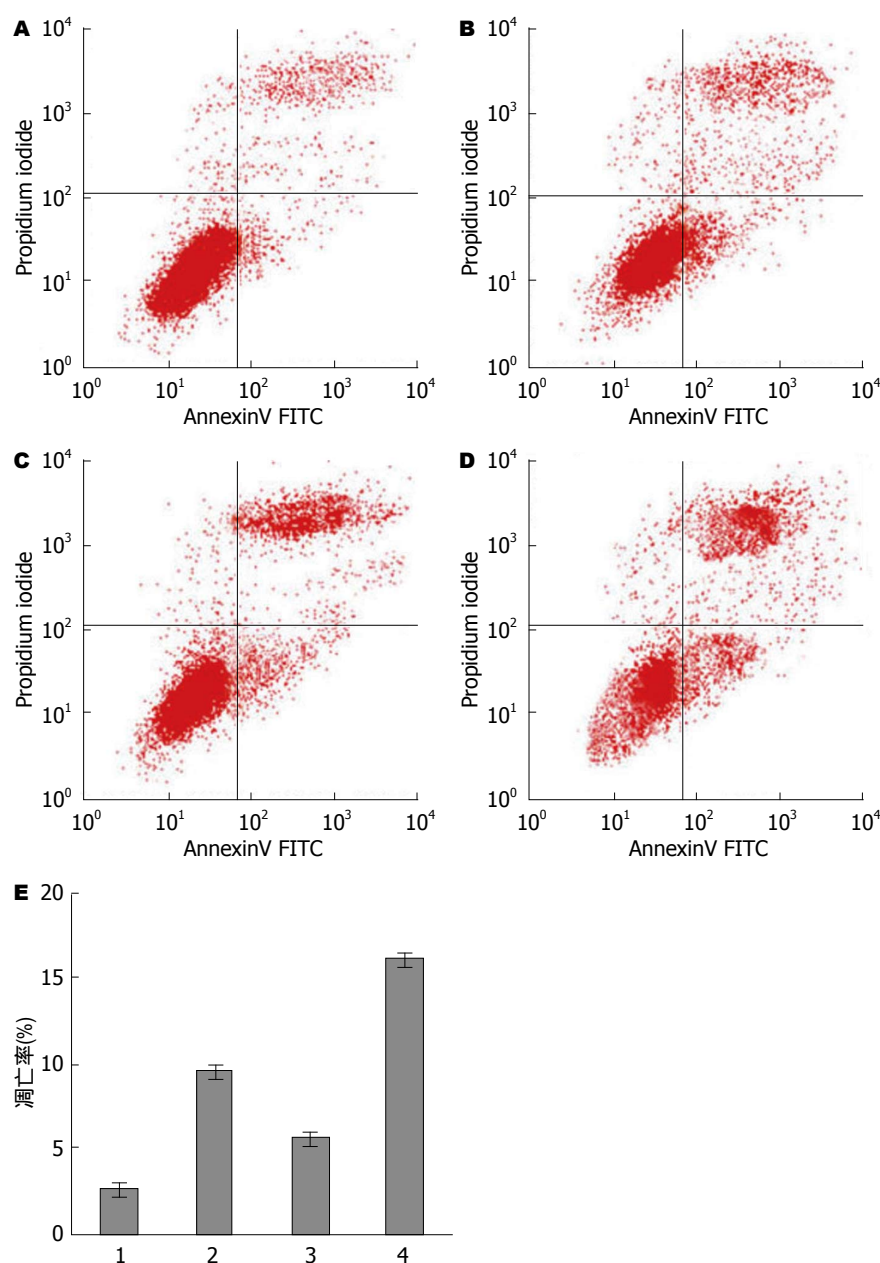


图 2 FCM法检测伊马替尼和Peg-IFN α 2b对GIST-R细胞株凋亡的影响. A: 对照组; B: IM组; C: Peg-IFN α 2b组; D: Peg-IFN α 2b+IM联合组; E: 各组凋亡率. 1: 对照组; 2: IM组; 3: Peg-IFN α 2b组; 4: Peg-IFN α 2b+IM联合组. IM: 伊马替尼; Peg-IFN α 2b: 聚乙二醇干扰素 α 2b.

果说明, Peg-IFN α 2b和伊马替尼联合用药可显著降低耐伊马替尼GIST-R细胞株p-mTOR蛋白以及Bcl-2蛋白的表达水平.

3 讨论

在伊马替尼耐药后的两项国际著名临床试验USS0033和EORTC62005研究中指出, 如果疾病进展, 400 mg/d剂量组的患者将被分配到800 mg/d高剂量组^[5,6]. 但在临床实践中发现, 国人在伊马替尼800 mg/d治疗组的耐受性极差. 为了解决GIST对IM的耐药问题, 目前已陆续开发了多

种治疗GIST的新型分子靶向药物, 如索拉替尼(sunitinib)^[7]、达沙替尼(dasatinib)^[8]、尼罗替尼(nilotinib)^[9]和索拉非尼(sorafenib)^[10]等, 由于突变的多样性和药物对不同突变敏感性不同, 新型分子靶向药物联合IM可能扩大靶向治疗的范围, 但对其临床的安全性和可行性的评估目前还处于早期的临床试验阶段.

随着免疫治疗的日益重视, 加强自身抗肿瘤免疫力帮助根除耐药的衍生型克隆和有自我更新能力的干细胞成为新的关注模式. IFN α 可以通过促进DC的成熟、抗原的提呈、刺激

应用要点
本研究通过探讨Peg-IFN α 2b和伊马替尼联合用药对耐伊马替尼获得性耐药的胃肠间质瘤细胞株的抗肿瘤效应及其可能机制, 为胃肠间质瘤的临床治疗提供实验依据.

同行评价
研究选题具有科
学性、新颖性,并
具有一定的临床
研究价值。

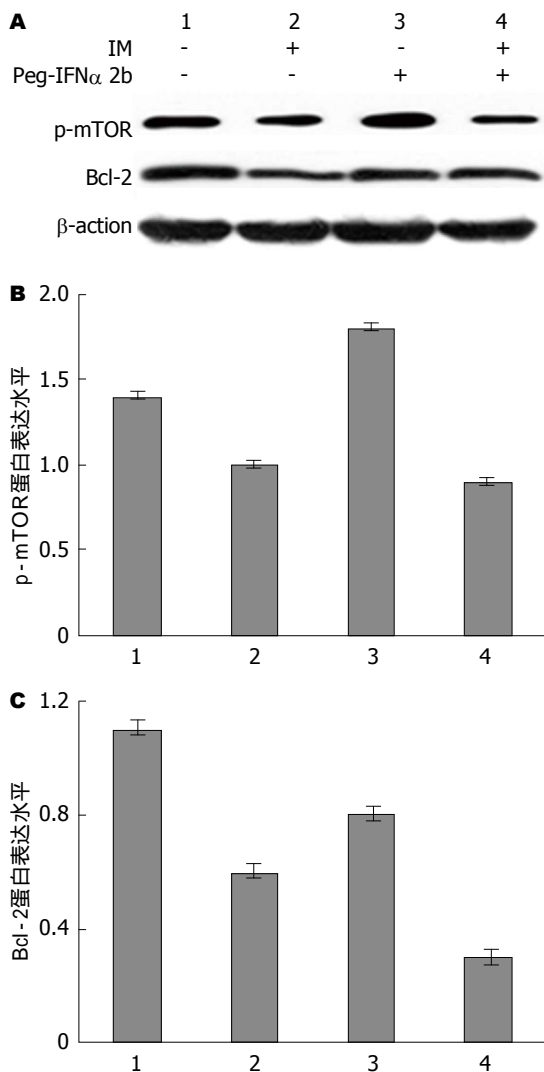


图3 蛋白质印迹法检测伊马替尼和Peg-IFN α 2b对GIST-R细胞中磷酸化mTOR和Bcl-2蛋白表达的影响。A: 蛋白质印迹法检测条带图; B: 磷酸化mTOR蛋白相对含量; C: Bcl-2蛋白相对含量。1: 对照组; 2: IM组; 3: Peg-IFN α 2b组; 4: Peg-IFN α 2b+IM联合组。Peg-IFN α 2b: 聚乙二醇干扰素 α 2b。

Th1生成和聚集以及提高T淋巴细胞的克隆扩增、分化和存活率从而有效的结合固有自体免疫和适应性获得免疫。IFN α 具有广泛的抗病毒、抗肿瘤、调节免疫作用,能够有效的治疗B型和C型肝炎,慢性粒细胞白血病、多毛细胞白血病、滤泡性淋巴瘤、肾细胞癌、黑色素瘤和Kaposi肉瘤^[11]。Peg-IFN α 2b比IFN α 2b有更长的血浆半衰期和低毒性与抗耐受作用^[12]。用Gleevec 600 mg/d联合Peg-IFN α 2b治疗慢性髓性白血病慢性期的患者,结果显示疗效是两者单独治疗效果的叠加^[13]。Chen等^[14]报道了6例Peg-IFN α 2b联合IM治疗III/IV期GISTs的患者发现,与经典的单独使用IM治疗GIST试验(B2222)相比,联合治疗的临床有效期更长,并且在因IM

耐药引起的疾病进展期再次使用Peg-IFN α 2b,逆转耐药,诱发了第2次PR的现象。更有报道称,IM可以作用于树突状细胞而产生NK细胞依赖性的抗癌效应^[15]。NK细胞的IFN γ 水平可以预示着用IM治疗GIST患者的生存时间^[16]。如果外周血里IFN γ 的水平很高,那么GIST的治疗会十分的有效^[17]。

本实验培养c-kit二次突变所致继发性耐药的GISTs患者的原代细胞和对伊马替尼敏感GIST-T1细胞株模拟临床胃肠间质瘤获得性耐药过程,采用Peg-IFN α 2b和伊马替尼单独或联合干预。实验结果显示,伊马替尼对GIST-R细胞株高度耐药,验证了GIST-R细胞株的耐药性;Peg-IFN α 2b单独用药对GIST-T1及GIST-R细胞株均无明显增殖抑制作用;而Peg-IFN α 2b与伊马替尼联合用药对GIST-R抑制率明显高于伊马替尼单独用药,耐药指数下降,表现明显的协同增敏效应(CI = 0.79)。而且FCM检测结果表明,Peg-IFN α 2b与伊马替尼联合用药具有明显的促细胞凋亡的作用。由此在细胞水平说明,Peg-IFN α 2b可以增强伊马替尼对耐药细胞株的抑制作用,促进其凋亡。

GISTs继发性耐药主要与c-kit/PDGFR α 二次突变有关,而下游信号转导通路PI3K/Akt/mTOR是其主要激活途径^[18]。磷酸化mTOR在调控癌细胞的增殖、生存及凋亡中有中心调控点作用。本研究结果显示,与对照组比较,Peg-IFN α 2b处理组GIST-R细胞中p-mTOR蛋白表达水平均明显上调,伊马替尼处理组GIST-R细胞中p-mTOR蛋白表达水平均下调。同时,联合处理组PC9/GR细胞中GIST-R蛋白表达水平显著下调低于伊马替尼单药组。Peg-IFN α 2b和伊马替尼影响的下游信号通路不尽相同,我们推测Peg-IFN α 2b联合伊马替尼时,Peg-IFN α 2b通过激活下游信号通路,诱导肿瘤细胞下游信号蛋白的过量表达,信号转导增强,使伊马替尼治疗的靶向性更强,导致单独应用Peg-IFN α 2b时GIST-R细胞中p-mTOR的表达水平上调,联合用药时GIST-R细胞中p-mTOR的表达水平下调。这些均提示Peg-IFN α 2b可能通过影响PI3K/Akt/mTOR通路的活性,增强细胞对伊马替尼的敏感性,从而逆转耐药。

Bcl-2家族是与细胞凋亡相关的原癌基因,其表达产物Bcl-2蛋白是一种抗凋亡蛋白,具有抑制细胞凋亡的作用,其表达下调能增强肿瘤

细胞对凋亡的敏感性^[19]。本研究结果显示, Peg-IFN α 2b和伊马替尼均能不同程度地下调Bcl-2蛋白的表达水平, 且Peg-IFN α 2b联合伊马替尼能使GIST-R细胞中Bcl-2蛋白的表达水平明显下调。这一结果提示, Peg-IFN α 2b联合伊马替尼联合用药增强GIST-R细胞的凋亡可能与下调Bcl-2蛋白的表达有关。

本研究结果表明, Peg-IFN α 2b和伊马替尼联合用药对GISTs伊马替尼继发性耐药细胞株具有较好的抑制作用, Peg-IFN α 2b对伊马替尼具有明显的协同增敏效应, 并逆转耐药, 而且这一效应可能与影响PI3K/Akt/mTOR通路的活性, 下调p-mTOR蛋白表达水平以及诱导细胞凋亡有关。Peg-IFN α 2b和伊马替尼联合用药可以考虑作为治疗GISTs伊马替尼耐药的药物选择, 为临床上GISTs患者的伊马替尼耐药治疗提供了一定的实验依据。而其临床应用有待进一步大样本循证医学验证。

4 参考文献

- Agaimy A, Wünsch PH, Hofstaedter F, Blaszyk H, Rümmele P, Gaumann A, Dietmaier W, Hartmann A. Minute gastric sclerosing stromal tumors (GIST tumorlets) are common in adults and frequently show c-KIT mutations. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 113-120 [PMID: 17197927 DOI: 10.1097/01.pas.0000213307.05811.f0]
- Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, Blanke CD, von Mehren M, Joensuu H, McGreevey LS, Chen CJ, Van den Abbeele AD, Druker BJ, Kiese B, Eisenberg B, Roberts PJ, Singer S, Fletcher CD, Silberman S, Dimitrijevic S, Fletcher JA. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4342-4349 [PMID: 14645423 DOI: 10.1200/JCO.2003.04.190]
- Antonescu CR, Besmer P, Guo T, Arkun K, Hom G, Koryotowski B, Leversha MA, Jeffrey PD, Desantis D, Singer S, Brennan MF, Maki RG, DeMatteo RP. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4182-4190 [PMID: 15930355 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2245]
- McLean SR, Gana-Weisz M, Hartzoulakis B, Frow R, Whelan J, Selwood D, Boshoff C. Imatinib binding and cKIT inhibition is abrogated by the cKIT kinase domain I missense mutation Val654Ala. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 2008-2015 [PMID: 16373716 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0070]
- Blanke CD, Rankin C, Demetri GD, Ryan CW, von Mehren M, Benjamin RS, Raymond AK, Bramwell VH, Baker LH, Maki RG, Tanaka M, Hecht JR, Heinrich MC, Fletcher CD, Crowley JJ, Borden EC. Phase III randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase: S0033. *J Clin Oncol* 2008; 26: 626-632 [PMID: 18235122 DOI: 10.1200/JCO.2007.13.4452]
- Zalcberg JR, Verweij J, Casali PG, Le Cesne A, Reichardt P, Blay JY, Schlemmer M, Van Glabbeke M, Brown M, Judson IR. Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1751-1757 [PMID: 16098458 DOI: 10.1016/j.ejca.2005.04.034]
- Potapova O, Laird AD, Nannini MA, Barone A, Li G, Moss KG, Cherrington JM, Mendel DB. Contribution of individual targets to the antitumor efficacy of the multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor SU11248. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1280-1289 [PMID: 16731761 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-03-0156]
- Schittenhelm MM, Shiraga S, Schroeder A, Corbin AS, Griffith D, Lee FY, Bokemeyer C, Deininger MW, Druker BJ, Heinrich MC. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC/ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Res* 2006; 66: 473-481 [PMID: 16397263 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2050]
- Braconi C, Bracci R, Cellerino R. Molecular targets in Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 359-366 [PMID: 18690842 DOI: 10.2174/156800908785133169]
- Wilhelm S, Chien DS. BAY 43-9006: preclinical data. *Curr Pharm Des* 2002; 8: 2255-2257 [PMID: 12369853 DOI: 10.2174/1381612023393026]
- Jonasch E, Haluska FG. Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities. *Oncologist* 2001; 6: 34-55 [PMID: 11161227 DOI: 10.1634/theoncologist.6-1-34]
- Bukowski RM, Tendler C, Cutler D, Rose E, Laughlin MM, Statkevich P. Treating cancer with PEG Intron: pharmacokinetic profile and dosing guidelines for an improved interferon-alpha-2b formulation. *Cancer* 2002; 95: 389-396 [PMID: 12124839]
- Nicolini FE, Hayette S, Legros L, Rousselot P, Maloisel F, Tulliez M, Guerci A, Charbonnier A, Prébet T, Rigal-Huguet F, Chabane K, Magaud JP, Paillet C, Pivot C, Michallet M. Pegylated IFN- α 2a combined to imatinib mesylate 600mg daily can induce complete cytogenetic and molecular responses in a subset of chronic phase CML patients refractory to IFN alone or to imatinib 600mg daily alone. *Leuk Res* 2011; 35: 80-86 [PMID: 20605207 DOI: 10.1016/j.leukres.2010.04.010]
- Chen LL, Chen X, Choi H, Sang H, Chen LC, Zhang H, Gouw L, Andtbacka RH, Chan BK, Rodesch CK, Jimenez A, Cano P, Jones KA, Oyediji CO, Martins T, Hill HR, Schumacher J, Willmore C, Scaife CL, Ward JH, Morton K, Randall RL, Lazar AJ, Patel S, Trent JC, Frazier ML, Lin P, Jensen P, Benjamin RS. Exploiting antitumor immunity to overcome relapse and improve remission duration. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 1113-1124 [PMID: 22198309 DOI: 10.1007/s00262-011-1185-1]
- Borg C, Terme M, Taieb J, Ménard C, Flament C,

- Robert C, Maruyama K, Wakasugi H, Angevin E, Thielemans K, Le Cesne A, Chung-Scott V, Lazar V, Tchou I, Crépineau F, Lemoine F, Bernard J, Fletcher JA, Turhan A, Blay JY, Spatz A, Emile JF, Heinrich MC, Mécheri S, Tursz T, Zitvogel L. Novel mode of action of c-kit tyrosine kinase inhibitors leading to NK cell-dependent antitumor effects. *J Clin Invest* 2004; 114: 379-388 [PMID: 15286804]
- 16 Ménard C, Blay JY, Borg C, Michiels S, Ghiringhelli F, Robert C, Nonn C, Chaput N, Taïeb J, Delahaye NF, Flament C, Emile JF, Le Cesne A, Zitvogel L. Natural killer cell IFN-gamma levels predict long-term survival with imatinib mesylate therapy in gastrointestinal stromal tumor-bearing patients. *Cancer Res* 2009; 69: 3563-3569 [PMID: 19351841 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3807]
- 17 Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 836-848 [PMID: 17063185]
- 18 Reichardt P. Novel approaches to imatinib- and sunitinib-resistant GIST. *Curr Oncol Rep* 2008; 10: 344-349 [PMID: 18778561]
- 19 Ruvolo PP, Deng X, May WS. Phosphorylation of Bcl2 and regulation of apoptosis. *Leukemia* 2001; 15: 515-522 [PMID: 11368354]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



慢传输型便秘大鼠胃肠道多巴胺D2受体表达

张晓媛, 徐华, 郑倩, 张旭

张晓媛, 郑倩, 张旭, 安徽医科大学 安徽省合肥市 230001
徐华, 安徽医科大学空军临床学院 中国人民解放军空军总医院儿科 北京市 100142
张晓媛, 在读研究生, 主要从事小儿消化研究。
作者贡献分布: 此课题研究过程及数据分析由张晓媛操作完成; 研究所用动物及分析工具由张旭与郑倩提供; 此课题设计及本论文写作由张晓媛与徐华完成。
通讯作者: 徐华, 主任医师, 研究生导师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院儿科。
xuhuakz1@126.com
电话: 010-66928047
收稿日期: 2014-09-11 修回日期: 2014-10-21
接受日期: 2014-11-05 在线出版日期: 2015-01-08

Expression of dopamine D2 receptor in the gastrointestinal mucosa of rats with slow transit constipation

Xiao-Yuan Zhang, Hua Xu, Qian Zheng, Xu Zhang

Xiao-Yuan Zhang, Qian Zheng, Xu Zhang, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China
Hua Xu, the Air Force Clinical Institute, Anhui Medical University; Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, Beijing 100142, China
Correspondence to: Hua Xu, Chief Physician, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. xuhuakz1@126.com
Received: 2014-09-11 Revised: 2014-10-21
Accepted: 2014-11-05 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of dopamine D2 receptor (Drd2) in the gastrointestinal mucosa of rats with slow transit constipation (STC) to explore the possible pathogenesis of STC.

METHODS: Twenty-four healthy Wistar rats were randomly into two groups: an experiment group and a control group. Rats of the experiment group were daily administered diphenoxylate (8 mg/kg) for 90 d to induce STC, while the control rats were fed normal saline. The number and weight of fecal granules and the body weight of rats were recorded every 5 d. After successful induction of STC, the rats were killed to take tissues of the gastric antrum, small intestine, and

colon. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of Drd2 in the above tissues.

RESULTS: The daily number and mean weight of fecal granules and the time to discharge of the first black granule differed significantly between the two groups, suggesting that STC was successfully induced. Drd2 was specifically amplified by RT-PCR. Compared with the control group, the expression of Drd2 in the stomach and small intestine was not significantly different in the experiment group ($P > 0.05$ for both). However, the expression of Drd2 in colon tissues of STC rats was significantly higher than that in control rats (1.93 ± 0.78 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of Drd2 in the stomach and small intestine does not change significantly in STC rats, but Drd2 expression is up-regulated in colon tissues of STC rats, which may contribute to the pathogenesis of STC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Slow transit constipation; Gastrointestinal mucosa; Dopamine D2 receptor; RT-PCR

Zhang XY, Xu H, Zheng Q, Zhang X. Expression of dopamine D2 receptor in the gastrointestinal mucosa of rats with slow transit constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 93-98 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/93.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.93>

摘要

目的: 研究多巴胺D2受体(dopamine D2 receptor, Drd2)在慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠消化系统组织表达情况, 探讨引发STC大鼠便秘发病的可能机制。

方法: 选取24只健康Wistar大鼠随机分成2组, 实验组和对照组。实验组每天予以复方苯乙哌啶混悬液(8 mg/kg)灌胃制造慢传输便秘大鼠模型, 对照组给予相等剂量的生理盐水灌胃。

背景资料
儿童便秘发病率呈升高趋势, 且以慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)类型为主, 严重影响了儿童的身心健康。目前, 临床治疗尚未取得满意的效果。因此, 研究STC的生理病理机制至关重要。

同行评议者
文彬, 研究员, 广州中医药大学脾胃研究所

研发前沿
从基因水平研究多巴胺D2受体(dopamine D2 receptor, Drd2)在消化系不同部位表达情况, 阐明Drd2在STC发病机制中的作用, 为进一步的临床治疗提供理论基础。

每5 d记录1次大便粒数、大便干质量及大鼠体质量。饲养90 d后停药1 wk, 判断造模成功与否。大鼠解剖后分别选取胃窦、小肠及结肠组织, 采用实时荧光聚合酶链反应法(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)检测组织中Drd2的表达情况。

结果: 通过测定比较实验组与对照组大鼠的日均粪便粒数、日均粪便质量及首粒黑便排出时间, 差异均有统计学意义, 判断STC大鼠造模成功。RT-PCR能特异性扩增Drd2, Drd2在STC大鼠胃、小肠组织中的表达与对照组的表达差异无统计学意义(3.97 ± 1.21 , $P > 0.05$; 3.12 ± 1.14 , $P > 0.05$), 而在结肠组织中的表达明显高于对照组(1.93 ± 0.78 , $P < 0.05$), 差异有统计学意义。

结论: STC大鼠Drd2在胃、小肠组织表达与正常大鼠的表达差异无统计学意义, 在结肠组织表达显著上调, 提示Drd2可能参与STC大鼠的发病机制。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢传输型便秘; 胃肠道; 多巴胺D2受体; RT-PCR

核心提示: 本实验通过成功建立慢传输便秘大鼠模型, 采用RT-PCR技术方法从基因水平发现多巴胺D2受体(dopamine D2 receptor, Drd2)在大鼠消化系表达情况, 提示Drd2高表达可致结肠动力障碍, 可能为慢传输型便秘(slow transit constipation)的病理生理机制之一。

张晓媛, 徐华, 郑倩, 张旭. 慢传输型便秘大鼠胃肠道多巴胺D2受体表达. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 93-98 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/93.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.93>

0 引言

近年来, 通过流行病学调查发现, 儿童便秘在世界范围内均具有较高的发病率^[1], 不同国家、地域发病率不尽相同, 给医疗卫生系统带来的负担呈上升趋势^[2], 目前国内报道发病率约3%-8%, 且90%以上属于功能性便秘(functional constipation, FC), 其中以慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)最为常见。STC主要是指结肠动力减慢、结肠传输时间延长等为特点一种较顽固的便秘^[3], 是近年来国内外研究的热点之一, 但其具体的病因及发病机制尚未得到

统一的结论。目前研究主要集中在胃肠动力、胃肠道神经递质、肠神经系统(enteric nervous system, ENS)、Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)及精神、心理因素等方面。许多学者认为STC的发生和一些胃肠神经递质的异常表达有很大的关系^[4]。研究发现多巴胺(dopamine, DA)作为重要的胃肠神经递质之一, 其中多巴胺D2受体(dopamine D2 receptor, Drd2)在消化系不同部位均有表达, 参与调解胃肠道功能, 与多种疾病导致结肠动力异常有关, 致结肠传输时间延长, 久之, 形成慢传输便秘^[5,6]。目前有关从基因方面论证大鼠消化系不同部位Drd2与STC关系鲜有报道。本研究应用实时荧光聚合酶链反应法(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)观察Drd2在STC消化系不同部位的表达情况, 以期对STC病理生理机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物: 清洁级健康8周龄Wistar ♂大鼠24只, 体质量 $120 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$, 是由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 生产许可证号: SCXK-(军)2007-004。随机分为实验组和对照组, $n = 12$ 。两组大鼠均分笼饲养于中国人民解放军304医院动物实验室, 大鼠在室温条件 20°C - 22°C ; 相对湿度50%-70%, 清洁安静, 正常更替光照, 24 h食水供应, 常规饲养1 wk以适应环境。两组均以普通干饲料喂养(由北京华康康生物科技股份有限公司提供)。

实验试剂: 生理盐水(湖南康源制药有限公司); 复方地芬诺酯(合肥久联制药有限公司); 活性炭(国药集团化学试剂有限公司); TRIzol-A+试剂、RNase-free ddH₂O、FastQuant RT Kit (with gDNase)、SuperReal PreMix Plus(SYBR Green)均购自北京TIANGEN公司; 引物及内参合成由上海生工公司完成。离心机(德国Heraeus公司); 紫外分光光度计(UV-2201日本岛津公司); PCR扩增仪(中国SLAN公司)。

1.2 方法

1.2.1 STC大鼠模型建立: 参照包云光等^[7]和刘兴等^[8]的方法建立STC大鼠模型。在适宜环境下, 大鼠分笼饲养, 饲养7 d后开始建立模型, 给实验组Wistar大鼠喂养复方苯乙哌啶混悬液[剂量 $8 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], 对照组给予等量生理盐水, 隔5 d记录1次大鼠粪便粒数、大便干质量及大鼠体质量。饲养90 d之后, 大鼠解剖后分别取大鼠胃

相关报道
国外Doi等研究报道, 多巴胺与肠神经系统存在相关性, 通过释放乙酰胆碱引起平滑肌收缩, 进而促进肠道排空、蠕动及分泌。国内朱红灿等学者发现, 患有帕金森病大鼠肠神经系统多巴胺含量增多, 可导致便秘的发生。

表 1 引物序列及片段大小

目的基因	引物序列	片段大小(bp)
<i>Drd2</i>	上游: 5'-AACCCCTGCCTTTGTGGTCTA-3'	174
	下游: 5'-GTTGCCCTTGAGTGGTGTCT-3'	
<i>β-actin</i>	上游: 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	下游: 5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

Drd2: 多巴胺D2受体.

表 2 两组日均粪便粒数、日均粪便质量及首粒黑便排出时间 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	粪便粒数(粒/d)	粪便质量(mg/粒)	首粒黑便排出时间(min)
实验组	24.83 \pm 2.12	157.49 \pm 9.78	980.00 \pm 30.23
对照组	34.25 \pm 3.36	139.43 \pm 14.71	387.50 \pm 34.54
<i>P</i> 值	<0.01	<0.05	<0.01

创新盘点

本实验首次从基因层面探讨Drd2在STC大鼠消化系统不同部位的表达情况, 并发现其在STC大鼠结肠组织中表达上调, 提示Drd2可能参与了STC的发生.

窦、小肠、结肠组织各5 mm. 取后组织用生理盐水冲洗、滤纸吸干多余水分, 放入液氮保存.

1.2.2 测定肠道传输功能: 应用活性炭灌胃的方法测定首粒黑便排出时间. 待大鼠停药1 wk后(禁食、不禁水24 h), 从口灌入100 g/L活性炭悬液2 mL. 活性炭灌胃完毕后开始计时, 记录从灌胃至首粒黑便排出的时间.

1.2.3 RT-PCR: (1)总RNA的提取: 参照TRIzol-A+试剂(公司)说明书提取总RNA. 应用紫外分光光度仪检测提取完后的RNA的纯度. 测量 A_{260} 和 A_{280} 的数值, 且每个样本重复测3次, 取其平均值. $A_{260/280}$ 的比值在1.8-2.0范围内, 说明提取RNA的纯度比较好; (2)反转录合成cDNA: 将模板RNA在冰上解冻, 其余试剂(每种溶液使用前涡旋振荡混匀)在常温解冻, 待解冻后迅速置于冰上. 按照试剂盒上操作, 配置gDNA去除反应体系混合液(5×gDNA Buffer, 2 μ L; total RNA, 计算出; RNase-Free ddH₂O, 补足到10 μ L), 短暂离心后, 置于42 $^{\circ}$ C, 孵育3 min, 然后置于冰上放置. 配制反转录体系Mix(10×Fast RT Buffer, 2 μ L; RT Enzyme Mix, 1 μ L; FQ-RT Primer Mix, 2 μ L; RNase-Free ddH₂O, 补足到10 μ L), 然后加到gDNA去除反应体系混合液中, 充分混匀, 置于42 $^{\circ}$ C水浴, 孵育15 min. 取出后再置于95 $^{\circ}$ C水浴孵育3 min, 迅速放于冰上, 得到cDNA置于-20 $^{\circ}$ C冰箱保存, 用于后续实验; (3)设计和合成引物: 通过查找PubMed相关文献, 得出引物序列, 用Primer5.0软件处理得出最合适的引物序列(表1), 并由上海生工公司合成; (4)PCR扩增: 参

照SuperReal PreMix Plus试剂盒说明书的操作步骤, 冰上进行RT-PCR反应液的配置, 建立20 μ L反应体系(2×SuperReal PreMix Plus, 10 μ L; 正向引物、反向引物各1 μ L; cDNA模板1.5 μ L; 50×ROX Reference Dye 0.4 μ L; RNase-Free ddH₂O补足至20 μ L), 置于PCR扩增仪上进行扩增, 每个样品均重复3次. 三步法反应程序: 95 $^{\circ}$ C预变性15 min, 95 $^{\circ}$ C变性10 s, 59 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸32 s, 总共40个循环. 将电脑测得的Ct值及融解曲线记录下来, 通过相对定量法检测不同组间Drd2的表达情况. 并将得到的PCR产物置于2.5%的琼脂糖凝胶上, 在150 V电压下电泳35 min后, 放于紫外灯下观察、取样.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析, 实验数据用mean \pm SD表示, 采用独立样本*t*检验和方差分析进行显著性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 STC大鼠造模成功 实验组大鼠粪便粒数(粒/d)少于对照组($P < 0.01$), 日均粪便质量大于对照组($P < 0.05$), 首粒黑便排出时间明显长于对照组($P < 0.01$), 差异均有统计学意义, 因此, 说明慢传输便秘大鼠造模成功(表2).

2.2 Drd2表达结果 实验组与对照组大鼠胃窦、小肠组织Drd2表达差异无统计学意义($P > 0.05$), 但在结肠组织中Drd2的相对定量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)结果明显高于对照组, 差异有显著统计学意义($P < 0.05$)(表3). Drd2和内参的PCR产物的融解

应用要点
本文通过研究STC大鼠Drd2的表达情况,为STC发生的病理生理机制以及为临床选择性用药提供理论基础。

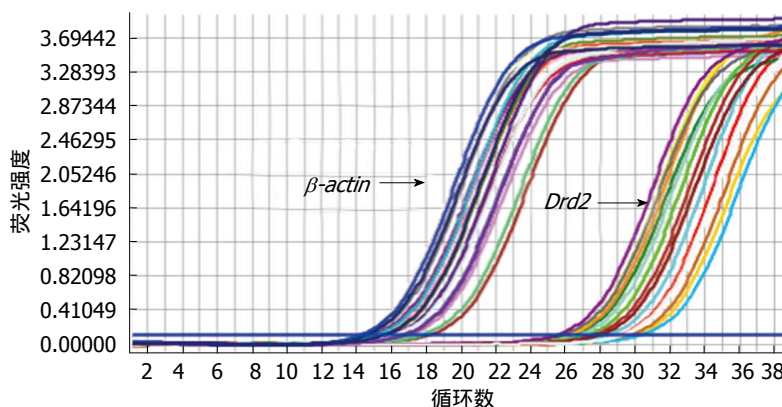


图1 Drd2 RT-PCR扩增曲线. Drd2: 多巴胺D2受体.

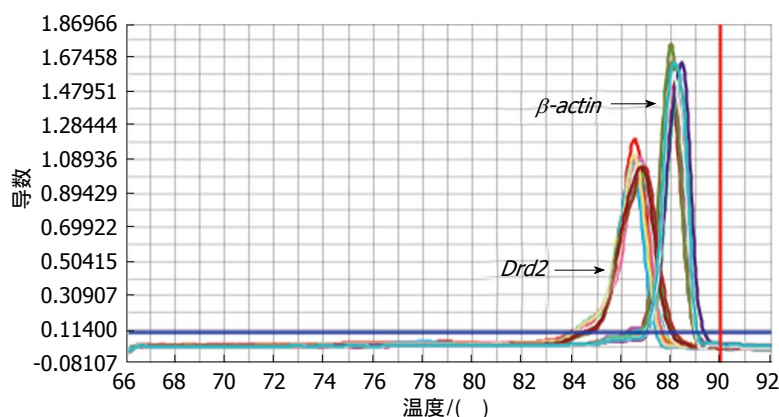


图2 Drd2 RT-PCR熔解曲线. Drd2: 多巴胺D2受体.

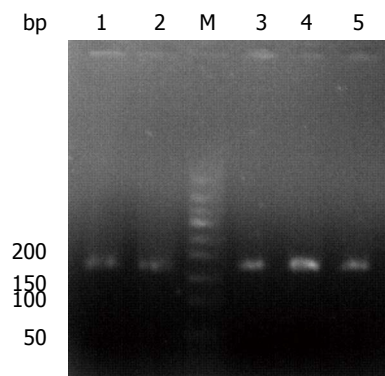


图3 大鼠结肠黏膜Drd2及β-actin mRNA表达电泳图. M: DNA marker; 1: 实验组β-actin; 2: 对照组β-actin; 3: 实验组Drd2; 4: 实验组Drd2; 5: 对照组Drd2. Drd2: 多巴胺D2受体.

表3 慢传输型便秘大鼠胃、小肠、结肠组织中多巴胺D2受体表达水平 (mean ± SD)

分组	Drd2受体相对表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	t值	P值
实验组			
胃	3.97 ± 1.21	2.45	>0.05
小肠	3.12 ± 1.14	1.84	>0.05
结肠	1.93 ± 0.78	2.46	<0.05
对照组			
胃	1.00 ± 0.00		
小肠	1.00 ± 0.00		
结肠	1.00 ± 0.00		

Drd2: 多巴胺D2受体.

曲线均为单一峰, 并且没有非特异性扩增及引物二聚体的产生, 其目的基因扩增曲线良好(图1, 2).

2.3 凝胶电泳结果 Drd2和β-actin的扩增产物经过2.5%琼脂糖凝胶电泳后, 在紫外灯下观测, 可见到特异性条带, 为单一条带(图3), 且扩增的片段大小与设计的大小相一致, 表明RT-PCR可以

特异性扩增Drd2, 且结果可靠.

3 讨论

STC是目前临床上常见的一种较为顽固的疾病, 关于其具体病因及发病机制尚不明确. 目前研究主要集中在以下几个方面: 胃肠道动力、胃肠神经递质、ENS、ICC等. 因此, 建立STC模

型, 从不同层面寻找致病因素, 并探索不同因素之间的相互作用机制, 是下一步针对STC病因和发病机制新的突破口。目前有关STC大鼠模型研究方法主要有泻剂造模法、复方苯乙哌啶及吗啡法等^[9]。本实验参照包云光等^[7]和刘兴等^[8]研究方法, 予复方苯乙哌啶法, 通过比较大鼠粪便粒数、粪便质量及肠道传输时间, 成功建立STC模型。复方苯乙哌啶系度冷丁衍生物, 通过提高肠张力和抑制肠蠕动, 使结肠动力减弱及肠道内容物通过延迟, 进而导致便秘。研究报道^[7,10], 该方法模型大鼠结肠黏膜未造成组织病理损害, 对ENS递质的产生未造成远期影响, 如: 一氧化氮(nitric oxide, NO)、P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)。同时, 该模型可重复性较强, 与患者有着较为相似临床症状。

DA属儿茶酚胺类神经递质, 在中枢神经及外周均有不同程度的分布, DA通过相应的膜受体发挥作用。多巴胺受体(dopamine receptor, DAR)为七个跨膜区域组成的G蛋白偶联受体家族, 根据受体生物化学及药理学性质, 将DAR分为D1类受体(包括D1、D5亚型)和D2类受体(D2、D3、D4亚型)。D1类受体激活后升高细胞内cAMP水平, 总体上起兴奋作用, D2类受体与之相反。

DA为脑肠肽重要神经递质, 在促胃肠动力方面发挥着重要作用^[11]。本实验采用RT-PCR方法, 从基因层面, 证实大鼠胃窦、小肠及结肠组织均有Drd2的表达, 这与既往研究相一致。有学者研究报道^[12], 多巴胺受体在消化系不同部位有不同程度分布, 其中在胃组织内Drd2表达量最高。本实验STC大鼠的胃窦、小肠Drd2基因表达结果与正常大鼠的差异不显著, 但在结肠组织表达上调, 表明动力的改变可能主要是继发于结肠。正常胃黏膜内Drd2表达量很高, 通过抑制胃酸和胃蛋白酶的分泌和促进黏液及碳酸氢盐的分泌发挥着重要的胃黏膜保护及胃排空的作用, 而小肠的主要功能是负责消化吸收和分泌。实验研究发现^[13,14], DA与ENS存在相关性, 大鼠结肠纵行肌与环形肌之间分布大量肌间神经丛, 其内含有丰富的胆碱能神经元, 通过释放乙酰胆碱(acetyl choline, ACH)可以引起肌肉的收缩, 促进肠道排空和蠕动以及腺体分泌。Mozaffari等^[15]最新研究表明Drd2阻滞剂可同5-HT4激动剂、胃动素、胃促生长素

等将作为治疗便秘的二期临床研究性药物。如: 多潘立酮通过作用于外周Drd2发挥促胃动力作用, 加速胃排空及胃窦和十二指肠协调运动。新一代新型Drd2阻滞剂依托必利^[16,17]具有高选择性, 同时也是抑制乙酰胆碱酯酶活性的第三代促胃肠动力药物, 不但刺激内源性ACH的释放, 且抑制ACH的水解, 加强胃和十二指肠运动及促进胃排空, 并能促进结肠蠕动。有实验研究证明^[18], 患有便秘的帕金森病(Parkinson's disease, PD)模型大鼠胃肠DA含量表达增加。大鼠排便时结肠运动的主要类型为巨大移行性收缩运动(giant migration contractions, GMCs), 而DA可抑制大鼠结肠的这种运动。朱红灿等^[19]发现, 6-羟基多巴胺(6-hydroxy dopamine, 6-OHDA)诱导的PD大鼠ENS DA含量增多, 可导致便秘的发生。

本研究采用RT-PCR技术从基因水平研究Drd2在大鼠STC中胃窦、小肠、结肠三个部位的表达, 发现实验组与对照组在胃窦与小肠表达差异不显著, 但在结肠组织中实验组表达明显高于对照组, 提示Drd2高表达可致结肠运动障碍, 可能为STC的病理生理机制之一。

4 参考文献

- 1 Liem O, Benninga MA, Mousa HM, Di Lorenzo C. Novel and alternative therapies for childhood constipation. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 214-218 [PMID: 17511919]
- 2 Sethi S, Mikami S, Leclair J, Park R, Jones M, Wadhwa V, Sethi N, Cheng V, Friedlander E, Bollom A, Lembo A. Inpatient burden of constipation in the United States: an analysis of national trends in the United States from 1997 to 2010. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 250-256 [PMID: 24419480]
- 3 Dinning PG, Di Lorenzo C. Colonic dysmotility in constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 89-101 [PMID: 21382581 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.006]
- 4 王品, 张有成. 慢传输型便秘的病因及发病机制研究进展. *现代生物医学进展* 2012; 30: 5994-5996
- 5 Greene JG, Noorian AR, Srinivasan S. Delayed gastric emptying and enteric nervous system dysfunction in the rotenone model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2009; 218: 154-161 [PMID: 19409896 DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.04.023]
- 6 Zhu HC, Zhao J, Luo CY, Li QQ. Gastrointestinal dysfunction in a Parkinson's disease rat model and the changes of dopaminergic, nitric oxidergic, and cholinergic neurotransmitters in myenteric plexus. *J Mol Neurosci* 2012; 47: 15-25 [PMID: 21647710 DOI: 10.1007/s12031-012-9723-7]
- 7 包云光, 李小兵, 赵婵. 复方苯乙哌啶对大鼠肠传输功能、病理和神经递质的远期影响. *浙江医学教育* 2012; 11: 43-49
- 8 刘兴, 王文革. 慢传输型便秘动物模型研究进展. *中国*

名词解释

STC: 指结肠传输功能障碍致肠内容物传输缓慢引起的便秘, 又称结肠无力, 多伴有排便困难、粪质坚硬、结肠通过延缓、腹胀、腹痛等胃肠表现; 神经递质: 神经末梢分泌的化学组分, 可使神经冲动越过突触而传导, 在化学突触传递中担任信使的特定化学物质, 在中枢神经系统中, 神经递质由突触前膜释放后立即与相应的突触后膜受体结合, 产生突触去极化电位或超极化电位, 导致突触后神经兴奋性升高或降低。

同行评价
本研究设计合理,
方法科学,数据
可靠,值得进一
步研究.

- 中西医结合消化杂志 2013; 21: 548-551
- 9 刘兴, 王文革, 次苗苗. 大黄酸与大肠建立大鼠“泻剂结肠”模型的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1262-1265
- 10 刘海峰, 何俊堂, 汪兴伟, 姜利国. 大鼠慢传输型便秘模型的建立及其结肠肌电变化检测. 武警医学 2004; 15: 887-891
- 11 Zheng LF, Wang ZY, Li XF, Song J, Hong F, Lian H, Wang Q, Feng XY, Tang YY, Zhang Y, Zhu JX. Reduced expression of choline acetyltransferase in vagal motoneurons and gastric motor dysfunction in a 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Brain Res* 2011; 1420: 59-67 [PMID: 21955729 DOI: 10.1016/j.brainres.2011.09.006]
- 12 Wang Q, Ji T, Zheng LF, Feng XY, Wang ZY, Lian H, Song J, Li XF, Zhang Y, Zhu JX. Cellular localization of dopamine receptors in the gastric mucosa of rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417: 197-203 [PMID: 22155235 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.084]
- 13 Doi H, Sakakibara R, Kishi M, Tsuyuzaki Y, Tateno F, Hirai S. [Gastrointestinal dysfunction has important implications for plasma L-dopa concentrations in Parkinson's disease]. *Rinsho Shinkeigaku* 2013; 53: 1382-1385 [PMID: 24291998 DOI: 10.5692/clinicalneuro.53.1382]
- 14 Li ZS, Schmauss C, Cuenca A, Ratcliffe E, Gershon MD. Physiological modulation of intestinal motility by enteric dopaminergic neurons and the D2 receptor: analysis of dopamine receptor expression, location, development, and function in wild-type and knock-out mice. *J Neurosci* 2006; 26: 2798-2807 [PMID: 16525059 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4720-05.2006]
- 15 Mozaffari S, Didari T, Nikfar S, Abdollahi M. Phase II drugs under clinical investigation for the treatment of chronic constipation. *Expert Opin Investig Drugs* 2014; 23: 1485-1497 [PMID: 24960333]
- 16 Amarapurkar DN, Rane P. Randomised, double-blind, comparative study to evaluate the efficacy and safety of ganaton (itopride hydrochloride) and mosapride citrate in the management of functional dyspepsia. *J Indian Med Assoc* 2004; 102: 735-737, 760 [PMID: 15871365]
- 17 Lim HC, Kim YG, Lim JH, Kim HS, Park H. Effect of itopride hydrochloride on the ileal and colonic motility in guinea pig in vitro. *Yonsei Med J* 2008; 49: 472-478 [PMID: 18581598 DOI: 10.3349/ymj.2008.49.3.472]
- 18 Tian YM, Chen X, Luo DZ, Zhang XH, Xue H, Zheng LF, Yang N, Wang XM, Zhu JX. Alteration of dopaminergic markers in gastrointestinal tract of different rodent models of Parkinson's disease. *Neuroscience* 2008; 153: 634-644 [PMID: 18420351 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.03.005]
- 19 朱红灿, 赵静, 段东晓, 罗常月, 李倩倩, 张华, 任秀花, 臧卫东. 帕金森病大鼠胃肠功能障碍和肌间神经丛多巴胺能、胆碱能神经递质的变化. 中华实验外科杂志 2011; 28: 743-745

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



应用金属支架治疗儿童难治性食管良性狭窄的临床价值

段天英, 刘德良, 谭玉勇, 周峻锋

段天英, 刘德良, 谭玉勇, 周峻锋, 中南大学湘雅二医院消化内科 湖南省长沙市 410011

段天英, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的内镜下诊断与治疗的研究。

2012年国家临床重点专科建设基金资助项目,

No. 卫办医政函(2012)650号

作者贡献分布: 文章起草及临床资料整理由段天英完成; 病例选择及随访由段天英、谭玉勇及周峻锋完成; 课题设计、文章修改及审阅由刘德良完成。

通讯作者: 刘德良, 教授, 410011, 湖南省长沙市人民中路139号, 中南大学湘雅二医院消化内科. liudeliang@medmail.com.cn

电话: 0731-85295035 传真: 0731-85295888

收稿日期: 2014-10-04 修回日期: 2014-11-17

接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-08

Retrieval fully covered metal stents for pediatric refractory benign esophageal stenosis

Tian-Ying Duan, De-Liang Liu, Yu-Yong Tan, Jun-Feng Zhou

Tian-Ying Duan, De-Liang Liu, Yu-Yong Tan, Jun-Feng Zhou, Department of Gastroenterology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Supported by: 2012 National Key Construction Project for Clinical Specialties, No. (2012)-650

Correspondence to: De-Liang Liu, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, 139 Renmin Central Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. liudeliang@medmail.com.cn

Received: 2014-10-04 Revised: 2014-11-17

Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of retrieval fully covered, self-expanding metal stents (SEMSs) in the treatment of pediatric refractory benign esophageal restenosis.

METHODS: Newly designed SEMSs were applied to the therapy of 7 pediatric patients with refractory benign esophageal strictures, among whom 5 had anastomotic stricture and 2 had chemical corrosive injuries. Data about symptom remission, complications and stricture diameters were collected during regular follow-ups.

RESULTS: SEMSs were successfully placed,

remained for 40 d to 8 mo, and uneventfully removed in 7 children. During a follow-up period for 3-27 mo, the symptom of dysphagia was obviously alleviated in 5 patients, and diameters of the stenosis were expanded from 2-5 mm to 12-13 mm. Apart from growth of mild granulation tissue in 5 cases, there were no severe complications with stent placement. Stent migration was observed in 4 patients, 2 of whom required repositioning, while symptoms of the others were relieved.

CONCLUSION: Our study suggests that SEMSs are safe and partially effective in treating pediatric patients with refractory benign esophageal stricture during a short-term observation period. The long-term curative effects should be further verified and confirmed.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal stenosis; Stent; Endoscopic gastrointestinal surgery

Duan TY, Liu DL, Tan YY, Zhou JF. Retrieval fully covered metal stents for pediatric refractory benign esophageal stenosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 99-103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/99.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.99>

摘要

目的: 探讨可回收全覆膜金属支架治疗儿童难治性食管良性狭窄的安全性和疗效。

方法: 应用可回收全覆膜金属支架治疗7例难治性食管良性狭窄患儿, 其中术后吻合口狭窄5例, 化学烧伤性狭窄2例。支架置入术后定期随访, 观察患儿吞咽困难改善程度、狭窄口直径、并发症等。

结果: 7例患儿均成功行支架置入术, 1例患儿术中并发皮下气肿。支架取出后随访3-27 mo, 所有患儿吞咽困难症状显著改善, 食管狭窄段口由2-5 mm扩大至12-13 mm。其中1例并发肉

背景资料

儿童食管狭窄在临床上较为常见, 可引起吞咽困难、呕吐、摄食减少、呛咳等症状, 易造成患儿营养不良、生长发育缓慢、肺部感染, 严重时影响智力发育甚至导致死亡。大部分患儿经球囊扩张治疗后可获得缓解, 然而仍有部分患儿多次球囊扩张治疗无效。

同行评议者

崔清波, 副主任医师, 副教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

研发前沿

以往食管良性狭窄患儿多采用外科手术治疗,但手术治疗创伤大,且术后易再狭窄。目前内镜下球囊扩张术因其创伤小、术后恢复快、并发症少等优点成为治疗此类患者的首选方法,但其仍然存在扩张效果欠佳及短期内易复发等问题,因此探讨安全有效的治疗方法势在必行。

芽组织轻微增生,2例发生支架移位。

结论:可回收全覆膜金属支架治疗儿童难治性良性食管狭窄安全有效,其长期疗效仍有待于进一步研究。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:食管狭窄;支架;消化内镜手术

核心提示:本研究应用全覆膜金属支架置入术治疗儿童难治性良性食管狭窄,其短期疗效满意且并发症发生率较低,有望成为此类患者的治疗新方法。

段天英,刘德良,谭玉勇,周峻峰.应用金属支架治疗儿童难治性食管良性狭窄的临床价值.世界华人消化杂志 2015; 23(1): 99-103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/99.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.99>

0 引言

儿童食管狭窄常见原因有先天性狭窄,术后吻合口狭窄,化学烧伤性灼伤,反流性食管炎等。内镜治疗因其创伤小、术后恢复快、并发症少等优点成为目前治疗儿童食管狭窄的首选方法。金属支架置入术是一种新型内镜治疗技术,以往主要用于成人食管恶性狭窄的治疗^[1],而其在儿童中使用的报道较少。中南大学湘雅二医院2010-04/2014-03应用全覆膜金属支架置入术治疗7例难治性儿童食管良性狭窄,疗效满意,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2010-04/2014-03共7例患儿接受可回收全覆膜金属支架置入术,均为男性,年龄16 mo-8岁,其中5例术后吻合口狭窄,2例化学腐蚀性食管狭窄(表1)。7例患儿均符合以下入选标准: (1)经临床症状、上消化道钡餐或计算机层析成像(computerized tomography, CT)检查、胃镜诊断为食管良性狭窄; (2)均行多次球囊扩张术(≥ 3 次)治疗后吞咽困难症状无明显好转或短期内复发,吞咽困难的严重程度分级^[2]3-4级。治疗器材:采用GIF-XQ260超细电子胃镜(奥林巴斯)、可回收全覆膜金属支架(德尔曼),三级扩张球囊(Boston)。

1.2 方法

1.2.1 术前准备:所有患者术前均常规行胃镜或钡餐检查,了解食管狭窄的部位、长度及严重

程度,并签署知情同意书,术前禁食禁饮8 h以上。

1.2.2 支架置入:患儿术中采取气管插管全身麻醉,取左侧卧位,通过内镜活检通道将三级扩张球囊放置到狭窄部分的中心,将狭窄口的直径逐渐扩张至支架直径的2/3。扩张完将后将引导钢丝越过狭窄部位后继续送入胃内,退出内镜后再沿导丝插入支架置入器,定位后释放支架,再次插入内镜了解支架膨胀情况及支架上缘位置。支架选择原则:选用可回收全覆膜Z型金属支架;支架的规格及类型取决于患儿的年龄、狭窄长度、病变的位置。2岁以下选用直径12 mm的支架;2-5岁选用13 mm的支架;>5岁选用14 mm的支架;支架长度以超过病变上下缘2 cm为宜;对于位于食管下段的狭窄采用防反流支架(图1)。

1.2.3 术后处理:术后禁食1 d,流质饮食1 wk,逐步过渡到软食,少量多餐,细嚼慢咽;支架置入术后每月定期行胸片或胃镜检查了解支架的位置。

统计学处理 运用SPSS17.0软件,定量数据运用mean \pm SD表示,定量资料采用 t 检验进行统计学分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

7例患者均成功接受支架置入术,随访3-27 mo,吞咽困难症状均有显著改善,患儿术前狭窄段平均直径为 $3.00\text{ mm}\pm 1.15\text{ mm}$,术后狭窄段平均直径为 $12.57\text{ mm}\pm 0.53\text{ mm}$,术后狭窄直径较术前明显扩大,差异具有统计学意义($P<0.05$)(表2)。其中病例3支架放置4 mo后取出,症状缓解;病例4及6在随访期间内镜检查发现狭窄已解除,支架自然脱落至胃内;病例7因支架置入后出现轻度胸痛,于术后第6周应家属要求取出支架;病例1于术后第4月出现吞咽困难,胃镜检查发现支架脱落,食管再狭窄,经支架复位放置4 mo后取出支架;病例2支架放置40 d后因呕吐致支架经口腔排出体外,3 mo后逐渐出现吞咽困难,8 mo后再置入直径较大的支架($13\text{ mm}\times 105\text{ mm}$);病例5术后2 mo出现吞咽困难,胸片检查后发现支架脱落,予支架复位,4 mo后再发吞咽困难。胃镜检查发现肉芽组织增生致支架再狭窄,取出支架后重新置入较长支架($14\text{ mm}\times 105\text{ mm}$)(图2)。

3 讨论

儿童食管狭窄在临床上较为常见,可引起吞咽

相关报道

目前已有较多金属支架置入治疗成人难治性食管良性狭窄的文献报道,结果显示该方法安全、有效,然而金属支架用于儿童难治性食管良性狭窄的报道极少。

表 1 食管狭窄患儿临床资料

编号	性别	年龄	原发病	手术	狭窄位置 ¹ (cm)	狭窄直径(mm)	狭窄段长度(cm)	球扩次数(次)	吞咽困难分级
1	男	2岁	食管闭锁	A	23	2	3.0	5	4
2	男	16 mo	食管闭锁	A	14	3	3.0	5	3
3	男	2岁	食管闭锁	A	16	2	2.0	5	4
4	男	5岁	食管狭窄	B	24	5	4.5	6	3
5	男	8岁	食管狭窄	B	18	4	2.0	5	3
6	男	2岁	化学烧伤	/	12	2	11.0	3	3
7	男	4岁	化学烧伤	/	16	3	9.0	3	3

A: 食道闭锁解除术; B: 食道狭窄段切除+端端吻合术; ¹狭窄上缘距门齿距离。

表 2 支架置入治疗术后临床疗效及并发症

编号	支架规格 (mm × mm)	移位次数	移位时间 (mo)	放置时间	治疗后直径 (mm)	随访时长 (mo)	吞咽困难 分级	并发症
1	12 × 85 ¹	1	4	8 mo	12	27	0	无
2	12 × 105 ¹	0	-	40 d	12	23	1	无
3	12 × 85	0	-	4 mo	12	19	0	无
4	14 × 85 ¹	0	-	50 d	13	27	0	胸痛
5	14 × 65 ¹	1	2	6 mo	13	20	1	肉芽组织增生
6	13 × 160	0	-	5 mo	13	6	0	无
7	13 × 130 ¹	0	-	43 d	13	3	0	胸痛, 皮下气肿

¹选用带防反流瓣膜支架。

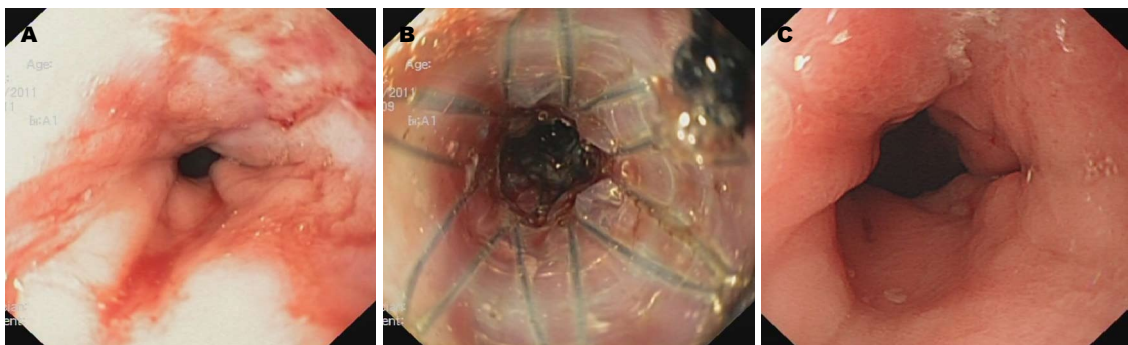


图 1 支架置入术前食管狭窄直径对比. A: 内镜下见食管狭窄; B: 全覆膜金属支架置入术后(带防反流瓣膜); C: 支架移除后5 mo, 狭窄口较术前扩大。

困难、呕吐、摄食减少、呛咳等症状, 易造成患儿营养不良、生长发育缓慢、肺部感染, 严重时影响智力发育甚至导致死亡。以往此类患者多采用外科手术治疗^[3], 但手术创伤大, 并发症发生率高, 且术后易再狭窄。内镜下球囊扩张术是目前儿童食管良性狭窄的首选治疗方法^[4,5]。但部分患儿如外科术后吻合口狭窄, 化学烧伤性狭窄常需多次球囊扩张才能缓解症状, 或存在扩张效果欠佳, 短期内易复发等问题^[6,7], 且

患儿多数不能配合内镜操作, 特别是对于5岁以下患儿常需要气管插管全麻情况下行球囊扩张。因此, 寻找一种更为安全有效的技术显得至关重要。

与球囊扩张相比, 支架置入可在较长时间内提供持续、放射状的扩张力, 可减少穿孔、出血等并发症的发生, 有望成为此类患者的有效治疗方法。然而常规支架治疗后患者易出现黏膜组织增生、再狭窄、支架难以取出等严重并

创新盘点

本研究创新性的将全覆膜支架用于儿童难治性食管良性狭窄的治疗, 并就术后支架取出时间、支架移位预防方法等操作问题上总结了自己的治疗经验。

应用要点

本研究为难治性食管良性狭窄患儿提供了一种新的治疗方式, 并分享了一些宝贵的操作经验, 该技术可推广于其他部位或其他类型消化道狭窄的治疗。

名词解释

难治性食管良性狭窄: 指良性食管狭窄的患儿既往采用多种治疗方式或多次行球囊扩张术(≥ 3 次), 但吞咽困难症状无明显好转或短期内复发, 且吞咽困难的严重程度分级为3-4级。

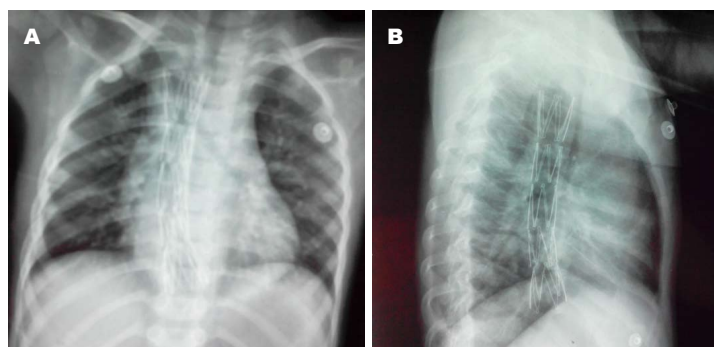


图2 病例5患儿支架置入5 mo后复查胸片未见支架移位。A: 支架置入5 mo后复查正位胸片未见移位; B: 支架置入5 mo后复查侧位胸片未见移位。

发病, 因此, 多数学者不主张使用金属支架治疗食管良性狭窄。近来有学者设计出可回收全覆膜金属支架, 此新型金属支架较以往常规支架有如下优势^[8]: (1)金属支架由医用不锈钢拉丝制成“Z”型骨架, 且内外均覆有高强度硅橡胶膜, 具有良好的纵向顺应性, 可适应各种弯曲变形的病变部位, 异物感较轻; (2)骨架为间断性连接, 节段间由硅胶膜及尼龙缝合线等“软组织”连接而成, 具有良好的变形性和稳定性, 可有效减轻支架对黏膜组织的磨损和减少支架移位的发生; (3)支架的两端不带有挂钩, 可有效降低出血、穿孔等并发症的发生率。同时上下口附有柔软的硅胶裙边, 机械性刺激小, 可有效防止组织增生, 避免压迫及损伤, 从而减少术后再狭窄的发生。

目前全覆膜支架治疗儿童良性狭窄的适应症尚无明确定论。文献报道显示支架置入主要适用于多次扩张失败的先天性、腐蚀性、术后吻合口狭窄的患儿。最佳适应症为单个、孤立、狭窄长度 ≥ 2 cm的食管中段狭窄^[9]。Best等^[10]应用金属全覆膜支架治疗7例食管狭窄患儿, 其中6例临床症状得以缓解。方莹等^[11]应用可回收Sigma支架治疗26例儿童食管良性狭窄, 25例术后6 mo保持进食通畅。本组7例患儿均为长度 ≥ 2 cm的单发食管良性狭窄, 经支架置入治疗术后吞咽困难症状均完全缓解, 提示可回收全覆膜金属支架是治疗儿童食管良性狭窄的一种有效手段。

支架置入术后取出的时机目前仍有争议, 放置时间过长可致黏膜增生黏连, 支架难以取出, 时间过短则不利于狭窄段塑形, 易致狭窄复发^[9], 多数学者认为支架在体内的放置时间以4-6 wk为宜^[10,12]。然而我们在临床实践中发现, 对于部分患儿, 4-6 wk的放置时间难以取得满意疗效,

需要适当延长放置时间。因此, 我们认为支架取出时机的选择应综合考虑以下情况: (1)尽管支架脱落至胃内, 但患儿梗阻症状缓解, 食管狭窄已解除, 可考虑取出支架; (2)若支架移位至胃内, 而患儿再次出现梗阻症状, 胃镜检查见食管狭窄仍存在, 应考虑行支架复位或支架再置入治疗; (3)支架放置时间超过6 mo或胃镜检查发现支架上下缘有肉芽组织增生、深溃疡形成、硅胶膜破损等征象, 此时应根据患儿症状缓解情况, 考虑取出或更换支架; (4)支架放置时间不应超过生产厂家建议的时间。

支架置入术并发症包括胸痛、出血、穿孔、支架移位、组织增生、再狭窄等, 其中支架移位最为常见^[7,13], 文献报道其发生率最高达37%-63%^[10]。导致支架移位的因素有很多, 如支架型号, 材料, 直径大小, 支架移位不仅影响临床疗效, 甚至造成肠梗阻、穿孔等其他严重后果^[14]。因此, 如何预防支架移位显得十分重要。本组7例患儿中仅2例发生支架移位, 其发生率较低。对此, 我们的体会是: (1)根据支架材料、患者年龄选择适宜大小的支架, 若采用德尔曼公司全覆膜金属支架, 我们建议未满2岁者选用直径12 mm的支架; 2-5岁者选用13 mm的支架; >5岁者选用14 mm的支架; (2)支架上下缘应超过狭窄段2 cm为宜; (3)支架置入术后应加强对患儿饮食管理。一般来说, 术后禁食1 d, 流质饮食1 wk, 逐步过渡到软食, 少量多餐, 细嚼慢咽; (4)术后应定期复查胸片或胃镜, 监测支架的位置, 并对移位的支架及时复位, 以维持持续的扩张效果, 减少支架移位相关并发症的发生。

总之, 我们的研究表明, 可回收全覆膜自膨式金属支架治疗儿童难治性良性食管狭窄的短期疗效满意, 其长期疗效仍有待于进一步证实。

4 参考文献

- 1 朱全胜, 李瑞敏, 李伟, 姜华, 李卫东, 王家平. 覆膜食管支架置入术60例临床应用分析. 实用医学影像杂志 2014; 15: 180-183
- 2 Neuhaus H, Hoffmann W, Dittler HJ, Niedermeyer HP, Classen M. Implantation of self-expanding esophageal metal stents for palliation of malignant dysphagia. *Endoscopy* 1992; 24: 405-410 [PMID: 1380446 DOI: 10.1055/s-2007-1010508]
- 3 周致红, 隋武, 王云慧, 苏海龙, 林洋. 食管闭锁的诊断及治疗. 中国普通外科杂志 2011; 20: 391-393
- 4 李玫, 林谦, 练敏, 郭红梅, 潘健, 蒋福琴, 金玉. 胃镜下食管扩张术治疗小儿重度食管狭窄. 实用医学杂志 2011; 27: 1443-1446
- 5 耿岚岚, 龚四堂, 黄海, 何婉儿, 区文玑, 潘瑞芳, 霍笑和, 陈宝心. 胃镜直视下球囊扩张术治疗小儿食管狭窄. 中华儿科杂志 2008; 46: 895-898
- 6 Lévesque D, Baird R, Laberge JM. Refractory strictures post-esophageal atresia repair: what are the alternatives? *Dis Esophagus* 2013; 26: 382-387 [PMID: 23679028 DOI: 10.1111/dote.12047]
- 7 Kim JH, Shin JH, Song HY. Benign strictures of the esophagus and gastric outlet: interventional management. *Korean J Radiol* 2013; 11: 497-506 [PMID: 20808692 DOI: 10.3348/kjr.2010.11.5.497]
- 8 辛甜甜, 陈笋. 食管支架治疗儿童食管病变的现状与进展. 国际消化病杂志 2013; 33: 165-166
- 9 Kramer RE, Quiros JA. Esophageal stents for severe strictures in young children: experience, benefits, and risk. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 203-210 [PMID: 20425474 DOI: 10.1007/s11894-010-0105-4]
- 10 Best C, Sudel B, Foker JE, Krosch TC, Dietz C, Khan KM. Esophageal stenting in children: indications, application, effectiveness, and complications. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 1248-1253 [PMID: 19836746 DOI: 10.1016/j.gie.2009.07.022]
- 11 方莹, 白强. 可回收Sigma支架治疗小儿良性食管狭窄. 微创医学 2008; 3: 492-494
- 12 Foschia F, De Angelis P, Torroni F, Romeo E, Caldaro T, di Abriola GF, Pane A, Fiorenza MS, De Peppo F, Dall'Oglio L. Custom dynamic stent for esophageal strictures in children. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 848-853 [PMID: 21616239 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.02.014]
- 13 Eloubeidi MA, Talreja JP, Lopes TL, Al-Awabdy BS, Shami VM, Kahaleh M. Success and complications associated with placement of fully covered removable self-expandable metal stents for benign esophageal diseases (with videos). *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 673-681 [PMID: 21272871 DOI: 10.1016/j.gie.2010.11.014]
- 14 Oh YS, Kochman ML, Ahmad NA, Ginsberg GG. Clinical outcomes after self-expanding plastic stent placement for refractory benign esophageal strictures. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1344-1348 [PMID: 20155322 DOI: 10.1007/s10620-010-1134-4]

同行评价
该研究具有较强的创新性, 为儿童难治性食管良性狭窄的治疗提供了一种新的、微创的治疗方式, 具有较高的临床价值。

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



食管鳞状细胞癌组织中Gstp和HnRNPA2/B1的表达及其临床意义

张 艳, 蒲红伟, 谌宏鸣, 朱丽娟, 李晓梅, 陈 晓

背景资料
新疆哈萨克族食管癌具有明显的地区性和家族聚集性, 多年来对新疆食管癌进行了多学科的研究, 发现食管癌是多因素作用, 多基因参与, 多阶段发展的疾病。在分子生物学研究, 尤其标志物研究没有突破。

张艳, 陈晓, 新疆医科大学基础医学院病理学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
蒲红伟, 朱丽娟, 李晓梅, 新疆医科大学厚博学院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
谌宏鸣, 新疆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
张艳, 讲师, 主要从事消化系统肿瘤的分子标志物的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81360303
作者贡献分布: 张艳与蒲红伟贡献均等; 此课题陈晓、张艳、谌宏鸣及朱丽娟设计; 研究过程朱丽娟、张艳、李晓梅、蒲红伟及陈晓完成; 分析工具李晓梅提供; 数据分析由张艳、朱丽娟、谌宏鸣及陈晓完成; 论文写作朱丽娟与陈晓完成。
通讯作者: 陈晓, 教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新医路393号, 新疆医科大学基础医学院病理学教研室。
xjchenxiao@sina.com
电话: 0991-4361759
收稿日期: 2014-07-07 修回日期: 2014-10-16
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Significance of expression of Gstp and HnRNPA2/B1 in esophageal squamous cell carcinoma

Yan Zhang, Hong-Wei Pu, Hong-Ming Chen,
Li-Juan Zhu, Xiao-Mei Li, Xiao Chen

Yan Zhang, Xiao Chen, Department of Pathology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hong-Wei Pu, Li-Juan Zhu, Xiao-Mei Li, Houbao College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hong-Ming Chen, Department of Histology and Embryology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81360303

Correspondence to: Xiao Chen, Professor, Department of Pathology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, 393 Xinyi Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjchenxiao@sina.com

Received: 2014-07-07 Revised: 2014-10-16

Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

carcinoma (ESCC) and to analyze their clinical significance.

METHODS: Immunohistochemical method was used to detect the expression of Gstp and HnRNPA2/B1 in 68 ESCC tissues and 48 normal esophageal tissues, and their correlations with the clinicopathologic characteristics of ESCC were analyzed.

RESULTS: The positive rates of Gstp and HnRNPA2/B1 expression were significantly higher in ESCC than in normal esophageal tissues (60.3% vs 27.1%, 54.4% vs 29.1%, $P < 0.05$). Gstp expression had no significant correlation with gender, age, ethnicity, tumor size or infiltration depth ($P > 0.05$), but was significantly correlated with tumor differentiation, lymph node metastasis and clinical stage ($P < 0.05$). HnRNPA2/B1 expression had no significant correlation with gender, age, national, tumor size or infiltration depth ($P > 0.05$), but was significantly correlated with tumor differentiation, lymph node metastasis and clinical stage ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Gstp and HnRNPA2/B1 may play a role in the occurrence and development of ESCC. Gstp and HnRNPA2/B1 expression may be used to judge the malignant degree of ESCC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Gstp; HnRNPA2/B1

Zhang Y, Pu HW, Chen HM, Zhu LJ, Li XM, Chen X. Significance of expression of Gstp and HnRNPA2/B1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 104-109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.104>

同行评议者
茅爱武, 教授, 上海同仁医院介入中心

Abstract

AIM: To investigate the expression of Gstp and HnRNPA2/B1 in esophageal squamous cell

摘要

目的: 研究食管鳞状细胞癌组织中Gstp和

HnRNPA2/B1的表达及其临床意义.

方法: 应用免疫组织化学SP(immunohistochemical streptavidin-peroxidase)法检测68例食管鳞状细胞癌组织和48例癌旁切端正常食管组织, 观察Gstp和HnRNPA2/B1的表达, 并应用统计学方法分析其表达与临床病理学指标的意义.

结果: (1)食管鳞状细胞癌组织中Gstp和HnRNPA2/B1的阳性表达率分别为: 60.3%(41/68)和54.4%(37/68); 正常食管组织中阳性表达率分别为: 27.1%(13/48)和29.1%(14/48), 差异均有统计学意义($P<0.05$); (2)食管鳞状细胞癌组织中Gstp在不同性别、年龄、民族、肿瘤大小及不同浸润深度组之间的表达差异无统计学意义($P>0.05$); 在不同分化程度、有无淋巴结转移及不同临床分期组之间的表达有差异统计学意义($P<0.05$); (3)食管鳞状细胞癌组织中HnRNPA2/B1在不同性别、年龄、民族、肿瘤大小、不同浸润深度及不同临床分期组之间的表达差异无统计学意义($P>0.05$); 在不同分化程度、有无淋巴结转移组之间的表达差异有统计学意义($P<0.05$).

结论: Gstp和HnRNPA2/B1在食管鳞状细胞癌的发生和发展中可能起到一定作用; Gstp可能对食管鳞状细胞癌恶性程度判断有一定的指导意义; HnRNPA2/B1可能与食管鳞状细胞癌的发生和发展密切相关.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管鳞状细胞癌; Gstp; HnRNPA2/B1

核心提示: 该研究提示Gstp可能对食管鳞状细胞癌恶性程度判断有指导意义; HnRNPA2/B1在不同分化程度、有无淋巴结转移组之间的表达有显著差异, 提示其可能与食管鳞状细胞癌的发生和发展密切相关.

张艳, 蒲红伟, 谌宏鸣, 朱丽娟, 李晓梅, 陈晓. 食管鳞状细胞癌组织中Gstp和HnRNPA2/B1的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 104-109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.104>

0 引言

新疆是中国食管癌的高发地区, 吕秀平等^[1]在MALDI-TOF-MS分析新疆食管鳞状细胞癌的蛋

白组学的研究中, 建立了食管鳞状癌细胞和食管正常上皮细胞的双向凝胶电泳2-DE图谱, 获得了43个差异蛋白点, 发现其中15种蛋白例如Gstp、HnRNPA2/B1、HSP27等在食管鳞状癌细胞中的表达上调^[1]. Zhang等^[2]也发现食管鳞状癌组织中Bmi-1蛋白表达明显上调. 本课题应用免疫组织化学SP法检测68例食管鳞状细胞组织Gstp和HnRNPA2/B1的表达, 并应用统计学方法分析表达与临床病理学指标的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集新疆医科大学第一附属医院病理科2010-01/2012-09经手术切除, 并且病理诊断确认为食管鳞状细胞癌的石蜡包埋组织68例, 其中男35例, 女33例; 年龄 <50 岁17例, 年龄 ≥ 50 岁51例; 哈萨克族36例, 汉族32例; 肿瘤 <5 cm 27例, 肿瘤 ≥ 5 cm 41例; 分化程度(高分化鳞癌)24例, 分化程度(中分化鳞癌)33例, 分化程度(低分化鳞癌)11例; 肿瘤浸润结食管黏膜层或黏膜下层5例, 肿瘤浸润食管肌层26例, 肿瘤浸润结食管浆膜层有37例; 有淋巴结转移的病例52例, 无淋巴结转移的病例16例. 另外选取48例正常癌旁组织. 收集病例获取所有患者性别、年龄、民族等基本信息, 建立完整的数据资料, 并由两位高年资经验丰富的病理医师指导收集病理标本、阅片. 这项研究经国家自然科学基金支持, 通过新疆医科大学第一附属医院的医学伦理委员会审查, 向研究中涉及的参与人员解释, 并签署知情同意文件.

1.2 方法

1.2.1 Gstp和HnRNPA2/B1检测: 采用SP免疫组织化学三步法进行Gstp和HnRNPA2/B1检测, 步骤严格按照试剂盒操作说明.

1.2.2 染色结果判断: Gstp和HnRNPA2/B1的阳性表达主要位于细胞胞浆, 出现明显棕黄色颗粒判断为阳性.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包分析处理数据, 分析性别、年龄、民族、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况. 用 χ^2 检验对实验数据结果进行分析, 检验水准 $\alpha=0.05$. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Gstp和HnRNPA2/B1在食管鳞状细胞癌组织和食管正常黏膜组织中的表达 Gstp在食管鳞状

研究前沿
大量研究表明, Gstp蛋白常与癌基因INT-2、HSTF-1和bcl-1形成共扩增, 在人体多种肿瘤中均有异常表达. 研究提示Gstp和HnRNPA2/B1蛋白与肿瘤的发生发展、预后和耐药关系密切.

相关报道
大量研究表明, Gstp蛋白在人体多种肿瘤中均有异常表达. HnRNPA2/B1在癌细胞、增殖的细胞中过度的表达, 很可能是细胞癌变的重要原因之一.

创新盘点
研究提示Gstp和HnRNPA2/B1蛋白与肿瘤的发生发展、预后和耐药关系密切,可能成为制定癌症个性化化疗方案选择的重要参考。

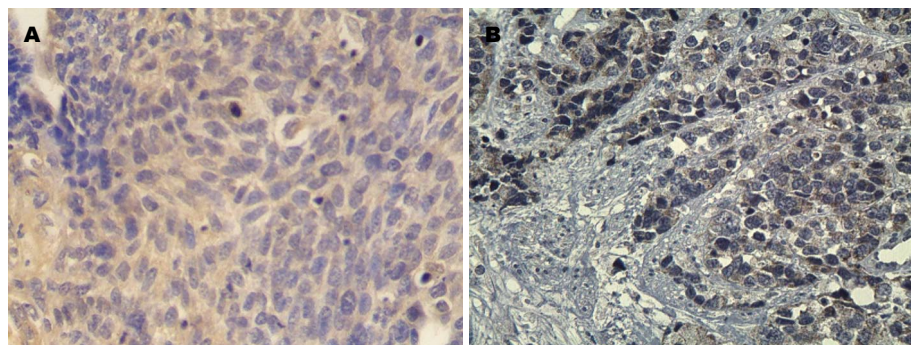


图1 Gstp和HnRNPA2/B1在食管鳞状细胞癌组织中的表达($\times 400$). A: Gstp; B: HnRNPA2/B1.

表1 Gstp在食管鳞状细胞癌组织和食管正常黏膜组织中的表达结果

分组	<i>n</i>	-	+	阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
食管鳞癌组织	68	27	41	60.3	12.473	0.001
正常食管黏膜	48	35	13	27.1		

表2 HnRNPA2/B1在食管鳞状细胞癌组织和食管正常黏膜组织中的表达结果

分组	<i>n</i>	-	+	阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
食管鳞癌组织	68	31	37	54.4	7.279	0.006
正常食管黏膜	48	34	14	29.1		

细胞癌组织中的表达(图1A), Gstp蛋白的阳性表达率在食管鳞癌与食管正常黏膜组织中, 分别为60.3%(41/68)和27.1%(13/48), Gstp蛋白在食管鳞癌患者组织中的阳性表达显著高于在食管正常黏膜组织中的阳性表达, 两组之间差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

HnRNPA2/B1在食管鳞状细胞癌组织中的表达(图1B), HnRNPA2/B1蛋白在68例食管鳞癌组织的阳性表达率为54.4%(37/68), 在48例食管正常黏膜组织中HnRNPA2/B1的阳性表达率为29.1%(14/48), HnRNPA2/B1在食管鳞癌患者组织中的阳性表达显著高于在食管正常黏膜组织中的阳性表达, 两组之间差异有统计学意义($P<0.05$)(表2).

2.2 食管鳞状细胞癌组织中Gstp和HnRNPA2/B1蛋白表达与临床病理学参数之间的关系 在高分化、中分化和低分化三组食管癌患者组织中Gstp的阳性表达率比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 表明Gstp的表达可能与食管癌组织的分化程度有关, 表达率高恶性程度高, 与预后相关. 在有淋巴结转移和无淋巴结转移两组食管癌患者组织中Gstp的阳性表达率比较, 差异

有统计学意义($P<0.05$), 提示Gstp的表达与食管癌组织的淋巴结转移有关. 在临床分期 I - II 期和 III - IV 期食管癌患者组织中Gstp的阳性表达率分别为41.4%和74.4%, $\chi^2 = 7.556$, 差异有统计学意义($P<0.05$), 表明Gstp的表达可能与食管癌的临床分期有关. 性别、年龄、族别、肿瘤大小、浸润深度各组之间, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表3).

在高分化、中分化和低分化的食管癌患者组织中HnRNPA2/B1的阳性表达率分别为37.5%、54.5%和90.9%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 8.674$, $P<0.05$), 表明HnRNPA2/B1可能在细胞分化过程中起着重要调控作用. 在有淋巴结转移和无淋巴结转移的食管癌患者组织中HnRNPA2/B1的阳性表达率分别为25.0%和63.5%, 两组之间差异有统计学意义($\chi^2 = 7.297$, $P<0.05$), 提示HnRNPA2/B1的表达与食管癌组织淋巴结转移有关, 有淋巴结转移的食管癌组织中HnRNPA2/B1的阳性表达率高. 在临床分期 I - II 期和 III - IV 期食管癌患者组织中HnRNPA2/B1的阳性表达率分别为48.3%和59.0%, $\chi^2 = 0.767$, 两组之间差异无统计学意义

表 3 Gstp蛋白在食管癌组织表达与临床病理学参数之间的关系

临床病理参数	n	Gstp		
		阳性n(%)	χ^2 值	P值
性别			0.885	0.347
男	35	23(65.7)		
女	33	18(54.5)		
年龄(岁)			1.003	0.317
<50	17	12(70.6)		
50	51	29(56.9)		
民族			1.298	0.323
哈族	36	24(66.7)		
汉族	32	17(53.1)		
肿瘤大小(cm)			0.133	0.715
<5	27	17(63.0)		
5	41	24(58.5)		
分化程度			8.556	0.014
高分化	24	9(37.5)		
中分化	33	23(70.0)		
低分化	11	9(81.8)		
浸润深度			0.511	0.779
黏膜及黏膜下层	5	3(60.0)		
肌层	26	16(61.5)		
浆膜层	37	22(59.4)		
淋巴结转移			7.372	0.007
无	16	5(31.2)		
有	52	36(69.2)		
临床分期			7.556	0.006
I - II期	29	12(41.4)		
III - IV期	39	29(74.4)		

应用要点
Gstp和HnRN-PA2/B1的表达,为食管癌的早期诊断、恶性程度和预后判断,以及化疗方案的制定奠定理论和实验基础。

($P>0.05$), 表明HnRNPA2/B1的表达可能与食管癌的临床分期无关. 性别、年龄、族别、肿瘤大小、浸润深度各组之间, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表4).

3 讨论

谷胱甘肽S-转移酶GSTs是一组多功能的超基因家族. 从人胎盘中分离出的Gstp即胎盘型谷胱甘肽硫转移酶, 它具有结合、解毒等功能^[3]. Gstp蛋白通过催化谷胱甘肽与亲电子化合物结合减少机体的毒性作用从而起到保护亲核物质的作用^[4]. 大量研究表明, Gstp蛋白常与癌基因*INT-2*、*HSTF-1*及*bcl-1*形成共扩增, 在人体多种肿瘤中均有异常表达^[5]. 研究显示, Gstp蛋白在肺癌中有高表达^[6], 在肝癌^[7]、胃癌^[8]等鳞癌组织中也有高表达. Jones等^[9]研究发现, 在正常胃黏膜组织中Gstp蛋白呈低表达, 说明Gstp蛋白的高表达可能与胃癌原发性耐药密切相关. 在本组研究中, Gstp蛋白在食管鳞状细胞癌中呈高表

达, 在不同组织分化程度、有无淋巴结转移、不同临床分期组之间的表达有显著差异, 提示Gstp蛋白在食管鳞状细胞癌的发生和发展中可能起一定作用, 并且对食管鳞状细胞癌恶性程度判断有一定的指导意义. Gstp能否作为食管鳞状细胞癌的早期诊断标志物, 是否与耐药密切相关, 以及能否成为指导个体化疗的参数, 还有待进一步的研究.

HnRNP是一组包含了将近30种分子量在30-120 kDa之间的RNA结合蛋白质. HnRNPA2/B1即核内不均一核糖核蛋白A2/B1, 是一种由HnRNPA2和HnRNPB1共同组成的RNA连接蛋白^[10]. HnRNPA2/B1在胞浆及胞核中均可表达, 在不同的组织器官中的表达差异有统计学意义^[11,12]. 很多研究指出HnRNPA2/B1在良性组织和恶性组织中的表达差异有统计学意义^[13,14]. Torosyan等^[15]研究显示, HnRNPA2/B1在细胞分化和增殖过程中起着重要调控作用. Zech等^[16]研究发现HnRNPA2/B1在有淋巴结转

名词解释

Gstp蛋白: 通过催化谷胱甘肽与亲电子化合物结合减少机体的毒性作用从而起到保护亲核物质的作用;
HnRNPA2/B1: 核内不均一核糖核蛋白A2/B1, 是一种由HnRNPA2和HnRNPB1共同组成的RNA连接蛋白。

表 4 HnRNPA2/B1蛋白在食管癌组织表达与临床病理学参数之间的关系

临床病理参数	n	HnRNPA2/B1		
		阳性n(%)	χ^2 值	P值
性别			0.908	0.465
男	35	21(60.0)		
女	33	16(48.4)		
年龄(岁)			0.968	0.405
<50	17	11(70.6)		
50	51	26(66.7)		
民族			1.384	0.330
哈族	36	22(61.1)		
汉族	32	15(46.9)		
肿瘤大小(cm)			1.320	0.322
<5	27	17(63.0)		
5	41	20(48.8)		
分化程度			8.674	0.013
高分化	24	9(37.5)		
中分化	33	18(54.5)		
低分化	11	10(90.9)		
浸润深度			0.504	0.778
黏膜及黏膜下层	5	2(40.0)		
肌层	26	14(53.8)		
浆膜层	37	21(56.8)		
淋巴结转移			7.297	0.008
无	16	4(25.0)		
有	52	33(63.5)		
临床分期			0.767	0.264
I - II期	29	14(48.3)		
III - IV期	39	23(59.0)		

移组的阳性表达率高于无淋巴结转移组, 指出HnRNPA2/B1蛋白与肺癌进展和预后密切相关。韩军等^[17]发现在非小细胞肺癌中HnRNPA2/B1的阳性表达显著高于癌旁组织及肺良性病变肺组织, HnRNPA2/B1的表达与分化程度和淋巴结转移有关, HnRNPA2/B1的表达在不同组织类型和临床分期期间的表达虽然有差异但是无统计学意义, 此项结果在国内外报道不一, 需要扩大样本量进一步进行统计分析。石园等^[18]检测出HnRNPA2/B1的过表达对肺癌预测的敏感度是96%, 特异度是82%。HnRNPA2/B1在鳞化、发育异常等病变过程中均有过表达。在本组研究中HnRNPA2/B1蛋白在食管鳞癌患者组织中高表达, 并且在有淋巴结转移组中的阳性表达率高于无淋巴结转移组, HnRNPA2/B1在不同分化程度、有无淋巴结转移组之间的表达有显著差异, 提示HnRNPA2/B1可能与食管鳞状细胞癌的发生和发展密切相关, 对其进一步研究有

望成为食管鳞状细胞癌早期诊断的参考指标。

4 参考文献

- 1 吕秀平, 蒲红伟, 龚晓瑾, 苗娜, 陈晓. MALDI-TOF-MS分析新疆食管鳞状细胞癌的蛋白组学. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3682-3686
- 2 Zhang Y, Zhang YL, Chen HM, Pu HW, Ma WJ, Li XM, Ma H, Chen X. Expression of Bmi-1 and PAI-1 in esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5533-5539 [PMID: 24833884 DOI: 10.3748/wjg.v20.i18.5533]
- 3 Xiang Z, Snouwaert JN, Kovarova M, Nguyen M, Repenning PW, Latour AM, Cyphert JM, Koller BH. Mice lacking three Loci encoding 14 glutathione transferase genes: a novel tool for assigning function to the GSTP, GSTM, and GSTT families. *Drug Metab Dispos* 2014; 42: 1074-1083 [PMID: 24658454 DOI: 10.1124/dmd.113.056481]
- 4 Manevich Y, Hutchens S, Tew KD, Townsend DM. Allelic variants of glutathione S-transferase P1-1 differentially mediate the peroxidase function of peroxiredoxin VI and alter membrane lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 2013; 54: 62-70 [PMID: 23142420 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.556]

- 5 Wang YJ, He L, Yuan M, Tsang WW, Hao L, Wang M, Chow LW, Cheung MN, Liu Q, Ng EL, Loo WT, Chow CY, Bai LJ, Yang Z. Epigenetic changes of TIMP-3, GSTP-1 and 14-3-3 sigma genes as indication of status of chronic inflammation and cancer. *Int J Biol Markers* 2014; 29: e208-e214 [PMID: 25041782 DOI: 10.5301/jbm.5000104]
- 6 Ke HG, Li J, Shen Y, You QS, Yan Y, Dong HX, Liu JH, Shen ZY. Prognostic significance of GSTP1, XRCC1 and XRCC3 polymorphisms in non-small cell lung cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4413-4416 [PMID: 23167352 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.9.4413]
- 7 Li CG, Zhao ZM, Hu MG, Liu R. Predictive role of glutathione-S-transferase gene polymorphisms in risk and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3247-3252 [PMID: 22994742 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.7.3247]
- 8 García-González MA, Quintero E, Bujanda L, Nicolás D, Benito R, Strunk M, Santolaria S, Sopena F, Badía M, Hijona E, Pérez-Aísa MA, Méndez-Sánchez IM, Thomson C, Carrera P, Piazuelo E, Jiménez P, Espinel J, Campo R, Manzano M, Geijo F, Pellisé M, González-Huix F, Espinós J, Titó L, Zaballa M, Pazo R, Lanás A. Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis* 2012; 27: 771-777 [PMID: 22952149 DOI: 10.1093/mutage/ges049]
- 9 Jones BA, Christensen AR, Wise JP, Yu H. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in African-American and white colorectal cancer patients. *Cancer Epidemiol* 2009; 33: 249-256 [PMID: 19748847 DOI: 10.1016/j.canep.2009.08.004]
- 10 Zuccotti P, Colombrita C, Moncini S, Barbieri A, Lunghi M, Gelfi C, De Palma S, Nicolin A, Ratti A, Venturin M, Riva P. hnRNPA2/B1 and nELAV proteins bind to a specific U-rich element in CDK5R1 3'-UTR and oppositely regulate its expression. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1839: 506-516 [PMID: 24792867 DOI: 10.1016/j.bbagr.2014.04.018]
- 11 Shorter J, Taylor JP. Disease mutations in the prion-like domains of hnRNPA1 and hnRNPA2/B1 introduce potent steric zippers that drive excess RNP granule assembly. *Rare Dis* 2013; 1: e25200 [PMID: 25002999 DOI: 10.4161/rdis.25200]
- 12 Du YJ, Hou YL, Hou WR. Nucleotide sequences of an important functional gene hnRNPA2/B1 from Ailuropoda melanoleuca and Ursus thibetanus mupinensis and its potential value in phylogenetic study. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2014; 33: 18-30 [PMID: 24588753 DOI: 10.1080/15257770.2013.857028]
- 13 Hu J, Chen Z, Xia D, Wu J, Xu H, Ye ZQ. Promoter-associated small double-stranded RNA interacts with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 to induce transcriptional activation. *Biochem J* 2012; 447: 407-416 [PMID: 23035981 DOI: 10.1042/BJ20120256]
- 14 Wang G, Xiao Q, Luo Z, Ye S, Xu Q. Functional impact of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in smooth muscle differentiation from stem cells and embryonic arteriogenesis. *J Biol Chem* 2012; 287: 2896-2906 [PMID: 22144681 DOI: 10.1074/jbc.M111.297028]
- 15 Torosyan Y, Dobi A, Glasman M, Mezhevaya K, Naga S, Huang W, Paweletz C, Leighton X, Pollard HB, Srivastava M. Role of multi-hnRNP nuclear complex in regulation of tumor suppressor ANXA7 in prostate cancer cells. *Oncogene* 2010; 29: 2457-2466 [PMID: 20190808 DOI: 10.1038/onc.2010.2]
- 16 Zech VF, Dlska M, Tzankov A, Hilbe W. Prognostic and diagnostic relevance of hnRNP A2/B1, hnRNP B1 and S100 A2 in non-small cell lung cancer. *Cancer Detect Prev* 2006; 30: 395-402 [PMID: 17067748]
- 17 韩军, 向靖, 陆友金. HnRNPA2/B1及p21WAF1蛋白在非小细胞肺癌中表达及意义. *临床肺科杂志* 2011; 16: 391-393
- 18 石园, 陈颖, 胡沁, 季春华, 侯英勇, 周杨, 宿杰阿克苏, 谭云山. 痰中检测核不均一核糖核蛋白A2/B1早期诊断肺癌的意义. *中国临床医学* 2011; 18: 142-144

同行评价
题目较准确反映了研究工作的科学问题和特定内容, 对食管癌分子标志物进行探索性研究。

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



早期胃癌原发病灶的CT特征及临床病理对照

任刚, 赵建溪, 蔡嵘, 戚庭月, 郭辰, 陈健, 李华莉, 汪登斌, 李文华, 吴湘如, 张文杰

背景资料
随着多排螺旋计算机断层扫描(multiphasic spiral computed tomography, MDCT)的广泛应用, 对胃癌的诊断及分期具有较大的优越性。然而, 目前应用计算机断层扫描(computed tomography, CT)对早期胃癌进行研究的报道不多见。MDCT具有卓越的空间分辨率及密度分辨力, 易于显示消化道壁增厚及其强化特征, 从而有助于提高病变的检出及早期诊断。

任刚, 赵建溪, 郭辰, 陈健, 李华莉, 汪登斌, 李文华, 上海交通大学医学院附属新华医院放射科 上海市 200092
蔡嵘, 上海交通大学医学院附属瑞金医院放疗科 上海市 200025
戚庭月, 江苏省扬州市第一人民医院超声科 江苏省扬州市 225012
吴湘如, 上海交通大学医学院附属新华医院病理科 上海市 200092
张文杰, 上海交通大学医学院附属新华医院普外科 上海市 200092
任刚, 副主任医师, 主要从事胃肿瘤的影像学及相关基础研究。上海交通大学医学院科研基金资助项目, No. 09XJ21013
上海市卫生局科研基金资助项目, Nos. 2010029, 2010057
上海市科学技术委员会科研基金资助项目, No. 124119a0300
上海市教育委员会科研基金资助项目, No. 12Y2034
江苏省科技计划基金资助项目, No. BL2014064
作者贡献分布: 任刚与赵建溪对本文贡献均等; 课题设计由任刚、赵建溪、蔡嵘及戚庭月共同完成; 数据收集由赵建溪、郭辰、陈健、李华莉、汪登斌、李文华、吴湘如及张文杰完成; 数据分析由任刚、赵建溪及蔡嵘完成; 论文写作由任刚与戚庭月完成。
通讯作者: 戚庭月, 副主任医师, 225012, 江苏省扬州市邗江中路368号, 江苏省扬州市第一人民医院超声科。qty4868@126.com
电话: 0514-82981199
收稿日期: 2014-09-23 修回日期: 2014-11-17
接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-08

Value of contrast-enhanced multiphasic spiral CT in detection of early gastric cancer and clinicopathologic features of early gastric cancer

Gang Ren, Jian-Xi Zhao, Rong Cai, Ting-Yue Qi, Chen Guo, Jian Chen, Hua-Li Li, Deng-Bin Wang, Wen-Hua Li, Xiang-Ru Wu, Wen-Jie Zhang

Gang Ren, Jian-Xi Zhao, Chen Guo, Jian Chen, Hua-Li Li, Deng-Bin Wang, Wen-Hua Li, Department of Radiology, Xinhua Hospital, Medical School, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China
Rong Cai, Department of Radiotherapy, Ruijin Hospital, Medical School, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China
Ting-Yue Qi, Department of Ultrasound, the First People's Hospital of Yangzhou, Yangzhou 225012, Jiangsu Province, China
Xiang-Ru Wu, Department of Pathology, Xinhua Hospital, Medical School, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China
Wen-Jie Zhang, Department of General Surgery, Xinhua Hospital, Medical School, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China
Supported by: Shanghai Jiaotong University Medical

School Fund for Scientific Research, No. 09XJ21013; Shanghai Health Bureau Fund for Scientific Research, Nos. 2010029 and 2010057; Shanghai Science and Technology Commission Fund for Scientific Research, No. 124119a0300; Shanghai Municipal Education Commission Fund, No. 12Y2034; and Special Clinical Medical Science and Technology Foundation of Jiangsu Provincial Science and Technology Agency, No. BL2014064
Correspondence to: Ting-Yue Qi, Associate Chief Physician, Department of Ultrasound, the First People's Hospital of Yangzhou, 368 Hanjiang Middle Road, Yangzhou 225012, Jiangsu Province, China. qty4868@126.com
Received: 2014-09-23 Revised: 2014-11-17
Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To assess the value of contrast enhanced multiphasic spiral computed tomography (MDCT) in the detection of early gastric cancer and the clinicopathologic features of early gastric cancer.

METHODS: One hundred and four patients who underwent MDCT examination and were pathologically confirmed with early gastric cancer were included in the study. The thickness of the mucosa of the gastric wall, its changes in enhanced CT values in three enhancement phases, and clinicopathologic features of early gastric cancer were analyzed.

RESULTS: There were statistically significant differences in pN and pTNM stages between T1a and T1b patients ($P = 0.0080$; $P = 0.0175$), although no significant differences were found in sex, age, tumor location, tumor size, gastric operation type, number of retrieved lymph nodes, morphological classification, histological type, lymphatic invasion, venous invasion or nervous invasion ($P > 0.05$). All the patients showed thickening of the stomach wall to different degrees. The thickness of the gastric mucosa ($4.37 \text{ mm} \pm 0.91 \text{ mm}$) in early gastric cancer patients was greater than that ($2.62 \text{ mm} \pm 0.44 \text{ mm}$) in the control group ($t = 14.65$, $P < 0.0001$). The gastric mucosa in primary lesions in the arterial phase showed line like enhancement in the arterial phase (average ΔCT value = 26 Hu),

同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

and persistent enhancement in the venous phase (CT value was 27 Hu higher than that in arterial the phase). All cases showed a slightly lower degree of lesion enhancement in the equilibrium phase. There were statistically significant differences in the changes of CT values between early gastric cancer patients and normal controls in the arterial, portal venous and equilibrium phases ($t = 3.44$, $P = 0.0008$; $t = 11.55$, $P < 0.0001$; $t = 7.67$, $P < 0.0001$).

CONCLUSION: MDCT can provide useful information to improve the diagnosis of early gastric cancer. There are significant differences in pN and pTNM stages between T1a and T1b patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Early gastric cancer; Computed tomography; Clinicopathologic features

Ren G, Zhao JX, Cai R, Qi TY, Guo C, Chen J, Li HL, Wang DB, Li WH, Wu XR, Zhang WJ. Value of contrast-enhanced multiphasic spiral CT in detection of early gastric cancer and clinicopathologic features of early gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 110-115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.110>

摘要

目的: 探讨早期胃癌原发病灶的计算机断层扫描(computed tomography, CT)特征及临床病理特征。

方法: 回顾性分析104例经病理证实为早期胃癌患者的胃壁黏膜厚度及其增强各期 Δ CT值的变化, 并行单因素分析黏膜内癌(T1a)和黏膜下癌(T1b)患者的临床病理特征。

结果: 黏膜内癌(T1a)和黏膜下癌(T1b)两组患者在pN分期和pTNM分期上存在统计学意义上的差异($P = 0.0080$; $P = 0.0175$), 而在诸如年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤最大径、胃切除类型、切除淋巴结数量、大体分型、肿瘤分化、淋巴管浸润、静脉浸润、神经浸润等临床病理特征上, 两组患者没有显著性差异($P > 0.05$)。104例早期胃癌均显示胃壁有不同程度的增厚。胃癌病变处黏膜厚度($4.37 \text{ mm} \pm 0.91 \text{ mm}$)较正常组黏膜厚度($2.62 \text{ mm} \pm 0.44 \text{ mm}$)明显增厚($t = 14.65$, $P < 0.0001$)。增强后动脉期原发病灶处胃壁黏膜线样强化, Δ CT平均值为26 Hu, 静脉期病灶呈持续

性强化, 强化CT值比动脉期高27 Hu, 平衡期所有病例病变强化程度略有下降。早期胃癌与正常对照组间动脉期、门脉期及平衡期 Δ CT值比较差异均有统计学意义($t = 3.44$, $P = 0.0008$; $t = 11.55$, $P < 0.0001$; $t = 7.67$, $P < 0.0001$)。

结论: 螺旋CT增强扫描对早期胃癌诊断具有重要的临床价值。黏膜内癌(T1a)和黏膜下癌(T1b)患者在pN分期和pTNM分期上存在明显差异。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 早期胃癌; 计算机断层扫描; 临床病理特征

核心提示: 螺旋计算机断层扫描(computed tomography)增强扫描对早期胃癌诊断具有重要的临床价值。黏膜内癌(T1a)和黏膜下癌(T1b)患者在pN分期和pTNM分期上存在明显差异。

任刚, 赵建溪, 蔡嵘, 戚庭月, 郭辰, 陈健, 李华莉, 汪登斌, 李文华, 吴湘如, 张文杰. 早期胃癌原发病灶的CT特征及临床病理对照. *世界华人消化杂志* 2015; 23(1): 110-115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/110.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.110>

0 引言

胃癌是胃肠道最常见的恶性肿瘤之一, 在我国的发病率及死亡率也是一直居高不下。胃癌的诊断以往主要依靠上消化道造影及内窥镜检查, 但这两种方法在诊断肿瘤的分期、制定治疗方案及判断预后都存在不足。随着多排螺旋计算机断层扫描(multiphasic spiral computed tomography, MDCT)的广泛应用, 对胃癌的诊断及分期具有较大的优越性。然而, 目前应用计算机断层扫描(computed tomography, CT)对早期胃癌进行研究的报道不多见。MDCT具有卓越的空间分辨率及密度分辨力, 易于显示消化系壁增厚及其强化特征, 从而有助于提高病变的检出及早期诊断。本文通过回顾性分析早期胃癌的CT表现及其临床病理资料, 探讨MDCT增强扫描对早期胃癌的诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集上海交通大学医学院附属新华医院和瑞金医院2004-10/2012-05行MDCT增强检查并经病理证实的104例早期胃癌患者完整资料。所有患者行根治性手术治疗。入组条件: (1)

研发前沿

CT是目前临床应用最为广泛的胃肠道肿瘤影像诊断手段, MDCT的发展为胃肠道肿瘤诊断提供了更为方便、准确的方法, 动态增强或螺旋多期扫描可以观察病变的早期强化和/或门脉期、平衡期的延迟强化, 有助于早期发现病变。

相关报道

研究表明以下CT征象可提示早期胃癌的可能: (1)胃壁显示为多层结构时, 黏膜层增厚, 并有明显强化, 病变下可见条状低密度带; (2)胃壁呈单层结构时, 仅见明显强化而无胃壁增厚。

创新点
本组早期胃癌患者胃壁均有不同程度和不规则的增厚,黏膜层表面凹凸不平。胃癌病变处黏膜厚度较正常组黏膜厚度明显增厚。早期胃癌组与正常对照组间动脉期、门脉期及平衡期 Δ CT值比较差异均有统计学意义,表明早期胃癌已存在微血管改变及不成熟的管壁结构。

胃镜活检病理确诊为早期胃癌;(2)胃癌患者一般情况能耐受胃癌根治术;(3)年龄 ≤ 85 岁;(4)体检颈部浅表淋巴结无转移,无大量腹水;(5)术前CT除外肺、肝等远处转移;(6)患者入组2 wk内不存在大出血,胃穿孔,梗阻等急诊手术指征;(7)患者依从性好;(8)初次诊断,未接受治疗。排除标准:(1)对654-2和/或碘剂过敏、禁忌的患者(比如青光眼、前列腺肥大);(2)严重心、肝、肾功能障碍者,以及甲状腺毒症者;(3)扫描参数下图像质量差,和/或胃充盈差无法清晰显示病灶;(4)残胃患者;(5)MDCT检查时间与手术时间间隔超过2 wk者。另外,设正常对照组胃30例。

1.2 方法

1.2.1 检查设备及扫描:新华医院和瑞金医院 Siemens Somatom Definition 64层双源CT、Philips 256层Brilliance iCT机、Philips 64层Brilliance CT机及相应的图像后处理工作站。患者于CT检查前一日晚餐后禁食。扫描前向患者及家属解释说明扫描时、扫描后注意事项,并进行呼吸屏气训练。检查前1-2 h患者口服水750 mL,检查前15 min再口服250 mL,并嘱患者饮水时尽量避免吞入空气。平扫后立即动态增强扫描,对比剂选用碘海醇或优维显(规格为350 mgI/mL或320 mgI/mL),采用LF双筒高压注射器经肘静脉团注对比剂,剂量100 mL/人,速率3.0 mL/s,动脉期、静脉期、平衡期延迟时间分别为28、60、120 s。扫描参数为120 kV,电流为自动毫安技术,范围为200-250 mAs,扫描层厚及间距均为5 mm容积扫描。FOV 35-40 cm,矩阵512 \times 512,旋转时间0.5 s/圈,螺距1.0,标准重建。为兼顾到胃部CT扫描中所需观察的不同密度组织,更好地显示病变及其内部结构,有利于快速筛选有病变的层面进行分析,选择窗宽为180-280 Hu,窗位为30-35 Hu。一次扫描屏气5-7 s。扫描范围:膈顶至髂嵴水平,疑大范围转移者扫描范围包括盆腔。对原始数据以1.0 mm层厚重建,即将所获得的容积扫描数据传输至工作站,利用同机配备的软件进行图像后处理。

1.2.2 早期胃癌诊断标准^[1]:早期胃癌指肿瘤组织浸润深度仅限于黏膜及黏膜下层,不管肿瘤大小、范围,也不管有无淋巴结转移。

1.2.3 正常对照组标准:正常患者定义为经胃镜确诊胃壁没有异常的患者,同时也排除其他疾

病引起的胃壁异常。

1.2.4 病理学标准:依照the Japanese Classification of Gastric Carcinoma^[2]标准,早期胃癌大体类型分为隆起型(type I or II a)、平坦型(II b)和凹陷型(II c or III)。组织学上,乳头状癌和管状腺癌统称为分化型癌,而低分化腺癌和印戒细胞癌统称为未分化型癌。

1.2.5 胃癌病变区 Δ CT值测算:测算CT增强扫描病变部位各期 Δ CT值:动脉值=动脉期CT值-平扫期CT值,门脉值=门脉期CT值-平扫期CT值,平衡值=平衡期CT值-平扫期CT值,以 Δ CT值反映病变CT值变化大小、病变的强化程度。

统计学处理 统计学数据运用SAS8.2统计软件进行统计学处理,采用 χ^2 、 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理特征 入组的104例早期胃癌患者中,男65例(62.5%),女39例(37.5%),年龄31-82岁,中位年龄59岁。临床症状多为上腹部不适及疼痛、黑便和体质量下降,病史3 d-2年不等。术后病理(图1)示黏膜内癌(T1a)66例,黏膜下癌(T1b)38例。88例(84.6%) I A期,10例(9.6%) I B期,4例(3.8%) II A期,2例(1.9%) II B期。本组胃上区癌(U)16例,胃中区癌(M)54例,胃下区癌(L)34例。组织病理类型:分化型50例,未分化型54例。本组行近端胃癌根治术10例,远端胃癌根治术93例,全胃切除1例。在所有104例患者中,隆起型16例(15.4%),平坦型13例(12.5%),凹陷型75例(72.1%)。组织学上,分化型癌50例,未分化型癌54例。104例患者于手术中共摘取淋巴结1819枚,其中经病理证实为淋巴结转移的为74枚(表1)。

单因素分析T1a和T1b患者临床病理特征,结果显示两组患者在pN分期和pTNM分期上差异有统计学意义($P = 0.0080$; $P = 0.0175$),而在诸如年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤最大径、胃切除类型、切除淋巴结数量、大体分型、肿瘤分化、淋巴管浸润、静脉浸润、神经浸润等临床病理特征上,两组患者差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。

2.2 肿瘤原发病灶的黏膜厚度 本组早期胃癌患者胃壁均有不同程度和不规则的增厚,黏膜层表面凹凸不平。胃癌病变处黏膜厚度(4.37 mm \pm

表 1 入组早期胃癌的临床病理特征 $n(\%)$

临床病理特征	黏膜内癌 (T1a)	黏膜下癌 (T1b)	P 值
年龄(岁)			0.6838
<60	32(61.54)	20(38.46)	
≥60	34(65.38)	18(34.62)	
性别			0.9163
男	41(63.08)	24(36.92)	
女	25(64.10)	14(35.90)	
肿瘤位置			0.9827
胃上部	10(62.50)	6(37.50)	
胃中部	34(62.96)	20(37.04)	
胃下部	22(64.71)	12(35.29)	
肿瘤最大径(cm)			0.1571
<2	34(57.63)	25(42.37)	
≥2	32(71.11)	13(28.89)	
胃切除类型			0.3773
近端胃大部切除术	6(60.00)	4(40.00)	
远端胃大部切除术	60(64.52)	33(35.48)	
全胃切除术	0(0.00)	1(100.00)	
切除淋巴结数量(枚)			0.0701
<15	22(52.38)	20(47.62)	
≥15	42(70.00)	18(30.00)	
大体分型			0.4741
隆起型	12(75.00)	4(25.00)	
平坦型	9(69.23)	4(30.77)	
凹陷型	45(60.00)	30(40.00)	
肿瘤分化			0.7658
分化型	31(62.00)	19(38.00)	
未分化型	35(64.81)	19(35.19)	
pN分期			0.0080
pN0	60(68.97)	27(31.03)	
pN1	3(27.27)	8(72.73)	
pN2	1(25.00)	3(75.00)	
pN3	2(100.00)	0(0.00)	
pTNM 分期			0.0175
I A	60(68.18)	28(31.82)	
I B	3(30.00)	7(70.00)	
II A	1(25.00)	3(75.00)	
II B	2(100.00)	0(0.00)	
淋巴管浸润			0.6232
+	1(33.33)	2(66.67)	
-	65(64.36)	36(35.64)	
静脉浸润			N
+	0(0.00)	0(0.00)	
-	66(63.46)	38(36.54)	
神经浸润			N
+	0(0.00)	0(0.00)	
-	66(63.46)	38(36.54)	

N: 无法计算。

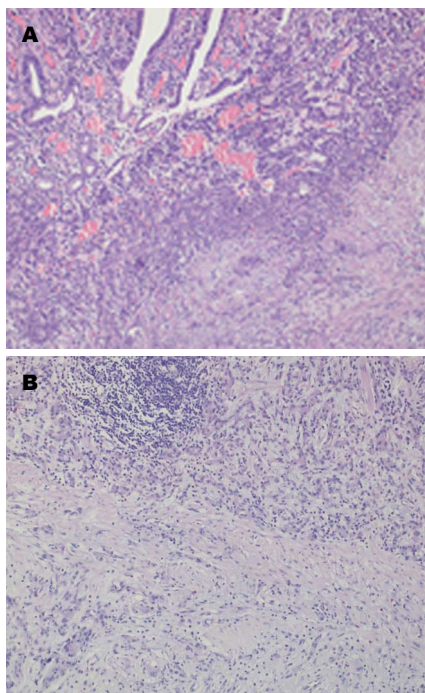


图 1 早期胃癌病理图像(HE × 100). A: T1a期胃癌, 病理显示癌细胞浸润至黏膜肌层; B: T1b期胃癌, 病理显示癌细胞浸润至黏膜下层近浅肌层。

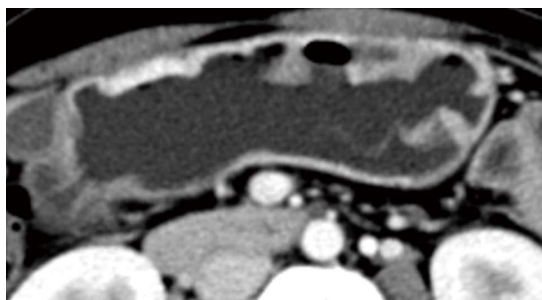


图 2 胃角大弯侧T1b期胃癌(患者, 女, 79岁). 计算机断层扫描增强扫描门脉期示黏膜层明显增厚并强化, 黏膜厚度为5.6 mm.

0.91 mm)较正常组黏膜厚度($2.62 \text{ mm} \pm 0.44 \text{ mm}$)明显增厚($P < 0.0001$)(图2)。

2.3 肿瘤原发病灶的CT增强表现 增强后动脉期原发病灶处胃壁黏膜线样强化, ΔCT 平均值为26 Hu, 静脉期病灶呈持续性强化, 强化CT值比动脉期高27 Hu, 平衡期所有病例病变强化程度略有下降。104例早期胃癌与正常对照组增强各期 ΔCT 值比较结果如表2。早期胃癌动脉期黏膜层明显强化, 以黏膜层增厚为主, 门脉期及平衡期持续强化(图3)。

3 讨论

早期胃癌患者临床症状多不明显, 可有不同程

应用要点

CT检查具有快速、薄层、大范围扫描等优点, 并能对原始数据进行薄层重建, 提高了图像的空间分辨率和时间分辨率, 能准确显示胃肠道壁的强化方式及黏膜层增厚的程度, 为早期胃癌的诊断提供依据。

名词解释

早期胃癌: 指肿瘤组织浸润深度仅限于黏膜及黏膜下层, 不管肿瘤大小、范围, 也不管有无淋巴结转移。

表 2 早期胃癌与正常对照组各期 Δ CT值比较 (mean \pm SD, Hu)

增强期相	T1期胃癌	正常组	t值	P值
n	104	30		
动脉期(Hu)	25.94 \pm 14.36	19.77 \pm 6.08	3.44	0.0008
门脉期(Hu)	52.14 \pm 16.52	26.67 \pm 8.20	11.55	<0.0001
n	62	30		
平衡期(Hu)	41.31 \pm 15.59	22.50 \pm 7.93	7.67	<0.0001

CT: 计算机断层扫描。

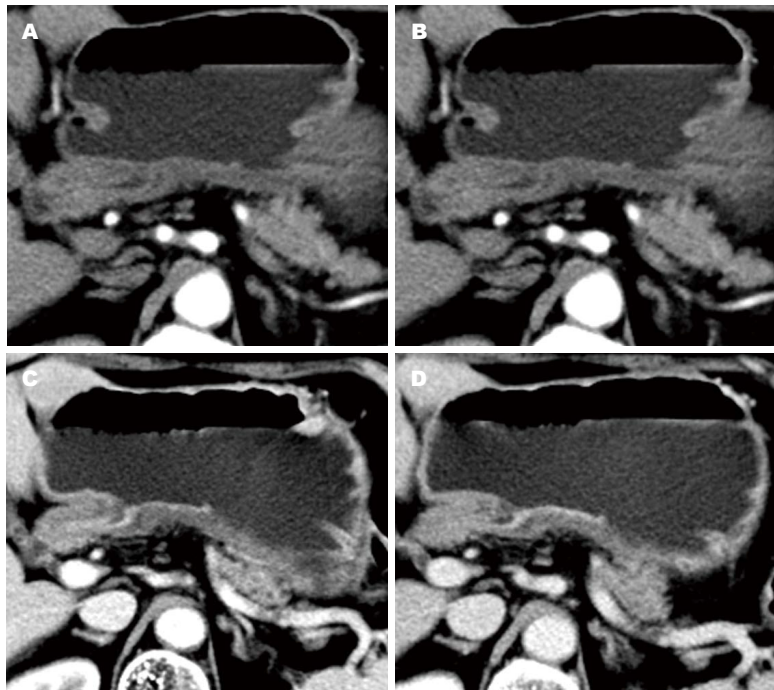


图 3 胃角小弯侧T1a期胃癌(患者, 女, 38岁). CT平扫显示胃角小弯侧胃壁内侧面毛糙(CT值为31 Hu); B: 动脉期显示胃壁不均匀强化, 黏膜线轻度强化(CT值为45 Hu); C: 门脉期显示胃壁分层, 黏膜线明显强化(CT值为96 Hu); D: 平衡期胃黏膜强化略减退(CT值为89 Hu). CT: 计算机断层扫描。

度的上腹部疼痛、纳差等症状, 往往不引起患者的注意而延误诊治。据统计我国早期胃癌占全部胃癌诊治的不足20%, 而日本达50%以上^[3]。早期胃癌预后相对较好, 5年生存率可达90%以上, 因此提高胃癌的早期发现、早期诊断、早期治疗是提高胃癌患者治疗疗效的关键^[4]。胃癌传统的诊断方法为胃肠钡餐及胃镜检查, 这两种方法只能显示胃黏膜表面病变, 对黏膜下、肌层、浆膜层及胃腔外病变不能反映, 不能判断癌肿胃壁浸润深度、邻近组织器官的受侵情况、周围淋巴结转移情况及远处脏器转移等^[5]。近年来新发展的各种影像手段如CT、磁共振成像、超声、正电子发射断层显像等均可用于胃癌的术前诊断, 但积累经验较多、应用较为广

泛的还是CT, 对胃癌分期的判断、淋巴结肿大及邻近脏器的观察具有极大的优越性。

CT是目前临床应用最为广泛的胃肠道肿瘤影像诊断手段^[6], 多层螺旋CT的发展为胃肠道肿瘤诊断提供了更为方便、准确的方法, 动态增强或螺旋多期扫描可以观察病变的早期强化和/或门脉期、平衡期的延迟强化, 有助于早期发现病变^[7]。虽然能谱CT在胃的癌前病变及早期胃癌诊断中可以提供定量分析^[8], CT仿真内镜成像技术对消化系肿瘤的诊断具有一定的应用价值^[9], 但特异性和准确性有待进一步提高, 目前尚无CT诊断消化系早期肿瘤尤其是癌前病变公认的标准。本研究应用MDCT增强扫描的方法对早期胃癌原发病灶进行分析, 旨在探讨

病变的影像学改变, 从而反映病变的生物学行为及其病理生理学特征, 为早期胃癌的诊断及其鉴别诊断提供依据。

正常胃壁边缘轮廓清晰、柔和, 体部稍薄, 仅胃窦部和胃食管交界区胃壁较厚^[10], 虽正常胃皱壁变化较多, 但厚度应不超过10 mm。早期胃癌可仅表现为局部胃壁黏膜层稍增厚、强化, 有时与正常胃黏膜难以鉴别。本组早期胃癌患者胃壁均有不同程度和不规则的增厚, 黏膜层表面凹凸不平。胃癌病变处黏膜厚度(4.37 mm ± 0.91 mm)较正常组黏膜厚度(2.62 mm ± 0.44 mm)明显增厚。研究^[11,12]表明以下CT征象可提示早期癌的可能: (1)胃壁显示为多层结构时, 黏膜层增厚, 并有明显强化, 病变下可见条状低密度带; (2)胃壁呈单层结构时, 仅见明显强化而无胃壁增厚。胃癌病灶血管的生成始终伴随着肿瘤的发生、发展和转移。肿瘤在CT扫描强化的基础主要是对比剂在瘤内微血管的充盈及不成熟的管壁结构。基于这一主要基础, 可以认为肿瘤的强化程度与瘤内微血管密度及结构呈正相关, 进而反映肿瘤的血管生成情况^[13-15]。本组资料显示, 早期胃癌组与正常对照组间动脉期、门脉期及平衡期△CT值比较差异均有统计学意义, 表明早期胃癌已存在微血管改变及不成熟的管壁结构。

CT检查具有快速、薄层、大范围扫描等优点, 并能对原始数据进行薄层重建, 提高了图像的空间分辨率和时间分辨率^[16], 能准确显示胃肠道壁的强化方式及黏膜层增厚的程度, 为早期胃癌的诊断提供依据。但本研究也存在一定的局限性, 胃肠道充盈后整体壁较薄, 病变区CT值和黏膜层厚度的测量可能存在一定偏差, 本研究通过放大原始图像进行测量, 以尽可能减少测量误差对研究结果的影响。

4 参考文献

1 Kajitani T. The general rules for the gastric cancer

study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Jpn J Surg* 1981; 11: 127-139 [PMID: 7300058 DOI: 10.1007/BF02468883]

2 Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcinoma - 2nd English Edition - *Gastric Cancer* 1998; 1: 10-24 [PMID: 11957040 DOI: 10.1007/PL00011681]

3 梁玉萍, 刘维花, 杨落落, 时阳, 孙逊, 孟祥伟. 早期胃癌的筛查. *中华内科杂志* 2014; 53: 325-326

4 李宇, 王浩, 王东升, 周岩冰, 牛兆建, 宁亮. 109例早期胃癌的预后分析. *中国肿瘤外科杂志* 2014; 6: 9-11, 24

5 郭涛, 陆星华, 杨爱明, 姚方, 周炜洵, 吴晰, 费贵军, 伍东升, 舒慧君. 增强放大内镜对早期胃癌的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2014; 31: 384-388

6 张晓鹏. CT与MRI在胃肠道肿瘤中的应用. *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 724-727

7 彭卫军, 秦新裕, 牛伟新. 浸润型胃癌的CT表现特点与临床应用价值. *临床放射学杂志* 2002; 21: 623-626

8 朱晓雷, 申玉兰, 林晓珠, 刘燕, 陈克敏. 宝石能谱CT在胃的癌前病变及早期胃癌诊断中的初步应用. *诊断学理论与实践* 2011; 10: 428-433

9 Sutherland T, Coyle E, Lee WK, Lui B. Diagnosing colorectal polyps and masses - the use of CT colonography. *Aust Fam Physician* 2011; 40: 117-120 [PMID: 21597512]

10 Pickhardt PJ, Asher DB. Wall thickening of the gastric antrum as a normal finding: multidetector CT with cadaveric comparison. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 973-979 [PMID: 14500212 DOI: 10.2214/ajr.181.4.1810973]

11 任刚, 陈克敏. 早期胃癌影像学研究进展. *实用放射学杂志* 2006; 22: 1145-1147

12 冯琦, 庄治国, 许建荣. 胃癌MSCT扫描中征象学改变的初步小结. *中国医学计算机成像杂志* 2007; 13: 93-96

13 张清波, 陈绪光, 焦俊. 胃癌螺旋CT增强扫描表现与肿瘤血管生成关系的初步研究. *中华放射学杂志* 2005; 39: 714-717

14 曲宁, 罗娅红. 多层螺旋CT在胃癌TNM分期中的诊断价值. *实用肿瘤学杂志* 2007; 21: 551-552, 554

15 Kitagawa M, Ichikawa D, Komatsu S, Okamoto K, Shiozaki A, Fujiwara H, Murayama Y, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ochiai T, Kokuba Y, Sonoyama T, Otsuji E. Evaluation of lymph node metastasis in patients with gastric cancer: a comparison of the directionality of lymph node metastasis and the total number of metastatic lymph nodes. *Surg Today* 2013; 43: 130-135 [PMID: 23232554 DOI: 10.1007/s00595-012-0454-8]

16 Filippone A, Ambrosini R, Fuschi M, Marinelli T, Genovesi D, Bonomo L. Preoperative T and N staging of colorectal cancer: accuracy of contrast-enhanced multi-detector row CT colonography--initial experience. *Radiology* 2004; 231: 83-90 [PMID: 14990815 DOI: 10.1148/radiol.2311021152]

同行评价

本文探讨了早期胃癌原发病灶的CT特征及临床病理特征, 得出了一些有意义的结果, 在CT无创诊断早期胃癌方面具有先进性, 并且为临床应用积累了经验, 有潜在的应用价值。

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



早期胃癌SDF-1 α 表达与淋巴结转移的关系

郎博娟, 胡余昌, 陈路, 唐立华, 马金阳

背景资料
明确早期胃癌(early gastric cancer, EGC)淋巴结转移的生物学特性,可能有助于识别高危的患者群,寻找淋巴结转移的生物标志物具有重要的预测意义。EGC患者基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)的表达与淋巴结转移间的关系有待进一步研究。

郎博娟, 胡余昌, 陈路, 唐立华, 三峡大学病理学研究所 宜昌市中心人民医院病理科 湖北省宜昌市 443003
马金阳, 宜昌市中心人民医院神经外科 湖北省宜昌市 443003
作者贡献分布: 本课题由郎博娟、马金阳及胡余昌合作设计; 整个实验及操作由郎博娟、唐立华及马金阳共同完成; 数据整理由郎博娟与陈路完成; 论文撰写由郎博娟完成。
通讯作者: 马金阳, 副主任医师, 443003, 湖北省宜昌市夷陵大道183号, 宜昌市中心人民医院神经外科. 514632999@qq.com
电话: 0717-6487612
收稿日期: 2014-10-23 修回日期: 2014-11-11
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-08

Relationship between expression of stromal cell-derived factor-1 α and lymph node metastasis in early gastric cancer

Bo-Juan Lang, Yu-Chang Hu, Lu Chen, Li-Hua Tang, Jin-Yang Ma

Bo-Juan Lang, Yu-Chang Hu, Lu Chen, Li-Hua Tang, Institute of Pathology, China Three Gorges University; Department of Pathology, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, Hubei Province, China
Jin-Yang Ma, Department of Neurosurgery, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, Hubei Province, China

Correspondence to: Jin-Yang Ma, Associate Chief Physician, Department of Neurosurgery, Yichang Central People's Hospital, 183 Yiling Avenue, Yichang 443003, Hubei Province, China. 514632999@qq.com

Received: 2014-10-23 Revised: 2014-11-11

Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the expression of stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α) and the risk of lymph node metastasis in early gastric cancer (EGC).

METHODS: We examined the expression of SDF-1 α in 168 archival tissue specimens of EGC by immunohistochemical method.

RESULTS: Of the included specimens, 72 (42.9%) and 96 (57.1%) were grouped into SDF-1 α -positive and SDF-1 α -negative groups, respectively. No significant differences existed with respect to age, gender, proportion of tumors > 20 mm in

size, macroscopic type, depth of invasion or histology between the SDF-1 α -positive and SDF-1 α -negative groups. However, the SDF-1 α -positive group was significantly correlated with lymphovascular invasion and lymph node metastasis. Univariate analysis indicated that lymphovascular invasion, undifferentiated histology and SDF-1 α positivity were risk factors significantly affecting lymph node metastasis in patients with EGC. Multivariate analysis showed that lymphovascular invasion [hazard ratio (HR) = 3.753, 95% confidence interval (CI): 1.674-8.415; P = 0.001], undifferentiated histology (HR = 2.038, 95%CI: 1.100-3.775; P = 0.024) and SDF-1 α positivity (HR = 3.631, 95%CI: 1.101-11.977; P = 0.034) were independent risk factors for lymph node metastasis in EGC.

CONCLUSION: Our findings suggest that SDF-1 α expression is closely related to the risk of lymph node metastasis in EGC, and SDF-1 α expression in tumor cells is a predictive marker of lymph node metastasis in EGC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Stromal cell-derived factor-1 α ; Early gastric cancer; Lymph node metastasis

Lang BJ, Hu YC, Chen L, Tang LH, Ma JY. Relationship between expression of stromal cell-derived factor-1 α and lymph node metastasis in early gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 116-120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.116>

摘要

目的: 探讨早期胃癌(early gastric cancer, EGC)组织中基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)的表达情况与EGC淋巴结转移危险性关系。

方法: 采用免疫组织化学方法检测168例EGC组织石蜡标本的SDF-1 α 的表达情况。

结果: EGC组织中SDF-1 α 阳性组和SDF-1 α 阴

同行评议者
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

性组分别为72例(42.9%)和96例(57.1%)。SDF-1 α 阳性组和阴性组在年龄、性别、肿瘤大小(>20 mm)、大体类型、浸润深度和组织分化程度之间差异无统计学意义。然而, SDF-1 α 阳性组与淋巴血管浸润和淋巴结转移之间存在显著相关性。单因素分析结果表明, 淋巴血管侵袭、未分化组织和SDF-1 α 阳性表达是影响EGC患者淋巴结转移的危险因素。多变量分析显示, 淋巴血管侵袭(HR = 3.753, 95%CI: 1.674-8.415, P = 0.001)、未分化组织(HR = 2.038, 95%CI: 1.100-3.775, P = 0.024)和SDF-1 α 阳性表达(HR = 3.631, 95%CI: 1.101-11.977, P = 0.034)是预测EGC淋巴结转移的独立危险因素。

结论: SDF-1 α 高表达与EGC淋巴结转移危险性密切相关, 肿瘤细胞表达SDF-1 α 是EGC淋巴结转移的一个预测指标。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 基质细胞衍生因子-1 α ; 早期胃癌; 淋巴结转移

核心提示: 基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)高表达与EGC淋巴结转移危险性密切相关, 肿瘤细胞表达SDF-1 α 是EGC淋巴结转移的一个预测指标, 可为EGC高危人群筛选和胃癌手术时机提供重要信息。

郎博娟, 胡余昌, 陈路, 唐立华, 马金阳. 早期胃癌SDF-1 α 表达与淋巴结转移的关系. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 116-120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.116>

0 引言

早期胃癌(early gastric cancer, EGC)是指癌组织浸润仅限于黏膜层或黏膜下层, 不论是否有淋巴结转移。由于大规模的筛查和诊断技术的进步使得EGC的发病率有所增加。虽然EGC手术治疗预后一般都是很好的, 并且5年生存率>90%, 但有淋巴结转移的患者较无淋巴结转移的患者有更低的存活率^[1]。准确预测淋巴结侵袭对选择胃癌恰当切除治疗时机是有重要意义的。EGC淋巴结阴性患者可选择微创内镜下黏膜切除术或内镜黏膜下剥离术治疗, 而EGC淋巴结阳性患者要行胃大部切除术并进行淋巴结清扫术^[2,3]。因此, 明确EGC淋巴结转移的生物学特性可能有助于识别高危的患者群, 并有助于为那些患者制定更合理的治

疗方案。有研究^[4]表明基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)在原发性胃癌各期中的差异表达与患者预后密切相关, SDF-1 α 可以作为一个生物标志物。本研究旨在探讨EGC患者SDF-1 α 表达与淋巴结转移之间的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 选取宜昌市中心人民医院2010-01-01/2014-01-31经手术治疗的EGC患者168例, 所有入选患者均为胃腺癌。所有患者对他们的治疗和后续研究都签了知情同意书。胃癌分期按2010年美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)发表的第七版《恶性肿瘤的TNM分期》为准。患者临床病例资料归纳情况详如表1。病理标本均按《中国胃癌诊治规范》进行处理。肿瘤大小、大体类型及浆膜受侵情况按术时绘图并记录, 所有手术切除标本经40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋后行4 μ m连续切片, 每例均行HE染色和免疫组织化学染色。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色检测: 采用ABC法染色, ABC试剂盒购自美国Abcam公司。组织切片经二甲苯脱蜡、酒精水化后, 浸入3%的双氧水中30 min, 以阻断内源性过氧化物酶的活性, 然后将玻片置入0.01 mol/L, pH 6.0的柠檬酸缓冲液中加热30 min, 以充分暴露抗原。滴加鼠抗人SDF-1 α 抗体(MAB350, USA), 4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 再滴加第二抗体, 室温下反应20 min, 过氧化物酶反应15 min。随后经二胺基联苯胺四盐酸盐显色5 min, 再经苏木素复染, 脱水、透明、封片。每次染色均以磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照; 并用已知阳性片作阳性对照。

1.2.2 结果判断: 所有的标本均由两位中级以上有经验的病理科医师进行双盲法阅片。阳性判断标准: 以腺细胞管腔表面和细胞质内呈棕黄色颗粒为准, 且其着色强度高于背景非特异性染色。若有0%-10%的肿瘤细胞表达SDF-1 α 则为阴性(-); 若有11%以上的肿瘤细胞表达SDF-1 α 则为阳性(+)^[4]。

统计学处理 应用SPSS16.0软件包进行分析, SDF-1 α 的表达和各临床病理特征等因素的差异比较采用 χ^2 检验。分析淋巴结转移危险因素采用逻辑回归分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

研究前沿
准确预测淋巴结侵袭和转移对胃癌治疗时机选择具有重要意义, 因此探索EGC淋巴结转移相关的因子是亟待研究的问题之一。

相关报道
相关研究提示SDF-1 α 在不同肿瘤旁组织和肿瘤组织中差异性表达是很清楚的, 而且SDF-1 α 在肿瘤增殖、进展、血管生成和转移中发挥着重要作用。有报道表明该趋化因子SDF-1 α 及其受体趋化因子受体4参与肿瘤进展和转移过程。

创新盘点

本研究探索了SDF-1 α 在EGC中的表达与淋巴结转移之间的关系,为预测淋巴结转移提供了一种新的方法。

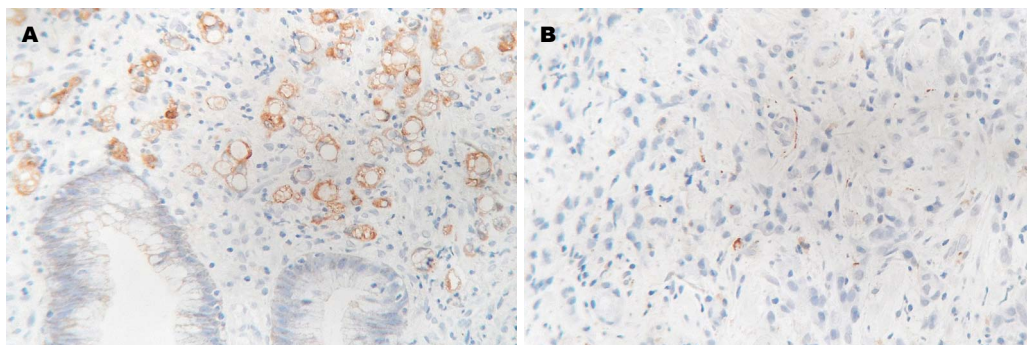


图1 免疫组织化学法检测SDF-1 α 的表达(DAB × 200). A: 胃癌组织中的阳性表达; B: 胃癌中的阴性表达. SDF-1 α : 基质细胞衍生因子-1 α .

表1 SDF-1 α 在胃癌组织中的表达与临床病理的关系

变量	n	SDF-1 α 表达		P值
		阳性	阴性	
年龄(岁)				0.149
<65	97	37	60	
≥65	71	35	36	
性别				0.303
男性	119	54	65	
女性	49	18	31	
肿瘤大小(mm)				0.547
<20	61	28	33	
≥20	107	44	63	
大体类型				0.205
隆起型	22	13	9	
平坦型	15	6	9	
凹陷型	115	44	71	
混合型	16	9	7	
浸润深度				0.418
黏膜层	11	6	5	
黏膜下层	157	66	91	
淋巴血管浸润				0.010
无	63	19	44	
有	105	53	52	
组织分化				0.527
分化型	98	44	54	
未分化型	70	28	42	
淋巴结转移				0.004
无	134	50	84	
有	34	22	12	

SDF-1 α : 基质细胞衍生因子-1 α .

2 结果

2.1 SDF-1 α 在EGC组织中的表达 SDF-1 α 主要表达于肿瘤细胞质和细胞膜(图1). SDF-1 α 表达阳性率为42.9%(72/168).

2.2 SDF-1 α 在EGC组织中的表达与临床病理的

关系 对168例EGC中SDF-1 α 表达和临床病理特征分析发现, SDF-1 α 的阳性表达与年龄、性别、肿瘤大小、大体类型、浸润深度和组织分化程度等差异无统计学意义($P>0.05$); 与淋巴血管侵袭($P=0.01$)和淋巴结转移($P=0.004$)等差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.3 SDF-1 α 在EGC中的表达与淋巴结转移之间的关系 为了评估可能会影响EGC淋巴结转移的各种临床病理因素的临床意义, 我们进行了单因素分析. 淋巴血管侵袭(HR = 3.604, 95%CI: 1.677-7.743, $P=0.001$)、未分化组织(HR = 2.258, 95%CI: 1.297-3.933, $P=0.004$)和SDF-1 α 阳性表达(HR = 2.023, 95%CI: 1.107-3.695, $P=0.022$)是影响EGC患者淋巴结转移的重要危险因素(表2); 多因素分析发现淋巴血管侵袭(HR = 3.753, 95%CI: 1.674-8.415, $P=0.001$)、未分化组织(HR = 2.038, 95%CI: 1.100-3.775, $P=0.024$)和SDF-1 α 阳性表达(HR = 3.631, 95%CI: 1.101-11.977, $P=0.034$)是预测EGC患者淋巴结转移的独立危险因素(表3).

3 讨论

SDF-1 α , 也被称为CXCL12, 是一个小的细胞因子类蛋白质, 主要是调节白细胞转运到某些器官并维持正常的免疫系统功能. 然而, 除了他在免疫系统的作用之外, SDF-1 α 在不同肿瘤患者正常和肿瘤组织中差异性表达是很清楚的, 而且SDF-1 α 在肿瘤增殖、进展、血管生成和转移中发挥着重要作用^[5]. 有报道表明该趋化因子SDF-1 α 及其受体趋化因子受体4[chemokine (C-X-C motif) receptor 4, CXCR4]参与肿瘤进展和转移过程^[6].

胃癌根治性手术后EGC预后良好. 淋巴结转移被认为是EGC一个重要的预后因素, 无淋

应用要点

临床实践中淋巴结转移被认为是EGC一个重要的预后因素, 检测肿瘤SDF-1 α 表达是预测EGC患者淋巴结转移的一个独立危险因素, 具有重要的预后意义。

表 2 早期胃癌淋巴结转移危险因素单因素分析

因素	危险比	95%置信区间	P值
年龄(>65岁)	2.678	0.820-8.744	0.103
性别	1.661	0.922-2.992	0.091
肿瘤大小(>20 mm)	1.360	0.460-3.991	0.604
大体类型(凹陷型)	1.120	0.383-3.201	0.805
浸润深度(黏膜下层)	1.410	0.502-3.973	0.502
淋巴血管侵袭(有)	3.604	1.677-7.743	0.001
组织分化(未分化)	2.258	1.297-3.933	0.004
SDF-1 α 表达(阳性)	2.023	1.107-3.695	0.022

SDF-1 α : 基质细胞衍生因子-1 α .

巴结转移的EGC患者5年生存率约95%, 而有淋巴结转移的患者5年生存率约83%^[7]. 因此, 已有许多研究关于确定预测EGC淋巴结转移的因子, 尤其是生物标志物. 本研究结果表明SDF-1 α 在肿瘤细胞中的表达是EGC患者淋巴结转移的一个独立的危险因素. 然而, 关于有哪些特征的EGC易于发生淋巴结转移仍未达成共识.

最近一些研究^[8,9]表明, SDF-1 α 表达与恶性神经胶质瘤、前列腺癌等多种肿瘤的进展和转移密切相关. 在胃癌中, 有研究报道说, SDF-1 α 的表达与淋巴结转移、浸润深度、淋巴管浸润、肿瘤大小及较高分期等有着重要的关系. 此外, SDF-1 α 阳性组比SDF-1 α 阴性组的术后结果要差, 两组比较差异有统计学意义, 提示SDF-1 α 是胃癌的一个独立预后因素^[10]. 还有研究^[11]发现, SDF-1 α 在肠型胃癌中的表达与淋巴管浸润、淋巴结转移和肝脏转移等有显著性相关. 这些研究结果让我们猜测SDF-1 α 是EGC一个预测淋巴结转移的指标.

在本研究中, 人们发现, EGC患者SDF-1 α 表达与淋巴管浸润和淋巴结转移有显著相关性, 而SDF-1 α 的表达与年龄、性别、肿瘤大小、大体类型、浸润深度或组织学类型没有相关性(表1). 单因素分析结果表明淋巴管浸润、未分化组织和SDF-1 α 表达是EGC患者淋巴结转移的危险因素(表2). 此外, 多因素分析明确表明SDF-1 α 的表达是淋巴结转移、淋巴管浸润或未分化组织独立危险因素. 这些结果表明, 肿瘤细胞SDF-1 α 表达是EGC患者一个有用的预测淋巴结转移的标志物.

SDF-1 α 能促进胃癌的进展, 包括淋巴结转移的机制仍不清楚. SDF-1 α 参与肿瘤进展过程的可能机制是以自分泌或旁分泌方式发挥作用.

表 3 早期胃癌淋巴结转移危险因素多因素分析

因素	危险比	95% 置信区间	P值
年龄(>65岁)	1.450	0.432-4.931	0.504
性别	1.413	0.411-4.792	0.601
肿瘤大小(>20 mm)	2.192	0.562-8.623	0.306
大体类型(凹陷型)	1.146	0.799-2.148	0.284
浸润深度(黏膜下层)	1.365	0.462-3.994	0.607
淋巴血管侵袭(有)	3.753	1.674-8.415	0.001
组织分化(未分化)	2.038	1.100-3.775	0.024
SDF-1 α 表达(阳性)	3.631	1.101-11.977	0.034

SDF-1 α : 基质细胞衍生因子-1 α .

同样在脑肿瘤细胞中SDF-1 α 的表达及其趋化因子受体的特征是以自分泌或旁分泌机制来刺激肿瘤细胞, 从而导致更具侵袭潜能^[12]. 随后, 有报道显示人多形性胶质母细胞瘤细胞系和原代培养细胞中SDF-1 α 自分泌或旁分泌具有促有丝分裂活动特性^[13]. Guleng等^[14]报道, SDF-1 α 的过度表达能促进人类垂体肿瘤的自分泌或旁分泌细胞增殖. 另一种可能的机制是, SDF-1 α 通过肿瘤微环境吸引内皮细胞而促进肿瘤血管生成. 脑肿瘤细胞病理性分泌的SDF-1 α 增加了循环内皮祖细胞的生成^[15]. 此外, 抑制SDF-1 α /CXCR4受体通路而抑制肿瘤血管生成则可以抑制胃肠肿瘤的生长^[16].

总之, 本研究表明, 肿瘤SDF-1 α 表达是预测EGC患者淋巴结转移的一个独立危险因素, 也表明SDF-1 α 是一个非常有价值的预测指标. 需要进一步研究阐明肿瘤细胞分泌SDF-1 α 与胃癌致病机制之间的关系.

4 参考文献

- Folli S, Morgagni P, Roviello F, De Manzoni G, Marrelli D, Saragoni L, Di Leo A, Gaudio M, Nanni O, Carli A, Cordiano C, Dell'Amore D, Vio A. Risk factors for lymph node metastases and their prognostic significance in early gastric cancer (EGC) for the Italian Research Group for Gastric Cancer (IRGGC). *Jpn J Clin Oncol* 2001; 31: 495-499 [PMID: 11696619 DOI: 10.1093/jjco/hye107]
- Kwee RM, Kwee TC. Predicting lymph node status in early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2008; 11: 134-148 [PMID: 18825308 DOI: 10.1007/s10120-008-0476-5]
- Brennan MF. Current status of surgery for gastric cancer: a review. *Gastric Cancer* 2005; 8: 64-70 [PMID: 15864711 DOI: 10.1007/s10120-005-0319-6]
- Iwasa S, Yanagawa T, Fan J, Katoh R. Expression of CXCR4 and its ligand SDF-1 in intestinal-type gastric cancer is associated with lymph node and liver metastasis. *Anticancer Res* 2009; 29: 4751-4758

名词解释

肿瘤高危人群: 主要是指有恶性肿瘤家族史、或有不良生活习惯、或职业因素长期接触有毒有害物质、或生存环境遭污染、或遭受特殊微生物感染的人群.

同行评价

本文对EGC患者中SDF-1 α 表达与淋巴结转移相关性进行了研究,表明SDF-1 α 表达是预测EGC患者淋巴结转移的一个独立危险因素,具有一定的临床应用价值,值得临床医生阅读。

- [PMID: 20032431]
- 5 Döring Y, Pawig L, Weber C, Noels H. The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease. *Front Physiol* 2014; 5: 212 [PMID: 24966838 DOI: 10.3389/fphys.2014.00212]
 - 6 Boudot A, Kerdivel G, Lecomte S, Flouriot G, Desille M, Godey F, Leveque J, Tas P, Le Dréan Y, Pakdel F. COUP-TFI modifies CXCL12 and CXCR4 expression by activating EGF signaling and stimulates breast cancer cell migration. *BMC Cancer* 2014; 14: 407 [PMID: 24906407 DOI: 10.1186/1471-2407-14-407]
 - 7 Li C, Kim S, Lai JF, Oh SJ, Hyung WJ, Choi WH, Choi SH, Zhu ZG, Noh SH. Risk factors for lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 764-769 [PMID: 18043971 DOI: 10.1245/s10434-007-9707-y]
 - 8 Qin L, Gong C, Chen AM, Guo FJ, Xu F, Ren Y, Liao H. Peroxisome proliferator activated receptor γ agonist rosiglitazone inhibits migration and invasion of prostate cancer cells through inhibition of the CXCR4/CXCL12 axis. *Mol Med Rep* 2014; 10: 695-700 [PMID: 24842333]
 - 9 Würth R, Bajetto A, Harrison JK, Barbieri F, Florio T. CXCL12 modulation of CXCR4 and CXCR7 activity in human glioblastoma stem-like cells and regulation of the tumor microenvironment. *Front Cell Neurosci* 2014; 8: 144 [PMID: 24904289 DOI: 10.3389/fncel.2014.00144]
 - 10 Razmkhah M, Ghaderi A. SDF-1 α G801A polymorphism in Southern Iranian patients with colorectal and gastric cancers. *Indian J Gastroenterol* 2013; 32: 28-31 [PMID: 23242967 DOI: 10.1007/s12664-012-0283-0]
 - 11 Song IC, Liang ZL, Lee JC, Huang SM, Kim HY, Oh YS, Yun HJ, Sul JY, Jo DY, Kim S, Kim JM, Lee HJ. Expression of stromal cell-derived factor-1 α is an independent risk factor for lymph node metastasis in early gastric cancer. *Oncol Lett* 2011; 2: 1197-1202 [PMID: 22848288]
 - 12 Barbieri F, Bajetto A, Stumm R, Pattarozzi A, Porcile C, Zona G, Dorcaratto A, Ravetti JL, Minuto F, Spaziante R, Schettini G, Ferone D, Florio T. Overexpression of stromal cell-derived factor 1 and its receptor CXCR4 induces autocrine/paracrine cell proliferation in human pituitary adenomas. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5022-5032 [PMID: 18698020 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4717]
 - 13 Bajetto A, Barbieri F, Dorcaratto A, Barbero S, Daga A, Porcile C, Ravetti JL, Zona G, Spaziante R, Corte G, Schettini G, Florio T. Expression of CXC chemokine receptors 1-5 and their ligands in human glioma tissues: role of CXCR4 and SDF1 in glioma cell proliferation and migration. *Neurochem Int* 2006; 49: 423-432 [PMID: 16621164 DOI: 10.1016/j.neuint.2006.03.003]
 - 14 Guleng B, Tateishi K, Ohta M, Kanai F, Jazag A, Ijichi H, Tanaka Y, Washida M, Morikane K, Fukushima Y, Yamori T, Tsuruo T, Kawabe T, Miyagishi M, Taira K, Sata M, Omata M. Blockade of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis attenuates in vivo tumor growth by inhibiting angiogenesis in a vascular endothelial growth factor-independent manner. *Cancer Res* 2005; 65: 5864-5871 [PMID: 15994964 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3833]
 - 15 Li M, Ransohoff RM. The roles of chemokine CXCL12 in embryonic and brain tumor angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 2009; 19: 111-115 [PMID: 19038344]
 - 16 Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 2005; 121: 335-348 [PMID: 15882617 DOI: 10.1016/j.cell.2005.02.034]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



儿童先天性幽门肥厚狭窄上消化道造影的诊断价值

周斌, 黄穗, 陈瑜, 郭严延, 刘新献, 范晶

周斌, 黄穗, 陈瑜, 郭严延, 刘新献, 范晶, 武汉市妇女儿童医疗保健中心放射科 湖北省武汉市 430016

周斌, 主任医师, 主要从事放射诊断与介入的研究.

作者贡献分布: 此文主要由周斌完成; 此课题由周斌与黄穗设计; 研究过程由周斌、黄穗、刘新献、陈瑜、郭严延及范晶操作完成; 数据分析由周斌完成; 本文写作由周斌完成.

通讯作者: 黄穗, 主任医师, 430016, 湖北省武汉市江岸区香港路100号, 武汉市妇女儿童医疗保健中心放射科.

sunshine1122@sina.com

电话: 027-82433310

收稿日期: 2014-10-13 修回日期: 2014-10-30

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Diagnostic value of upper digestive tract radiography in children with congenital hypertrophic pyloric stenosis

Bin Zhou, Sui Huang, Yu Chen, Yan-Yan Guo, Xin-Xian Liu, Jing Fan

Bin Zhou, Sui Huang, Yu Chen, Yan-Yan Guo, Xin-Xian Liu, Jing Fan, Department of Radiology, Wuhan Medical Care Center for Women and Children, Wuhan 430016, Hubei Province, China

Correspondence to: Sui Huang, Chief Physician, Department of Radiology, Wuhan Medical Care Center for Women and Children, 100 Hongkong Road, Jiang'an District, Wuhan 430016, Hubei Province, China. sunshine1122@sina.com

Received: 2014-10-13 Revised: 2014-10-30

Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of upper digestive tract radiography in children with congenital hypertrophic pyloric stenosis.

METHODS: Clinical data for 88 children with congenital hypertrophic pyloric stenosis treated at Wuhan Medical Care Center for Women and Children Hospital from January 2012 to January 2014 were retrospectively analyzed. Upper digestive tract radiography was performed preoperatively in all the patients.

RESULTS: Of the 88 children, 40 (45.45%) had shoulder-like symptoms, 16 (18.18%) had nipple sign, 40 (45.45%) had line-like sign, 20 (22.72%) had pileus sign, 29 (32.95%) had beak sign, and

30 (34.09%) had tram line sign. Upper digestive tract radiography showed that pyloric duct diameter was $15.1 \text{ mm} \pm 0.80 \text{ mm}$, pyloric duct length $22.1 \text{ mm} \pm 2.04 \text{ mm}$, and pyloric muscle thickness $5.2 \text{ mm} \pm 0.61 \text{ mm}$. Intraoperatively measured pyloric tube measured pyloric duct diameter was $15.5 \text{ mm} \pm 0.71 \text{ mm}$, pyloric duct length $23.1 \text{ mm} \pm 2.15 \text{ mm}$, and pyloric muscle thickness $4.7 \text{ mm} \pm 0.69 \text{ mm}$, which were significantly different from those measured by radiography ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Upper gastrointestinal tract radiography has very important diagnostic significance in children with congenital hypertrophic pyloric stenosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children; Congenital hypertrophic pyloric stenosis; Upper gastrointestinal radiography

Zhou B, Huang S, Chen Y, Guo YY, Liu XX, Fan J. Diagnostic value of upper digestive tract radiography in children with congenital hypertrophic pyloric stenosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 121-124 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.121>

摘要

目的: 探讨儿童先天性幽门肥厚狭窄的上消化道造影诊断.

方法: 采取回顾性方法对武汉市妇女儿童医疗保健中心2012-01/2014-01接收治疗的88例先天性幽门肥厚狭窄患儿的临床资料进行分析, 所有患儿术前均进行上消化道造影检查, 分析88例患儿的上消化道造影的影像学表现.

结果: 造影检查结果显示, 88例患儿中有40(45.45%)例患儿为肩样征、16(18.18%)例患儿为乳头征、40(45.45%)例患儿为线样征、20(22.72%)例患儿为菌伞征、29(32.95%)例患儿为鸟嘴征、30(34.09%)例患儿为双轨征. 造

背景资料

儿童先天性幽门肥厚狭窄的诊断对患儿的健康具有十分重要的意义. 如何准确、安全的确诊儿童先天性幽门肥厚狭窄是临床研究的重点.

同行评议者

王承党, 教授, 福建医科大学附属医院第一医院消化内科

研究前沿

本研究对消化道造影检查对儿童先天性幽门肥厚狭窄的诊断进行了分析,从而为该病的诊断提供参考。

影检查结果显示患儿幽门管直径为 $15.1\text{ mm} \pm 0.80\text{ mm}$,幽门管长度为 $22.1\text{ mm} \pm 2.04\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $5.2\text{ mm} \pm 0.61\text{ mm}$ 。手术测值显示患儿幽门管直径为 $15.5\text{ mm} \pm 0.71\text{ mm}$,幽门管长度为 $23.1\text{ mm} \pm 2.15\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $4.7\text{ mm} \pm 0.69\text{ mm}$ 。比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:上消化道造影手段对儿童先天性幽门肥厚狭窄有十分重要的临床意义,其为较可靠的影像学检查方法。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 儿童;先天性幽门肥厚狭窄;上消化道造影诊断

核心提示:上消化道造影检查诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄效果令人较为满意,准确率较高,对患儿的危害较小,值得临床中应用。

周斌, 黄穗, 陈瑜, 郭严延, 刘新献, 范晶. 儿童先天性幽门肥厚狭窄上消化道造影的诊断价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 121-124 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.121>

0 引言

先天性幽门肥厚狭窄(congenital hypertrophic pyloric stenosis, CHPS)是造成儿童呕吐的主要原因之一^[1]。该病是由于患儿幽门环状肌肥厚导致管腔狭窄,从而使摄入食物通过困难而发生梗阻所引起的^[2]。目前临床上诊断先天性幽门肥厚狭窄的主要方法有超声检查、X线消化道造影^[3]。有研究^[4]指出,X线消化道造影为诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄的主要方法,该方法准确率高,但是对患儿有较多的射线辐射。超声检查虽然未被更多的临床研究应用,但是其诊断符合率高,对患儿也无射线危害^[5]。因此本文对儿童先天性幽门肥厚狭窄的上消化道造影诊断进行了研究,以期寻找一种最准确、安全的检测方法。现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 采取回顾性方法对武汉市妇女儿童医疗保健中心2012-01/2014-01接收治疗的88例先天性幽门肥厚狭窄患儿的临床资料进行分析。其中男性51例,女性37例。年龄为16-52 d,平均年龄为 $27.3\text{ d} \pm 2.1\text{ d}$ 。所有患儿出生2 wk后均未表现出显著症状,出生后2-3 wk均出现不同程度

的喂奶后呕吐,且逐渐加重为非胆汁性呕吐。其中35例患儿出现右上腹可扪和包块,23例患儿出现显著的营养不良。

1.2 方法

1.2.1 上消化道造影检查:使用GMM数字胃肠机对患儿进行上消化道造影检查。具体如下:造影前3 h患儿应当禁水、禁乳,给予患儿口服加糖碘水。患儿采取右前卧位后即可得到清晰的幽门影像^[6]。

1.2.2 观察指标:分析88例患儿的上消化道造影的影像学表现,包括幽门管壁厚度、管径、长度、直径等。

统计学处理 应用SPSS19.0软件对数据结果进行统计学分析,计数资料以频数表示,比较采用 χ^2 检验。计量结果用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 造影检查结果 造影检查结果显示,88例患儿中有40(45.45%)例患儿为肩样征,16(18.18%)例患儿为乳头征,40(45.45%)例患儿为线样征,20(22.72%)例患儿为菌伞征,29(32.95%)例患儿为鸟嘴征,30(34.09%)例患儿为双轨征(表1)。

2.2 幽门狭窄患儿上消化道造影测值与手术测值 造影检查结果显示,患儿幽门管直径为 $15.1\text{ mm} \pm 0.80\text{ mm}$,幽门管长度为 $22.1\text{ mm} \pm 2.04\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $5.2\text{ mm} \pm 0.61\text{ mm}$ 。手术测值显示患儿幽门管直径为 $15.5\text{ mm} \pm 0.71\text{ mm}$,幽门管长度为 $23.1\text{ mm} \pm 2.15\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $4.7\text{ mm} \pm 0.69\text{ mm}$ 。差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

先天性幽门肥厚狭窄是常见的婴幼儿期上消化道先天畸形,其主要病理改变是由于幽门环肌肥厚、增生导致的幽门管腔狭窄而引起的幽门梗阻^[7]。患儿出生后早期无显著症状,出生后2-3 wk开始出现喂奶后呕吐,并且逐渐加重,多数为喷射性呕吐,有些患儿出现右上腹多可扪和橄榄形、光滑较硬的肿块^[8]。若患儿得不到及时诊断和治疗,会出现营养不良等情况,严重者会危及生命^[9]。且该病的发病机制尚未明确,有研究指出其发病机制与多种因素有关,其中包括家族史等,因此更应该对患儿进行早诊断、早治疗^[10]。临床上常用的诊断方法为上消化道造影和超声检查。本文对儿童先天

相关报道

临床中对消化道造影对儿童先天性幽门肥厚狭窄的诊断已经有部分的报道,认为X线消化道造影为诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄的主要方法,该方法准确率高,但是对患儿有较多的射线辐射。而本研究也对该种方法的确诊情况进行了分析。

表 1 88例患儿造影检查结果

分类	n	所占百分比(%)
肩样征	40	45.45
乳头征	16	18.18
线样征	40	45.45
菌伞征	20	22.72
鸟嘴征	29	32.95
双轨征	30	34.09

性幽门肥厚狭窄的上消化道造影诊断进行了研究。

儿童先天性幽门肥厚狭窄的主要改变为幽门肌层是正常人的3倍^[11]。肥厚的幽门肌层对幽门管进行压迫,使幽门管变得细长,同时肥厚的肌层中血管受到压迫后会导致患者幽门部位色泽苍白,在造影下于幽门管横切面上可以看到肌层使幽门管黏膜皱缩,从而对管腔产生挤压使其缩小^[12]。本文造影检查结果显示,88例患儿中有40(45.45%)例患儿为肩样征,16(18.18%)例患儿为乳头征,40(45.45%)例患儿为线样征,20(22.72%)例患儿为菌伞征,29(32.95%)例患儿为鸟嘴征,30(34.09%)例患儿为双轨征。同时上消化道造影结果显示患儿幽门管直径为 $15.1\text{ mm} \pm 0.80\text{ mm}$,幽门管长度为 $22.1\text{ mm} \pm 2.04\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $5.2\text{ mm} \pm 0.61\text{ mm}$ 。手术测值显示患儿幽门管直径为 $15.5\text{ mm} \pm 0.71\text{ mm}$,幽门管长度为 $23.1\text{ mm} \pm 2.15\text{ mm}$,幽门肌厚度为 $4.7\text{ mm} \pm 0.69\text{ mm}$ 。比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。这与费瑞林^[13]的研究结果相同。本文中使用的GMM数字胃肠机对患者进行消化道造影检查的操作性强,且简单易行。图像能够清晰看到幽门肌层增生和幽门管断面。能够清晰的测量患者幽门肌层的厚度、长度,测量结果不会受到幽门痉挛的影响^[14]。因此本文发现上消化道造影诊断儿童先天性幽门狭窄的效果显著优于X线检查和超声检测,可以作为诊断中的常规检查手段。临床上使用的上消化道造影检查儿童先天性幽门肥厚狭窄的准确率较高,使用的时间较长,而且能够准确的表现出患者幽门肥厚的形状^[15]。同时先天性幽门肥厚狭窄与幽门痉挛和新生儿胃扭转等有别。幽门痉挛为间歇性的非喷射状呕吐,呕吐量较少,不会对患儿的营养状况产生影响,体检时无肿块,服用解痉药方可见效。

表 2 幽门狭窄患儿上消化道造影测值与手术测值比较(mm)

项目	幽门管直径	幽门管长度	幽门肌厚度
上消化道造影测值	15.1 ± 0.80	22.1 ± 2.04	5.2 ± 0.61
手术测值	15.5 ± 0.71	23.1 ± 2.15	4.7 ± 0.69
t值	3.374	3.739	5.429
P值	0.473	0.328	0.212

而新生儿胃扭转在钡餐检查时呈现双泡状,双液平,胃大弯上翻至小弯之上,患儿幽门管畅通^[16]。

总之,上消化道造影对诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄有十分重要的临床意义,其为较可靠的影像学检查方法。

4 参考文献

- 1 王琪,杨复宾,盛茂,郭万亮,刘玉奇. 儿童先天性幽门肥厚狭窄的上消化道造影诊断. 实用医学影像杂志 2013; 14: 451-453
- 2 王亮,沈钧康,盛茂. 新生儿食管闭锁合并先天性幽门肥厚性狭窄一例. 中华小儿外科杂志 2013; 34: 79-80
- 3 张勇,段广银,朱文霞,张小玲,刘晓芳. 彩色多普勒超声诊断先天性肥厚性幽门狭窄的价值. 医学影像学杂志 2014; 24: 1258-1259
- 4 崔慎栋,林德政. 先天性肥厚性幽门狭窄的影像诊断(附68例分析). 世界最新医学信息文摘(电子版) 2013; 13: 259-259
- 5 张玉玲. 超声诊断在小儿先天性幽门肥厚狭窄中的价值. 中国现代药物应用 2013; 7: 73
- 6 Walker TG, Salazar GM, Waltman AC. Angiographic evaluation and management of acute gastrointestinal hemorrhage. World J Gastroenterol 2012; 18: 1191-1201 [PMID: 22468082 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1191]
- 7 李炳,陈卫兵,王寿青,夏顺林,刁美,李龙. 单部位腹腔镜治疗小于三周的先天性肥厚性幽门狭窄. 中华小儿外科杂志 2014; 35: 43-46
- 8 马穗红,柳建华,马晓梅,罗环干,萧淑宜,区文财. 胃充盈声学造影在诊断先天性肥厚性幽门狭窄中的应用. 中国医学影像学杂志 2013; 21: 758-760, 764
- 9 孙国友,杨慧贤. 20例小儿先天性肥厚性幽门狭窄的超声诊断的几点体会. 内蒙古中医药 2013; 32: 104
- 10 罗家林. 高频超声诊断先天性肥厚性幽门狭窄的体会. 广西医学 2012; 34: 221-222
- 11 岳湘竹. 高频超声在先天性肥厚性幽门狭窄中的诊断价值. 中国医师杂志 2012; 14: 1261-1262
- 12 肖必栋,方琼,王芳. 腹腔镜治疗先天性肥厚性幽门狭窄手术并发症的原因分析及护理对策. 中国实用护理杂志 2014; 30: 43-45
- 13 费瑞林. 先天性肥厚性幽门狭窄的超声诊断方法与价值. 健康必读(中旬刊) 2013; 12: 118
- 14 黄寿蓉. 腹腔镜治疗先天性幽门肥厚性狭窄的围术期护理. 中国医师杂志 2014; 15: 187-188
- 15 Sun H, Xue HD, Wang YN, Qian JM, Yu JC, Zhu F, Zhu HD, Jin ZY, Li XG. Dual-source dual-energy computed tomography angiography for active

创新盘点

临床中对于消化道造影检查诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄的可行性与效果进行分析,主要是从而患者的造影检查结果进行探究,其观察点准确,对以后的治疗具有较强的指导作用。

应用要点

本研究中从临床实际的角度出发,探讨诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄的最佳方法,进一步阐述消化道造影检查诊断儿童先天性幽门肥厚狭窄的特点,其操作也简单,效果明显。

同行评价
本研究出发点新颖, 观察指标明确, 对以后该病的诊断具有较强的指导意义。同时, 文章中统计学方法正确, 可行性强。

gastrointestinal bleeding: a preliminary study. 16
Clin Radiol 2013; 68: 139-147 [PMID: 22999524 DOI:
10.1079/BJN20130004]

刘传荣, 骆福裕, 郭俊, 刘辉, 钟斌, 徐建兵, 吴书清, 黄秀明, 李伟俊. 体位疗法治疗新生儿特发性胃扭转临床观察. 中国基层医药 2014; 21: 249-250

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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。

异甘草酸镁注射液治疗药物性肝炎后患者的临床效果及血液生化指标变化

胡红锋

胡红锋, 绍兴市中心医院消化科 浙江省绍兴市 312030
胡红锋, 主治医师, 主要从事消化内科ERCP的研究.
作者贡献分布: 此课题由胡红锋独立完成.
通讯作者: 胡红锋, 主治医师, 312030, 浙江省绍兴市柯桥区华
宇路1号, 绍兴市中心医院消化科. hhfhuhongfeng@126.com
电话: 0575-89102277
收稿日期: 2014-09-04 修回日期: 2014-11-02
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2015-01-08

Magnesium isoglycyrrhizinate for treatment of patients with drug induced hepatitis: Clinical efficacy and changes in blood biochemical indicators

Hong-Feng Hu

Hong-Feng Hu, Department of Gastroenterology, Shaoxing Central Hospital, Shaoxing 312030, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Hong-Feng Hu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Shaoxing Central Hospital, 1 Huayu Road, Keqiao District, Shaoxing 312030, Zhejiang Province, China. hhfhuhongfeng@126.com
Received: 2014-09-04 Revised: 2014-11-02
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To explore the clinical effects of magnesium isoglycyrrhizinate in the treatment of patients with drug induced hepatitis.

METHODS: One hundred and twelve patients with drug induced hepatitis were divided into either a control group or an observation group in a random and voluntary manner, with 56 cases in each group. All patients were given conventional treatment. The control group was additionally given compound glycyrrhizin, and the observation group was additionally given magnesium isoglycyrrhizinate. The treatment course was 14 d. The clinical effects, alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total bilirubin (Tbil), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) and alkaline phosphatase

(ALP) were compared. Adverse reactions were also recorded.

RESULTS: In the observation group, the total effective rate was significantly higher than that in the control group (94.6% vs 80.4%, $P < 0.05$). Before treatment, there were no significant differences in ALT, AST, Tbil, γ -GT and ALP between the two groups ($P > 0.05$); after treatment, these indexes decreased significantly in both groups, and the decreases were more significant in the observation group (ALT: $63.6 \text{ U/L} \pm 24.6 \text{ U/L}$ vs $95.4 \text{ U/L} \pm 21.2 \text{ U/L}$; AST: $65.8 \text{ U/L} \pm 21.4 \text{ U/L}$ vs $102.6 \text{ U/L} \pm 26.6 \text{ U/L}$; Tbil: $14.9 \mu\text{mol/L} \pm 6.4 \mu\text{mol/L}$ vs $28.4 \mu\text{mol/L} \pm 9.8 \mu\text{mol/L}$; γ -GT: $82.4 \text{ U/L} \pm 26.6 \text{ U/L}$ vs $102.8 \text{ U/L} \pm 46.4 \text{ U/L}$; ALP: $74.6 \text{ U/L} \pm 15.2 \text{ U/L}$ vs $102.8 \text{ U/L} \pm 27.4 \text{ U/L}$; $P < 0.01$ for all). No serious adverse reactions were observed in either group.

CONCLUSION: Magnesium isoglycyrrhizinate has significant effects in the treatment of patients with drug induced hepatitis, with no serious adverse reactions.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Magnesium isoglycyrrhizinate; Drug induced hepatitis; Clinical effect

Hu HF. Magnesium isoglycyrrhizinate for treatment of patients with drug induced hepatitis: Clinical efficacy and changes in blood biochemical indicators. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 125-128 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.125>

摘要

目的: 探讨异甘草酸镁治疗药物性肝炎的临床效果.

方法: 将112例药物性肝炎患者按照随机、自愿的原则分为对照组和观察组, 每组各56

背景资料
近年来随着药物的大量使用, 药物性肝炎的发病率日益升高, 尤其多见于使用抗真菌药物、抗结核药物和抗甲状腺药物后. 临床上常表现为发热、黄疸、恶心和纳差等表现, 常伴有转氨酶的异常升高, 是“急性肝炎”的一种.

同行评议者
陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

研究背景
药物是临床治疗疾病最常用的手段,但大量药物的使用也随之会带来很多的不良反应,由于药物所致的肝损伤是影响临床用药的主要方面之一。

例。两组患者均给予常规治疗,对照组在常规治疗基础上加用复方甘草酸苷,观察组在常规治疗基础上加用异甘草酸镁治疗,疗程均为14 d。比较治疗后两组患者临床效果、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, Tbil)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的变化及不良反应发生情况。

结果: 观察组总有效率明显高于对照组, 差异有统计学意义(94.6% vs 80.4%, $P < 0.05$); 治疗前两组间ALT、AST、Tbil、 γ -GT和ALP差异无统计学意义(均 $P > 0.05$); 治疗后两组间上述治疗均较前明显下降, 观察组下降更为明显(ALT: 63.6 U/L \pm 24.6 U/L vs 95.4 U/L \pm 21.2 U/L; AST: 65.8 U/L \pm 21.4 U/L vs 102.6 U/L \pm 26.6 U/L; Tbil: 14.9 μ mol/L \pm 6.4 μ mol/L vs 28.4 μ mol/L \pm 9.8 μ mol/L; γ -GT: 82.4 U/L \pm 26.6 U/L vs 102.8 U/L \pm 46.4 U/L; ALP: 74.6 U/L \pm 15.2 U/L vs 102.8 U/L \pm 27.4 U/L), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。两组患者均未发生严重不良反应。

结论: 异甘草酸镁治疗药物性肝炎临床效果显著, 不良反应较少, 值得推广应用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 异甘草酸镁; 药物性肝炎; 临床效果

核心提示: 本研究中对患者使用了不同的药物进行保肝治疗, 结果发现异甘草酸镁组患者治疗后谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、 γ -谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶较前均明显下降, 且较复方甘草酸苷组下降更为明显, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 临床效果明显优于对照组(94.6% vs 80.4%, $P < 0.05$)。

胡红锋. 异甘草酸镁注射液治疗药物性肝炎后患者的临床效果及血液生化指标变化. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 125-128 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.125>

0 引言

药物性肝炎指的是机体吸收的药物在肝内进行转化后生成的代谢产物引起的肝脏功能的损伤^[1]。其临床表现可以从无任何症状, 发展到急性肝衰竭甚至死亡^[2]。近年来随着药物的大量使用, 药物性肝炎的发病率日益升高, 尤其多见于使

用抗真菌药物、抗结核药物和抗甲状腺药物后^[3]。临床上常表现为发热、黄疸、恶心和纳差等表现, 常伴有转氨酶的异常升高, 是“急性肝炎”的一种^[4]。使用护肝药物是治疗药物性肝炎的主要措施之一, 绍兴市中心医院近年来使用异甘草酸镁治疗药物性肝炎取得了良好的临床效果, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取绍兴市中心医院2009-01/2013-06收治的112例药物性肝炎患者为研究对象。所有患者均符合药物性肝炎的诊断标准^[5], 肝炎病毒检测阴性, 排除其他类型的病毒性肝炎、酒精性肝炎及自身免疫性肝炎、肝癌等疾病, 排除妊娠或哺乳期妇女。将所有患者按照随机、自愿的原则分为对照组和观察组, 每组各56例。对照组男36例, 女20例; 年龄14-68岁, 平均年龄52.8岁 \pm 8.3岁; 损害肝脏的药物为抗甲亢药物12例, 抗结核药物8例, 化疗药物14例, 抗生素和抗真菌药物13例, 中草药6例, 其他3例。观察组男34例, 女22例; 年龄16-69岁, 平均年龄53.2岁 \pm 8.6岁; 损害肝脏的药物为抗甲亢药物10例, 抗结核药物12例, 化疗药物12例, 抗生素和抗真菌药物12例, 中草药5例, 其他3例。两组间性别、年龄和病情差异无统计学意义(均 $P > 0.05$), 具有可比性。复方甘草酸苷(四环药业有限公司, 国药准字: H20070217), 异甘草酸镁注射液(正大天晴有限公司, 国药准字: H20051942)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者均给予常规治疗, 包括低盐低脂饮食、卧床休息, 并给予保护胃黏膜、补液、营养支持等对症治疗, 避免应用损伤肝脏的药物。对照组患者在常规治疗基础上加用复方甘草酸苷160 mg加入5%的葡萄糖注射液250 mL中静脉滴注, 1次/d; 观察组在常规治疗基础上加用异甘草酸镁注射液150 mg加入5%的葡萄糖注射液250 mL中静脉滴注, 1次/d。疗程均为14 d, 比较治疗后两组患者临床效果、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, Tbil)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的变化及不良反应发生情况。

1.2.2 临床效果评价标准: 根据参考文献[6]中提供的方法来判断临床效果, 显效: 患者不适症

表 1 两组患者临床效果比较 [$n = 56, n(\%)$]

分组	显效	有效	无效	总有效率
对照组	28(50.0)	17(30.40)	11(19.6)	45(80.4)
观察组	42(75.0)	11(19.64)	3(3.6)	53(94.6) ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.表 2 两组间血液生化指标变化比较 (mean \pm SD)

分组	ALT(U/L)	AST(U/L)	Tbil(μ mol/L)	γ -GT(U/L)	ALP(U/L)
对照组					
治疗前	368.6 \pm 84.8	322.8 \pm 68.8	63.2 \pm 12.6	404.3 \pm 92.6	214.6 \pm 66.2
治疗后	95.4 \pm 21.2 ^b	102.6 \pm 26.6 ^b	28.4 \pm 9.8 ^b	102.8 \pm 46.4 ^b	102.8 \pm 27.4 ^b
观察组					
治疗前	371.3 \pm 85.4	326.2 \pm 71.5	62.6 \pm 11.3	410.4 \pm 94.2	219.8 \pm 68.4
治疗后	63.6 \pm 24.6 ^{bc}	65.8 \pm 21.4 ^{bc}	14.9 \pm 6.4 ^{bc}	82.4 \pm 26.6 ^{bc}	74.6 \pm 15.2 ^{bc}

^b $P < 0.01$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组治疗后. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 门冬氨酸氨基转移酶; Tbil: 总胆红素; γ -GT: 谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶.

状消失, 转氨酶恢复正常; 有效: 患者不适症状基本消失, 转氨酶较前下降50%以上; 无效: 患者不适症状无明显减轻甚至加重, 转氨酶较前下降<50%. 总有效率 = (显效+有效)/总例数 \times 100%.

统计学处理 数据用mean \pm SD表示, 采用SPSS17.0软件进行统计学分析. 均数比较进行方差齐性检验, 若方差齐采用 t 检验, 方差不齐则采用 t' 检验; 计数资料采用 χ^2 检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床效果比较 观察组总有效率明显高于对照组, 差异有统计学意义(94.6% vs 80.4%, $\chi^2 = 5.2245, P < 0.05$)(表1).

2.2 两组间血液生化指标变化比较 治疗前两组间ALT、AST、Tbil、 γ -GT和ALP差异无统计学意义(均 $P > 0.05$); 治疗后两组间上述治疗均较前明显下降, 观察组下降更为明显(ALT: 63.6 U/L \pm 24.6 U/L vs 95.4 U/L \pm 21.2 U/L; AST: 65.8 U/L \pm 21.4 U/L vs 102.6 U/L \pm 26.6 U/L; Tbil: 14.9 μ mol/L \pm 6.4 μ mol/L vs 28.4 μ mol/L \pm 9.8 μ mol/L; γ -GT: 82.4 U/L \pm 26.6 U/L vs 102.8 U/L \pm 46.4 U/L; ALP: 74.6 U/L \pm 15.2 U/L vs 102.8 U/L \pm 27.4 U/L), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)(表2).

2.3 两组间不良反应发生情况比较 对照组患者有2例出现面部水肿, 1例血糖升高, 1例患者出现头晕, 2例出现低血钾; 观察组患者1例出现面部水肿, 1例血糖升高. 两组患者均未发生严重不良反应.

3 讨论

药物是临床治疗疾病最常用的手段, 但大量药物的使用也随之会带来很多的不良反应, 由于药物所致的肝损伤是影响临床用药的主要方面之一. 既往的研究已经证实在全球所使用的所有药物中大约有600多种药物都会对肝脏造成不同程度的损害, 药物性肝炎的总发病率大约为3%-9%, 在暴发性肝炎中更是达到了25%^[7]. 药物性肝损伤也是临床上常见的急性肝炎之一, 文献报道其约占10%-15%, 仅次于药物所致的皮肤黏膜的损害^[8]. 导致药物性肝炎发生的机制主要与药物代谢反应、免疫介导反应、特发性肝毒素损伤等有关, 而影响因素主要与药物种类、剂量、使用时间和患者自身状况有关^[9].

目前临床上治疗药物性肝炎的主要措施之一是使用保肝药物来促进肝功能的恢复. 复方甘草酸苷是临床上保护肝脏的经典药物之一, 属于第二代甘草酸制剂, 主要由甘氨酸、甘草酸和半胱氨酸组成, 具有免疫调节、抗炎症介质、预防纤维化和类固醇样作用, 能够降低转

相关报道
既往的研究已经证实在全球所使用的所有药物中大约有600多种药物都会对肝脏造成不同程度的损害, 药物性肝炎的总发病率大约为3%-9%, 在暴发性肝炎中更是达到了25%.

同行评价
本研究设计合理,
结果可靠, 结论有
一定的学术价值.

氨酶浓度, 从而发挥保肝作用^[10]. 王翠兰^[11]的研究结果显示对于抗结核药物所致的肝炎患者使用复方甘草酸苷治疗后患者的临床症状和血液生化指标明显好转, 而且无明显不良反应. 异甘草酸镁是我国自行研制的第四代甘草酸制剂, 结构上变为单一反式旋光异构体, 具有更为强大的抗炎、保护细胞膜等作用, 其作用机制包括稳定细胞膜、抗氧化、抗纤维化和保护线粒体等途径^[12-15]. 本研究中对患者使用了不同的药物进行保肝治疗, 结果发现异甘草酸镁组患者治疗后ALT、AST、Tbil、 γ -GT和ALP较前均明显下降, 且较复方甘草酸苷组下降更为明显, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$), 临床效果明显优于对照组(94.6% vs 80.4%, $P<0.05$). 与王崇慧等^[6]的研究结果相似, 再次证实了异甘草酸镁在保护肝脏具有更为明显的临床效果. 而且在使用过程中并未发现严重的不良反应, 与复方甘草酸苷组相似. 唯一的不足是异甘草酸镁属于新一代药物, 费用较复方甘草酸苷相对昂贵, 在治疗选择时还是要多方权衡.

总之, 异甘草酸镁治疗药物性肝炎临床效果显著, 且具有良好的安全性, 值得在临床中推广应用.

4 参考文献

1 何健, 刘利艳. 药源性肝炎临床研究进展. 医学信息

2011; 24: 350-351

- 2 Temple R. Hy's law: predicting serious hepatotoxicity. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2006; 15: 241-243 [PMID: 16552790 DOI: 10.1002/pds.1211]
- 3 厉有名. 药物性肝损害的临床类型及诊断策略. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 445-446
- 4 梁斌, 余国梅, 毛静. 药物性肝炎及其治疗的研究进展. 解放军药学报 2011; 27: 175-177
- 5 陈尉. 甘草酸在肝脏疾病治疗中的应用. 国际消化病杂志 2006; 26: 106-109
- 6 王崇慧, 郑三菊, 占国清. 异甘草酸镁与复方甘草酸苷治疗慢性肝炎的疗效比较. 临床消化病杂志 2013; 25: 203-205
- 7 严福建, 陈士森, 曹雯勤. 异甘草酸镁治疗药物性肝炎疗效观察. 中国医师杂志 2009; 11: 857-858
- 8 刘旭东, 王炳元. 我国药物性肝损害2003-2008年文献调查分析. 临床误诊误治 2010; 23: 487-488
- 9 于来荣. 药物性肝炎的临床病因及相关治疗研究. 中国医药指南 2012; 9: 30-31
- 10 蔡秋丽, 吴永良, 张静华. 两种甘草酸制剂治疗慢性乙型肝炎疗效比较. 药物流行病学杂志 2012; 21: 160, 192
- 11 王翠兰. 复方甘草酸苷治疗抗结核药物性肝炎52例临床观察. 健康之路 2013; 12: 175
- 12 欧明洪. 异甘草酸镁药理与临床研究进展. 中国药业 2010; 19: 83-84
- 13 Huang X, Qin J, Lu S. Magnesium isoglycyrrhizinate protects hepatic L02 cells from ischemia/reperfusion induced injury. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 4755-4764 [PMID: 25197346]
- 14 Yan ZH, Wang YM, Tang B, Yu YC, He DM, Wang XH, Mao Q. [Meta-analysis of magnesium isoglycyrrhizinate combined with nucleoside analogues in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2014; 22: 108-112 [PMID: 24735592]
- 15 汤丽娜, 林峰, 沈赞, 孙元珏, 姚阳. 异甘草酸镁治疗抗肿瘤药物引起的急性药物性肝损伤的 期临床试验. 肿瘤 2012; 32: 88-93

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



早期联合应用抗凝药物预防脾切断流术后门静脉血栓的形成

郑春雷, 赵永福, 唐哲, 吴阳, 乔师师, 张水军

郑春雷, 赵永福, 唐哲, 吴阳, 乔师师, 张水军, 郑州大学第一附属医院肝胆胰外科 河南省郑州市 450052
郑春雷, 在读硕士, 主要从事肝胆系统疾病的基础与临床研究。
作者贡献分布: 此课题由赵永福与郑春雷共同设计; 研究过程由赵永福、郑春雷、唐哲、吴阳、乔师师及张水军共同完成; 数据分析与论文写作由郑春雷完成。
通讯作者: 赵永福, 教授, 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. zhaoyongfu@medmail.com.cn
电话: 0371-67967131
收稿日期: 2014-10-16 修回日期: 2014-11-07
接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-08

Early joint application of anticoagulant drugs to prevent portal vein thrombosis after splenectomy and devascularization

Chun-Lei Zheng, Yong-Fu Zhao, Zhe Tang, Yang Wu, Shi-Shi Qiao, Shui-Jun Zhang

Chun-Lei Zheng, Yong-Fu Zhao, Zhe Tang, Yang Wu, Shi-Shi Qiao, Shui-Jun Zhang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Correspondence to: Yong-Fu Zhao, Professor, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. zhaoyongfu@medmail.com.cn
Received: 2014-10-16 Revised: 2014-11-07
Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To assess the preventive effects of early joint application of anticoagulant drugs on portal vein thrombosis after splenectomy and devascularization and to explore the possible mechanism

METHODS: One hundred and twenty-eight patients with portal hypertension who underwent splenectomy and devascularization were included, including 28 patients with early application of low molecular heparin calcium (heparin group), 42 with joint application of low molecular heparin calcium and low molecular

dextran (joint group), and 58 without the use of anticoagulant drugs (control group). The rate of postoperative thrombosis, postoperative platelet count, and prothrombin time (PT) were compared among the three groups. The indexes of portal vein blood flow were also recorded.

RESULTS: One month after surgery, portal vein thrombosis developed in 5 (8.57%) cases in the heparin group, in 1 (2.38%) case in the joint group, and in 14 (24.13%) cases in the control group. The rate of postoperative portal vein thrombosis was significantly higher in the control group than in the heparin group ($P < 0.05$), and in the heparin group than in the joint group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Early anticoagulation use can effectively prevent the formation of portal vein thrombosis after splenectomy, and combined use of low molecular heparin calcium and low molecular dextran has better effects.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Portal hypertension; Splenectomy; Portal vein thrombosis; Low molecular weight heparin; Low molecular weight dextran

Zheng CL, Zhao YF, Tang Z, Wu Y, Qiao SS, Zhang SJ. Early joint application of anticoagulant drugs to prevent portal vein thrombosis after splenectomy and devascularization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 129-133 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/129.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.129>

摘要

目的: 探讨早期联合应用抗凝药物对脾切断流术后门静脉血栓形成的预防效果及相关作用原理。

方法: 对128例门脉高压行脾切断流术后的患者进行回顾性分析, 早期应用低分子肝素钙的

背景资料
随着彩色多普勒超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)等的普及以及外科医生的重视, 近年来我们在临床上发现乙型肝炎肝硬化门静脉高压症手术后门静脉系统血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)的发生有增多的趋势。目前临床上多是在彩超等影像学已发现PVT后才作针对性治疗, 这时PVT已产生了不同程度的危害并导致治疗的难度加大且疗效不佳。因此, 门静脉高压症患者脾切断流术后如何早期预防静脉血栓的形成有着重要的临床意义。

同行评议者
张明辉, 教授, 主任医师, 河北省唐山市人民医院感染性疾病科

研究前沿

本文研究的重点是探讨早期联合应用抗凝药物对脾切断流术后门静脉血栓形成的预防效果及相关作用原理,重点观察患者术后相关检查指标及术后血栓形成率,以期探讨应用抗凝药物的最佳时期及最佳用药方案。

28例患者设为肝素组,低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合抗凝的42例患者设为联合组,未使用抗凝药物的58例患者设为对照组,比较3组患者术后的血栓形成率,连续监测术后血小板计数、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、门静脉血流速度等指标变化,对低分子肝素钙、低分子右旋糖酐预防血栓形成的作用机制进行分析。

结果:3组患者术后1 mo复查,肝素组术后1 mo形成门静脉血栓5例,占8.57%,联合组术后1 mo形成门静脉血栓1例,占2.38%,对照组术后1 mo形成门静脉血栓14例,占24.13%,肝素组与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),肝素组优于对照组。联合组与肝素组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),联合组优于肝素组。

结论:门静脉血栓是肝硬化脾切除术后常见并发症,早期抗凝能有效的预防肝硬化脾切除术后门静脉血栓的形成,低分子肝素钙和低分子右旋糖酐联合用药抗凝效果更佳,但对于远期疗效分析,还需要大样本量分析以及长期随访。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:门静脉高压症;脾切除;门静脉血栓;低分子肝素;低分子右旋糖酐

核心提示:门静脉血栓是肝硬化脾切除术后常见并发症,早期抗凝能有效的预防肝硬化脾切除术后门静脉血栓的形成。术后早期全身应用低分子肝素不会增加并发症发生概率,临床使用安全、可靠。低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合应用抗凝效果更佳。

郑春雷,赵永福,唐哲,吴阳,乔师师,张水军。早期联合应用抗凝药物预防脾切断流术后门静脉血栓的形成。世界华人消化杂志 2015; 23(1): 129-133 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/129.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.129>

相关报道

邓美海等认为门静脉高压症术后动态检测D-二聚体水平将有助于PVT的早期诊断,如手术3 d后D-二聚体水平持续升高者及手术3 d后D-二聚体 >16 mg/L, PVT发生的可能较大,应加强抗凝等预防和治疗。

0 引言

门静脉系统血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)是门静脉高压症(portal hypertension, PHT)脾切断流术后常见的并发症。随着彩色多普勒超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)等的普及以及外科医生的重视,近年来我们在临床上发现肝硬化门静脉高压症

手术后PVT的发生有增多的趋势。PVT已经成为门静脉高压症术后病情加重的重要原因,在加重肝功能损害的同时又增加消化系出血的风险,严重时甚至可导致患者死亡。目前临床上多是在彩超等影像学已发现PVT后才作针对性治疗,这时PVT已产生了不同程度的危害并导致治疗的难度加大且疗效不佳;或者是在血小板异常升高时采取预防措施,但血小板升高与发生PVT的关系并没有得到直接的肯定^[1,2]。因此,门静脉高压症患者脾切断流术后如何早期预防静脉血栓的形成有着重要的临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-12/2014-02入住郑州大学第一附属医院的患者;具有乙型肝炎、肝硬化病史;通过实验室、影像学检查等已确诊为肝硬化门静脉高压症并准备手术治疗;表现有脾肿大、脾功能亢进和不同程度食管胃底静脉曲张及既往至少一次消化系出血史的患者纳入研究对象。手术方式:所有病例均行脾切除术,部分患者联合行贲门周围血管离断术(断流术)。排除的病例:(1)肝硬化门脉高压合并肝癌或其他肿瘤;(2)术前经彩色多普勒超声及腹部CT证实已有PVT;(3)术后应用止血药物;共有128例患者符合入选标准。根据术后是否应用抗凝药物及应用何种抗凝药物分为对照组、肝素组和联合组,其中对照组58例:男32例,女26例,年龄22-68岁,平均年龄 48.2 ± 8.75 岁;肝素组28例:男18例,女10例,年龄23-64岁,平均年龄 50 ± 5.20 岁;联合组42例:男25例,女17例,年龄23-67岁,平均年龄 49 ± 6.25 岁。

1.2 方法

1.2.1 术后抗凝:所有患者均按标准手术方式完整切除脾脏,部分患者联合行贲门周围血管离断术。对照组术后常规给予抗炎、保肝、静脉营养等药物,抗凝组在常规给药的基础上给予抗凝药物,具体方法:术后24 h判断无活动性出血后给予低分子右旋糖酐500 mL/d静脉滴注,48 h后应用低分子肝素钙,每12 h皮下注射4100 u,一般连用7-10 d为1个疗程;其中肝素组28例患者仅给予低分子肝素钙。

1.2.2 术后观察指标:所有患者于术后第1天开始,每隔3 d复查血常规和凝血功能1次,观察血小板计数、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)变化情况。采用彩色多普勒超声仪,于术后第2周检查,检查前12 h空腹,患者取仰卧位,多普勒

表 1 两组患者术前一般情况比较 (mean ± SD)

资料指标	对照组	肝素组	联合组	P值
性别(n)				>0.05
男性	32	18	25	
女性	26	10	17	
年龄(岁)	48.2 ± 8.75	50.00 ± 5.20	49.00 ± 6.25	>0.05
血小板计数(×10 ⁹ /L)	50.07 ± 16.73	48.56 ± 19.94	49.25 ± 18.54	>0.05
肝功能Child-Pugh分级(n)				>0.05
A级	32	15	28	
B级	26	13	14	
门静脉直径(mm)	13.45 ± 2.75	14.57 ± 2.68	14.40 ± 3.72	>0.05
脾静脉直径(mm)	11.74 ± 3.65	11.45 ± 3.59	11.62 ± 4.08	>0.05
脾脏大小(cm ²)	125.76 ± 52.66	126.18 ± 57.30	126.28 ± 50.25	>0.05

超声探头与血管长轴成角<60度, 分别测定门静脉、脾静脉、肠系膜上静脉的直径(D)、最大血流速度(V_{max})及血流方向. 将血流速度换算成平均血流速度(V_{mean}), 并按公式 $Q = \pi/4D^2 \times V_{mean} \times 60$ 计算门静脉每分钟血流量(F), 同时观察术后有无门静脉血栓形成。

1.2.3 PVT的诊断: 所有患者均在术后第1、2、4周常规行腹部彩色多普勒超声检查, 对出现不明原因发热、腹痛、腹胀等症状的患者及时复查, 必要时行腹部CT检查. 凡门静脉主干、左右支、脾静脉及肠系膜上静脉或下静脉任何部位出现血栓均诊断为PVT。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行分析, 连续数据的表达使用mean ± SD, 计数资料的统计采用 χ^2 或Fisher精确检验, 计量资料的统计检验使用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前一般情况比较 3组患者术前各项指标差异无统计学意义($P > 0.05$), 一般资料具有可比性(表1)。

2.2 术后各项观察指标分析

2.2.1 3组患者手术后血小板计数的比较: 3组患者的术后血小板计数均逐渐上升, 肝素组与对照组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 肝素组与联合组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.2.2 3组患者术后PT变化的比较: 肝素组与对照组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 肝素组与联合组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.2.3 3组患者术后门静脉血流量的变化: 肝素组与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 联合组与肝素组相比, 差异有统计学意义

($P < 0.05$)(表4)。

2.3 术后应用抗凝药物对门静脉血栓形成的影响 3组患者均于术后第1、2、4周复查腹部超声, 肝素组28例中, 5例形成门静脉血栓, 对照组58例中, 共14例门静脉血栓形成. 两组间差异有统计学意义($P < 0.05$). 联合组42例中, 1例形成门静脉血栓, 肝素组与联合组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)(表5)。

3 讨论

治疗门静脉高压的术式有很多, 但多年的临床实践结果显示脾切除不仅可以有效消除脾功能亢进, 还能确切降低门静脉压力, 起到止血作用, 并对肝脏功能影响较小, 成为我国治疗肝硬化门静脉高压症的主要手段^[3]. 但随着临床医生的重视和影像学技术的提高, 脾切除术后PVT的发生率有所增加. 目前脾切除术后PVT的发生率各项研究报道差异甚大, 低的仅6.1%^[4], 高的达到30%以上^[5], 可能与研究年代、术式、诊断手段不同等因素有关. 本研究结果显示, 门静脉高压脾功能亢进行脾切除术后PVT发生率为15.62%, 与Ushitora等^[6]、李铁汉等^[7]研究结果一致。

术后早期预防性应用抗凝药物能显著减少PVT发生率, 且低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合应用比单用低分子肝素钙抗凝效果更佳, 本次研究结果也证实了这一点, 肝素组与联合组比较, $P < 0.05$ (表5). 两药联合通过增强纤溶酶活性、抗血栓及抗凝作用, 降低血黏度, 改善高凝状态等作用叠加而使疗效提高^[8,9]. 这与本次研究结果一致, 联合用药组能显著增加门静脉血流量, 且差异有统计意义(表4)。

创新亮点

本文采用低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合抗凝, 较单一使用抗凝药物效果更佳, 用药方案较新, 国内外鲜有文献报道。

应用要点

门静脉系统血栓形成是门静脉高压症脾切断流术后常见的并发症, 目前术后抗凝方法多种多样, 且效果不一, 无统一标准. 本研究说明早期应用低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合抗凝效果更佳, 值得临床进一步推广和应用。

名词解释

PVT: 是指发生于门静脉主干、肠系膜上静脉、肠系膜下静脉或脾静脉的血栓。

表 2 患者术后血小板计数的变化 ($\times 10^9/L$)

分组	术后1 d	术后4 d	术后7 d	术后10 d	P值
对照组	65.45 \pm 12.79	136.65 \pm 17.38	207.47 \pm 102.42	232.50 \pm 125.52	>0.05
肝素组	70.26 \pm 13.75	138.60 \pm 11.45	204.28 \pm 104.35	236.15 \pm 111.35	>0.05
联合组	73.45 \pm 15.95	140.70 \pm 12.25	208.80 \pm 100.96	232.60 \pm 107.25	>0.05

表 3 患者术后凝血酶原时间的变化 (mean \pm SD, s)

分组	术后1 d	术后4 d	术后7 d	术后10 d	P值
对照组	15.25 \pm 1.05	15.65 \pm 1.12	16.00 \pm 1.62	15.80 \pm 1.24	>0.05
肝素组	15.04 \pm 1.25	15.54 \pm 1.28	15.78 \pm 1.50	16.05 \pm 1.02	>0.05
联合组	14.85 \pm 1.75	14.98 \pm 1.76	15.00 \pm 1.85	15.75 \pm 1.65	>0.05

表 4 患者术后门静脉血流量的变化 (mL/min)

分组	门静脉主干流量	脾静脉流量	肠系膜上静脉流量
对照组	994.20 \pm 290.45	128.48 \pm 160.58	737.46 \pm 290.55
肝素组	1008.20 \pm 260.25 ^a	180.48 \pm 148.75 ^a	668.46 \pm 190.85 ^a
联合组	1120.04 \pm 363.40 ^c	282.12 \pm 189.64 ^c	586.20 \pm 288.28 ^c

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 肝素组。

表 5 患者术后1 mo门静脉血栓形成情况

分组	PVT		合计	PVT发生率(%)
	有	无		
对照组	14	44	58	24.13
肝素组	5	23	28	17.85 ^a
联合组	1	41	42	2.38 ^c
总计	20	108	128	15.62

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 肝素组。PVT: 门静脉系统血栓形成。

脾切断流术后早期应用低分子肝素钙及低分子右旋糖酐能显著减少PVT发生率, 下面进一步分析其抗凝机制, 从两个方面展开。

3.1 术后门静脉血栓形成机制 研究发现血管内膜损伤、血流状态改变和血液成分改变是血栓形成的3个基本条件^[10]。(1)血流动力学紊乱: 当脾脏被切除后, 门脉血流迅速减少, 流速降低, 而切除的脾脏越大, 门脉血流减少就越明显。在扩张的脾静脉的盲端中, 会促进其内血流的涡流形成及淤滞状态, 同时导致静脉壁内膜受损并呈动脉粥样硬化样改变, 致使部分内皮细胞脱离、胶原暴露、血细胞黏附, 多种因素共同

作用导致脾静脉形成血栓并可播散到门静脉^[11]。(2)血小板: 在早期有学者认为术后血小板数量增多是脾切除术后PVT形成的重要风险因素^[12]。但在实际临床工作中发现并不是术后血小板的绝对数量越大, PVT形成的几率越高。说明凝血机制的变化绝不是单纯由血小板数量的增加成的, 可能还与血小板活化状态及功能的改变有重要关系^[13,14];(3)血管内膜的损伤: 长期门脉高压易造成门脉血管粥样硬变或术中损伤血管, 造成血管内膜完整性受损, 血管内皮组织下的暴露能促进血小板的黏附与聚集引发血栓形成, 而血管壁的损伤与门静脉高压程度呈正相关。门静脉高压患者的ET-1、TNF、NO等升高对血管壁损害, 在血液高凝状态下易形成静脉血栓^[15]。

3.2 抗凝药物对脾切断流术后门静脉系统血栓形成的预防机制 (1)越来越多的临床发现及实验室数据提示, 在肝硬化患者中血栓的形成与凝血因素、抗凝因素的关系更需要引起重视。文献^[16,17]报道, 凝血因子VIII与自然抗凝因子之间的比值升高或者抗凝成分蛋白C、蛋白S水平的下降均可促进血栓的形成及发展, 特别是术中出血过多、门静脉血管受损后, 凝血系统被激

活, 术后机体呈高凝状态. 低分子肝素钙是由普通肝素通过亚硝酸分解、浓集和纯化而得到的低分子量肝素钙盐, 他是一种糖胺聚糖, 其平均分子量为4300 u, 他可抑制凝血因子的活性, 尤其是凝血因子Xa, 可促进t-PA的释放, 缩短优球蛋白溶解时间, 促进纤维蛋白溶解, 可改变血液黏度, 增加血细胞表面电荷, 从而有效增强抗凝和抗血栓作用^[18]; (2)术后输入低分子右旋糖酐可以稀释血液、降低凝血因子浓度, 保护血管内膜, 减少血黏度, 预防或清除血管内红细胞聚集和血栓形成, 减少血小板的黏附与聚集的作用, 冲刷微小血栓, 扩充血容量、减少输血量, 达到降低PVT的作用。

此外, 低分子右旋糖酐还可抗凝, 改善微循环. 与肝素有协同作用, 进而改善门静脉系统的循环。

本文经过分析低分子肝素对于门静脉血栓的预防疗效, 通过研究证实: 术后早期应用抗凝药物的确有预防门静脉血栓形成的作用, 且低分子肝素钙与低分子右旋糖酐联合应用抗凝效果更佳. 但应用抗凝药后仍有门静脉血栓形成, 可能与不同个体对抗凝药的作用反应强弱不同有关. 另外, 本次研究只统计脾切除术后1 mo内的PVT形成率, 抗凝药物能明显降低血栓形成率, 但对于远期疗效, 还需要大样本量分析以及长期随访。

4 参考文献

- Gürgey A, Mesci L. The prevalence of factor V Leiden (1691 G>A) mutation in Turkey. *Turk J Pediatr* 1997; 39: 313-315 [PMID: 9339109]
- Harmanci O, Bayraktar Y. Portal hypertension due to portal venous thrombosis: etiology, clinical outcomes. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2535-2540 [PMID: 17552000 DOI: 10.3748/wjg.v13.i18.2535]
- Gürgey A, Hicsönmez G, Parlak H, Balta G, Celiker A. Prothrombin gene 20210 G-A mutation in Turkish patients with thrombosis. *Am J Hematol* 1998; 59: 179-180 [PMID: 9766808]
- Wang H, Kopac D, Brisebois R, Sample C, Shapiro AM. Randomized controlled trial to investigate the impact of anticoagulation on the incidence of splenic or portal vein thrombosis after laparoscopic splenectomy. *Can J Surg* 2011; 54: 227-231 [PMID: 21443837 DOI: 10.1503/cjs.049909]
- 陈国富, 范国华. 脾切除术后门静脉系统血栓形成的临床分析. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 649-652
- Ushitora Y, Tashiro H, Takahashi S, Amano H, Oshita A, Kobayashi T, Chayama K, Ohdan H. Splenectomy in chronic hepatic disorders: portal vein thrombosis and improvement of liver function. *Dig Surg* 2011; 28: 9-14 [PMID: 21293126 DOI: 10.1159/000321886]
- 李铁汉, 唐波, 田大广, 付必群, 朱洪, 唐继红, 张捷. 脾切除术后门静脉系统血栓形成的临床分析. *腹部外科* 2010; 23: 341-343
- 卜淑芳, 曾芳, 袁变玲, 李颖, 陈晨. 低分子肝素治疗短暂性脑缺血发作50例疗效观察. *中国实用神经疾病杂志* 2007; 10: 100-101
- 郭秀凤, 夏英凯, 程娜. 奥扎格雷钠、低分子肝素钠、阿司匹林联合治疗进展性脑梗死临床分析. *中国实用神经疾病杂志* 2007; 10: 69-70
- Senzolo M, Rodriguez K, Nadal E, Burra P. Risk factors for portal venous thrombosis after splenectomy in patients with cirrhosis and portal hypertension (Br J Surg 2010; 97: 910-916). *Br J Surg* 2010; 97: 1452; author reply 1452-1453 [PMID: 20683871 DOI: 10.1002/bjs.7239]
- Fujita F, Lyass S, Otsuka K, Giordano L, Rosenbaum DL, Khalili TM, Phillips EH. Portal vein thrombosis following splenectomy: identification of risk factors. *Am Surg* 2003; 69: 951-956 [PMID: 14627254]
- Pietrabissa A, Moretto C, Antonelli G, Morelli L, Marciano E, Mosca F. Thrombosis in the portal venous system after elective laparoscopic splenectomy. *Surg Endosc* 2004; 18: 1140-1143 [PMID: 15156376 DOI: 10.1007/s00464-003-9284-5]
- 梅斌, 郑凯, 陈孝平. 断流术后门静脉血栓形成与血小板膜蛋白CD62P的关系. *华中科技大学学报* 2006; 35: 548-549
- 邓鹏, 邓美海, 汤照峰, 钟跃思, 胡昆鹏, 许瑞云. 可溶性P-选择素对肝硬化门静脉高压术后门静脉血栓形成的影响. *岭南现代临床杂志* 2007; 7: 328-330
- Olson MM, Ilada PB, Apélgren KN. Portal vein thrombosis. *Surg Endosc* 2003; 17: 1322 [PMID: 12799896 DOI: 10.1007/s00464-002-4546-1]
- 王浩, 王剑, 沈红波, 陈春燕. 全脾切除术治疗门静脉高压脾功能亢进症89例分析. *浙江创伤外科* 2011; 16: 546-547
- Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 147-156 [PMID: 21751907 DOI: 10.1056/NEJMra1011170]
- Zhang D, Hao J, Yang N. Protein C and D-dimer are related to portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 116-121 [PMID: 19686413 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05921.x]

同行评价
本文方法合理, 实用性较强, 对基层临床医生来说, 具有一定的启发与示范意义。

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素

李文渊, 叶超, 高鹏飞, 朱肖鸿

背景资料
肝衰竭是由多种因素引起的严重肝功能的严重损害, 慢性肝衰竭因其肝功能失代偿, 免疫功能下降, 肠道屏障功能障碍等原因, 容易出现自发性腹膜炎, 治疗难度大, 显著影响患者预后。研究肝衰竭患者自发性腹膜炎发病过程中的高危因素, 并尽早进行干预, 对于临床改善肝衰竭患者的预后具有重要意义。

李文渊, 朱肖鸿, 浙江省中医院感染科 浙江省杭州市 310000
叶超, 浙江大学传染病国家重点实验室 浙江省杭州市 310000
高鹏飞, 天津市大港油田总医院内分泌科 天津市 300280
李文渊, 医师, 主要从事感染科临床及肝衰竭、病毒性肝炎的机制及诊疗研究。
作者贡献分布: 此课题由李文渊设计; 数据资料的收集、整理由李文渊与叶超完成; 数据分析由叶超、高鹏飞及李文渊完成; 资料由朱肖鸿提供; 论文的写作由李文渊完成。
通讯作者: 朱肖鸿, 主任医师, 310000, 浙江省江干区下沙经济技术开发区9号大街9号, 浙江省中医院感染科。
ct2037@163.com
电话: 0571-86919345 传真: 0571-86919345
收稿日期: 2014-11-01 修回日期: 2014-11-20
接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-08

Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in patients with HBV-related chronic liver failure

Wen-Yuan Li, Chao Ye, Peng-Fei Gao, Xiao-Hong Zhu

Wen-Yuan Li, Xiao-Hong Zhu, Department of Infectious Diseases, Zhejiang Provincial Hospital of TCM, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China
Chao Ye, State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Zhejiang University, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China
Peng-Fei Gao, Department of Endocrinology, General Hospital of Tianjin Dagang Oilfield, Tianjin 300280, China
Correspondence to: Xiao-Hong Zhu, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Zhejiang Provincial Hospital of TCM, 9 the 9th Street, Xiasha Economic and Technological Development Zone, Jianggan District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. ct2037@163.com
Received: 2014-11-01 Revised: 2014-11-20
Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To identify the risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in patients with hepatitis B virus (HBV)-related chronic liver failure (CLF).

METHODS: A total of 251 hospitalized patients with HBV-related CLF were retrospectively analyzed. Data of demographic and clinical parameters (sex, age, family history, antiviral therapy, diabetes), common complications (hepatic encephalopathy, hepatorenal syndrome, pulmonary infection and upper gastrointestinal

hemorrhage) and baseline biochemical parameters [alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma glutamine transferase (γ -GT), total bilirubin (TBIL), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), alkaline phosphatase (AKP), blood glucose, total cholesterol, triglyceride, alpha fetoprotein (AFP), HBV-DNA, Na^+ , white blood cell (WBC), N%, platelet (PLT), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), prothrombin time (PT), prothrombin activity (PTA), international normalized ratio (INR)] were collected from the medical records. Univariate and multiple regression analyses were performed to determine the risk factors for spontaneous bacterial peritonitis.

RESULTS: Multiple logistic regression analysis indicated that age [risk (R) = 0.043, relative hazard (RH) = 1.031, 95% confidence interval (CI): 1.01-1.12], N% (R = 0.035, RH = 1.003, 95% CI: 1.12-1.56), upper gastrointestinal hemorrhage (R = -0.087, RH = 1.016, 95% CI: 0.87-1.03), and pulmonary infection (R = -0.621, RH = 0.535, 95% CI: 0.38-0.79) were independent risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in patients with HBV-related CLF.

CONCLUSION: Age, N%, upper gastrointestinal hemorrhage and pulmonary infection are significantly associated with the development of spontaneous bacterial peritonitis in HBV-related CLF.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B; Liver failure; Spontaneous bacterial peritonitis; Regression analysis

Li WY, Ye C, Gao PF, Zhu XH. Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in patients with HBV-related chronic liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 134-138 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/134.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.134>

摘要

目的: 探讨乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,

同行评议者
张明辉, 教授, 主任医师, 河北省唐山市人民医院感染性疾病科

HBV)相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素.

方法: 收集251例乙型肝炎慢性肝衰竭患者的基础临床资料(性别、年龄、家族史、抗病毒治疗、糖尿病等); 并发症发生情况(肝性脑病、肝肾综合征、上消化道出血、肺部感染等)和临床检测指标[谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、 γ -谷氨酰转移酶(gamma glutamine transferase, γ -GT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、血糖、总胆固醇、甘油三酯、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、HBV-DNA、血清Na离子浓度、白细胞计数(white blood cell, WBC)、中性粒细胞比值(N%)、血小板计数(platelet, PLT)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞压积(hematokrit, Hct)、凝血酶原(prothrombin time, PT)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)等]. 对以上指标进行单因素及多因素回归分析, 筛选出HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素.

结果: 多因素Logistic回归分析结果显示: 年龄(回归系数为: 0.043; 比值比为: 1.031; 95%可信区间为: 1.01-1.12), 外周血中性粒细胞比值(回归系数为: 0.035; 比值比为: 1.003; 95%CI: 1.12-1.56), 上消化道出血(回归系数为: -0.087; 比值比为: 1.016; 95%CI: 0.87-1.03), 肺部感染(回归系数为: -0.621; 比值比为: 0.535; 95%CI: 0.38-0.79)是影响HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的独立危险因素.

结论: 慢性肝衰年龄、外周血中性粒细胞比值、上消化道出血、肺部感染是HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型病毒性肝炎; 肝衰竭; 自发性腹膜炎; 回归分析

核心提示: 本课题通过对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关慢性肝衰竭患者的临床资料进行收集和研究的, 发现慢性肝衰患者年龄、外周血中性粒细胞比值、上消化道出血、肺部感染是

HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的独立危险因素.

李文渊, 叶超, 高鹏飞, 朱肖鸿. HBV相关慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 134-138
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/134.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.134>

0 引言

肝衰竭(liver failure)是多种因素引起的严重肝脏损害, 导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿, 出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群^[1]. 我国乙型肝炎病毒(hepatic B virus, HBV)感染率较高, 是肝衰竭的首要原因. 慢性肝衰竭所占的比例较大, 因其肝功能失代偿, 免疫功能下降, 肠道屏障功能障碍等原因, 肝衰竭患者容易出现自发性腹膜炎. 使得肝衰竭患者的治疗难度加大, 显著影响患者预后^[2,3]. 研究肝衰竭患者自发性腹膜炎发病过程中的高危因素, 尽早对危险因素进行干预, 对于临床改善肝衰竭患者的预后具有重要意义. 本研究对于浙江省中医院近5年来慢性肝衰竭合并自发性腹膜炎的患者进行统计分析, 以期发现慢性肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的危险因素.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-09/2012-08 251例在浙江省中医院肝病科住院治疗的乙型肝炎相关慢性肝衰竭患者为研究对象. 诊断均符合2006年制定的《肝衰竭诊疗指南》^[1]. 排除其他原因所致的肝衰竭: 如合并其他肝炎病毒感染, 酒精, 药物, 中毒, 自身免疫性等. 自发性腹膜炎的诊断标准: (1)不同程度的发热、腹胀、腹痛; (2)腹肌紧张, 轻重不等的压痛, 反跳痛; (3)腹水迅速增多, 利尿效果差; (4)腹水检查多核细胞 $>250 \times 10^6/L$, 血常规白细胞总数或分类升高; (5)腹水培养发现致病菌; (6)排除继发性腹膜炎. 确诊标准(1)、(2)、(3)中任一项+(4)/(5)+(6).

1.2 方法 通过病例收集251例患者的临床基础资料和临床检测指标, 临床基础资料包括: 性别、年龄、肝性脑病、肺部感染、肝肾综合征、上消化道出血、抗病毒治疗史等; 临床检测指标包括谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶

研究前沿

关于肝衰竭患者发生常见并发症如肝性脑病、肝肾综合征等的危险因素的研究是近年来的研究热点, 本文通过收集肝衰竭患者的资料, 研究其发生自发性腹膜炎这一常见并发症的危险因素, 以期在临床上尽早进行干预.

相关报道

目前已有一些文献报道了肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的特点分析, 如梁静等在2010年《肝功能衰竭合并自发性腹膜炎的特点分析及治疗体会》中报道, 肝衰竭合并自发性腹膜炎的感染较重, 致病菌复杂, 并且腹水阳性培养率低, 积极有效的应用抗生素是治疗的关键, 但是对三代头孢的敏感性并不理想.

创新盘点
近有关肝衰竭的预后危险因素以及肝衰竭并发症的危险因素的研究成为热点, 本文选择的研究对象为乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关慢性肝衰竭患者, 肝硬化的基础使其发生自发性腹膜炎的几率加大, 而且HBV是引起肝衰竭的第一大病因, 本研究收集的临床资料范围广泛, 并且进行了单因素和多因素的分析, 使得结果更加可靠有科学性。

应用要点
慢性肝衰竭患者易发生自发性腹膜炎等并发症, 一旦发生, 严重影响患者预后。因为自发性腹膜炎患者腹水培养阳性率较低, 临床上尽早发现其发生的危险因素, 早诊断, 早干预, 早治疗, 对于改善患者预后具有重要意义。

(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白球比值(A/G)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、血糖、总胆固醇(cholesterol, CHOL)、甘油三酯(triglyceride, TG)、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、HBV-DNA、血清Na离子浓度、白细胞计数(white blood cell, WBC)、中性粒细胞比值(N%)、血小板计数(platelet, PLT)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞压积(hematokrit, Hct)、凝血酶原(prothrombin time, PT)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)。

统计学处理 利用SPSS20.0统计学软件进行统计分析, 正态分布的计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 非正态分布的计量资料采用中位数(四分位数间距)表示, 计数变量采用数量及百分数表示, 计数资料用数量及百分数表示。患者HBV-DNA水平(拷贝/mL)转化为对数结果(\log_{10} 拷贝/mL)进行分析。计量资料采用成组设计资料 t 检验或者非参数检验, 计数资料采用 χ^2 检验或Fisher's精确检验。Logistic回归分析时, 计数资料赋值为1或者0, 计量资料采用原数值表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本资料 251例HBV相关的慢性肝衰竭患者平均年龄 46.3 ± 11.5 岁。其中男178例(70.9%), 女73例(29.1%)。出现自发性腹膜炎的患者83例(33.1%), 其中男60例(72.3%), 女23例(27.7%), 自发性腹膜炎的发病率在男女性别之间差异无统计学意义($\chi^2 = 1.228, P = 0.387$)。自发性腹膜炎患者的平均年龄 48.5 ± 13.2 岁, 显著高于非自发性腹膜炎患者的平均年龄 41.3 ± 12.7 岁, 差异有统计学意义($t = -0.864, P < 0.01$)(表1)。

2.2 HBV相关慢性肝衰竭患者中发生自发性腹膜炎的危险因素 单因素分析结果显示, 患者出现上消化道出血, 肺部感染, 肝肾综合征等并发症时容易发生自发性腹膜炎, 患者的年龄、TBIL、BUN、Cr、 γ -GT、N%、血清Na水平、PT、PTA、INR在发生自发性腹膜炎组和未发生自发性腹膜炎组差异有统计学意义(表1)。多元Logistic回归分析显示, 年龄、外周血

中性粒细胞比值、上消化出血及肺部感染四个因素对自发性腹膜炎的发生存在着重要的影响(表2)。

3 讨论

自发性腹膜炎是慢性肝衰竭常见的并发症, 是肠道细菌侵入腹腔所致的机会性感染。其发病机制并不完全清楚, 但目前普遍认为是致病菌经肠道、血液、淋巴系统所引起的腹腔感染, 其中淋巴系统是主要途径^[4]。因小肠肠壁较薄, 患者门脉压力增高, 肠壁淤血水肿, 淋巴回流增多, 致使肠壁屏障系统破坏, 肠腔内细菌增殖紊乱和细菌易位, 机体抗感染等免疫功能下降, 进而发生自发性腹膜炎^[5,6]。肝硬化, 特别是慢性肝衰竭, 系终末期肝病, 患者肝脏的合成、代谢、转化及解毒功能严重障碍或失代偿, 容易形成腹水, 内环境严重紊乱, 单核-巨噬细胞系统功能严重受损, 肠道细菌过度增殖, 来自肠腔的细菌不能及时清除, 从而是细菌进入腹腔而发生腹膜炎^[7]。自发性腹膜炎的初始症状并不典型, 极易造成漏诊、误诊, 同时慢性肝衰竭合并自发性腹膜炎时, 病情复杂, 进展迅速, 抗生素应用需及时谨慎, 所以早期判断及危险因素的评估格外重要^[8,9]。

本研究通过多元Logistic回归分析患者的临床基础临床资料和临床检测指标, 从而可以更为科学合理的分析影响慢性肝衰竭患者并发自发性腹膜炎的危险因素。因2012年中华医学会议感染病分会肝衰竭与人工肝学组将慢性肝衰竭定义中包含了肝硬化, 而腹水是诊断自发性腹膜炎的前提条件, 故本研究未将肝硬化及腹水作为影响因素纳入分析。本研究显示, 年龄、外周血中性粒细胞比值、上消化道出血及肺部感染是影响慢性肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的独立危险因素。

慢性肝衰竭患者因肝细胞广泛坏死, 机体细胞免疫功能下降, 清除细菌和肠源性内毒素的功能明显下降, 从而更容易发生自发性腹膜炎, 而自发性腹膜炎的存在也增加了慢性肝衰竭的严重程度及死亡风险^[10,11]。本研究发现, 实验室检测指标TBIL、BUN、Cr、 γ -GT、PT、PTA、INR在自发性腹膜炎和非自发性腹膜炎组差异有统计学意义。TBIL、 γ -GT等都是反映肝脏细胞受损程度的指标, TBIL、 γ -GT越高则说明肝细胞坏死、水肿的越严重, 并且存在胆

表 1 单因素分析慢性肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的危险因素

分组	自发性腹膜炎	非自发性腹膜炎	统计量值	P值
<i>n</i>	83	168		
上消化道出血[n(%)]	36.00(43.4)	19.00(11.3)	$\chi^2 = 18.386$	<0.01
肝肾综合征[n(%)]	23.00(27.7)	29.00(17.3)	$\chi^2 = 23.819$	<0.01
肺部感染[n(%)]	28.00(33.7)	13.00(7.3)	$\chi^2 = 32.124$	<0.01
年龄(岁)	51.20 ± 4.34	42.78 ± 3.53	$t = -4.254$	<0.01
TBIL(mg/dL) ¹	21.34(13.2)	15.28(8.3)	$Z = -4.056$	<0.01
BUN(mmol/L)	6.54 ± 1.28	3.28 ± 0.98	$t = -2.784$	<0.01
Cr(mg/L)	1.02 ± 0.32	0.86 ± 0.35	$t = -3.425$	<0.01
Na(mmol/L)	132.47 ± 7.61	137.13 ± 5.78	$t = 4.367$	<0.01
γ-GT(U/L) ¹	87.8(58.3)	68.7(46.1)	$Z = -4.095$	<0.01
N(%) ¹	0.68(0.43)	0.57(0.33)	$Z = -3.488$	<0.01
PT(s) ¹	32.46(17.2)	25.43(14.0)	$Z = -4.012$	<0.01
PTA(s) ¹	30.12(14.8)	39.83(21.2)	$Z = 4.213$	<0.01
INR(%) ¹	4.34(2.3)	2.52(1.1)	$Z = -5.753$	<0.01

¹为非正态分布, 采用中位数(四分位间距). TBIL: 总胆红素; BUN: 尿素氮; Cr: 血肌酐; Na: 血钠水平; γ-GT: γ-谷氨酰转氨酶; N%: 中性粒细胞比值; PT: 凝血酶原时间; PTA: 凝血酶原活动度; INR: 国际标准化比值.

表 2 HBV相关慢性肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的多因素分析

变量	回归系数	比值比	95%可信区间	P值
年龄	0.043	1.031	1.01 - 1.12	0.010
N%	0.035	1.003	1.12 - 1.56	0.001
上消化道出血	-0.087	1.016	0.87 - 1.03	0.011
肺部感染	-0.621	0.535	0.38 - 0.79	0.004

HBV: 乙型肝炎病毒; N%: 中性粒细胞比值.

管梗阻, 细菌更容易繁殖, 故TBIL、γ-GT越高, 越容易发生自发性腹膜炎. BUN、Cr是反映肾功能的指标, 已有研究指出革兰阴性细菌的内毒素及其介导的某些细胞因子如内皮素、肾脏的血栓素A2、血浆白三烯等引起肾脏缺血, 诱发肾功能衰竭^[12,13]. 我们的研究也发现发生自发性腹膜炎组比无自发性腹膜炎组的肾功能更差, 肝肾综合征的发生在两组间差异也有统计学意义. PT、PTA、INR等凝血指标是诊断肝衰竭的重要依据, 也是判断预后的重要指标, 我们的研究也发现其与自发性腹膜炎的发生密切相关.

老年患者机体免疫力差, 病程相对较长, 多数老年慢性肝衰竭患者属于肝硬化晚期, 肝功能基础差, 感染病毒的时间长. 有研究显示肝硬化患者年龄越大, 并发感染时就越严重, 预后也越差^[14]. 本研究也提示, 慢性肝衰竭患者年龄越

大, 越容易发生自发性腹膜炎. 一般情况下, 外周血白细胞计数升高多提示感染存在, 但慢性肝衰竭患者多伴肝硬化晚期伴有脾功能亢进或者骨髓造血功能下降, 从而引起外周血白细胞降低^[15], 本研究也并未发现外周血白细胞在自发性腹膜炎和非自发性腹膜炎组有明显差异. 但大部分自发性腹膜炎患者的外周血中性粒细胞比值都不同程度的升高, 本研究也提示其是肝衰竭患者发生自发性腹膜炎的重要危险因素. 另外, 肝硬化患者容易发生上消化道出血, 消化系出血时至有效循环血量下降, 引起机体的应激状态, 导致了肠道血管的收缩, 使已缺血的肠道黏膜更加缺血、缺氧, 肠道屏障功能进一步破坏, 更易发生肠道细菌移位; 出血后肠腔内环境改变, 更易导致肠道细菌过度生长和菌群失调, 更容易导致自发性腹膜炎的发生. 另外, 肠道外发生感染也很容易引起自发性腹膜炎, 本

名词解释

肝衰竭(liver failure): 是多种因素引起的严重肝脏损害, 导致其合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿, 出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群; 自发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis): 是慢性肝衰竭常见的并发症, 目前普遍认为是致病菌经肠道、血液、淋巴系统所引起的腹腔感染.

同行评价

本文科学结论较明确, 实验证据充足, 条理分明, 有比较系统的理论分析和有价值的科学结论, 可读性较好。

研究就发现肺部感染是慢性肝衰竭发生自发性腹膜炎的危险因素, 可能是因为肺部感染使得自身免疫力下降, 更容易引起菌血症, 从而发生自发性腹膜炎。

总之, 年龄大, 外周血中性粒细胞比值增高, 发生上消化道出血和肺部感染的慢性肝衰竭患者更容易发生自发性腹膜炎。另外, 由于腹水细菌培养困难, 临床上应该加强自发性腹膜炎的早期诊断。尤其是慢性肝衰竭患者合并危险因素者, 更应该尽早进行腹水培养和血培养, 早期发现致病菌, 早期治疗, 积极预防并发症及感染的发生, 提高患者生存率。

4 参考文献

- 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 643-646
- Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- 李显勇, 夏刚. 自发性腹膜炎对慢性肝衰竭预后的影响. 实用肝脏病杂志 2010; 13: 375-376
- 刘晓红. 美国肝病学会关于“肝硬化腹水伴自发性细菌性腹膜炎”的实践指南. 中国实用内科杂志 2007; 27: 565-567
- Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 422-433 [PMID: 15723320 DOI: 10.1002/hep.20632]
- 郑盛, 刘海. 肠道屏障功能障碍与自发性细菌性腹膜炎. 实用肝脏病杂志 2007; 10: 422-423
- 姜春燕, 贾继东, 王宝恩. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎的研究进展. 肝脏 2006; 11: 346-348
- 李静. 肝硬化失代偿期并发自发性腹膜炎107例临床分析. 现代中西医结合杂志 2011; 20: 1885-1886
- 王英杰. 肝衰竭并发细菌感染与抗生素治疗. 实用肝脏病杂志 2014; 17: 117-120
- Matsuno K, Katabami F, Matsumiya H. [Cytoplasm free calcium ions as a second messenger]. *Rinsho Byori* 1987; Spec No 73: 25-37 [PMID: 3437533 DOI: 10.1177/1756283X11417037]
- Obstein KL, Campbell MS, Reddy KR, Yang YX. Association between model for end-stage liver disease and spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2732-2736 [PMID: 17714556 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01485.x]
- Follo A, Llovet JM, Navasa M, Planas R, Forns X, Francitorra A, Rimola A, Gassull MA, Arroyo V, Rodés J. Renal impairment after spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: incidence, clinical course, predictive factors and prognosis. *Hepatology* 1994; 20: 1495-1501 [PMID: 7982650 DOI: 10.1002/hep.1840200619]
- Llach J, Ginès P, Arroyo V, Salmerón JM, Ginès A, Jiménez W, Gaya J, Rivera F, Rodés J. Effect of dipyridamole on kidney function in cirrhosis. *Hepatology* 1993; 17: 59-64 [PMID: 8423042 DOI: 10.1002/hep.1840170112]
- 周晓琳, 陈一东, 覃慧敏, 谢迎春, 冯芳, 叶丰, 谭宏祐. 影响肝硬化腹水并发腹膜炎患者预后的危险因素分析. 现代中西医结合杂志 2008; 17: 1634-1635
- 刘晓刚. 肝硬化腹水并原发性腹膜炎25例临床分析. 临床和实验医学杂志 2007; 6: 90

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



腹部超声、CT及血清甲胎蛋白诊断原发性肝癌的临床疗效比较

张 力, 米成嵘

张力, 米成嵘, 宁夏医科大学总医院超声科 宁夏回族自治区银川市 750004

张力, 副主任医师, 主要从事临床超声检查及治疗研究.

作者贡献分布: 张力与米成嵘对此文所作贡献均等; 此研究由张力与米成嵘设计; 研究过程由张力与米成嵘操作完成; 数据分析由张力完成; 本论文写作由张力与米成嵘完成.

通讯作者: 张力, 副主任医师, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区胜利南街804号, 宁夏医科大学总医院超声科.

zhangli3293@126.com

电话: 0951-6743292

收稿日期: 2014-09-05 修回日期: 2014-10-23

接受日期: 2014-11-04 在线出版日期: 2015-01-08

Comparative analysis of ultrasound, computed tomography and alpha fetoprotein in diagnosis of primary liver cancer

Li Zhang, Cheng-Rong Mi

Li Zhang, Cheng-Rong Mi, Department of Ultrasound, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Li Zhang, Associate Chief Physician, Department of Ultrasound, General Hospital of Ningxia Medical University, 804 Shengli South Street, Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. zhangli3293@126.com

Received: 2014-09-05 Revised: 2014-10-23

Accepted: 2014-11-04 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic value of ultrasound, alpha fetoprotein (AFP) and computed tomography (CT) for primary liver cancer.

METHODS: Two hundred and eight patients with pathologically or clinically confirmed primary liver cancer who were treated and underwent ultrasound, CT and AFP examinations at Ningxia Medical University General Hospital from January 2000 to December 2008 were included. According to ultrasound and CT findings, primary liver cancer could be classified into 3 types: (1) huge mass type; (2) nodular type; and (3) diffuse type.

RESULTS: AFP evaluation revealed 124 positive cases and 84 (40.4%) negative cases, with a sensitivity of 59.6%. Ultrasound detected liver lesions in 186 cases (sensitivity, 89.4%), of which 162 (87.1%) achieved a diagnosis (including 24 cases with space occupying liver lesions) and 22 (10.6%) had a misdiagnosis. CT examination detected liver lesions in 190 cases (sensitivity, 91.3%), of which 170 (89.4%) achieved a diagnosis, 20 had undetermined nature of lesions, and 18 (8.7%) had a misdiagnosis.

CONCLUSION: Combination of the three modalities may yield better detective results.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatoma; Alpha fetoprotein; Ultrasound; Computed tomography

Zhang L, Mi CR. Comparative analysis of ultrasound, computed tomography and alpha fetoprotein in diagnosis of primary liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 139-141 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.139>

摘要

目的: 讨论超声、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)及计算机断层扫描(computed tomography, CT)对原发性肝癌的诊断价值.

方法: 2000-01/2008-12宁夏医科大学总医院肝胆外科共收治经超声、CT及AFP诊断并经手术病理或临床证实的原发性肝癌208例. 208例经手术病理或临床证实的原发性肝癌, 全部病例均作了B超、AFP及CT检查. 根据超声及CT所见将其分为三型: (1)巨块型; (2)结节型; (3)弥漫型.

结果: AFP检查: 阳性124例, 敏感性为59.6%. AFP检查阴性84例(40.4%). 超声共检出肝癌

背景资料

肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 肝癌占我国癌症死亡人数的第2位, 我国每年约有11万人死于肝癌. 尝试分析甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)对肝癌的诊断价值以期对肝癌的早期发现及治疗提供一定的理论依据.

同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

相关报道
禹红曾报告AFP阳性率52.9%;梁红杰报告螺旋CT对原发性肝癌的正确诊断率达84%。

病灶186例,敏感性为89.4%,其中162例做出定性诊断(87.1%),24例提示肝内占位性病变。漏误诊22例(10.6%)。CT检查:共检出肝癌病灶190例,敏感性为91.3%,其中做出定性诊断170例(89.4%),未予定性20例。漏误诊18例(8.7%)。

结论:如果3种方法联合使用,可提高肝癌的检出率。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:肝细胞癌;甲胎蛋白;超声学;计算机断层扫描

核心提示:本组计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查做出定性诊断170例(89.4%)。CT对显示2 cm以内的肝癌也有一定限度。本组13例中CT也只检出6例,与超声相比未显示出优越性。此外CT检查费用较贵,对大多数肝癌患者来说,CT还不能作为常规检查。

张力,米成嵘.腹部超声、CT及血清甲胎蛋白诊断原发性肝癌的临床疗效比较.世界华人消化杂志 2015; 23(1): 139-141
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.139>

0 引言

肝癌是常见的恶性肿瘤之一,肝癌占我国癌症死亡人数的第2位,我国每年约有11万人死于肝癌^[1]。70年代以来,我国主要采用甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)诊断原发性肝癌,其价值已经得到公认^[2]。近年来由于B型超声的应用,特别是高分辨力计算机断层扫描(computed tomography, CT)的问世,使肝癌的诊断发生了显著变化^[3-5]。2000-01/2008-12宁夏医科大学总医院肝胆外科共收治经超声、CT及AFP诊断并经手术病理或临床证实的原发性肝癌208例,现总结如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组男158例,女50例。最大年龄75岁,最小23岁,45岁以上164例。病程为1 wk-13 mo不等。临床表现:乏力、纳差、右上腹隐痛115例,腹胀、消瘦、体质量减轻48例,右上腹部触及肿块25例,体检发现20例。84例有慢性肝炎病史,41例有肝硬化病史。全部病例均作了AFP、超声及CT三项检查,部分病例有两次以上的检查结果。208例中三项检查结果一致者141例,任意两项检查结果一致者84例,单项AFP检查阳性者5例。

1.2 方法 采用双抗体放射免疫法测定AFP;超声检查:使用仪器为Apogee 800和HP Image Point,探头频率为3.5 MHz;CT检查:采用GE多排螺旋CT机,层厚为5-10 mm,全部病例均先作常规CT平扫,其中168例加作了静脉增强CT扫描。

2 结果

AFP检查:阳性124例,敏感性为59.6%。AFP检查阴性84例(40.4%)。超声共检出肝癌病灶186例,敏感性为89.4%,其中162例做出定性诊断(87.1%),24例提示肝内占位性病变。漏误诊22例(10.6%)。CT检查:共检出肝癌病灶190例,敏感性为91.3%,其中做出定性诊断170例(89.4%),未予定性20例。漏误诊18例(8.7%)。其中经手术病理证实149例(包括AFP单项阳性的5例),CT导向下经皮肝穿刺细胞学证实5例,半年左右无其他原因死亡26例,超声、CT复查及X线检查发现转移17例,其余11例具有典型肝癌的临床表现,且上述三项检查结果一致,其中5例经肝动脉造影证实为肝癌。

3 讨论

3.1 原发性肝癌的超声表现 本组超声共检出肝癌186例,癌块直径为1.2-13.0 cm。我们按照全国肝癌病理协作组1979年通过的标准,将其分为三型:(1)巨块型:此型在本组中占大多数,共127例(68.3%),癌块直径均>5 cm,其中单发巨块107例,多发巨块20例。此型一般都具有较典型的超声征象,诊断不难。超声声像图见病变大多呈圆形或类圆形边界清楚的高回升区,亦可为分叶状或不规则形,病变密度均匀或不均匀。伴周围圆环状声晕。彩色多普勒多显示肿瘤内异常血流较丰富。此型中伴有门静脉癌栓64例,腹膜后淋巴结肿大35例;(2)结节型:共47例(25.3%),癌块直径<5 cm,其中单发结节35例,多发结节12例。病变多呈圆形边界模糊的低密度区,病灶一般无明显坏死液化;(3)弥漫型:共12例(6.5%),病变表现为整个肝区回声强弱不一,分布不均匀,病灶之间无明显界限。这一型常与肝硬化相混淆,而且又往往合并肝硬化,故诊断较难。此外本组超声检出直径<2 cm的肝癌6例,最小仅1.2 cm,因癌灶较小,有时容易漏诊或误为胆管扩张的断面。这6例小肝癌均有两次或两次以上的超声复查结果,显示病灶较前增大5例,无变化1例。超声能明确显示肝癌大小、形态、位置及其内部情况,彩色多普勒能检出肝癌内血流信号,检出率

创新盘点
收集原发性肝癌患者的AFP、超声和CT检查结果,并对数据进行比较分析,从而得出原发性肝癌的早期诊断需要AFP检测、超声和CT检查联合进行。

可达95%, 使超声诊断肝癌的准确性从85%提高到98%^[6]. 本组为89.4%. 超声对显示直径<2 cm的肝癌有一定限度, 本组12例中只检出6例. 超声对弥漫型肝癌以及肝硬化合并巨块型肝癌易误诊为肝硬化, 本组有9例; 对肝左叶及肝右叶膈顶部的癌肿易于漏诊, 因受肺及胃气体的影响难以显示, 并且仅能对同一层肝及病变进行观察^[7], 本组有2例. 近年超声造影用于观察肿瘤组织内血流灌注状态, 超声造影和增强CT在显示原发性肝癌的血流灌注特点和敏感性方面没有明显差别, 提示超声造影和增强CT都可用于对肝癌的临床诊断, 但超声造影具有简单易行、安全、价廉、实时动态观察的优点^[8,9]. 超声造影对小肝癌及隐匿性肝癌的发现早于CT、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)^[10].

3.2 AFP的检测 对肝癌具有一定的诊断和鉴别诊断价值. AFP的浓度与肿瘤大小(肿瘤的细胞数)有关, 但个体差异较大. 对<3 cm的原发性肝癌阳性率仅为25%-50%, 结节型阳性率53.8%, 巨块型为62%. AFP在原发性肝癌的诊断中, 强调动态观察, 如AFP升高连续超过4 wk, 既可诊断. 20年前AFP在原发性肝癌的阳性诊断率可达70%-90%, 近年来已明显下降, 其原因尚不十分清楚. 可能与人们生活条件的改变和原发性肝癌的发病机制的变化有关^[11]. 有人观察了3177例AFP低度持续阳性者, 1年内肝癌发生率10.46%, 为当地人群的315.2倍, AFP的升高有助于早期诊断肝癌, 判定其预后、疗效和复发^[12]. 禹红^[13]曾报告AFP阳性率52.9%. 本组AFP阳性率仅为59.6%. 本组有3例肝癌AFP明显升高, 而超声及CT皆为阴性, 后经手术证实为弥漫型肝癌, 这就说明AFP诊断肝癌的作用并不能由发展迅速的影像学诊断所代替.

3.3 原发性肝癌的CT表现 本组CT共检出肝癌190例. 巨块型和结节型(177例): CT平扫见病变大多呈圆形或类圆形边界模糊的低密度区, 亦可为分叶状或不规则形, 病变密度均匀或不均匀. 动脉期强化后扫描见病变密度均有不同程度的增强, 轮廓显示清楚. 部分病例平扫可见较大坏死液化腔, CT值近似水样密度, 强化后仅见病变周边有轻度增强. 门脉期和延迟期扫描瘤内密度快速减退. 伴有肝门饱满、移位及肝门结构不清78例, 腹膜后淋巴结肿大39例. 弥漫型

(13例): 此型最少, CT表现为整个肝脏弥漫分布的大小不等的小结节状低密度影, 癌结节一般在2 cm左右, 病灶之间无明显界限. 这一型常与肝硬化相混淆, 而且又往往合并肝硬化, 故诊断较难. 梁红杰^[14]报告螺旋CT对原发性肝癌的正确诊断率达84%. 本组CT检查做出定性诊断170例(89.4%). CT对显示2 cm以内的肝癌也有一定限度. 本组13例中CT也只检出6例, 与超声相比未显示出优越性. 此外CT检查费用较贵, 对大多数肝癌患者来说, CT还不能作为常规检查.

总之, 我们主张对疑有肝癌患者, 无论AFP是阴性还是阳性, 都应进一步作超声和CT检查, 这样才不致贻误病情. 如果AFP、超声及CT联合应用和相互补充, 不仅可提高肝癌的检出率, 而且有可能对其获得早期诊断, 使患者得到早期治疗.

4 参考文献

- 1 黄志强, 黄晓强. 肝胆胰外科聚集. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2005: 24-26
- 2 汤钊猷主编. 原发性肝癌. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1981: 178-180
- 3 苏赞瑞, 莫定彪. 医学影像学在肝癌诊断中的应用. 医学综述 2009; 15: 2502-2505
- 4 郭明江, 陈龙华, 金吴东. PET-CT和MRI与螺旋CT对原发性肝癌病灶检出的对比观察. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 852-854
- 5 Mihara S, Nagano K, Kuroda K, Yoshioka R, Sawatari M, Koba H, Tanaka S, Hirao S, Machihara M, Hondou K, Morimoto E, Koyama W. Efficacy of ultrasonic mass survey for abdominal cancer. *J Med Syst* 1998; 22: 55-62 [PMID: 9571511 DOI: 10.1023/A:1022634900391]
- 6 李治安, 李建国, 刘吉斌. 临床超声影像学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 941-950
- 7 孙灿辉, 李子平, 徐辉雄, 孟俊非, 冯仕庭, 范森, 彭振鹏, 郭欢仪. 周围型肝内胆管细胞癌的CT和超声双期增强的对比研究. 中国医学影像技术 2008; 24: 101-104
- 8 聂刚, 梅渐川. 微泡造影剂在肝脏疾病诊治中的研究进展. 临床超声医学杂志 2006; 8: 43-45
- 9 金成兵, 朱辉, 王智彪, 福田浩之, 大藤正雄, 张炼, 周昆, 杨伟, 彭松, 冉立烽. 超声造影在HIFU治疗肝癌近期疗效评价中的作用. 临床超声医学杂志 2009; 11: 101-102
- 10 夏宇, 姜玉新, 戴晴, 吕柯, 高媛. 超声造影对肝局限性病变的诊断价值与增强CT对比研究. 中华超声影像学杂志 2008; 17: 576-579
- 11 张秉琪, 刘馨, 安致. 肿瘤标志物临床手册. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2008: 11-14
- 12 廖慧钰. 血清肿瘤标记物在肝癌诊断中的应用. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 379-380
- 13 禹红. 10种肿瘤标志物对肝癌的诊断价值. 实用预防医学 2009; 16: 545-547
- 14 梁红杰. 原发性肝癌的螺旋CT诊断分析. 医学信息手术学分册 2008; 21: 545-547

应用要点
本文对原发性肝癌患者的AFP、超声和CT检查结果进行分析, 总结其特点, 为肝癌的早期诊断提供依据.

同行评价
本研究设计尚合理, 结果可靠, 有一定的参考价值.

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



重症急性胰腺炎患者血浆内皮素-1、一氧化氮的动态变化及前列地尔的干预作用

吴钢, 姜琦, 赵昌杰, 童诚

背景资料
重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是临床上起病凶险, 病死率高的急腹症之一。SAP 的发病机制非常复杂, 其中胰腺微循环障碍作为 SAP 启动、持续损害的因素, 其作用越来越受到重视。

吴钢, 姜琦, 童诚, 南通大学医学院附属东台人民医院消化内科 江苏省东台市 224200
赵昌杰, 南通大学医学院附属东台人民医院内镜室 江苏省东台市 224200
作者贡献分布: 此课题由童诚与姜琦负责实验设计、指导论文写作及修改工作; 由吴钢负责具体实验、实验数据整理及论文撰写; 由赵昌杰负责实验试剂购买、采集血样及实验协助工作。
通讯作者: 童诚, 主治医师, 224200, 江苏省东台市东台镇康复西路6号, 南通大学医学院附属东台人民医院消化内科。
wugangxuyi1981@163.com
电话: 0515-85253914
收稿日期: 2014-10-17 修回日期: 2014-11-13
接受日期: 2014-11-25 在线出版日期: 2015-01-08

Changes in plasma ET-1 and NO in patients with severe acute pancreatitis and effect of alprostadil on ET-1 and NO

Gang Wu, Qi Jiang, Chang-Jie Zhao, Cheng Tong

Gang Wu, Qi Jiang, Cheng Tong, Department of Gastroenterology, the Affiliated Dongtai People's Hospital of School of Medicine, Nantong University, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China
Chang-Jie Zhao, Department of Digestive Endoscopy, the Affiliated Dongtai People's Hospital of School of Medicine, Nantong University, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Cheng Tong, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Dongtai People's Hospital of School of Medicine, Nantong University, 6 Kangfu West Road, Dongtai Town, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China. wugangxuyi1981@163.com
Received: 2014-10-17 Revised: 2014-11-13
Accepted: 2014-11-25 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To detect the changes in plasma endothelin-1 (ET-1) and nitric oxide (NO) in patients with severe acute pancreatitis and to observe the effect of alprostadil on ET-1 and NO levels.

METHODS: Sixty patients with SAP were randomly divided into two groups: a control group ($n = 30$) or a combination group ($n = 30$). The control group received intravenous infusion of somatostatin on the basis of conventional therapy, and the combination group received

intravenous infusion of alprostadil and somatostatin on the basis of conventional therapy. Plasma levels of ET-1 and NO were measured at admission, 12 h, 48 h, 72 h, and 1 week after onset, and ET-1/NO ratio was calculated.

RESULTS: Plasma levels of ET-1 and NO initially increased, peaked at 12 h, were still maintained at high levels at 72 h, and then declined at 1 week below the levels at admission. The trend of changes of ET-1 and NO were similar between the two groups from admission to 24 h (ET-1 at admission: $97.7 \text{ ng/L} \pm 14.9 \text{ ng/L}$ vs $98.8 \text{ ng/L} \pm 15.6 \text{ ng/L}$; 12 h: $157.4 \text{ ng/L} \pm 14.4 \text{ ng/L}$ vs $160.3 \text{ ng/L} \pm 15.8 \text{ ng/L}$; 24 h: $146.0 \text{ ng/L} \pm 18.8 \text{ ng/L}$ vs $146.4 \text{ ng/L} \pm 19.2 \text{ ng/L}$; NO at admission: $29.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.4 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $29.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 6.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 12 h: $40.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.9 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $41.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 5.5 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 24 h: $39.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.7 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $39.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.6 \text{ } \mu\text{mol/L}$; $P > 0.05$ for all). The levels of ET-1 decreased more significantly from 48 h to 1 week in the combination group (48 h: $134.1 \text{ ng/L} \pm 18.5 \text{ ng/L}$ vs $128.3 \text{ ng/L} \pm 17.8 \text{ ng/L}$; 72 h: $99.5 \text{ ng/L} \pm 16.6 \text{ ng/L}$ vs $109.8 \text{ ng/L} \pm 17.3 \text{ ng/L}$; 1 wk: $71.4 \text{ ng/L} \pm 12.1 \text{ ng/L}$ vs $78.8 \text{ ng/L} \pm 13.3 \text{ ng/L}$; $P < 0.05$ for all), while the levels of NO decreased more significantly in the control group (48 h: $30.1 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.9 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $33.8 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.1 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 72 h: $22.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.8 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $28.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.2 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 1 wk: $17.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.7 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $20.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.4 \text{ } \mu\text{mol/L}$; $P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: ET-1 and NO are important factors mediating microcirculation disturbance in SAP. Alprostadil can ameliorate pancreatic microcirculation possibly by altering ET-1 and NO expression.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endothelin-1; Nitric oxide; Alprostadil; Severe acute pancreatitis

同行评议者
李国威, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

Wu G, Jiang Q, Zhao CJ, Tong C. Changes in plasma ET-1 and NO in patients with severe acute pancreatitis and effect of alprostadil on ET-1 and NO. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 142-146 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.142>

摘要

目的: 观察重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者血浆内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、一氧化氮(nitric oxide, NO)的动态变化及前列地尔对其表达的影响。

方法: 60例SAP患者, 随机分成两组, 每组30例, 对照组在一般治疗的基础上单用生长抑素治疗, 联合组为生长抑素联合前列地尔治疗。在入院即刻、发病12、24、48、72 h、1 wk分别检测两组患者血浆ET-1及NO浓度, 并计算ET-1/NO值。

结果: 两组患者血浆ET-1及NO水平均呈先升高再下降的趋势, 12 h时达到高峰后逐渐下降, 72 h时仍维持在高水平, 1 wk后下降至低于入院即刻水平。入院即刻至发病24 h时两组ET-1及NO水平变化趋势类似(ET-1: 入院即刻: $97.7 \text{ ng/L} \pm 14.9 \text{ ng/L}$ vs $98.8 \text{ ng/L} \pm 15.6 \text{ ng/L}$; 12 h: $157.4 \text{ ng/L} \pm 14.4 \text{ ng/L}$ vs $160.3 \text{ ng/L} \pm 15.8 \text{ ng/L}$; 24 h: $146.0 \text{ ng/L} \pm 18.8 \text{ ng/L}$ vs $146.4 \text{ ng/L} \pm 19.2 \text{ ng/L}$; NO: 入院即刻: $29.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.4 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $29.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 6.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 12 h: $40.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.9 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $41.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 5.5 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 24 h: $39.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.7 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $39.7 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.6 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 均 $P>0.05$), 48 h后ET-1水平联合组下降较对照组更明显(48 h: $134.1 \text{ ng/L} \pm 18.5 \text{ ng/L}$ vs $128.3 \text{ ng/L} \pm 17.8 \text{ ng/L}$; 72 h: $99.5 \text{ ng/L} \pm 16.6 \text{ ng/L}$ vs $109.8 \text{ ng/L} \pm 17.3 \text{ ng/L}$; 1 wk: $71.4 \text{ ng/L} \pm 12.1 \text{ ng/L}$ vs $78.8 \text{ ng/L} \pm 13.3 \text{ ng/L}$; 均 $P<0.05$), 而NO水平48 h后对照组较联合组下降更明显(48 h: $30.1 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.9 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $33.8 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.1 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 72 h: $22.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.8 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $28.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 4.2 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 1 wk: $17.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.7 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $20.2 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 3.4 \text{ } \mu\text{mol/L}$; 均 $P<0.05$)。

结论: ET-1、NO是介导SAP微循环障碍的重要因素, 前列地尔能改善胰腺微循环, 可能是通过影响ET-1、NO的表达起作用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内皮素-1; 一氧化氮; 前列地尔; 重症急性胰腺炎

核心提示: 胰腺微循环障碍在重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的发生、发展中起重要作用。内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是一种极强的缩血管物质, 一氧化氮(nitric oxide, NO)是目前所知的一种最强的舒血管介质, ET1/NO是评价胰腺微循环的重要指标。本试验发现前列地尔可以抑制ET1/NO比值的上升, 从而改善微循环, 改善SAP患者的预后。本研究为临床治疗SAP提供了新思路。

吴钢, 姜琦, 赵昌杰, 童诚. 重症急性胰腺炎患者血浆内皮素-1、一氧化氮的动态变化及前列地尔的干预作用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(1): 142-146 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.142>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的急腹症。重症者起病急骤、病情危重, 称为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)。SAP的发病机制非常复杂, 其发生发展受多种因素影响^[1-3]。近年来, 胰腺微循环障碍作为SAP启动、持续损害的因素, 其作用越来越受到重视^[4]。本文观察了SAP患者血浆内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、ET-1/NO的动态变化及前列地尔的干预作用, 探讨了微循环障碍在SAP发病中的作用及前列地尔对于改善微循环的效果。

1 材料和方法

1.1 材料 选取南通大学医学院附属东台医院消化内科2012-05/2014-05收治SAP患者60例, 患者均于发病12 h内入院。SAP诊断参照指南^[5]。将60例SAP患者按照随机数字表分为两组, 单用生长抑素治疗为对照组30例; 采用生长抑素联合前列地尔治疗为联合组30例。年龄、性别、急性生理与慢性健康II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分^[6]、CT严重指数(CT severity index, CTSI)评分^[7]方面2组差异均无统计学意义(均 $P>0.05$), 所有入选病例均无严重基础疾病, 女性为非哺乳期、非孕产妇。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者入院后均给予禁食、胃肠减压、液体复苏、抗感染、空肠管肠内营养等治疗, 有胆总管结石、梗阻性黄疸的患者立即行经内镜逆行胰胆管造影下取石术或鼻胆管引

研究前沿
SAP病情重、并发症多, 传统治疗方法存在诸多不足。应用前列地尔可以一定程度地改善SAP微循环, 改善患者预后。探索改善SAP预后的途径成为临床研究热点。

创新盘点
本研究观察前列地尔干预后SAP患者ET-1/NO的变化, 探索前列地尔改善微循环治疗SAP的机制。

应用要点

本研究应用前列地尔治疗SAP, 实验结果说明前列地尔可以改善ET-1/NO比值, 提示前列地尔可以改善SAP患者胰腺微循环。

表 1 两组患者一般情况比较

项目	对照组	联合组
<i>n</i>	30	30
性别(男/女)	21/9	20/10
年龄(岁)	50.5 ± 16.4	50.7 ± 14.2
入院时发病时间(h)	6.2 ± 1.5	6.1 ± 1.0
病因(<i>n</i>)		
胆道疾病	17	16
暴饮暴食	4	5
高脂血症	4	4
其他	5	5
血淀粉酶(IU/L)	1032.9 ± 358.7	1048.5 ± 435.6
CTSI评分(分)	6.0 ± 0.8	5.9 ± 0.8
APACHE II 评分(分)	11.8 ± 2.4	11.4 ± 1.9

APACHE II: 急性生理与慢性健康 II。

流术。对照组在上述治疗基础上加用生长抑素 6 mg, 24 h 持续泵入。联合组在上述治疗基础上给予生长抑素 6 mg, 24 h 持续泵入, 并给予前列地尔 20 μg 加入生理盐水 100 mL 快速静脉滴注, 1 次/d, 连续 7 d。若确诊为坏死胰腺组织继发感染和/或腹腔间隔室综合征时则转外科行手术治疗。

1.2.2 标本采集: 入院即刻、发病 12、24、48、72 h、发病 1 wk 时分别抽取外周血, 检测 ET-1 及 NO 水平。ET-1 采用 ELISA 测定, 试剂盒购自 Thermo 公司。NO 采用硝酸还原法测定, 试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。实验步骤均根据试剂盒说明书。

统计学处理 使用 SPSS13.0 软件进行数据分析, 计量资料用 mean ± SD 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况比较 两组患者年龄、性别、入院时发病时间、病因、血浆淀粉酶、APACHE II 及 CTSI 评分无统计学差异(表 1)。

2.2 两组患者血浆 ET-1 的变化 对照组患者血浆 ET-1 水平发病 12 h 内逐渐升高, 12 h 时达到高峰, 后逐渐下降, 72 h 时仍维持在高水平, 1 wk 后下降至低于入院前水平。联合组血浆 ET-1 水平亦有此变化, 但 24 h 开始两组变化曲线分离, 联合组下降速度较对照组快。48 h 时联合组 ET-1 与对照组比较无统计学差异($P = 0.20$), 但较低($134.1 \text{ ng/L} \pm 18.5 \text{ ng/L}$ vs $128.3 \text{ ng/L} \pm 17.8 \text{ ng/L}$)。72 h

及 1 wk 时两组血浆 ET-1 水平均有统计学差异(t 值分别为 -2.470、-21.790, P 值分别为 0.020、0.000), 且联合组较对照组低(表 2)。

2.3 两组患者血浆 NO 水平的变化 对照组患者血浆 NO 水平发病 12 h 时达到高峰, 后逐渐下降, 1 wk 后下降至 $17.0 \text{ μmol/L} \pm 3.7 \text{ μmol/L}$ 。联合组血浆 NO 变化亦如此, 但 24 h 开始两组 NO 变化曲线分离, 联合组下降速度较对照组慢。48、72 h 及 1 wk 时两组血浆 NO 水平均有统计学差异(t 值分别为 -3.411、-5.081、-3.679, P 值分别为 0.002、0.000、0.001), 且联合组较对照高(表 2)。

2.4 两组患者 ET-1/NO 值的变化 对照组 ET-1/NO 值入院后逐渐升高, 12 h 后下降, 24 h 后又升高, 在 72 h 时达到峰值, 后逐渐下降, 1 wk 后仍维持在高水平。24 h 开始两组变化曲线开始分离, 联合组 ET-1/NO 值变化曲线较对照组平稳, 缓慢上升, 48、72 h、1 wk 时两组 ET-1/NO 值均有统计学差异(t 值分别为 11.003、6.001、2.165, P 值分别为 0.000、0.000、0.039)(表 2)。

3 讨论

胰腺的微循环障碍导致的胰腺缺血是 AP 发病的启动因素, 也是轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)向 SAP 转化的重要因素^[8-11]。SAP 早期严重的胰腺组织缺血现象被认为是引起胰组织缺血、坏死、自溶的主要决定因素。但其机制尚不完全清楚^[9,11]。ET 主要由血管内皮细胞产生。ET-1、ET-2、ET-3 均可导致微循环损害组织损伤和炎症, 其中 ET-1 作用最强^[12]。ET-1 和 NO 组成一对血管活性因子, 但二者作用相反, 且相互制约, 他们共同维持血管舒缩功能的稳定和血液的正常流动^[13]。本研究显示, 对照组中 ET-1 及 NO 水平发病后均上升, 12 h 时达到峰值, 后逐渐下降, 但仍维持在高水平。而 ET-1/NO 值发病后逐渐升高, 12 h 后下降, 24 h 后又升高, 在 72 h 时达到峰值, 后逐渐下降, 1 wk 后仍维持在高水平。说明 SAP 发病 12 h 到 24 h 中, NO 下降幅度较 ET-1 小, 胰腺微循环情况可能在此时间内一度向好的方向发展, 24 h 后出现 ET-1/NO 值较大幅度上升, NO 下降速度明显较 ET-1 加大, 胰腺微循环情况恶化, 至 1 wk 时 ET-1/NO 仍维持在较高水平。以上结果说明 SAP 时可出现内皮细胞功能不全, 表现为 ET-1、NO 的生成紊乱, 二者的平衡破坏, 使血管处于持续收缩状态, 使胰腺血流动力学发生紊乱。

表 2 两组患者血浆ET-1、NO水平及ET-1/NO比值

时间	分组	ET-1(ng/L)	NO(μmol/L)	ET-1/NO
入院即刻	对照组	97.7 ± 14.9	29.0 ± 4.4	3.38 ± 0.17
	联合组	98.8 ± 15.6	29.7 ± 6.0	3.41 ± 0.74
发病12 h	对照组	157.4 ± 14.4	40.2 ± 3.9	3.93 ± 0.20
	联合组	160.3 ± 15.8	41.2 ± 5.5	3.95 ± 0.57
发病24 h	对照组	146.0 ± 18.8	39.7 ± 4.7	3.68 ± 0.12
	联合组	146.4 ± 19.2	39.7 ± 4.6	3.68 ± 0.21
发病48 h	对照组	134.1 ± 18.5	30.1 ± 4.9	4.48 ± 0.31
	联合组	128.3 ± 17.8	33.8 ± 4.1 ^a	3.79 ± 0.17 ^a
发病72 h	对照组	99.5 ± 16.6	22.2 ± 4.8	4.50 ± 0.54
	联合组	109.8 ± 17.3 ^a	28.0 ± 4.2 ^a	3.92 ± 0.16 ^a
发病1 wk	对照组	71.4 ± 12.1	17.0 ± 3.7	4.38 ± 1.16
	联合组	78.8 ± 13.3 ^a	20.2 ± 3.4 ^a	3.91 ± 0.18 ^a

^aP<0.05 vs 相同时间对照组. ET-1: 内皮素-1; NO: 一氧化氮.

前列地尔是一种血管活性药物,可提高血液流动性,改善微循环,减轻高凝状态;还具有保护血管内皮细胞,减轻内皮细胞损伤作用,他通过调节血管活性因子的产生及平衡,使损伤的血管内皮细胞合成释放生物活性因子的功能得到恢复^[14];抑制血管内皮细胞炎症因子的产生,减轻炎症反应^[15].

本实验中联合组ET-1水平下降较对照组快,而NO水平下降较对照组慢.联合组ET-1/NO值24 h后较对照组上升幅度明显下降,提示应用前列地尔后胰腺组织中舒血管的NO较缩血管ET-1下降幅度小,因此前列地尔能改善SAP患者胰腺微循环,改善患者预后,但作用机制上是前列地尔直接引起ET-1、NO表达变化亦或前列地尔改善微循环后间接引起ET-1、NO表达变化值得进一步研究.

4 参考文献

- 1 Dhaliwal R, Madden SM, Cahill N, Jeejeebhoy K, Kutsogiannis J, Muscedere J, McClave S, Heyland DK. Guidelines, guidelines, guidelines: what are we to do with all of these North American guidelines? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 625-643 [PMID: 21097763 DOI: 10.1177/0148607110378104]
- 2 Karpavicius A, Dambraszkas Z, Sileikis A, Vitkus D, Strupas K. Value of adipokines in predicting the severity of acute pancreatitis: comprehensive review. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6620-6627 [PMID: 23236237 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6620]
- 3 Lowenfels AB, Maisonneuve P, Sullivan T. The changing character of acute pancreatitis: epidemiology, etiology, and prognosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 97-103 [PMID: 19281696 DOI: 10.1007/s11894-009-0016-4]

- 4 Zhang XP, Li ZJ, Zhang J. Inflammatory mediators and microcirculatory disturbance in acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 351-357 [PMID: 19666402]
- 5 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013年, 上海). *中华消化杂志* 2013; 33: 217-222
- 6 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829 [PMID: 3928249 DOI: 10.1097/00003246-198510000-00009]
- 7 Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JH. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology* 1990; 174: 331-336 [PMID: 2296641 DOI: 10.1148/radiology.174.2.2296641]
- 8 卢世云, 潘秀珍. 重症急性胰腺炎发病机制研究现状. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2421-2425
- 9 Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 518-530 [PMID: 16607683 DOI: 10.1002/bjs.5316]
- 10 Petrov MS. Therapeutic implications of oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13: 562-568 [PMID: 20543682 DOI: 10.1097/MCO.0b013e32833b64b9]
- 11 Zhou ZG, Chen YD. Influencing factors of pancreatic microcirculatory impairment in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 406-412 [PMID: 12046059]
- 12 Sandoval YH, Atef ME, Levesque LO, Li Y, Anand-Srivastava MB. Endothelin-1 signaling in vascular physiology and pathophysiology. *Curr Vasc Pharmacol* 2014; 12: 202-214 [PMID: 24568156 DOI: 10.2174/1570161112666140226122054]
- 13 Vozzi F, Bianchi F, Ahluwalia A, Domenici C. Hydrostatic pressure and shear stress affect endothelin-1 and nitric oxide release by endothelial cells in bioreactors. *Biotechnol J* 2014; 9: 146-154 [PMID: 23959971 DOI: 10.1002/biot.201300016]
- 14 Heider P, Wildgruber M, Wolf O, Schuster T, Lutzenberger W, Berger H, Eckstein HH. Improvement

名词解释

微循环: 微动脉与微静脉之间的血液循环通路, 他是机体细胞代谢的重要场所.

同行评价

该文主题明确, 实验技术路线清晰, 科学性强. 讨论说理性强, 逻辑性好. 该实验结果对研究急性胰腺炎治疗有参考价值.

of microcirculation after percutaneous transluminal angioplasty in the lower limb with prostaglandin E1. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2009; 88: 23-30 [PMID: 18832042 DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2008.09.001]

15 Fang W, Li H, Zhou L, Su L, Liang Y, Mu Y. Effect of prostaglandin E1 on TNF-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. *Can J Physiol Pharmacol* 2010; 88: 576-583 [PMID: 20555427 DOI: 10.1139/Y10-028]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



血浆miR-210联合血清肿瘤标志物对胰腺癌的诊断价值

胡应霞, 张海蓉, 石 围, 唐君瑞

胡应霞, 张海蓉, 石围, 唐君瑞, 昆明医科大学第一附属医院
消化内科 云南省昆明市 650032

胡应霞, 在读硕士, 主要从事胰腺疾病的基础研究。

云南省科技计划基金资助项目, No. 2012FB026

作者贡献分布: 此课题由张海蓉设计; 研究内容由胡应霞、石围及唐君瑞统计汇总; 数据分析由胡应霞完成; 论文由胡应霞与张海蓉完成。

通讯作者: 张海蓉, 教授, 650032, 云南省昆明市五华区西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。zhr919@sina.com
电话: 0871-65326888

收稿日期: 2014-09-02 修回日期: 2014-11-13

接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2015-01-08

Diagnostic value of plasma miR-210 combined with serum tumor markers in pancreatic cancer

Ying-Xia Hu, Hai-Rong Zhang, Wei Shi, Jun-Rui Tang

Ying-Xia Hu, Hai-Rong Zhang, Wei Shi, Jun-Rui Tang,
Department of Gastroenterology, the First Affiliated
Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032,
Yunnan Province, China

Supported by: the Science and Technology Program of
Yunnan Province, No. 2012FB026

Correspondence to: Hai-Rong Zhang, Professor,
Department of Gastroenterology, the First Affiliated
Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang
Road, Wuhua District, Kunming 650032, Yunnan Province,
China. zhr919@sina.com

Received: 2014-09-02 Revised: 2014-11-13

Accepted: 2014-11-19 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of the combination of plasma miR-210 with serum tumor markers in patients with pancreatic cancer.

METHODS: Sixty patients with pancreatic cancer, twenty patients with chronic pancreatitis, and ten normal people were included in the study. Total RNA was extracted from plasma samples for measurement of miR-210 levels using real-time PCR. Simultaneously, serum tumor markers carbohydrate antigen 199 (CA199), CA242 and carcino-embryonic antigen (CEA) were determined. The relationship between miR-210 levels and clinical characteristics of pancreatic

cancer patients was analyzed. The diagnostic efficiency of combination of plasma miR-210 with serum tumor markers CA199, CA242, and CEA in pancreatic cancer patients was evaluated.

RESULTS: The relative abundance of plasma miR-210 was significantly higher in the pancreatic cancer group than in the chronic pancreatitis and normal groups (4.12 ± 4.51 vs 1.49 ± 3.94 , -1.73 ± 4.82 ; $P < 0.01$ for both). Plasma miR-210 levels showed no significant correlation with CA199, CA242, CEA, tumor diameter, TNM stage or clinical stage in pancreatic cancer patients. Analysis using a binary logistic regression model showed that the diagnostic sensitivity and specificity of miR-210 alone were 96.7% and 50% for the pancreatic cancer group vs normal group, 95% and 25% for the pancreatic cancer group vs chronic pancreatitis group, and 86.7% and 40% for the pancreatic cancer group vs chronic pancreatitis and normal group. When plasma miR-210 was combined with serum tumor markers CA199, CA242, or CEA, the sensitivity and specificity in the three groups were 96.7% and 70%, 90% and 85%, 86.7% and 90%, respectively.

CONCLUSION: The combination of plasma miR-210 with serum tumor markers CA199, CA242 or CEA can improve diagnostic efficiency in patients with pancreatic cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Plasma miR-210; Serum tumor markers; Pancreatic cancer; Diagnostic value

Hu YX, Zhang HR, Shi W, Tang JR. Diagnostic value of plasma miR-210 combined with serum tumor markers in pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 147-152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/147.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.147>

摘要

目的: 探讨血浆miR-210联合血清肿瘤标志物糖链抗原199(carbohydrate antigen 199,

背景资料

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。目前,临床上外科手术切除仍是胰腺癌的唯一治愈方法,而大部分确诊时已失去手术机会。目前常用的血清肿瘤标志物中糖链抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)作为胰腺癌的早期诊断及胰腺癌的筛选指标尚有许多不足。因此需要发现新的肿瘤标志物。

同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科; 谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

研发前沿

微小RNA(microRNA, miRNA)是内源性的非编码RNA分子,具有抑癌基因与癌基因的双重作用,是与肿瘤发生发展有关的新的调节分子家族之一。miRNA比mRNA更短,抵抗核酸酶降解的能力更强,基于miRNA的诊断结果也就更可靠。miRNA在血清中可长期稳定存在,且不易被降解,故有望成为胰腺癌诊断标志物。

CA199)、CA242、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)对胰腺癌的诊断价值。

方法: 对60例胰腺癌患者、20例慢性胰腺炎患者及10例正常对照组的血标本进行RNA抽提,并进行miR-210的实时PCR检测,同时对血清肿瘤标志物CA199、CA242、CEA进行检测,分析血浆miR-210相对表达量与临床特征的关系,评估血浆miR-210联合血清肿瘤标志物CA199、CA242、CEA对胰腺癌的诊断效能。

结果: miR-210在胰腺癌血浆中的相对表达量显著高于慢性胰腺炎组及正常对照组(4.12 ± 4.51 vs 1.49 ± 3.94 , -1.73 ± 4.82 ; 均 $P < 0.01$),胰腺癌患者血浆miR-21水平与CA199、CA242、CEA、肿瘤最大直径、TNM分期及临床分期无关。经二分类Logistic回归模型分析发现,血浆miR-210单独在胰腺癌组比正常组、胰腺癌组比慢性胰腺炎组和胰腺癌组比慢性胰腺炎组+正常组中的敏感性、特异性分别为: 96.7%、50.0%; 95.0%、25.0%; 86.7%、40.0%。血浆miR-210联合肿瘤标志物CA199、CA242、CEA后在以上三组中的敏感性、特异性分别为: 96.7%、70.0%; 90.0%、85.0%; 86.7%、90.0%。

结论: 血浆miR-210联合血清肿瘤标志物CA199、CA242、CEA能提高胰腺癌的诊断效能。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血浆miR-210; 血清肿瘤标志物; 胰腺癌; 诊断价值

核心提示: 本研究探讨血浆miR-210联合血清肿瘤标志物糖链抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、CA242、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)对胰腺癌的诊断价值,结果显示血浆miR-210联合血清肿瘤标志物CA199、CA242、CEA能提高胰腺癌的诊断效能。

胡应霞, 张海蓉, 石围, 唐君瑞. 血浆miR-210联合血清肿瘤标志物对胰腺癌的诊断价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 147-152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/147.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.147>

0 引言

胰腺癌是一种常见的严重威胁人类健康的消化系恶性肿瘤,据世界卫生组织(World Health

Organization, WHO)2008年全球癌症报告(GLOBOCAN, 2008)数据统计^[1],全世界范围内每年胰腺癌发病人数约为27.87万,居恶性肿瘤的第12位。2008年在我国全部登记地区胰腺癌发病率居所有恶性肿瘤第7位,死亡率居第6位^[2]。患者总体5年生存率 $< 5\%$ ^[3]。目前,临床上外科手术切除仍是胰腺癌的唯一治愈方法,而大部分确诊时已失去手术机会。相关资料显示目前常用的血清肿瘤标志物中CA199在胰腺癌诊断中的敏感性为70%-80%^[4],而特异性甚至不到50%^[5],作为胰腺癌的早期诊断及胰腺癌的筛选指标尚有许多不足。故寻找一种早期诊断胰腺癌敏感性和特异性高的肿瘤标志物尤为重要。微小RNA(microRNA, miRNA)是内源性的非编码RNA分子,具有抑癌基因与癌基因的双重作用,在细胞增殖、分化和凋亡等方面发挥重要的作用,是与肿瘤发生发展有关的新的调节分子家族之一。许多研究^[6-13]表明,miRNAs可作为肿瘤诊断标志物,也可用于肿瘤的鉴别和预后判断。本研究旨在探讨血浆miR-210联合血清肿瘤标志物糖链抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、CA242、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)对胰腺癌的诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-08/2013-10昆明医科大学第一附属医院收治的60例胰腺癌患者,所有胰腺癌患者均经手术病理或影像学诊断证实。20例慢性胰腺炎患者通过影像学诊断,并随访半年以上无肿瘤发生。10例年龄、性别匹配的正常对照健康体检者,CA199、CA242、CEA及腹部超声均未见异常,无任何肿瘤病史。miRcute miRNA cDNA第一链合成试剂盒和miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒购自TIANGEN公司,hsa-miR-210、内参U6购自Qiagen公司。普通PCR扩增仪为日本TakaRa公司,实时荧光定量PCR仪为Stratagene公司的Mx3000P。

1.2 方法

1.2.1 血液总RNA的提取: 采集患者的EDTA抗凝外周静脉血2 mL,储存于4℃冰箱,2 d内进行处理。将外周血移入装有人淋巴细胞分离液的玻璃试管中,然后在6℃下3000 g离心20 min,之后将中间液转入另一份装有生理盐水的玻璃试管中,6℃下3000 g离心10 min,将玻璃试管

相关报道

研究表明,miR-210与缺氧及癌症有关,其是内皮细胞对于低氧环境产生的一个重要物质。miR-210在胰腺癌组织中高表达,并可与慢性胰腺炎及正常组织区分。同样,在胰腺癌患者的血浆中miR-210表达量亦升高,同样可与慢性胰腺炎及正常对照组区分。

表 1 血浆miR-210水平与胰腺癌患者临床特征的关系

临床特征	数值	miR-210	
		r值	P值
性别		-0.051	0.697
年龄(岁)	57.87 ± 12.32	-0.024 ^a	0.858
CA199(U/mL)	142.82 ± 198.91	-0.097 ^a	0.460
CA242(U/mL)	45.77 ± 160.5	0.013 ^a	0.924
CEA(ng/mL)	3.46 ± 5.19	0.044 ^a	0.737
肿瘤最大直径(cm)	3.91 ± 1.88	-0.004 ^a	0.977
T stage		-0.047	0.722
N stage		-0.086	0.516
M stage		0.093	0.478
临床分期		0.205	0.116

^a为Pearson相关分析, 其余为Spearman秩相关分析. CA199: 糖链抗原199; CEA: 癌胚抗原.

底物转入1.5 mL EP管中, 加入1 mL TRIzol液, 反应5 min, 加入氯仿200 μL, 混匀6 °C下12000 g离心15 min, 之后将上层液转至另一份1.5 mL EP管中, 加入异丙醇500 μL, 混匀6 °C下12000 g离心10 min, 倒掉管中液体, 加入750 mL/L乙醇1 mL, 6 °C下12000 g离心10 min, 倒掉管中液体, 室温下干燥10 min, 根据EP管底白色胶状物大小分别加入30-100 μL RNase-free water, 溶解后-80 °C保存.

1.2.2 RNA浓度及纯度检测: 用Thermo Scientific BioMate 3S紫外可见分光光度计进行检测.

1.2.3 cDNA的合成及荧光定量PCR: 根据RNA浓度的不同切取2-5 μL, 用miRcute miRNA cDNA第一链合成试剂盒进行反转, 反应条件为37 °C 60 min. 取反转产物0.5 μL作为模板, 用miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒进行Real-Time PCR检测, 所有反应采用三复孔, 反应条件为94 °C 2 min, 94 °C 20 s, 60 °C 34 s, 40个循环. 采用Stratagene公司的实时荧光定量PCR仪Mx3000P进行检测, U6作为内参, 相对定量值 = $-\Delta\Delta Ct = -(Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{U6})_{\text{实验样本}} - (Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{U6})_{\text{对照样本}}$.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行处理, 计量资料符合正态分布用mean ± SD表示, 符合偏态分布用median ± Q表示, 相对定量值成偏态分布、方差不齐采用Mann-Whitney U检验, 建立二分类logistic回归模型, 应用ROC曲线评价诊断效能, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

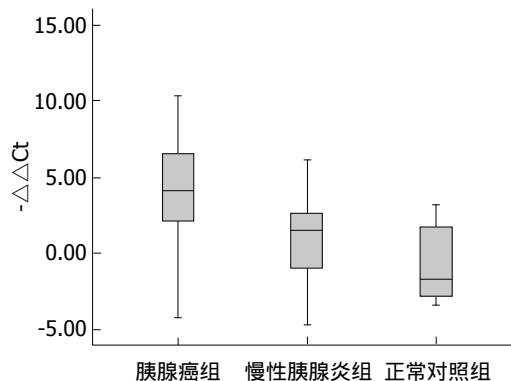


图 1 不同组血浆miR-210水平.

创新盘点

本研究分析了血浆miR-210对胰腺癌的诊断价值, 同时联合临床常用血清肿瘤标志物CA199、CA242、CEA对胰腺癌的诊断价值作了进一步分析, 并发现血浆miR-210联合血清CA199+CA242+CEA可提高胰腺癌的诊断价值.

2 结果

2.1 一般情况 60例胰腺癌中, 男33例, 女27例, 中位年龄58(33-81)岁, 其中胰头癌44例、胰体尾癌16例, TNM分期, I期19例、II期17例、III期8例、IV期16例. 20例慢性胰腺炎中, 男19例, 女1例, 中位年龄49岁(33-78岁). 10例对照中, 男5例, 女5例, 中位年龄52岁(27-65岁).

2.2 提取的RNA质量检测 所有样品浓度较好, $A_{260/280}$ 均在1.8-2.1之间.

2.3 不同组别血浆miR-210水平 胰腺癌患者血浆miR-210水平均高于慢性胰腺炎组和正常对照组($P < 0.01$), 慢性胰腺炎患者血浆miR-210水平高于正常对照组, 但差异无统计学意义(图1).

2.4 血浆miR-210水平与胰腺癌患者临床特征的关系 胰腺癌患者血浆miR-210水平与患者性别、年龄、CA199、CA242、CEA、肿瘤最大直径、TNM分期、临床分期均无关(表1).

2.5 ROC曲线下面积 血浆miR-210的ROC曲线下面积, 在胰腺癌组+正常组、胰腺癌组+慢性胰腺炎组、胰腺癌+慢性胰腺炎组+正常组的3组人群中血浆miR-210诊断胰腺癌的AUC分别为(0.870, 95%CI: 0.770-0.970)、(0.788, 95%CI: 0.685-0.892)、(0.816, 95%CI: 0.728-0.903).

2.6 诊断效能 根据不同组人群中血浆miR-210及CA199+CA242+CEA的表达量建立二分类Logistic回归(entry 0.05, removal 0.1), 将Logistic回归模型的估算概率 > 0.5 被判定诊断为胰腺癌. 将血浆miR-210、CA199/CA242/CEA单独及联合在胰腺癌比正常对照组、胰腺癌比慢性胰腺炎组和胰腺癌比慢性胰腺炎及正常对照组中的敏感性、特异性、准确性、阳性似然比(LR+)及阴性似然比(LR-)做比较, 发现血浆miR-210在各组单独诊断中敏感性较高, 但特异性稍低, 同

应用要点

本研究对胰腺癌的
诊断有一定实用
价值,加之联合
目前常用肿瘤标
志物一起可提高
诊断价值,这可为
今后研究方向提
供一定指引意义。

表 2 血浆miR-210、CA199、CA242、CEA及联合在各组间的诊断效能

分组	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	LR+	LR-
胰腺癌组 vs 正常组					
miR-210	96.7	50.0	90.0	1.93	0.07
CA199	91.7	30.0	82.9	1.31	0.28
CA242	98.3	10.0	85.7	1.09	0.17
CEA	100.0	0.0	85.7	-	-
CA199+CA242+CEA	93.3	30.0	84.3	1.33	0.22
miR-210+CA199	96.7	70.0	92.9	3.22	0.05
miR-210+CA199+CA242+CEA	96.7	70.0	92.9	3.22	0.05
胰腺癌组 vs 慢性胰腺炎组					
miR-210	95.0	25.0	77.5	1.14	0.22
CA199	81.7	80.0	81.3	4.08	0.23
CA242	85.0	30.0	71.3	1.21	0.50
CEA	100.0	0.0	75.0	-	-
CA199+CA242+CEA	81.7	75.0	80.0	3.27	0.24
miR-210+CA199	90.0	85.0	88.8	6.00	0.12
miR-210+CA199+CA242+CEA	90.0	85.0	88.8	6.00	0.12
胰腺癌组 vs 慢性胰腺炎组+正常组					
miR-210	86.7	40.0	71.1	1.44	0.33
CA199	78.3	93.3	83.3	11.75	0.23
CA242	76.7	83.3	78.9	4.60	0.28
CEA	98.3	10.0	68.9	1.09	0.17
CA199+CA242+CEA	80.0	93.3	84.4	12.00	0.21
miR-210+CA199	88.3	90.0	88.9	8.83	0.13
miR-210+CA199+CA242+CEA	86.7	90.0	87.8	8.67	0.15

CA199: 糖链抗原199; CEA: 癌胚抗原。

时联合肿瘤标志物CA199+CEA+CA242可提高
诊断效能,且miR-210联合CA199与miR-210联
合CA199+CEA+CA242的诊断效能在各组的比
较基本一致(表2)。

3 讨论

miRNA是内源性的非编码RNA分子,是由长约
21-23个核苷酸组成的非编码的单链RNAs,其
参与调控基因表达,具有高度的保守性,时序性
和组织特异性。具有抑癌基因与癌基因的双重
作用,在细胞增殖、分化和凋亡等方面发挥重
要的作用,是与肿瘤发生发展有关的新的调节
分子家族之一。miRNA比mRNA更短,这意味着
他抵抗核酸酶降解的能力更强,基于miRNA的
诊断结果也就更可靠。miRNA在血清中可长期
稳定存在,耐RNA酶降解、煮沸、反复冻融、
酸碱环境、长期保存等各种处理方法均不会造
成血清miRNA的损失^[6]。故miRNAs不易被降解
是血浆检测miRNAs的理论基础,且血液标本易

取得,患者痛苦小。Mitchell等^[7]对前列腺癌的研究中也证实了血浆miRNAs的稳定性和可定量
检测。

相关研究表明,miR-210与缺氧及癌症有关,
其是内皮细胞对于低氧环境产生的一个重要物
质^[8]。缺氧是肿瘤微环境的一个特征,胰腺癌时
组织处于缺氧,缺氧时诱导了组织miR-210的表
达,释放入血从而血浆中miR-210的表达升高^[9]。
miR-210在胰腺癌^[10]、乳腺癌^[11]、肺癌^[12]、肾
癌^[13]等肿瘤中高表达。Bloomston等^[14]研究发
现,与正常胰腺癌组织相比miR-210在胰腺癌组
中高表达,并可与慢性胰腺炎及正常组织区分。
同样,在胰腺癌患者的血浆中miR-210表达量升
高,是健康对照组的4倍^[15],并可与慢性胰腺炎
及正常对照组区分^[16]。在胰腺癌患者中高表达
的miR-210提示患者存活率低,有可能成为预后
的指标^[17]。

有学者^[18]在对胰腺导管内乳头状黏液性肿
瘤miR-101、miR-21、miR-155的研究中选用了

65例侵袭性胰腺组织、16例非侵袭性胰腺组织及5例正常胰腺组织. 本研究中, 选用了60例胰腺癌、20例慢性胰腺炎及10例正常对照组的血浆进行分析. 发现血浆miR-210相对表达量高于慢性胰腺炎和正常对照组, 可与慢性胰腺炎组及正常对照组区分, 而在慢性胰腺炎组与正常对照组无统计学差异. 胰腺癌患者血浆miR-210水平与患者性别、年龄、CA199、CA242、CEA、肿瘤最大直径、TNM分期、临床分期无关, 与Liu等^[16]研究一致. 在二分类Logistic模型进行分析时发现在胰腺癌组比正常对照组时miR-210单独用于诊断敏感性较高为96.7%, 特异性为50%, CA199单独用于诊断时敏感性为91.7%, 而特异性较低为30%, 在联合miR-210与CA199或CA199+CA242+CEA诊断时特异性均可达70%. 在胰腺癌组比慢性胰腺炎组、胰腺癌组比慢性胰腺炎+正常对照组中miR-210联合肿瘤标志物CA199或CA199+CA242+CEA诊断比miR-210单独诊断更能提高诊断效能, 且在联合miR-210与CA199或CA199+CA242+CEA诊断时诊断效能基本一致.

血浆miRNAs可反应组织中miRNAs的情况, 且血液标本易取得, 患者痛苦小, 有望成为检测胰腺癌的肿瘤标志物. 本次研究表明血浆miR-210用于胰腺癌的诊断有一定实用价值, 而联合肿瘤标志物更能提高其诊断效能. 随着研究的深入, 有望在血浆miRNAs中找到更加适合诊断胰腺癌的标志物, 从而提高胰腺癌的早期诊断, 让胰腺癌患者早期得到治疗, 并改善胰腺癌患者预后.

4 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 He J, Chen W. Chinese Cancer Registry Annual Report, 2012. Beijing: Military Medical Science Press, 2012
- 3 Sergeant G, Vankelecom H, Gremeaux L, Topal B. Role of cancer stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 580-586 [PMID: 19687789 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.127]
- 4 Slesak B, Harlozinska-Szmyrka A, Knast W, Sedlacek P, van Dalen A, Einarsson R. Tissue polypeptide specific antigen (TPS), a marker for differentiation between pancreatic carcinoma and chronic pancreatitis. A comparative study with CA 19-9. *Cancer* 2000; 89: 83-88 [PMID: 10897004 DOI: 10.1002/1097-0142]
- 5 Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, Magri E, Pedriali M, Fabbri M, Campiglio M, Ménard S, Palazzo JP, Rosenberg A, Musiani P, Volinia S, Nenci I, Calin GA, Querzoli P, Negrini M, Croce CM. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 7065-7070 [PMID: 16103053 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 6 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- 7 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- 8 Ivan M, Harris AL, Martelli F, Kulshreshtha R. Hypoxia response and microRNAs: no longer two separate worlds. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 1426-1431 [PMID: 18624759 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00398.x]
- 9 Huang X, Zuo J. Emerging roles of miR-210 and other non-coding RNAs in the hypoxic response. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014; 46: 220-232 [PMID: 24395300 DOI: 10.1093/abbs/gmt141]
- 10 Papaconstantinou IG, Manta A, Gazouli M, Lyberopoulou A, Lykoudis PM, Polymeneas G, Voros D. Expression of microRNAs in patients with pancreatic cancer and its prognostic significance. *Pancreas* 2013; 42: 67-71 [PMID: 22850622 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182592ba7]
- 11 Camps C, Buffa FM, Colella S, Moore J, Sotiriou C, Sheldon H, Harris AL, Gleadle JM, Ragoussis J. hsa-miR-210 is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1340-1348 [PMID: 18316553 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1755]
- 12 Puisségur MP, Mazure NM, Bertero T, Pradelli L, Grosso S, Robbe-Sermesant K, Maurin T, Lebrigand K, Cardinaud B, Hofman V, Fourre S, Magnone V, Ricci JE, Pouyssegur J, Gounon P, Hofman P, Barbry P, Mari B. miR-210 is overexpressed in late stages of lung cancer and mediates mitochondrial alterations associated with modulation of HIF-1 activity. *Cell Death Differ* 2011; 18: 465-478 [PMID: 20885442 DOI: 10.1038/cdd.2010.119]
- 13 Juan D, Alexe G, Antes T, Liu H, Madabhushi A, Delisi C, Ganesan S, Bhanot G, Liou LS. Identification of a microRNA panel for clear-cell kidney cancer. *Urology* 2010; 75: 835-841 [PMID: 20035975 DOI: 10.1016/j.urology.2009.10.033]
- 14 Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C, Croce CM. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 2007; 297: 1901-1908 [PMID: 17473300 DOI: 10.1001/jama.297.19.1901]

名词解释

miRNA: 是内源性的非编码RNA分子, 是由长约21-23个核苷酸组成的非编码的单链RNAs, 其参与调控基因表达, 具有高度的保守性, 时序性和组织特异性. 具有抑癌基因与癌基因的双重作用, 在细胞增殖、分化和凋亡等方面发挥重要的作用, 是与肿瘤发生发展有关的新的调节分子家族之一.

同行评价
血清miRNA可能
有助于疾病诊断
的价值。本研究的
尝试对于胰腺癌
的诊断很重要的
临床意义。发现
miR-210在胰腺癌
患者血清中高表
达,并且可能独立
于其他胰腺癌标
志物,联合检测更
有意义。本研究目
的明确,实验设计
合理,统计方法恰
当,结果丰富,结
论尚可靠,有一定
的临床价值。

- 10.1001/jama.297.17.1901]
- 15 Ho AS, Huang X, Cao H, Christman-Skieller C, Bennewith K, Le QT, Koong AC. Circulating miR-210 as a Novel Hypoxia Marker in Pancreatic Cancer. *Transl Oncol* 2010; 3: 109-113 [PMID: 20360935 DOI: 10.1593/tlo.09256]
- 16 Liu J, Gao J, Du Y, Li Z, Ren Y, Gu J, Wang X, Gong Y, Wang W, Kong X. Combination of plasma microRNAs with serum CA19-9 for early detection of pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2012; 131: 683-691 [PMID: 21913185 DOI: 10.1002/ijc.26422]
- 17 Greither T, Grochola LF, Udelnow A, Lautenschläger C, Würfl P, Taubert H. Elevated

expression of microRNAs 155, 203, 210 and 222 in pancreatic tumors is associated with poorer survival. *Int J Cancer* 2010; 126: 73-80 [PMID: 19551852 DOI: 10.1002/ijc.24687]

18 Caponi S, Funel N, Frampton AE, Mosca F, Santarpia L, Van der Velde AG, Jiao LR, De Lio N, Falcone A, Kazemier G, Meijer GA, Verheul HM, Vasile E, Peters GJ, Boggi U, Giovannetti E. The good, the bad and the ugly: a tale of miR-101, miR-21 and miR-155 in pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms. *Ann Oncol* 2013; 24: 734-741 [PMID: 23139258 DOI: 10.1093/annonc/mds513]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

四磨汤口服液治骨疗外科手术后胃肠功能障碍的临床效果

王卫东, 郭宝明

王卫东, 青海省西宁市第二人民医院骨科 青海省西宁市 810003

郭宝明, 青海省西宁市第二人民医院消化科 青海省西宁市 810003

王卫东, 副主任医师, 主要从事创伤与脊柱外科的研究。

作者贡献分布: 此文主要由王卫东完成; 研究过程由王卫东与郭宝明操作完成; 试剂的提供和数据分析由王卫东与郭宝明完成; 本论文写作由王卫东完成。

通讯作者: 王卫东, 副主任医师, 810003, 青海省西宁市城北区祁连路892号, 青海省西宁市第二人民医院骨科。

dongdongwei00@126.com

电话: 0971-5130017

收稿日期: 2014-10-24 修回日期: 2014-11-10

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-01-08

Efficacy of Simotang oral liquid for treatment of gastrointestinal dysfunction after stable thoracolumbar fractures

Wei-Dong Wang, Bao-Ming Guo

Wei-Dong Wang, Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810003, Qinghai Province, China

Bao-Ming Guo, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810003, Qinghai Province, China

Correspondence to: Wei-Dong Wang, Associate Chief Physician, Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Qinghai Province, 892 Qilian Road, Chengbei District, Xining 810003, Qinghai Province, China. dongdongwei00@126.com

Received: 2014-10-24 Revised: 2014-11-10

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To assess the efficacy of Simotang oral liquid in the treatment of gastrointestinal dysfunction after stable thoracolumbar fractures.

METHODS: One hundred and ten patients with gastrointestinal dysfunction after stable thoracolumbar fractures treated at Xining City Second People's Hospital from January 2011 to December 2012 were randomly divided into either an observation group or a control group. The control group received conventional treatment, and the observation group was given Simotang oral liquid. Clinical effects were

observed and compared for the two groups.

RESULTS: The effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (90.9% vs 74.5%, $P < 0.05$). The times to first anal exhaust and defecation were significantly shorter in the observation group than in the control group ($33.4 \text{ h} \pm 4.2 \text{ h}$ vs $55.9 \text{ h} \pm 5.1 \text{ h}$, $36.8 \text{ h} \pm 4.8 \text{ h}$ vs $63.7 \text{ h} \pm 6.4 \text{ h}$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Simotang oral liquid can improve clinical efficacy and promote the recovery in patients with gastrointestinal function after stable thoracolumbar fractures.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Stable thoracolumbar fractures; Gastrointestinal dysfunction; Simotang oral liquid

Wang WD, Guo BM. Efficacy of Simotang oral liquid for treatment of gastrointestinal dysfunction after stable thoracolumbar fractures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 153-155 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.153>

摘要

目的: 观察四磨汤口服液在稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍治疗中的应用效果。

方法: 选取2011-01/2012-12青海省西宁市第二人民医院消化科110例稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者为研究对象, 将其依据随机数字表法分为观察组与对照组, 对照组给予常规治疗, 观察组给予四磨汤口服液治疗, 观察两组的临床效果。

结果: 观察组治疗有效率与对照组比较差异有统计意义(90.9% vs 74.5%, $P < 0.05$); 观察组第1次排气时间、第1次排便时间分别为 $33.4 \text{ h} \pm 4.2 \text{ h}$ 、 $36.8 \text{ h} \pm 4.8 \text{ h}$, 与对照组比较($55.9 \text{ h} \pm 5.1 \text{ h}$ 、 $63.7 \text{ h} \pm 6.4 \text{ h}$), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

背景资料

胃肠功能障碍是稳定性胸腰椎骨折的常见并发症, 对患者的康复具有重要的影响。因此, 临床中积极的治疗稳定性胸腰椎骨折后胃肠功能障碍在临床中具有重要的意义。

同行评议者

王承党, 教授, 福建医科大学附属医院第一消化内科

研发前沿
临床中对胃肠功能障碍的研究较多,多数是采取西药进行治疗,但是效果并不是很理想。本研究重点探讨四磨汤口服液在其治疗中的应用效果,对以后临床治疗该病提供参考。

结论: 临床中对稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者给予四磨汤口服液治疗是可行的,能够提高患者临床疗效,更好的促进患者胃肠功能的恢复,值得临床中应用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 稳定性胸腰椎骨折; 胃肠功能; 四磨汤口服液

核心提示: 稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者给予四磨汤口服液治疗效果显著,能够提高有效率。同时,更快的促进患者快速排气和排便。

王卫东, 郭宝明. 四磨汤口服液治骨科手术后胃肠功能障碍的临床效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 153-155 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.153>

0 引言

胸腰椎骨折是骨科中常见疾病,临床中常常采取手术治疗。对于稳定性的胸腰椎骨折患者常常并发不同程度的胃肠功能障碍,严重的影响患者术后的康复。临床中常常采取西药进行治疗,但是效果并不是很理想^[1]。青海省西宁市第二人民医院结合自己多年的临床工作经验,对稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者实施四磨汤口服液进行治疗,并且取得了较好的临床疗效,具体的报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2012-12青海省西宁市第二人民医院消化科110例稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者为研究对象,将其依据随机数字表法分为观察组与对照组,均55例。观察组男性35例,女性20例,患者的年龄为24-67岁,平均年龄为46.4岁±8.2岁。病程时间为1-44 h,平均病程时间为7.8 h±2.1 h。对照组男性33例,女性22例,患者的年龄为23-68岁,平均年龄为45.8岁±9.1岁。病程时间为1-47 h,平均病程时间为8.1 h±1.8 h。观察组与对照组患者性别比、年龄和病程时间比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。甲基硫酸新斯的明注射液(批准文号:国药准字H31022770,上海信谊金朱药业有限公司);四磨汤口服液(批准文号:国药准字Z20025044,湖南汉森制药股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 本次研究的两组对象均给予常规治疗,输液和维持水电解质以及酸碱平衡,对照组并予以双侧足三里注射1.0 mL甲基硫酸新斯的明注射液,1次/d^[2]。观察组给予口服四磨汤口服液,20.0 mL/8 h。两组均用药到患者第1次肛门排便,且用药均在餐前的15 min^[3]。

1.2.2 观察指标: (1)临床治疗有效率; (2)第1次排气时间; (3)第1次排便时间。

1.2.3 疗效评定标准: 主要依据患者临床症状与体征改善情况进行评估^[4],将其分为3个等级: (1)显效: 治疗后患者的腹胀和腹痛以及排便困难等临床症状均消失; (2)有效: 治疗后患者的临床症状较治疗前有不同的改善; (3)无效: 治疗后患者的临床症状无任何的改善,甚至加重。临床治疗有效率=显效(%) + 有效(%)。

统计学处理 采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理,计量资料采取mean±SD进行表示,独立样本采取 t 进行检验,计数资料采取 χ^2 进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床治疗有效率观察 观察组治疗有效率为90.9%,对照组治疗有效率为74.5%,两组的临床治疗有效率对比差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 两组第1次排气时间、第1次排便时间观察 观察组患者第1次排气时间、第1次排便时间均明显的低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

稳定性胸腰椎骨折是骨科中常见疾病之一,对患者的影响较大,临床中多数的患者伴有不同程度的胃肠功能障碍,使得患者康复效果大大降低^[5]。胃肠功能障碍主要是由于手术的创伤比较大,手术时的牵拉和刺激,手术后的水肿和水肿均会引起交感神经的激惹,从而导致胃肠功能异常^[6]。同时,镇静止痛药物的应用,从而刺激了患者胃肠道的收缩,并增强其肠腔的内压,甚至会引起胃肠痉挛,导致胃排空与结肠蠕动延缓^[7]。临床研究显示,患者胃肠功能的异常虽然无器质性病变基础,但是影响患者营养状况的变化,很容易导致住院的时间增加,治疗费用也增加,导致患者的生活质量大大降低^[8]。因此,临床中积极的治疗稳定性胸腰椎骨折后胃肠功能

相关报道
临床中对于四磨汤口服液的报道也较多,均认为该药物在改善患者胃肠道方面具有明显的优势,多数是在腹部手术中的应用。但是,对于稳定性胸腰椎骨折后胃肠功能障碍治疗中并不多见。

表 1 观察组与对照组临床治疗有效率对比观察 ($n = 55$)

分组	显效	有效	无效	有效率 $n(\%)$
观察组	33	17	5	50(90.9)
对照组	20	21	14	41(74.5)
χ^2 值				8.413
P 值				<0.05

异常在临床中具有重要的意义。

临床中常常采取西药进行治疗,其目的是改善促进患者胃肠道的动力效应,最终改善胃肠道功能,但是西药治疗的时间较长,且临床疗效并不是很好^[9]。随着临床中对该病的研究,有学者提出中药治疗,能够直达病灶,彻底的改善患者的临床症状^[10]。四磨汤口服液属于中药制剂,主要是由木香、乌药和枳壳以及槟榔药物组成。木香中含有木香碱,能够较好的对组织胺类引起的小肠平滑肌有较强的解痉效果;乌药具有较强的增加消化液的功能;枳壳在临床中能够增加小肠平滑肌的紧张程度与位相性收缩,能够双相调节;槟榔在临床中能够刺激M2胆碱受体,并且更好的引起腺体分泌功能,且增加胃肠平滑肌的张力。这种药物能够较好的促进患者胃肠道排空,并加速其运动^[11,12]。同时,对胃肠黏膜也具有较好的营养作用^[13]。经过此次的临床研究分析,临床中对于稳定性胸腰椎骨折并发胃肠功能障碍患者采取四磨汤口服液治疗是可行的,能够提高患者的临床有效率。数据也显示,观察组患者的临床治疗有效率达到90.9%,明显的高于对照组的74.5%。由此说明,临床中应用四磨汤口服液在促进胃肠功能运动方面更具优越性。同时,数据还显示,观察组第1次排气时间、第1次排便时间均明显的低于对照组。主要是由于这种药物能够直接的作用于结肠部位,对患者肠道到消化吸收的影响不大,从而加快了患者排便和排气的时间。同时,能够直接的作用在胃肠道相关的受体,并且加强其收缩运动,更好的促进患者胃肠功能的恢复^[14,15]。

总之,稳定性胸腰椎骨折后并胃肠功能障碍患者给予四磨汤口服液治疗效果显著,能够

表 2 观察组与对照组第1次排气时间、第1次排便时间对比观察 ($n = 55$, mean \pm SD, h)

分组	第1次排气时间	第1次排便时间
观察组	33.4 \pm 4.2	36.8 \pm 4.8
对照组	55.9 \pm 5.1	63.7 \pm 6.4
t 值	13.581	17.224
P 值	<0.05	<0.05

提高患者临床治疗有效率。同时,在促进患者快速排气和排便方面也具有优越性,值得临床中应用。

4 参考文献

- 蒋志, 陈其城, 曹立幸. 槟榔及其活性物质的研究进展. 中国中药杂志 2013; 38: 1684-1687
- 马海龙. 四磨汤口服液促进腹部手术后胃肠功能恢复的疗效观察. 中西医结合心血管病电子杂志 2014; 4: 83-84
- 余创潮, 洪建文. 腹部外科术后胃肠功能恢复的临床研究. 中国中医药资讯 2012; 4: 53-54
- 陈洁生, 吴申锋, 雷霆. 四磨汤口服液促进腹部手术后胃肠功能恢复的疗效观察. 中医临床研究 2011; 3: 56-57
- 宋健, 何效东, 赵晓雷. 四磨汤促进腹腔镜手术后胃肠功能恢复疗效观察. 临床外科杂志 2011; 19: 431-432
- Gujral DM, Bhattacharyya S. Cardiac manifestations of gastrointestinal carcinoid tumor. *Future Cardiol* 2013; 9: 479-488 [PMID: 23834689 DOI: 10.2217/fca.13.24]
- 彭六明. 通导汤治疗稳定性胸腰椎骨折后胃肠功能障碍35例. 湖南中医杂志 2012; 28: 82-83
- 黄泽文. 四磨汤口服液在腹腔镜胆囊切除术后胃肠功能恢复中的应用. 中医药导报 2009; 15: 32-33
- 蔺晓源, 霍继荣, 周应初. 四磨汤对非胃肠术后患者胃肠功能及血清CCK, leptin的影响. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 288-290
- 金志江, 张海明, 詹旭. 消胀散治疗单纯胸腰椎骨折后胃肠功能障碍的前瞻性研究. 中华中医药学刊 2012; 30: 1754-1755
- 梁汝坚, 梁若玲, 张继平. 四磨汤口服液治疗功能性消化不良45例. 实用医学杂志 2008; 24: 1051-1052
- Roda A, Mirasoli M, Guardigli M, Simoni P, Festi D, Afonin B, Vasilyeva G. Non-invasive panel tests for gastrointestinal motility monitoring within the MARS-500 Project. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2208-2216 [PMID: 23599647 DOI: 10.3748/wjg.v19.i14.2208]
- 李运涛, 胡德志, 杨林. 四磨汤口服液治疗腰椎术后胃肠功能紊乱的疗效观察. 中国医药导报 2008; 5: 80-81
- 汪亚雄. 四磨汤对腹部手术后胃肠功能恢复的影响. 中医药导报 2009; 15: 27-28
- 李华, 申亚晖. AGI分级标准对胃肠功能障碍评估价值及其在早期EN中的应用效果. 世界华人消化杂志 2014; 22: 4668-4673

名词解释

胃肠道功能紊乱: 胃肠神经官能症, 是一组胃肠综合征的总称, 精神因素为本病发生的主要诱因, 如情绪紧张、焦虑、生活与工作上的困难、烦恼、意外不幸等, 均可引影响; 胃排空: 食物由胃排入十二指肠的过程。

同行评价

该研究观点鲜明, 全面的阐述四磨汤口服液在临床治疗中的效果, 可读性强, 对以后药物的推广具有较好的指导作用。

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



利那洛肽对便秘型肠易激综合征有效并改善患者生活质量的Meta分析

黄显斌, 郭天康, 杨屹立, 王 辉

背景资料
肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一种病因不明的以结肠慢性和复发性症状为特点的一种疾病。全世界大约有10%-20%的成年人和青少年受IBS的影响。IBS对患者的健康和生活质量产生不利影响。目前无特效治疗药物, 近来有研究表明利那洛肽可缓解便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)的症状并改善患者生活质量。本课题从循证医学的角度做进一步研究。

黄显斌, 杨屹立, 兰州大学第一临床医学院 甘肃省兰州市 730000
郭天康, 甘肃省人民医院普外一科 甘肃省兰州市 730000
王辉, 甘肃省中医学院 甘肃省兰州市 730000
黄显斌, 在读硕士, 主要从事普外科的研究。
作者贡献分布: 此课题由黄显斌与郭天康设计; 研究过程由郭天康与黄显斌完成; 检索文献及数据分析由黄显斌、杨屹立及王辉完成; 本论文写作由黄显斌与郭天康完成。
通讯作者: 郭天康, 教授, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路204号, 甘肃省人民医院普外一科. guotiankang2009@126.com
电话: 0931-8281969
收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-11-03
接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Linacotide improves quality of life in patients with irritable bowel syndrome with constipation: A Meta-analysis

Xian-Bin Huang, Tian-Kang Guo, Yi-Li Yang, Hui Wang

Xian-Bin Huang, Yi-Li Yang, the First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Tian-Kang Guo, Department of General Surgery, the People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Hui Wang, the Traditional Chinese Medicine College of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Correspondence to: Tian-Kang Guo, Professor, Department of General Surgery, the People's Hospital of Gansu Province, 204 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. guotiankang2009@126.com
Received: 2014-10-15 Revised: 2014-11-03
Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To perform a meta-analysis to determine the efficacy and the safety of linacotide, compared with placebo, for patients with irritable bowel syndrome with constipation (IBS-C).

METHODS: CNKI, CBM, Wanfang, VIP, PubMed, EMBASE, clinical trials.gov and the Cochrane library were searched for randomized, placebo controlled trials examining the effect of linacotide in adults with IBS-C. Dichotomous results were pooled by using the RevMan v.5.2 software to yield relative risks (RRs) and 95%

confidence intervals (CIs).

RESULTS: The search identified three randomized controlled trials of linacotide in patients with IBS-C published in four papers. Meta-analysis suggested that linacotide significantly improved abdominal pain (RR = 1.58, 95%CI: 1.02-2.46), complete spontaneous bowel movements (CSBMs) (RR = 3.19, 95%CI: 2.40-4.25) and quality of life (RR = 1.38, 95%CI: 1.09-1.74). Linacotide also improved stool form and reduced the severity of abdominal pain, bloating and overall symptoms in patients with IBS-C. Diarrhoea was the most frequent adverse event (AE) in the group of linacotide.

CONCLUSION: Our study suggests that linacotide significantly improves bowel function, reduces abdominal pain and improves quality of life in patients with IBS-C.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Linacotide; Irritable bowel syndrome with constipation; Placebo; Randomized clinical trial; Meta-analysis

Huang XB, Guo TK, Yang YL, Wang H. Linacotide improves quality of life in patients with irritable bowel syndrome with constipation: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 156-162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/156.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.156>

摘要

目的: 评价利那洛肽与安慰剂对比在便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)患者中的疗效及安全性。

方法: 中国期刊全文数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、中国生物医学文献数据库(China Biology Medicine, CBM)、中国万方数据库、中国维普数据

同行评议者
白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

库、PubMed、Embase、Web of science、Cochrane library和clinical trials.gov等数据库中关于利那洛肽应用于成人IBS-C的与安慰剂对照的随机对照试验。结果用RevMan v5.2版本统计了相对危险因素(relative risk, RR)和95%可信区间(confidence intervals, CI)等二分类资料。

结果: 检索出符合要求的关于利那洛肽用于IBS-C的3个随机对照试验的4篇公开发表的文章。主要观察指标为: 腹痛的效果(RR = 1.58, 95%CI: 1.02-2.46); 对完全性自发排便(complete spontaneous bowel movements, CSBMs)的改善(RR = 3.19, 95%CI: 2.40-4.25); 患者生活质量的改善(RR = 1.38, 95%CI: 1.09-1.74)。利那洛肽还在改善大便性状、减少腹痛、腹胀和所有严重症状方面发挥作用。与安慰剂相比, 腹泻是利那洛肽最常发生的不良反应。

结论: 通过本研究比较得知, 利那洛肽与安慰剂相比, 能改善肠道功能, 减轻腹痛症状和改善IBS-C患者的生活质量。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 利那洛肽; 便秘型肠易激综合征; 安慰剂; 随机对照试验; Meta分析

核心提示: 利那洛肽在能改善便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)患者的肠道功能, 腹痛和IBS-C患者的生活质量。合并效应的估计利那洛肽比安慰剂治疗IBS-C的患者大。这种效果大小的估计, 再加上良好的安全性和耐受性, 表明利那洛肽在IBS-C的治疗效果显著。

黄显斌, 郭天康, 杨屹立, 王辉. 利那洛肽对便秘型肠易激综合征有效并改善患者生活质量的Meta分析. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 156-162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/156.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.156>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种病因不明的以结肠慢性和复发性症状为特点的一种疾病。这种特征为慢性或复发性的腹痛、腹胀、黏液便和排便的不规律^[1]。全世界大约有10%-20%的成年人和青少年受IBS的影响^[1-3]。但是不同的国家发病率有所差别, 据报道北美的发病率为10%-15%, 平均为11.8%;

欧洲的发病率为6.2%-12%, 平均为11.5%; 我国统计的肠易激综合征的发病率为5%-6%^[2-7]。IBS的症状不仅对患者的健康相关的生活质量产生不利影响^[8], 而且还会增加社会的财政负担, 因为减少工作效率和对疾病治疗、研究相关的投入的增高^[9,10]。肠易激综合征包括便秘型、腹泻型、混合型 and 不能定型四个亚型^[11]。便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)大约占IBS的1/3^[8], 女性发病率高于男性^[12], 并经常包括诸如腹胀、大便干燥、排便费力及里急后重等症状^[1,6]。目前IBS-C的治疗主要是针对患者的腹部疼痛不适症状的, 应用最多抗抑郁药物减轻患者腹痛等症, 但是抗抑郁药有加重患者便秘的可能性, 因此, 需要寻找新的药物来治疗IBS-C。利那洛肽, 一种新研制的用于治疗IBS-C的药物。一种含14个氨基酸残基的鸟苷酸环化-C(GC-C)激动剂。在动物身上, 利那洛肽减少内脏疼痛的机制被认为是由增加的细胞外cGMP降低疼痛感觉神经的活性所介导^[13-16]。在临床试验中, 利那洛肽在改善IBS-C患者的肠道和腹部症状方面显示出有效而被美国食品和药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于成人IBS-C的治疗^[17]。本研究主要是对利那洛肽与安慰剂对照治疗IBS-C的随机对照试验进行系统评价, 应用Meta分析方法对利那洛肽改善IBS-C患者症状及生活质量做一评价。

1 材料和方法

1.1 材料 该Meta分析在整个过程中始终遵循PRISMA原则, 结果也按此呈现^[18]。本研究检索了中国期刊全文数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、中国生物医学文献数据库(China Biology Medicine, CBM)、中国万方数据库、中国维普数据库、PubMed、Embase、Web of science、Cochrane library和clinical trials.gov等数据库。检索的主题词包括: 利那洛肽, 肠易激综合征, Linaclotide, M-100, Irritable Bowel Syndrome, IBS, Bowel dysfunction, Intestinal disorders, Intestinal dysfunction。本检索条件无时间限制, 其中评估利那洛肽应用于成人IBS的有效性, 与安慰剂随机对照试验符合纳入标准。IBS的诊断可基于罗马II或III标准。

1.2 方法

1.2.1 文献的筛选: 两个人研究者独立的对符合

研究前沿
本课题纳入目前为止关于利那洛肽治疗IBS-C的研究, 利那洛肽治疗IBS-C并改善患者生活质量。纳入的研究都是国外的研究, 国内缺乏这方面的研究。

创新盘点
本课题研究了利那洛肽治疗IBS-C的主要症状方面的效果及安全性,并研究了利那洛肽在改善IBS-C患者生活质量方面的疗效。

标准的文献进行系统的筛选。那些具有前瞻性的公开发表的关于口服利那洛肽和安慰剂治疗IBS-C的有效性,并报道了纳入病例数的最终的药物有效的病例数的原始资料的随机对照试验(randomized clinical trial, RCT)属于最终符合纳入标准。文章与两个独立的研究者根据预先制定的纳入和排除标准进行筛选评估。两个研究者对某些文献有分歧时通过讨论解决。所要求的研究必须具有一个主要的观察指标,无论是二分类的计数资料或者是肠道症状或腹痛从基线水平改变,或者他们的任意组合。

1.2.2 数据提取和偏倚风险评估: 两个研究者对数据进行提取,除了实验纳入的病例数,对利那洛肽治疗的结果的观察指标外,还提取了各实验的病例的年龄、性别、诊断标准和治疗周期等一般资料。偏倚的风险是根据Cochrane小组的建议进行评估。在6个领域评估偏倚,分别是:随机序列生成(选择偏倚)、分配和隐藏(选择偏倚)、参与者和工作人员双盲(实施偏倚)、不完整的数据结果(数据丢失偏倚)、选择性报告(报告偏倚)以及其他偏倚(如利益冲突)。用来评估一个研究偏倚风险高低的标准在Cochrane手册第8章中进行了描述。在评估偏倚风险的6个方面,只要有一个属于高风险,则该研究的偏倚风险为高风险,所有6个方面都是低风险,则该研究属于低偏倚风险,而偏倚风险不明确是指在6个方面不清楚属于高风险还是低风险^[19,20]。

为了防止重复的数据导致最后疗效被高估,对检索的研究分别通过作者单位、姓名和研究发表时间进行审查和评估。这在Cochrane手册上关于干预性系统评价有说明^[19]。由于试验数偏少,将通过主要结果来评估发表偏倚。

1.2.3 结果评价: 主要的结果评价为利那洛肽与安慰剂对比治疗IBS-C的有效性。主要的评价结果为消化系症状从基线水平的改善程度,如每周CSBM的次数;或者腹部症状,比如腹痛、腹胀;12 wk腹部疼痛/不适的缓解率;患者生活质量的改善。这些观察指标是作者所选定的,我们所研究的二分类结果是基于肠道功能、腹部症状或者他们的结合的有意义的变化所占的比例。这是在与FDA建议或欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)的建议一致的。

统计学处理 所有的统计学分析都是由RevMan v.5.2软件^[21]实现的。首先,每个研究中

利那洛肽与安慰剂的有效性的相对危险因素(relative risk, RR)和95%可信区间(confidence intervals, CI)是基于意向性治疗(intention-to-treat, ITT)人群来计算的,治疗的不良反应的比值比(odds ratio, OR)和95%CI也是基于ITT人群计算的。而不同研究之间的异质性通过 I^2 统计量来检验^[22]($I^2 < 50\%$ 说明同质性好,各研究之间的异质性小)。用事先设定好的随机效应模型来评估效果的大小^[23]。95%CI通过危险差的倒数来计算。因为随机对照试验中采取了多个剂量组^[24],我们从中选取290 μg 剂量组来进行比较,而这也是通过FDA批准的安全剂量。

2 结果

总共检索出符合要求的4篇文献^[24-27],涉及3个RCT,其中1篇文献报道了符合EMA标准的两个实验(实验31和实验302)^[26]。各文献特征如表1。各文献的偏倚风险如图1。

2.1 利那洛肽与安慰剂缓解IBS-C患者腹痛的比较 纳入的2个RCT实验^[25,27]报道了腹痛的有效性(12个治疗周中有9个治疗周中每周从基线中有 $\geq 30\%$ 的缓解)的RR = 1.58, 95%CI: 1.02-2.46, 各研究资料之间存在较大的异质性($I^2 = 87\%$; $P = 0.005$)(图2A)。

2.2 利那洛肽与安慰剂增加IBS-C患者CSBM次数的比较 纳入的3个RCT实验^[24,25,27]报道了对CSBM的作用(12个治疗周中有9个治疗周中每周 ≥ 3 次或者每周从基线中增加 ≥ 1 次)RR = 3.19, 95%CI: 2.40-4.25, 各研究之间没有显著的异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.78$)(图2B)。

2.3 利那洛肽与安慰剂改善IBS-C患者生活质量的比较 纳入的2个RCT实验^[26]报道了患者生活质量的变化(包括焦虑、对活动的干扰、身体形象、对健康的忧虑、对食物的禁忌、社交、性生活、人际关系)的RR = 1.38和95%CI: 1.09-1.74, 各研究之间没有显著的异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.32$)(图2C)。

2.4 利那洛肽的安全性 利那洛肽组和安慰剂组分别有525和463例患者在治疗期间至少出现1次治疗相关不良反应($P < 0.05$), 合并OR = 1.31, 95%CI: 1.08-1.58。在接受利那洛肽治疗组中有3.8%的患者出现严重不良反应,而在安慰剂组这一比例为2.3%。最常见的治疗后出现的不良事件(treatment-emergent adverse events, TEAE)是腹泻,他在利那洛肽组中更加频繁地发生(图

表 1 纳入文献的特征

纳入的文献	研究方法	患者总数	利那洛肽用量	治疗时间	IBS-C患者诊断标准	观察结果
Johnston等 ^[24] , 2010	RCT、分配隐藏、双盲	419	75 μg; 150 μg; 300 μg; 600 μg口服, 1次/d	12 wk治疗期	罗马 II	CSBMs
Chey等 ^[25] , 2012	RCT、分配隐藏、双盲	804	290 μg口服, 1次/d	26 wk治疗期	罗马 II	腹痛, CSBMs
Quigley等 ^[26] , 2013						
实验31	RCT、分配隐藏、双盲	800		同Rao等 ^[27] , 2012		生活质量
实验302	RCT、分配隐藏、双盲	804		同Chey等 ^[25] , 2012		生活质量
Rao等 ^[27] , 2012	RCT、分配隐藏、双盲	800	290 μg口服, 1次/wk	12 wk治疗, 停药4 wk	罗马 II	腹痛, CSBMs

应用要点

本课题结果提示利那洛肽治疗IBS-C有效并安全, 能成为IBS-C治疗的一种新的方法。

RCT: 随机对照试验; CSBMs: 完全性自发排便; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

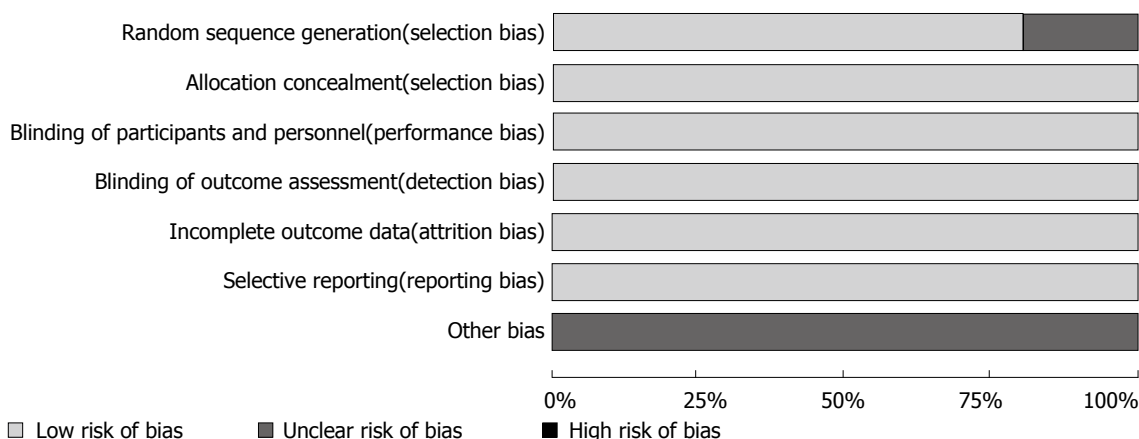


图 1 各研究的风险偏倚。

3). 通过所有的研究比较, 利那洛肽组与安慰剂组发生腹泻的OR = 8.04, 95%CI: 5.22-12.40. 其他不良反应有: 腹痛、胀气、头痛、腹胀、上呼吸道感染等在利那洛肽组和安慰剂组之间差异无统计学意义。

3 讨论

该系统评价和Meta分析表明, 利那洛肽治疗比安慰剂治疗IBS-C更有效. 利那洛肽治疗组的所有观察结果: 主要结果腹痛, 排便频率都有所改善, 利那洛肽还能改善患者的生活质量。

利那洛肽被证实是安全的, 耐受性好; 所有不良反应为中度和轻度, 利那洛肽组和安慰剂组之间没有显著差异, 除了腹泻, 与安慰剂相比, 这更频繁的发生在利那洛肽组患者中. 但腹泻并没有减少IBS-C患者的治疗满意度^[28,29]。

此系统评价和Meta分析的优势包含严格的

方法学. 对检索策略, 纳入资格标准和数据的提取过程进行了详细的描述. 另外文献检索, 纳入资格评估, 并提取数据分别由两个人进行了评论, 有任何差异, 通过协商解决. 采用ITT分析方法, 所有失访的人群认为治疗失败, 并应用随机效应模型汇总数据, 以减少利那洛肽疗法对IBS-C的任何有益的影响被高估的可能性。

本研究的限制, 与任何系统评价和Meta分析一样, 源于实验研究的质量和报告的真实性的. 本Meta分析存在一下不足: (1)利那洛肽在IBS-C的随机对照试验的绝对数量很少. 在循证医学的时代, 随机对照试验被广泛接受为不同的治疗方法进行比较的黄金标准工具. 虽然各个试验由大量的受试者参加对此进行了补偿, 在未来的临床试验利那洛肽的效应是否将保持不变仍有待证实; (2)IBS-C的患者的入选和排除标准是基于广泛接受罗马标准, 目前还不清楚时, 如

名词解释
意向性治疗 (intention-to-treat, ITT): 临床情况错综复杂, 在任何一项临床试验中, 患者对治疗的实施率不可能达到100%, 在试验和进一步观测过程中, 会出现出组情况。这种出组在临床试验的特定情况, 常常各组之间例数是不平衡的, 这种差别影响到他们之间作比较的合理性。在具体处理时有一个非常简单而重要的原则, 就是不按患者在研究过程中实际所接受的治疗分组, 而仍按患者入组时的组别分析, 也即按治疗意向ITT分析, 否则就会引入偏差。

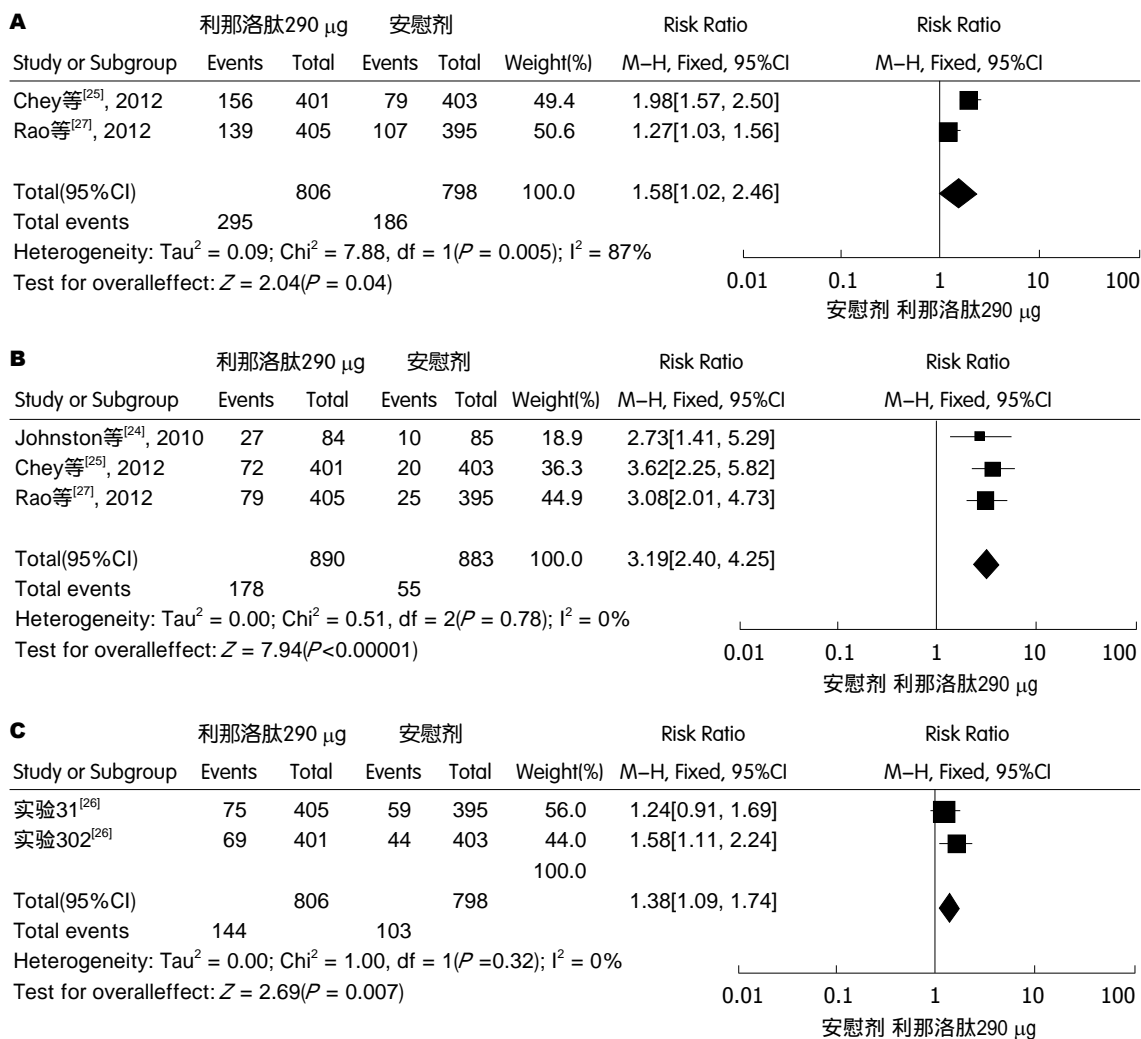


图2 利那洛肽治疗IBS-C的疗效。A: 利那洛肽与安慰剂缓解IBS-C患者腹痛的比较; B: 利那洛肽与安慰剂增加IBS-C患者CSBMs次数的比较; C: 利那洛肽与安慰剂改善IBS-C患者生活质量的比较。CSBMs: 完全性自发排便; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

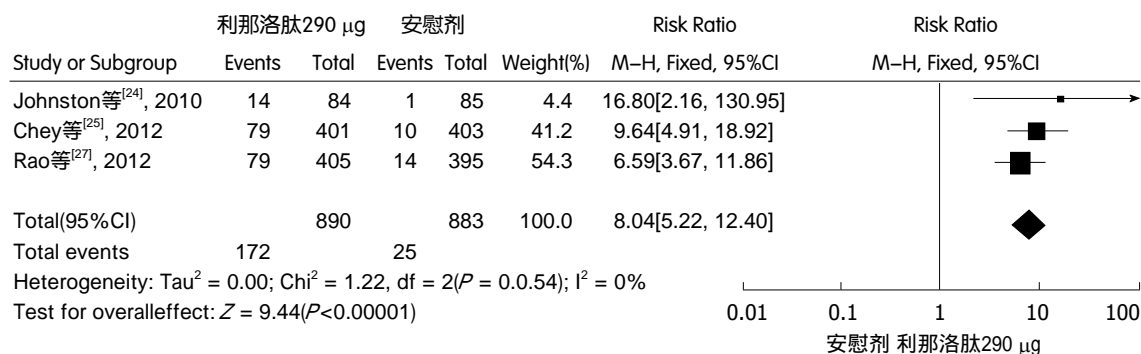


图3 利那洛肽与安慰剂治疗IBS-C患者发生腹泻的比较。IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

果IBS-C的临床定义发生变化的话, 在未来的试验中应用利那洛肽的作用大小是否会保持不变; (3)这个Meta分析的观察结果是基于FDA和EMA建议, 可能无法反映真实情况, 利那洛肽的效果评价标准在不同的国家是不同的, 此两项建议

(FDA和EMA建议)在实际上对IBS-C患者我们应该使用哪一个^[30]。然而, 利那洛肽与安慰剂比较改善个人的症状和最终结果所带来的好处得到实际研究的支持; (4)有两个试验^[25,27]没有利那洛肽剂量范围的研究, 也没有和别的药物的对比

研究, 人们可以假设更低剂量的利那洛肽可耐受性更好而完全没有失去效力。包括在研究中的另一个固有的限制可能是因为对大便习惯和症状的判定而自发揭盲。当测量结果是通过患者主观报告来评价时这揭盲则具有更大的相关性, 因为如果患者知道他或她正在接受哪种治疗方案时, 两种治疗方案的治疗效果和不良事件信息可能会受到影响^[31]。

在腹痛效果研究之间的异质性显著, 然而, 这两个试验^[25,27]的一致性是很好的。应当强调的是, 虽然这些治疗在短期内是安全的, 但是他们的长期安全性仍然是未知的。更多利那洛肽的随机对照试验正在进行中, 让我们期待这些研究的结果吧。对于治疗IBS-C, 这也似乎是有效的。对于正在开发中的新药物, IBS-C患者和医生有理由保持谨慎乐观。

总之, 在大型、高品质、和同质试验中, 利那洛肽在能改善IBS-C患者的肠道功能, 腹痛和IBS-C患者的生活质量。合并效应的估计利那洛肽比安慰剂治疗IBS-C的患者大。这种效果大小的估计, 再加上良好的安全性和耐受性, 表明利那洛肽在IBS-C的治疗效果显著。在更广泛的人群中药物的有效性, 与更多症状的严重程度不同的患者中的有效性值得进一步研究。

4 参考文献

- 1 Rhee PL. [Definition and epidemiology of irritable bowel syndrome]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 94-100 [PMID: 16498274]
- 2 Saito YA, Schoenfeld P, Locke GR. The epidemiology of irritable bowel syndrome in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1910-1915 [PMID: 12190153 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05913.x]
- 3 Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 712-721.e4 [PMID: 22426087 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.02.029]
- 4 Quigley EM, Abdel-Hamid H, Barbara G, Bhatia SJ, Boeckstaens G, De Giorgio R, Delvaux M, Drossman DA, Foxx-Orenstein AE, Guarner F, Gwee KA, Harris LA, Hungin AP, Hunt RH, Kellow JE, Khalif IL, Kruis W, Lindberg G, Olano C, Moraes-Filho JP, Schiller LR, Schmulson M, Simrén M, Tzeuton C. A global perspective on irritable bowel syndrome: a consensus statement of the World Gastroenterology Organisation Summit Task Force on irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 356-366 [PMID: 22499071 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318247157c]
- 5 Liu J, Hou X. A review of the irritable bowel syndrome investigation on epidemiology, pathogenesis and pathophysiology in China. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 88-93 [PMID: 21443718 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06641.x]
- 6 Hungin AP, Whorwell PJ, Tack J, Mearin F. The prevalence, patterns and impact of irritable bowel syndrome: an international survey of 40,000 subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 643-650 [PMID: 12641512 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01456.x]
- 7 陈世耀, 庄莉红. 肠易激综合征的流行病学. *现代消化及介入诊疗* 2007; 12: 91-93
- 8 Drossman DA, Camilleri M, Mayer EA, Whitehead WE. AGA technical review on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 123: 2108-2131 [PMID: 12454866 DOI: 10.1053/gast.2002.37095]
- 9 Paré P, Gray J, Lam S, Balshaw R, Khorasheh S, Barbeau M, Kelly S, McBurney CR. Health-related quality of life, work productivity, and health care resource utilization of subjects with irritable bowel syndrome: baseline results from LOGIC (Longitudinal Outcomes Study of Gastrointestinal Symptoms in Canada), a naturalistic study. *Clin Ther* 2006; 28: 1726-1735; discussion 1710-1711 [PMID: 17157129 DOI: 10.1016/j.clinthera.2006.10.010]
- 10 DiBonaventura M, Sun SX, Bolge SC, Wagner JS, Mody R. Health-related quality of life, work productivity and health care resource use associated with constipation predominant irritable bowel syndrome. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 2213-2222 [PMID: 21951105 DOI: 10.1185/03007995.2011.623157]
- 11 Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561]
- 12 Lovell RM, Ford AC. Effect of gender on prevalence of irritable bowel syndrome in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 991-1000 [PMID: 22613905 DOI: 10.1038/ajg.2012.131]
- 13 Bryant AP, Busby RW, Bartolini WP, Cordero EA, Hannig G, Kessler MM, Pierce CM, Solinga RM, Tobin JV, Mahajan-Miklos S, Cohen MB, Kurtz CB, Currie MG. Linaclotide is a potent and selective guanylate cyclase C agonist that elicits pharmacological effects locally in the gastrointestinal tract. *Life Sci* 2010; 86: 760-765 [PMID: 20307554 DOI: 10.1016/j.lfs.2010.03.015]
- 14 Busby RW, Kessler MM, Bartolini WP, Bryant AP, Hannig G, Higgins CS, Solinga RM, Tobin JV, Wakefield JD, Kurtz CB, Currie MG. Pharmacologic properties, metabolism, and disposition of linaclotide, a novel therapeutic peptide approved for the treatment of irritable bowel syndrome with constipation and chronic idiopathic constipation. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 344: 196-206 [PMID: 23090647 DOI: 10.1124/jpet.112.199430]
- 15 Eutamene H, Bradesi S, Larauche M, Theodorou V, Beaufrand C, Ohning G, Fioramonti J, Cohen M, Bryant AP, Kurtz C, Currie MG, Mayer EA, Bueno L. Guanylate cyclase C-mediated antinociceptive effects of linaclotide in rodent models of visceral pain. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 312-e84 [PMID: 19706070 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01385.x]
- 16 Goldenberg MM. Pharmaceutical approval update.

同行评价
本文作者荟萃分析了那洛肽与安慰剂对比在IBS-C患者中的疗效及安全性, 选题准确。

- P T* 2012; 37: 620-649 [PMID: 23204815]
- 17 Ray K. IBS: Linaclotide approved for constipation-predominant IBS. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 616 [PMID: 23026904 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.194]
 - 18 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med* 2009; 151: 264-269, W264 [PMID: 19622511 DOI: 10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135]
 - 19 Julian PT Higgins, Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011 Available from: <http://www.cochrane-handbook.org>
 - 20 Lundh A, Gøtzsche PC. Recommendations by Cochrane Review Groups for assessment of the risk of bias in studies. *BMC Med Res Methodol* 2008; 8: 22 [PMID: 18426565 DOI: 10.1186/1471-2288-8-22]
 - 21 Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.2. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, the Cochrane Collaboration, 2012
 - 22 Cochran WG. The Combination of estimates from different experiments. *Biometrics* 1954; 10: 101-129
 - 23 DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833 DOI: 10.1016/0197-2456(86)90046-2]
 - 24 Johnston JM, Kurtz CB, Macdougall JE, Lavins BJ, Currie MG, Fitch DA, O'Dea C, Baird M, Lembo AJ. Linaclotide improves abdominal pain and bowel habits in a phase IIb study of patients with irritable bowel syndrome with constipation. *Gastroenterology* 2010; 139: 1877-1886.e2 [PMID: 20801122 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.08.041]
 - 25 Chey WD, Lembo AJ, Lavins BJ, Shiff SJ, Kurtz CB, Currie MG, MacDougall JE, Jia XD, Shao JZ, Fitch DA, Baird MJ, Schneier HA, Johnston JM. Linaclotide for irritable bowel syndrome with constipation: a 26-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate efficacy and safety. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1702-1712 [PMID: 22986437 DOI: 10.1038/ajg.2012.254]
 - 26 Quigley EM, Tack J, Chey WD, Rao SS, Fortea J, Falques M, Diaz C, Shiff SJ, Currie MG, Johnston JM. Randomised clinical trials: linaclotide phase 3 studies in IBS-C - a prespecified further analysis based on European Medicines Agency-specified endpoints. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 49-61 [PMID: 23116208 DOI: 10.1111/apt.12123]
 - 27 Rao S, Lembo AJ, Shiff SJ, Lavins BJ, Currie MG, Jia XD, Shi K, MacDougall JE, Shao JZ, Eng P, Fox SM, Schneier HA, Kurtz CB, Johnston JM. A 12-week, randomized, controlled trial with a 4-week randomized withdrawal period to evaluate the efficacy and safety of linaclotide in irritable bowel syndrome with constipation. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1714-1724; quiz p.1725 [PMID: 22986440 DOI: 10.1038/ajg.2012.255]
 - 28 Carson R, Tourkodimitris S, Lewis BE, Johnston JM. Effect of linaclotide on quality of life in adults with irritable bowel syndrome with constipation: Pooled results from two randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 trials. *Gastroenterology* 2011; 140: S51 [DOI: 10.1016/S0016-5085(11)60207-2]
 - 29 Carson RT, Tourkodimitris S, Lewis BE, Johnston JM. PWE-127 Two randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trials of linaclotide in adults with irritable bowel syndrome: Effects on quality of life. *Gut* 2012; 61: A348-A349 [DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302514d.127]
 - 30 Corsetti M, Tack J. FDA and EMA end points: which outcome end points should we use in clinical trials in patients with irritable bowel syndrome? *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 453-457 [PMID: 23672677 DOI: 10.1111/nmo.12151]
 - 31 Wood L, Egger M, Gluud LL, Schulz KF, Jüni P, Altman DG, Gluud C, Martin RM, Wood AJ, Sterne JA. Empirical evidence of bias in treatment effect estimates in controlled trials with different interventions and outcomes: meta-epidemiological study. *BMJ* 2008; 336: 601-605 [PMID: 18316340 DOI: 10.1136/bmj.39465.451748.AD]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



人大肠癌癌旁不同部位组织细胞外基质分子和细胞极性分子表达差异比较

刘红, 文彬, 陈丹, 刘金元, 胡丰良

刘红, 文彬, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

陈丹, 胡丰良, 广州中医药大学第一附属医院肛肠科 广东省广州市 510405

刘金元, 广州中医药大学 广东省广州市 510405

刘红, 在读硕士, 主要从事大肠癌的表现遗传研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173257

中央财政支持地方高校发展专项资金“重大难治性脾胃病防治协同创新平台”基金资助项目, No. 财教[2013]338号
作者贡献分布: 此课题由文彬设计; 刘红负责操作及完成论文的撰写; 胡丰良提供组织标本; 刘金元负责免疫组织化学的数据采集; 陈丹参与部分实验的操作。

通讯作者: 文彬, 研究员, 510405, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wenbin@gzucm.edu.cn

电话: 020-36585077

收稿日期: 2014-09-26 修回日期: 2014-11-07

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Expression of extracellular matrix and cell polarity proteins in tissues at different distances from colorectal cancer lesions

Hong Liu, Bin Wen, Dan Chen, Jin-Yuan Liu, Feng-Liang Hu

Hong Liu, Bin Wen, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Dan Chen, Feng-Liang Hu, Anorectal Branch, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Jin-Yuan Liu, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173257; the Central Government Funds Supporting the Development of Local Colleges and Universities for the Prevention Collaborative Innovation Platform of Major Refractory Spleen and Stomach Diseases, No. [2013]338

Correspondence to: Bin Wen, Researcher, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wenbin@gzucm.edu.cn

Received: 2014-09-26 Revised: 2014-11-07

Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the role of cancer micro-environment in colorectal carcinogenesis by detecting the expression of extracellular matrix

and cell polarity proteins in tissues at different distances from colorectal cancer lesions.

METHODS: Samples were collected from sites 10, 5, and 2 cm away from colorectal cancer lesions. HE staining was used to observe the structure of crypts. Immunohistochemistry was used to detect the expression of collagen type I (Col-I), hyaluronidase-1 (Hyal-1), E-cadherin and crumbs3 (CRB3).

RESULTS: As the tissues were getting closer to the colorectal cancer lesions, the expression of Col-I and Hyal-1 increased, while that of E-cadherin and CRB3 decreased.

CONCLUSION: Up-regulation of Col-I and Hyal-1 and down-regulation of E-cadherin and CRB3 may contribute to the initiation of colorectal cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cancer microenvironment; Colorectal cancer; Immunohistochemistry

Liu H, Wen B, Chen D, Liu JY, Hu FL. Expression of extracellular matrix and cell polarity proteins in tissues at different distances from colorectal cancer lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 163-169 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.163>

摘要

目的: 通过对肿瘤微环境中相关成分的检测, 探索肿瘤微环境对大肠癌启动的意义。

方法: 在距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm处分别取得组织样本, 依次命名为1、2、3号位组织样本。通过常规石蜡切片-HE染色方法和免疫组织化学检测3个部位中I型胶原(collagen type I, Col-I)、透明质酸酶(hyaluronidase-1, Hyal-1)、上皮性钙黏素(E-cadherin)、极性调控蛋白crumbs3(CRB3)

背景资料

癌症是一个不断发展的紊乱器官, 是生命进化到高度复杂性、多重细胞组织性所付出的代价。作为一个器官, 肿瘤(包括癌前)组织微架构与微环境之间的互惠作用决定了其表型的转变。

同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

研究前沿
本研究通过对肿瘤微环境(tumor microenvironment)中间质大分子和极性蛋白的检测,探索肿瘤微环境对大肠癌启动的意义。

的表达及分布情况。

结果: HE染色结果提示,越靠近肿瘤病灶,大肠隐窝的破坏越严重。免疫组织化学实验结果表明,在1、2、3号位中Col- I 和Hyal-1表达逐渐增高, E-cadherin和CRB3表达逐渐降低。

结论: 在大肠癌发生过程中, Col- I 和Hyal-1表达增高,提示细胞外基质的改变可以促进肿瘤发生;而E-cadherin和CRB3表达降低提示细胞极性的丧失也是促进肿瘤发生的一个重要因素。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肿瘤微环境; 大肠癌; 免疫组织化学

核心提示: 在大肠癌发生过程中, 间质大分子 I 型胶原(collagen type I)和透明质酸酶(hyaluronidase-1)表达增高, 提示细胞外基质(extracellular matrix)的改变可以促进肿瘤发生; 而上皮性钙黏素(E-cadherin)和极性调控蛋白crumbs3表达降低提示细胞极性的丧失也是促进肿瘤发生的一个重要因素。

刘红, 文彬, 陈丹, 刘金元, 胡丰良. 人大肠癌癌旁不同部位组织细胞外基质分子和细胞极性分子表达差异比较. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 163-169 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i1.163>

0 引言

肿瘤是现今医学界一个棘手的难题。目前,发达国家对肿瘤的诊断与治疗多集中在早期,并且把一些肿瘤标志物作为某些患者的必检项目。研究肿瘤的启动机制也成为当下的一个研究热点。随着对肿瘤的研究的深入研究,人们发现,肿瘤的启动与肿瘤细胞所处的内外环境有着密切关系。早在19世纪末英国外科医师Stephen Paget就提出肿瘤转移的“种子与土壤”学说,即肿瘤细胞(种子),在具有促进肿瘤的细胞生长的特定器官微环境(土壤)中才能种植、存活、生长成功。实际上Paget指出了肿瘤的发生发展与肿瘤和微环境的亲和力有密切关系。每一个实体肿瘤就像一个独立而复杂的器官,肿瘤的发生发展过程不仅与自身的突变和基因不稳定性相关,更离不开肿瘤细胞与其所处的微环境之间的动态交换及反应的作用,他们逐渐破坏邻近的细胞与基质之间的正常

联系和组织的正常结构,组织架构和内稳态的改变是肿瘤启动的早期信号。微环境的稳定是保证细胞正常增殖、分化、代谢和功能活动的重要前提,而肿瘤微环境对肿瘤细胞发生发展也起着非常重要的影响。肿瘤微环境(cancer microenvironment)泛指组织细胞及其分泌的各种可溶性因子,主要包括内皮细胞及其前体细胞、周细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、肿瘤相关性成纤维细胞等^[1],可溶性因子有细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等^[2]。而肿瘤微环境特指由肿瘤细胞、内皮细胞、免疫细胞、ECM等相互作用形成的肿瘤细胞生长的特殊环境。细胞与微环境的联接是细胞外环境作用于细胞的主要方式,包括细胞与ECM大分子的连接和细胞与细胞的连接。I型胶原(collagen type I, Col- I)和透明质酸酶(hyaluronidase-1, Hyal-1)是ECM的重要组成部分,上皮性钙黏素(E-cadherin)和极性调控蛋白crumbs3(CRB3)是细胞极性的主要调节蛋白,他们在癌变发生过程中均发生了变化,这些肿瘤微环境成分的表达改变提示微环境的改变对肿瘤发生有重要意义。因此本研究通过免疫组织化学方法观察癌旁不同部位组织中Col- I、Hyal-1、E-cadherin和CRB3的表达变化,来探讨肿瘤微环境在大肠癌启动过程中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 标本取自广州中医药大学附属医院2013-11/2014-06手术切除的23位中分化结肠癌患者,其中男16例,女7例,平均年龄56.8岁±10.6岁。所有患者均是散发性大肠癌,术前未接受任何放、化疗,所有病例均经两位以上病理医师确诊。标本获取位置如图1所示,每例依次在距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm处切取,按顺序标记为1、2、3号位。SABC大鼠IgG试剂盒(SA1025)和SABC兔IgG试剂盒(SA1022)购自武汉博士德生物工程有限公司;免疫组织化学选用的抗体均购自广州新晋生物科技有限公司,包括Hyal-1(ab103977, Abcam)、Col- I (ab6308, Abcam)、E-cadherin(ab15148)及CRB3(180835, Abcam);二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 免疫组织化学:所有标本均经4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,采用4 μm厚连续切片。



图1 标本取材部位示意图。1: 距离病灶>10 cm; 2: 距离病灶>5 cm; 3: 距离病灶>2 cm。

常规脱蜡水化, PBS冲洗, 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 微波修复15 min, 加入一抗4℃过夜; PBS冲洗2 min×3次, 滴加相应二抗37℃平衡温箱孵育30 min, 具体步骤按试剂盒说明书操作。DAB显色, 苏木精复染, 常规乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察结果。每例标本均采用PBS代替一抗作为阴性对照组。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的吸光度 A 值, 每张切片随机测定6个视野, 同时测定同一张切片上组织的 A 值作为背景, 免疫反应产物的 A 值减去背景 A 值得到校正的 A 值(CA值), 即为各阳性产物的实际吸光度值, 然后求平均值作为该样本的CA值。用CA值进行分析和比较, 以避免染色过程中的非特异性染色等导致的误差。

统计学处理 各组实验数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用SPSS16.0统计软件, 计量资料进行均数间比较采用 t 检验或方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE染色分析 目前已有很多学者认为异常隐窝的出现是大肠癌发生的最早期事件, 并把他作为大肠癌早期诊断的观察指标之一^[3]。小肠隐窝细胞属具有增殖潜能的未分化肠上皮干细胞, 是成熟上皮细胞的前身。正常隐窝和异常隐窝在形态学上有很大差异^[4]。与正常黏膜相比, 异常的隐窝增大变厚, 呈锯齿状; 排列紊乱, 裂隙状管腔, 开口呈椭圆形; 上皮细胞层增生染色加深; 细胞核大有异型性^[5,6]。

在本研究中, 通过HE染色对3个不同部位组织中隐窝结构的形态特征进行观察。在距离大肠癌病灶最远的1号部位组织中, 隐窝结构基本正常无明显改变, 排列整齐, 腺腔直径正常, 单层排列, 细胞核大小正常(图2A)。而2号位则表现出较大的隐窝, 管腔有的呈锯齿状, 细胞核增大拉长, 表现出拥挤、分层的状态, 少部分细胞出现缺失, 隐窝间质细胞增多(图2B)。在距离癌变病灶最近的3号位中出现大量异常隐窝病灶, 隐窝异型增生明显, 腺管染色加深, 隐窝直径异常增大, 有的甚至隐窝结构

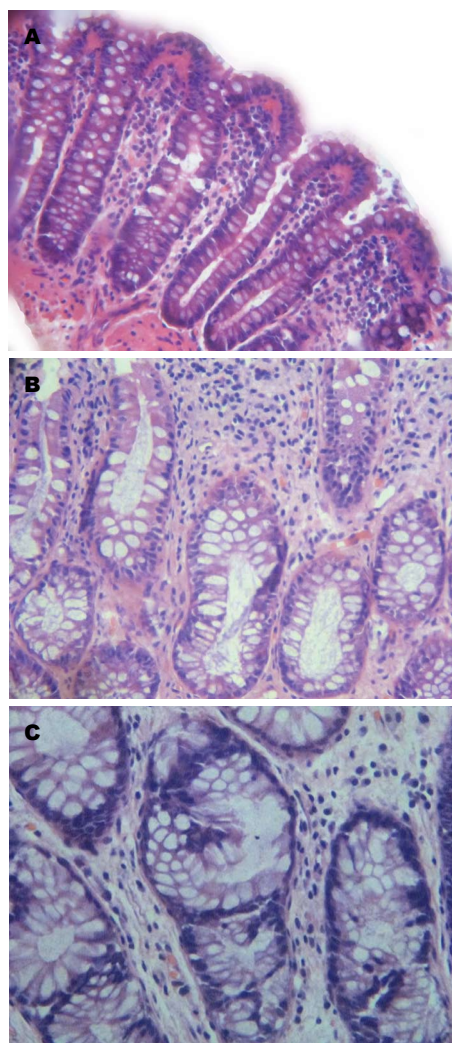


图2 不同部位组织HE染色结果($\times 400$)。A: HE, 1号位; B: HE, 2号位; C: HE, 3号位。

完全消失, 间质细胞明显增多, 上皮层增厚, 细胞核增大, 细胞排列紊乱、重叠, 丧失组织正常结构(图2C)。

2.2 免疫组织化学结果 免疫组织化学结果表明1、2、3号部位组织中均有Col-I表达(图3A-C), 主要分布于黏膜下层的结缔组织之间, 少量表达在黏膜上皮层。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值, 1、2、3号部位光密度值分别为 1.8453 ± 0.2586 、 2.1539 ± 0.2353 、 1.9723 ± 0.2091 。1号位的表达低于2、3号位, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

免疫组织化学结果表明1、2、3号部位组织中均有Hyal-1表达(图3D-F), 主要分布在黏膜下层的结缔组织之间。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值, 1、2、3号部位光密度值分别为 1.5823 ± 0.2686 、 1.8715 ± 0.2016 、 1.8095 ± 0.1970 。1

相关报道

2000年, Hanahan与Weinberg提出了肿瘤6大获得性的生物学标志特性, 从而构建了使这种复杂疾病在机体内合理化的组织原则, 为我们理解人类100多种恶性肿瘤疾病提供了一个最基本的逻辑性组织框架。接下来的十年, 得益于相关科学技术的进步, 肿瘤研究经历了前所未有的卓绝十年。2011年, Hanahan与Weinberg再次梳理文献, 进一步完善了肿瘤的组织原则, 指出: 肿瘤是远远胜过正常健康组织而更能处理复杂功能的器官(异常器官)。

创新盘点
本研究从微环境中的组织细胞外基质(extracellular matrix, ECM)分子和细胞极性分子两方面着手,共同探讨微环境对大肠癌启动的意义。内容丰富,更为立体。

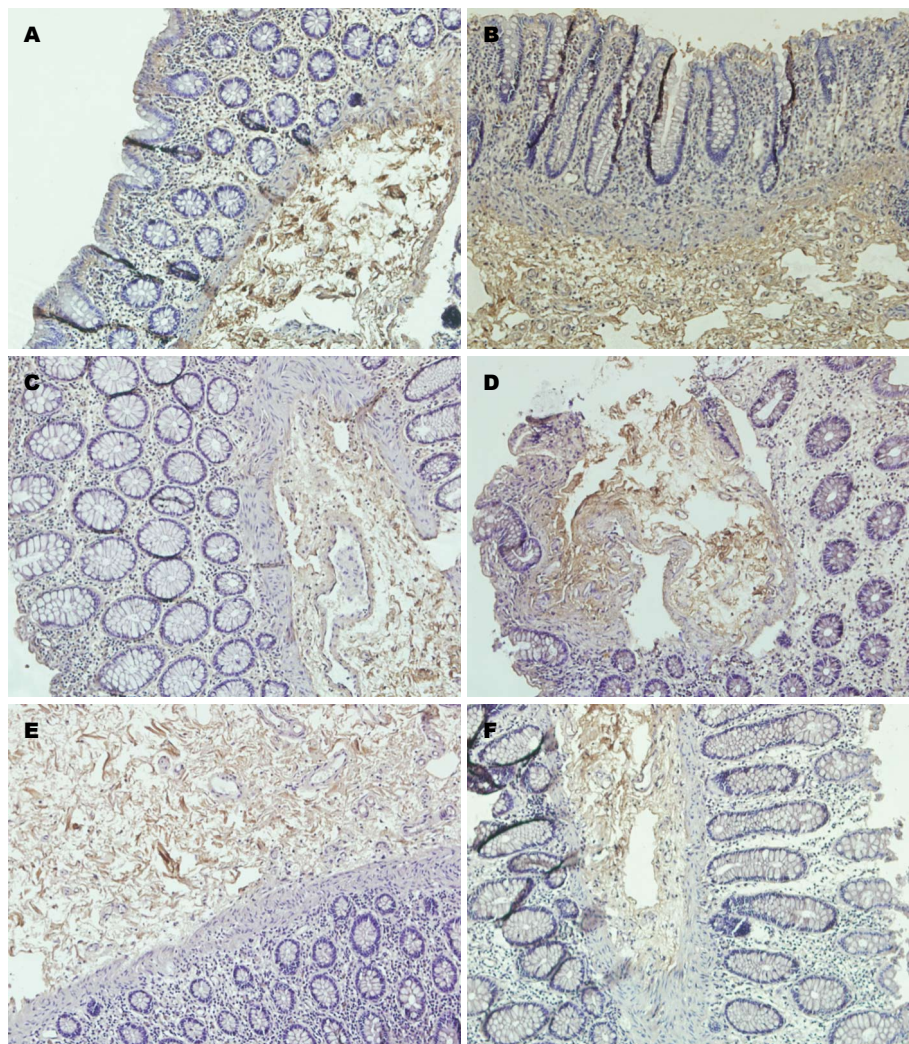


图3 免疫组织化学结果(×100)。A: Col- I, 1号位; B: Col- I, 2号位; C: Col- I, 3号位; D: Hyal- 1, 1号位; E: Hyal- 1, 2号位; F: Hyal- 1, 3号位。Col- I: I型胶原; Hyal- 1: 透明质酸酶。

号位的表达低于2、3号位, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

免疫组织化学结果表明1、2、3号部位组织中均有E-cadherin表达(图4A-C), 主要分布于上皮细胞膜上。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值, 1、2、3号部位光密度值分别为 0.374055 ± 0.027441 、 0.406566 ± 0.038829 、 0.356538 ± 0.036628 。1、2号位的表达都高于3号位, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

免疫组织化学结果表明1、2、3号部位组织中均有CRB3表达(图4D-F), 主要分布于上皮细胞顶部, 应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值, 1、2、3号部位光密度值分别为 0.301413 ± 0.08249 、 0.285852 ± 0.055672 、 0.253593 ± 0.039438 。1、2号位的表达都高于3号位, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

有研究发现, 不同病变时期的隐窝在形态学上存在很大差异, 他们的体积、形状、细胞核大小、表面光滑程度以及有无分支都与正常隐窝不同^[4]。异常的隐窝对大肠癌癌变的诊断有重要意义。

随着对肿瘤的深入研究, 越来越多人认识到肿瘤微环境对肿瘤的发生和发展至关重要^[7-9]。在肿瘤的启动过程中, 正常的组织原则性发生改变, 构建新的适合肿瘤生长的组织原则性。肿瘤组织原则性的建立对肿瘤启动机制有着重要意义。组织架构和内稳态的改变是肿瘤启动的早期信号。

ECM是分布于细胞外空间, 由细胞分泌的蛋白和多糖所构成的动态网络结构。它能够维持多细胞生物结构的完整性, 参与细胞信号传导, 对细胞的生长、分化、黏附、扩散和移行

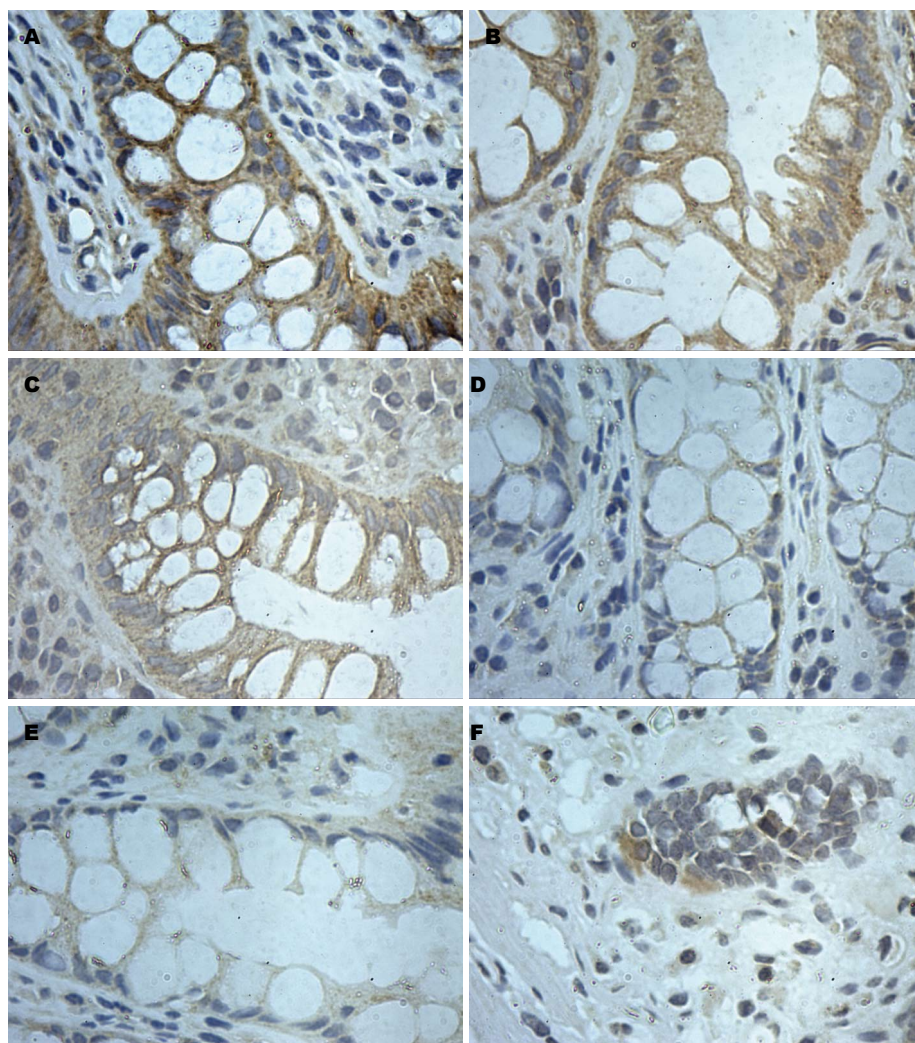


图 4 免疫组织化学结果($\times 400$). A: E-cadherin, 1号位; B: E-cadherin, 2号位; C: E-cadherin, 3号位; D: CRB3, 1号位; E: CRB3, 2号位; F: CRB3, 3号位.

应用要点

正常的ECM和细胞极性能维持组织的正常架构并发挥正常的生理功能. I型胶原(collagen type I, Col-I)、透明质酸酶(hyaluronidase-1, Hyal-1)、上皮性钙黏素(E-cadherin)和极性调控蛋白crumbs3(CRB3)的表达和分布改变导致所处的微环境改变, 促进了肿瘤的发生发展. 所以, 研究Hyal-1、Col-I、E-cadherin和CRB3在肿瘤进程中的表达和分布对研究肿瘤的启动有重要的意义. 但他们的具体调控机制仍需继续探索, 并且可以结合动物实验, 以完善此项研究.

有极其深远的影响, 经过重塑的ECM为肿瘤发生创造一个宽松的“土壤”, 导致肿瘤细胞高增殖、低分化、凋亡抑制以及侵袭、转移^[10]. ECM基本结构骨架是蛋白质, 由不同的氨基酸残基组成的特殊多肽序列形成不同的成分, 主要分为胶原、蛋白聚糖和糖蛋白三大类. ECM是组织中细胞微环境的重要组分, 为启动或维持细胞功能提供了关键的生化和物理信号. 透明质酸和胶原蛋白是ECM的重要组成成分. 透明质酸可以维持ECM的完整性, 在ECM与细胞表面相互作用. Hyal可以解聚和降解透明质酸, 使透明质酸分子从胶原细纤维间隙中释放出来并重新分布, 主要定位于ECM, 影响细胞的增殖及分化, 在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[11]. Hyal-1是人类体细胞组织中最重要Hyal, 通过降解透明质酸而对肿瘤的生长转移起调节作用. 胶原是ECM中含量最高的成分,

刚性及抗张力强度最大, 构成细胞外的骨架结构. Col-I是含量最多的结构蛋白, 参与构成ECM的主要成分. Col-I具有广泛的生物学活性, 除了生物力学作用以外, 在确立细胞形状及行为、细胞分化与发育中起重要作用. Col-I在骨骼与结缔组织中形成和保持骨架的完整性, 并且在形成特定的细胞外微环境中具有重要作用, 对维持细胞的完整性及传递细胞外信号非常关键^[12].

后生动物的发育和稳态都要求建立和维持正确的细胞极性. 柱状上皮细胞顶端和基底端的形态和结构的差别保障了他们的外分泌、吸收和屏障等功能; 细胞迁移也依赖于细胞的极化. 细胞极性的破坏是肿瘤细胞的特征之一. 近年来的研究证明细胞极性的丧失与癌变过程密切相关, 一些关键的细胞极性蛋白是促癌物或抑癌物; 细胞极化的基本机制往往是致

名词解释

肿瘤微环境: 由肿瘤细胞和肿瘤相关基质共同构成, 二者相对独立又相互作用、共同进化(coevolution).

癌信号通路的靶点. E-cadherin是上皮细胞表型的标志性蛋白, 也是上皮细胞间黏附连接重要的黏附分子, 在维持上皮细胞极性和功能方面起重要的作用^[13]. 它能够介导细胞与细胞、细胞与基质之间黏附的跨膜糖蛋白, 对于维持上皮细胞的结构和形态起到非常重要的作用. E-cadherin目前被普遍认为是一种抑癌因子, 其表达下调或缺失能够引发间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT), 即细胞由上皮类型向间质类型转化, EMT的发生使得细胞排列疏松, 运动能力变强. 目前已经发现E-cadherin在许多肿瘤中表达下调, 并且与预后等有密切的关系. 已经有研究^[14,15]证实, 早期鳞状细胞癌中E-cadherin丢失的多少对其早期发生有重要作用. Crb复合物参与了上皮细胞极性的形成、建立和维持, 过表达的Crb会延迟紧密连接的形成. CRB3在视网膜和上皮组织中表达, 并在骨骼肌和大脑有微弱的存在^[16]. 在哺乳动物中已被证实, Crumbs表达异常可导致细胞极性的丢失进而启动了肿瘤的发生^[17]. CRB3主要存在于细胞顶膜部位, 是一种重要的顶端决定因子, 主要在具有上皮源性的组织和细胞中表达^[18-20]. 在大肠癌启动过程中, 肠上皮细胞获得间充质细胞样的表型, 甚至是获得致瘤型细胞表型, 而使得上皮细胞的排列严重紊乱. 而极性蛋白与细胞表型有着必要联系. 在Crums基因敲除的小鼠中得到的证实, Crums在肠上皮细胞表型的发展中有着重要作用. 无论是CRB3-PDZ结合序列还是CRB3-FREM结合序列的突变都会阻碍紧密连接的形成和发育, 提示CRB3是一种重要的顶端决定因子^[18,19]. 当极性蛋白的过表达或者缺失与上皮细胞表型的改变同时发生时, 这对肿瘤启动起着关键作用^[21].

正常的ECM和细胞极性能维持组织的正常架构并发挥正常的生理功能. Hyal-1、Col- I、E-cadherin和CRB3对维持组织正常的微环境有重要作用. 他们的表达和分布改变导致所处的微环境改变, 促进了肿瘤的发生发展. 所以, 研究Hyal-1、Col- I、E-cadherin和CRB3在肿瘤进程中的表达和分布对研究肿瘤的启动有重要的意义. 但他们的具体调控机制仍需继续探索, 并且可以结合动物实验, 以完善此项研究.

4 参考文献

- 1 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-867 [PMID: 12490959 DOI: 10.1038/nature01322]

- 2 Bissell MJ, Radisky D. Putting tumours in context. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 46-54 [PMID: 11900251 DOI: 10.1038/35094059]
- 3 Gupta AK, Schoen RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 59-65 [PMID: 19114775 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32831db286]
- 4 Tamura S, Furuya Y, Tadokoro T, Higashidani Y, Yokoyama Y, Araki K, Onishi S. Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm. *J Gastroenterol* 2002; 37: 798-806 [PMID: 12424563 DOI: 10.1007/s005350200133]
- 5 Pretlow TP, Pretlow TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 83-96 [PMID: 16219426]
- 6 Cheng L, Lai MD. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2642-2649 [PMID: 14669304]
- 7 Siveen KS, Kuttan G. Role of macrophages in tumour progression. *Immunol Lett* 2009; 123: 97-102 [PMID: 19428556 DOI: 10.1016/j.imlet.2009.02.011]
- 8 Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature* 2001; 411: 375-379 [PMID: 11357145 DOI: 10.1038/35077241]
- 9 Kim BG, An HJ, Kang S, Choi YP, Gao MQ, Park H, Cho NH. Laminin-332-rich tumor microenvironment for tumor invasion in the interface zone of breast cancer. *Am J Pathol* 2011; 178: 373-381 [PMID: 21224074 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.028]
- 10 Brinckerhoff CE, Rutter JL, Benbow U. Interstitial collagenases as markers of tumor progression. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4823-4830 [PMID: 11156241]
- 11 Cs6ka TB, Frost GI, Stern R. Hyaluronidases in tissue invasion. *Invasion Metastasis* 1997; 17: 297-311 [PMID: 9949289]
- 12 Gelse K, P6schl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 1531-1546 [PMID: 14623400 DOI: 10.1016/j.addr.2003.08.002]
- 13 Kim NG, Koh E, Chen X, Gumbiner BM. E-cadherin mediates contact inhibition of proliferation through Hippo signaling-pathway components. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 11930-11935 [PMID: 21730131 DOI: 10.1073/pnas.1103345108]
- 14 Guebel DV, Schmitz U, Wolkenhauer O, Vera J. Analysis of cell adhesion during early stages of colon cancer based on an extended multi-valued logic approach. *Mol Biosyst* 2012; 8: 1230-1242 [PMID: 22298312 DOI: 10.1039/c2mb05277f]
- 15 Hanakawa Y, Amagai M, Shirakata Y, Yahata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K. Differential effects of desmoglein 1 and desmoglein 3 on desmosome formation. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 1231-1236 [PMID: 12485422 DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.19648.x]
- 16 Makarova O, Roh MH, Liu CJ, Laurinec S, Margolis B. Mammalian Crumbs3 is a small transmembrane protein linked to protein associated with Lin-7 (Pals1). *Gene* 2003; 302: 21-29 [PMID: 12527193]

- 17 Ellenbroek SI, Iden S, Collard JG. Cell polarity proteins and cancer. *Semin Cancer Biol* 2012; 22: 208-215 [PMID: 22465739]
- 18 Roh MH, Fan S, Liu CJ, Margolis B. The Crumbs3-Pals1 complex participates in the establishment of polarity in mammalian epithelial cells. *J Cell Sci* 2003; 116: 2895-2906 [PMID: 12771187 DOI: 10.1242/jcs.00500]
- 19 Fogg VC, Liu CJ, Margolis B. Multiple regions of Crumbs3 are required for tight junction formation in MCF10A cells. *J Cell Sci* 2005; 118: 2859-2869 [PMID: 15976445 DOI: 10.1242/jcs.02412]
- 20 Lemmers C, Michel D, Lane-Guermonprez L, Delgrossi MH, Médina E, Arsanto JP, Le Bivic A. CRB3 binds directly to Par6 and regulates the morphogenesis of the tight junctions in mammalian epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 1324-1333 [PMID: 14718572 DOI: 10.1091/mbc.E03-04-0235]
- 21 Macara IG, McCaffrey L. Cell polarity in morphogenesis and metastasis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 368: 20130012 [PMID: 24062582]

同行评价
本课题通过对肿瘤微环境中相关成分的检测, 探索肿瘤微环境对大肠癌启动的意义. 立题新颖, 实验设计合理, 结果和结论可信, 对大肠癌的研究有一定的意义.

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



结构式心理护理对中青年男性直肠手术患者围术期应激反应的影响

董宏旭, 魏砚砚, 杨芳, 吴玉冉

背景资料
目前, 我国直肠癌的发病率呈不断升高的趋势, 而腹腔镜手术是目前直肠癌患者较为常用且有效的治疗方式。腹腔镜手术在改善患者躯体健康方面能起到积极的作用, 但是在患者的社会心理方面产生不利影响。

董宏旭, 杨芳, 吴玉冉, 河北医科大学第一医院手术室 河北省石家庄市 050000
魏砚砚, 河北医科大学第一医院麻醉科 河北省石家庄市 050000
董宏旭, 主管护师, 主要从事围手术期心理护理的研究。
作者贡献分布: 本文主要由董宏旭、魏砚砚、杨芳及吴玉冉共同写作完成。
通讯作者: 魏砚砚, 主治医师, 050000, 河北省石家庄市东岗路89号, 河北医科大学第一医院麻醉科. dhxdong@yeah.net
电话: 0311-85917318
收稿日期: 2014-10-28 修回日期: 2014-11-24
接受日期: 2014-11-27 在线出版日期: 2015-01-08

Influence of structured psychological nursing on perioperative stress response in young and middle-aged male patients undergoing rectal operation

Hong-Xu Dong, Yan-Yan Wei, Fang Yang, Yu-Ran Wu

Hong-Xu Dong, Fang Yang, Yu-Ran Wu, Operating Room, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Yan-Yan Wei, Department of Anesthesiology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Yan-Yan Wei, Attending Physician, Department of Anesthesiology, the First Hospital of Hebei Medical University, 89 Donggang Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. dhxdong@yeah.net
Received: 2014-10-28 Revised: 2014-11-24
Accepted: 2014-11-27 Published online: 2015-01-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of structured psychological nursing on perioperative stress response in young and middle-aged male patients undergoing rectal operation.

METHODS: Two hundred young and middle-aged male patients receiving laparoscopic operation were divided into either an observation group ($n = 105$) or a control group ($n = 95$). The control group received the routine nursing care, and the observation group received

structured psychological nursing. Mean systolic pressure, heart rate and the psychological status of patients at admission and 4 wk after nursing intervention were recorded and analyzed. The psychological status, including anxiety, depression, and the overall status, was assessed using the Symptom Checklist-90.

RESULTS: After 4 wk of nursing intervention, self-rating anxiety scale (SAS) score, self-rating depression scale (SDS) score, heart rate and systolic blood pressure were significantly decreased in both groups, and the decreases were more significant in the observation group. There was no significant difference in interpersonal relationship, psychotic, hostility, or somatization score between the two groups, but the scores of depression, obsessive emotion, anxiety, fear, rage and paranoia in the observation group were significantly lower than those in the control group.

CONCLUSION: Structured psychological nursing can not only effectively relieve anxiety and depression and reduce heart rate and systolic blood pressure in patients undergoing rectal operation, but also alleviate the patient's bad mood.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Structured psychological nursing; Young; Rectal operation; Stress response

Dong HX, Wei YY, Yang F, Wu YR. Influence of structured psychological nursing on perioperative stress response in young and middle-aged male patients undergoing rectal operation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 170-175 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.170>

摘要

目的: 探讨结构式心理护理对中青年男性直

同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

肠手术患者围术期应激反应的影响.

方法: 选取中青年男性腹腔镜手术患者200例作为研究对象, 根据患者接受的护理方式将患者分为对照组和观察组, 对照组接受常规护理, 共95例患者, 观察组接受结构式心理护理, 共105例患者; 记录并分析两组患者的在入院时以及在护理干预4 wk后的平均收缩压、心率和精神心理状况, 其中, 患者的精神心理状况包括焦虑情况、抑郁情况以及患者整体状况.

结果: 护理干预4 wk后, 两组患者的焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评分、心率以及收缩压均具有显著的下降, 且差异与入院时比较具有统计学意义, 观察组患者SAS、SDS评分、心率以及收缩压均明显的低于对照组, 且差异具有统计学意义; 人际关系、精神病性、敌对情绪及躯体化病症的差异均无统计学意义; 观察组患者抑郁的情绪、强迫情绪、焦虑情绪、恐惧情绪、狂躁以及偏执的情绪均明显的低于对照组, 且差异具有统计学意义.

结论: 结构式心理护理不仅可以有效地缓解患者的焦虑和抑郁情绪, 减低患者的心率和收缩压, 还可以缓解患者的强迫、恐惧、狂躁以及偏执的情绪, 值得临床推广.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结构式心理护理; 中青年; 直肠; 应激反应

核心提示: 本研究结果显示, 护理干预4 wk后, 两组患者的焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评分以及收缩压和心率具有显著的下降, 且差异与入院时具有统计学意义, 观察组患者SAS和SDS评分以及收缩压和心率均明显的低于对照组, 且差异具有统计学意义. 研究结果提示, 结构式心理护理方式比传统的护理方式可以更好的改善患者的焦虑和抑郁情绪.

董宏旭, 魏砚砚, 杨芳, 吴玉冉. 结构式心理护理对中青年男性直肠手术患者围术期应激反应的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 170-175 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/170.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.170>

0 引言

目前, 我国直肠癌的发病率呈不断升高的趋势,

而腹腔镜手术是目前直肠癌患者较为常用且有效的治疗方式. 腹腔镜手术在改善患者躯体健康方面能起到积极的作用, 但是在患者的社会心理方面产生不利影响^[1,2]. 有研究^[3,4]指出, 腹腔镜手术患者在实施前后均可造成患者产生抑郁、焦虑等不良情绪, 不良的情绪又可能会导致患者产生负面的生理反应, 男性一般都是家里的经济和社会支柱, 所以男性治疗后不利的心理状态会直接对家里和社会造成负面的影响. 为了有效地避免直肠癌患者产生的负面情绪, 本研究对河北医科大学第一医院收治的中青年男性直肠癌拟行腹腔镜术患者实施结构式心理护理, 临床效果良好, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-06/2014-06河北医科大学第一医院收治的早期直肠癌患者, 并在河北医科大学第一医院接受腹腔镜手术的男性患者200例作为研究对象, 年龄均为25-55岁, 初中以上143例, 高中以上38例, 大学以上19例. 所有患者的组织活检病理结果确诊为直肠腺癌, 无手术的禁忌症, 患者神志清楚, 可以积极的对医师做出的指令做出反应, 患者自身同意参加本研究, 且签署知情同意书. 本研究经河北医科大学第一医院伦理委员会审查同意.

1.2 方法

1.2.1 分组: 根据患者接受的护理方式以及时间的不同将患者分为对照组和观察组, 其中2011-06/2012-12接受治疗的患者接受常规护理方案的患者为对照组, 共95例, 2013-01/2014-06接受治疗的患者接受结构式心理护理方案为观察组, 共105例. 其中两组患者的年龄分布以及学历分布差异均无统计学意义(表1).

1.2.2 对照组护理: 本组患者在接受手术前要接受同步的放化疗, 手术方式采用5孔操作的腹腔镜, 且注意避免取标本切口的感染. 护理方式采用常规护理, 包括在每次治疗和见面时给予患者健康教育, 督促其改善不良生活习惯, 营养支持, 患者术前为其肠道准备以及皮肤准备, 术后护理包括给予患者多参数记录检测, 并保证患者的各个引流的通畅, 并记录肛门排气以及引流量等相关的数据, 还要包括患者饮食的嘱咐等, 并发放宣传材料.

1.2.3 观察组护理: 在对照组的基础上, 给予患者结构式心理护理, 结构式心理护理为1次/d, 每次大约15 min. 具体的内容包括: 首先需要

相关报道
研究指出, 腹腔镜手术患者在实施前后均可造成患者产生抑郁、焦虑等不良情绪, 不良的情绪又可能会导致患者产生负面的生理反应, 男性一般都是家里的经济和社会支柱, 所以男性治疗后不利的心理状态会直接对家里和社会造成负面的影响.

应用要点
结构式心理护理对中青年男性直肠癌手术患者围术期应激反应具有有利的影响。不仅可以有效的缓解患者的焦虑和抑郁情绪,降低患者的心率和收缩压,还可以缓解患者的强迫、恐惧、狂躁以及偏执的情绪,值得临床推广。

表 1 两组患者一般资料的比较

分组	n	平均年龄(岁)	学历分布			病程(年)
			初中以上	高中以上	大学以上	
对照组	95	38.15 ± 6.14	74	16	5	4.65 ± 2.61
观察组	105	37.61 ± 6.29	73	22	10	4.73 ± 2.55
t/χ ² 值		0.124	1.526			0.021
P值		0.816	0.217			0.935

支持心理护理,在患者入院接受治疗期间要积极调整患者心态,消除患者恐惧心理,患者会对病情的恶化以及死亡产生恐惧,在治疗前期还会对疼痛产生惧怕,这些都是造成患者产生恐惧心理的主要原因,医护人员在与患者沟通的过程中一定要保持真诚、耐心的态度,并要利用通俗易懂的语言为患者及其家属讲解手术的必要性以及实施的过程,以及在放化疗期间注意事项,并要积极的介绍实施同类手术已经成功的患者,尽量的减轻患者的恐惧感,要尽可能地使患者以轻松的心情,这样还可以增加患者治疗的配合度,同时还要适时的排除患者焦虑以及抑郁情绪,充分地理解患者,积极帮助解决面临的困难,还要积极地与家属联系,积极安排家属探视。在介绍治疗的过程中要深入浅出的讲解疗效和手术的关系,腹腔镜手术比传统手术的优点。给每位患者以治疗的信心,包括要详细且通俗易懂的为患者介绍疾病的相关知识,发病原理,治疗途径,排除患者认为癌症是无法治愈的态度,让患者接受医院陌生的环境,并积极接受治疗,要给患者灌输只要积极的配合医护人员的安排,癌症就可以治愈的信息,最终排除患者悲观情绪以及狂躁不安的表现。但是在介绍的过程中也一定要让患者了解到并不是在治疗的初期,症状得到控制就认为自己的疾病痊愈,从而放弃后期的治疗,并且每天的结构式护理之后责任护士一定随时注意患者的心态,以自己专业的知识使患者保持良好的心态。在护理的过程中还要积极为患者介绍肛门括约肌的锻炼的方法,说明其重要性以及必要性,还要平静患者的心理,积极下床走路,使其每天都要看到治疗的效果,并增强患者的信心。对于患者病情家属是否明确的告知患者病情,并为患者讲解成功的治疗案例。对于家属一定要积极的告知该病在治疗的过程中产生的费用,可以让家属安心的支持患者的治疗和积极的陪护,消除顾虑,保持良好的

情绪。

1.2.4 评价指标:记录并分析两组患者的在入院时以及在护理干预4 wk后的平均收缩压,心率和精神心理状况。其中,患者的精神心理状况包括焦虑情况[采用焦虑自评表(self-rating anxiety scale, SAS)]、抑郁情况[采用抑郁自评表(self-rating depression scale, SDS)]以及患者整体状况[症状自评量表(symptom checklist-90, SCL-90)]。SAS、SDS、SLC-90 3个量表的Cronbach α系数分别为0.934、0.845、0.967。其中对于患者的主观症状的评价多采用SAS和SDS,评分越高说明焦虑和抑郁的情况越显著。SCL-90量表包括10个因子评分以及累计评分,评分越高则说明各因子所代表的相关症状越严重。

统计学处理 本研究数据均采用SPSS19.0统计学软件进行处理,定量数据均采用mean ± SD进行表示;计量资料均采用t检验;计数资料均采用χ²检验, P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料的比较 研究结果显示,两组患者的年龄的分布,学历的分布以及病程的差异均无统计学意义(P>0.05),具有可比性(表1)。

2.2 两组患者SAS量表和SDS量表的比较 研究结果显示,两组患者入院时的SAS和SDS评分的差异均无统计学意义,护理干预4 wk后,两组患者的SAS和SDS评分具有显著的下降,且差异与入院时具有统计学意义,观察组患者SAS和SDS评分均明显的低于对照组,且差异具有统计学意义(表2)。

2.3 两组患者收缩压以及心率的比较 研究结果显示,两组患者入院时的收缩压和心率的差异均无统计学意义,护理干预4 wk后,两组患者的收缩压和心率均具有显著的下降,且差异与入

同行评价
本研究选题良好,
内容丰富, 结果有
一定的参考价值.

表 2 两组患者SAS量表和SDS量表的比较 (mean ± SD, 分)

分组	SAS		SDS	
	入院时	干预4 wk后	入院时	干预4 wk后
对照组	32.15 ± 2.61	26.13 ± 4.38 ^a	35.26 ± 3.09	27.05 ± 3.98 ^c
观察组	33.28 ± 2.59	20.17 ± 3.66 ^b	35.79 ± 3.91	19.43 ± 3.52 ^d
<i>t</i> 值	0.075	12.649	0.064	13.502
<i>P</i> 值	0.853	0.000	0.874	0.000

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 入院时SAS; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 入院时SDS. SAS: 焦虑自评表; SDS: 抑郁自评表.

表 3 两组患者收缩压以及心率的比较 (mean ± SD)

分组	收缩压(mmHg)		心率(次/min)	
	入院时	干预4 wk后	入院时	干预4 wk后
对照组	143.42 ± 6.04	135.46 ± 1.99	95.64 ± 5.69	87.16 ± 4.61
观察组	144.28 ± 5.97	121.57 ± 1.57	97.35 ± 4.95	83.28 ± 2.15
<i>t</i> 值	0.057	11.264	0.128	6.341
<i>P</i> 值	0.891	0.001	0.830	0.006

表 4 两组患者护理干预4 wk后SLC-90量表的比较 (mean ± SD, 分)

分组	干预4 wk后		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	对照组	观察组		
人际关系	1.60 ± 0.51	1.74 ± 0.63	0.146	0.801
精神病性	1.32 ± 0.34	1.34 ± 0.41	0.067	0.879
抑郁	2.26 ± 0.49	1.72 ± 0.32	4.185	0.016
强迫	1.87 ± 0.50	1.54 ± 0.31	3.067	0.029
焦虑	1.84 ± 0.32	1.36 ± 0.28	5.019	0.010
敌对	1.65 ± 0.36	1.41 ± 0.20	0.657	0.168
恐惧	1.80 ± 0.16	1.25 ± 0.14	6.276	0.009
狂躁	1.79 ± 0.24	1.39 ± 0.13	4.462	0.014
偏执	1.83 ± 0.16	1.37 ± 0.12	4.639	0.012
躯体化症状	2.21 ± 0.34	1.97 ± 0.35	0.861	0.094

SLC-90: 症状自评量表.

院时具有统计学意义, 观察组患者收缩压和心率均明显的低于对照组, 且差异具有统计学意义(表3).

2.4 两组患者SLC-90量表的比较 研究结果显示, 两组患者在干预4 wk后, 人际关系、精神病性、敌对情绪、躯体化病症的差异均无统计学意义; 观察组患者抑郁的情绪、强迫情绪、焦虑情绪、恐惧情绪、狂躁以及偏执的情绪均明显的低于对照组, 且差异具有统计学意义(表4).

3 讨论

在临床上, 结构式心理护理是一种综合性较强的心理护理方式, 该护理方式把应激处理、应对技巧和健康教育有机地结合起来^[5,6]. 在临床护理的过程中, 心理护理和技术护理均十分重要, 且两者又是相辅相成的. 而在有些情况下, 心理护理的作用可能会优于技术护理, 可以使医患关系变的融洽, 有利于帮助病患建立治疗的自信以及摆脱患者的不良的心理状态^[7-9]. 本研究将结构式心理护理应用于中青年直肠手术

患者围术期护理,并取得了较好的效果。

护理干预4 wk后,两组患者的SAS、SDS评分以及收缩压和心率具有显著的下降,且差异与入院时具有统计学意义,观察组患者SAS和SDS评分以及收缩压和心率均明显的低于对照组,且差异具有统计学意义。研究结果提示,结构式心理护理方式比传统的护理方式可以更好的改善患者的焦虑和抑郁情绪。可能的原因是大多数肿瘤患者得知自己患病以及谈到伴随放化疗的手术治疗总会联想到疼痛、呕吐以及乏力等症状,从而导致患者出现恐惧和焦虑的情绪。有研究表明^[10-12],恶性肿瘤患者的术前以及术后患者均可能产生抑郁和焦虑的情绪,这与本研究入院前的检测结果是一致的,患者的交感神经系统异常的兴奋,致使机体分泌的儿茶酚胺的量增加,进一步引发血管的痉挛,加重患者的不良反应,最终可能会直接影响治疗依从性和治疗的效果。所以,心理护理干预可以有效地降低患者的负面情绪,可以帮助患者进行情绪表达的训练以及相关治疗的方式的学习,在护理干预以前患者大都处于被动接受的状态,缺少主动的参与治疗和讨论,不能积极地面对困难,没有战胜疾病的勇气,对治疗的信心不足^[13,14],因此依从性差,在结构式心理护理中可以有效地改善患者的主观能动性,最终缓解了患者的焦虑和抑郁的情绪,而降低了患者的收缩压和心率。

两组患者在干预4 wk后,人际关系,精神病性,敌对情绪,躯体化病症的差异均无统计学意义;观察组患者抑郁的情绪、强迫情绪、焦虑情绪、恐惧情绪、狂躁以及偏执的情绪均明显的低于对照组,且差异具有统计学意义。可能的原因是结构式心理护理是以人为整体的护理理论,要把患者的健康教育和应急技巧巧妙的融合在一起。首先医护人员已经与患者建立良好的关系和信任感,可以充分调动患者类似的病友,亲属以及家属等资源,多频率的开展小型疾病相关的知识讲座,让患者多了解癌症的发生知识和处理方式,这不仅可以有效的增强患者的治疗的信心,还要及时的注意患者的情绪的波动,及时治疗和开导,最终使得患者通过神经-内分泌系统的反馈,对患者的心理状态起到积极的影响,从而积极的应对疾病,最终摆脱不良情绪的困扰,形成良性的循环^[15]。

总之,结构式心理护理对中青年男性直肠

手术患者围术期应激反应具有有利的影响,不仅可以有效地缓解患者的焦虑和抑郁情绪,减低患者的心率和收缩压,还可以缓解患者的强迫、恐惧、狂躁以及偏执的情绪,值得进行临床推广。

4 参考文献

- 1 程梅,张芳. 结构式心理护理对经皮冠状动脉介入治疗患者负性情绪的影响. 解放军护理杂志 2014; 31: 46-48
- 2 李晓丹. 认知行为干预对经皮冠脉介入治疗患者应激反应的影响. 郑州: 郑州大学 2011
- 3 Cole S, Branagan G. Rectal cancer management and high levels of anxiety and depression. *Surgeon* 2012; 10: 303 [PMID: 22673586 DOI: 10.1016/j.surge.2012.04.002]
- 4 吴俊晓,陈英. 护理干预对大肠癌腹会阴联合直肠癌根治术患者精神和心理健康的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1460-1464
- 5 White VM, Macvean ML, Grogan S, D'Este C, Akkerman D, Ieropoli S, Hill DJ, Sanson-Fisher R. Can a tailored telephone intervention delivered by volunteers reduce the supportive care needs, anxiety and depression of people with colorectal cancer? A randomised controlled trial. *Psychooncology* 2012; 21: 1053-1062 [PMID: 21769989 DOI: 10.1002/pon.2019]
- 6 陆艳红,王娟,谭华. 结构式心理干预对首次化疗患者负性情绪的影响. 吉林医学 2011; 32: 2706-2707
- 7 Bossema ER, Seuntjens MW, Marijnen CA, Baas-Thijssen MC, van de Velde CJ, Stiggelbout AM. The relation between illness cognitions and quality of life in people with and without a stoma following rectal cancer treatment. *Psychooncology* 2011; 20: 428-434 [PMID: 20878851 DOI: 10.1002/pon.1758]
- 8 臧丽娟. 结构式心理护理对急性胰腺炎患者的影响. 中外医学研究 2011; 9: 101-102
- 9 Mattsson S, Alfnsson S, Carlsson M, Nygren P, Olsson E, Johansson B. U-CARE: Internet-based stepped care with interactive support and cognitive behavioral therapy for reduction of anxiety and depressive symptoms in cancer--a clinical trial protocol. *BMC Cancer* 2013; 13: 414 [PMID: 24024826 DOI: 10.1186/1471-2407-13-414]
- 10 范亚君,邓战红. 结构式心理护理在乳腺癌患者治疗中的应用. 中国美容整形外科杂志 2012; 23: 17-19
- 11 Graça Pereira M, Figueiredo AP, Fincham FD. Anxiety, depression, traumatic stress and quality of life in colorectal cancer after different treatments: A study with Portuguese patients and their partners. *Eur J Oncol Nurs* 2012; 16: 227-232 [PMID: 21783416 DOI: 10.1016/j.ejon.2011.06.006]
- 12 全小玲,陈芳. 结构式心理干预对消化性溃疡患者焦虑、抑郁及生命质量的影响. 当代护士(专科版) 2012; (4): 127-129
- 13 李桂英,胡云鹤. 心理护理干预在急诊胃镜止血中的应用及对患者焦虑紧张情绪的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1346-1349
- 14 Mrak K, Jagoditsch M, Eberl T, Klingler A, Tschmelitsch J. Long-term quality of life in pouch patients compared with stoma patients following rectal cancer surgery. *Colorectal Dis* 2011; 13: e403-e410 [PMID: 21812896 DOI: 10.1111/j.1463-

1318.2011.02740.x]
15 Linden W, Vodermaier A, Mackenzie R, Greig D.
Anxiety and depression after cancer diagnosis:

prevalence rates by cancer type, gender, and age.
J Affect Disord 2012; 141: 343-351 [PMID: 22727334
DOI: 10.1016/j.jad.2012.03.025]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

阑尾间质瘤1例并文献复习

朱晨宇, 朱耀明

背景资料
胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化系最常见的间叶组织来源肿瘤,可发生在从食管至肛门的胃肠道全长范围,发生于阑尾罕见。

朱晨宇, 朱耀明, 三峡大学第一临床医学院 湖北省宜昌市 443000

朱晨宇, 主治医师, 主要从事胃肠胰腺外科的研究。

作者贡献分布: 本文撰写主要由朱晨宇完成; 朱耀明审核。

通讯作者: 朱耀明, 主任医师, 443000, 湖北省宜昌市夷陵大道183号, 三峡大学第一临床医学院, 5407733@qq.com

电话: 0717-6482302

收稿日期: 2014-10-13 修回日期: 2014-11-03

接受日期: 2014-11-12 在线出版日期: 2015-01-08

Gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix: A case report and literature review

Chen-Yu Zhu, Yao-Ming Zhu

Chen-Yu Zhu, Yao-Ming Zhu, the First College of Clinical Medical Science, Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Correspondence to: Yao-Ming Zhu, Chief Physician, the First College of Clinical Medical Science, Three Gorges University, 183 Yiling Avenue, Yichang 443000, Hubei Province, China. 5407733@qq.com

Received: 2014-10-13 Revised: 2014-11-03

Accepted: 2014-11-12 Published online: 2015-01-08

Abstract

Vermiform appendix tumor is seldom reported worldwide, and gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix is even rarer. This paper reports a case of gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix. We also discuss the differential diagnosis and outcome of gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix as well as the principle of surgical treatment.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal stromal tumor; Vermiform appendix; Surgical treatment

Zhu CY, Zhu YM. Gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(1): 176-178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/176.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.176>

同行评议者
张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

摘要

阑尾肿瘤在国内外报道中少见, 其中阑尾间质瘤更为罕见。本文报道了阑尾间质瘤1例, 探讨了阑尾间质瘤的诊断、治疗及预后转归, 并重点探讨阑尾间质瘤的外科治疗原则。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠间质瘤; 阑尾; 外科治疗

核心提示: 胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)的报道十分少见, 亦无大规模临床研究结果。目前认为: 阑尾GIST首选手术治疗, 手术方式取决于肿瘤的部位及恶性程度。中高度恶性的阑尾GIST术后推荐口服低剂量甲磺酸伊马替尼预防肿瘤的复发。

朱晨宇, 朱耀明. 阑尾间质瘤1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2015; 23(1): 176-178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/176.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i1.176>

0 引言

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是一种少见疾病, 临床上可表现出右下腹痛、呕吐等急性阑尾炎症状, 极易误诊为急性阑尾炎。为提高临床医生对阑尾间质瘤的认识, 减少误诊, 现将三峡大学第一临床医学院收治的阑尾间质瘤误诊为急性阑尾炎1例的临床资料分析报告如下。

1 病例报告

患者, 女性, 63岁, 因右下腹痛伴恶心呕吐1 d入院。既往有系统性红斑狼疮病史6年余。查体: 腹膨隆, 右下腹麦氏点压痛、反跳痛、肌紧张, 未触及包块, 肠鸣音活跃, 约5次/min, 未闻及气过水音及高调金属音。辅助检查: 抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)阳性(+), 抗干燥综合征A抗原抗体阳性(+), 红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR): 31 mm/h; 腹部计算机断层扫描(computed tomography, CT)提示: 阑尾增

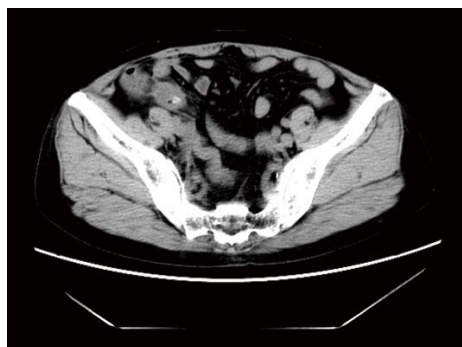


图 1 腹部计算机断层扫描示阑尾增粗, 周围脂肪间隙模糊.

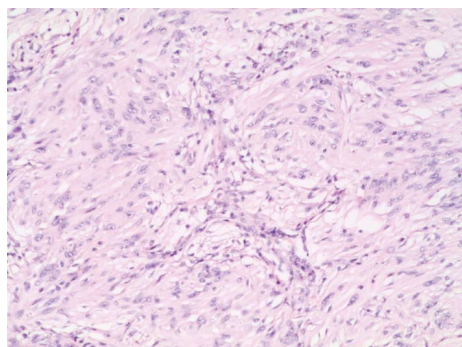


图 2 病理切片见肿瘤由大量梭形细胞组成(H&E × 200).

粗, 直径约2.0 cm, 周围脂肪间隙模糊, 盆腔内见少量液体密度影(图1). 予急诊行阑尾切除术, 术中见阑尾肿大、质硬、充血, 大小约6.0 cm×3.0 cm×2.5 cm, 与周围组织无黏连, 未见肿大淋巴结, 腹腔内约400 mL脓性积液. 术后病理提示: “阑尾”低危险度胃肠道间质瘤伴急性蜂窝织炎性阑尾炎(图2). 肿瘤直径<5 cm, 细胞轻度异型性, 核分裂象<5个/50 HPF, 无坏死. 免疫组织化学结果: SMA(-)、CD117(+)、CD34(-)、S-100(+)、Desmin(-)、DOG-1(+)、Ki-67(<10%)、Syn(+)、CgA(+)(图3). 术后随访半年未见复发.

2 讨论

GIST是消化系最常见的间叶组织来源肿瘤, 组织学上表现为梭形、上皮样及多形性, 常好发于胃、小肠、结直肠和食管, 发生于阑尾罕见. Miettinen等^[1]的研究表明: GIST很可能起源于胃肠道的Cajal细胞. 近来研究证实: 超过90%GIST存在*c-kit*或*PDGFRA*基因突变, 这是其发病的主要机制之一^[2]. 阑尾GIST极其罕见, 目前世界上仅有14例确诊为阑尾GIST的文献报道^[3-5]. 阑尾GIST临床表现无特异性, 可表现为类阑尾炎症状、消化系出血等. 它是一种潜在恶性肿瘤, 具体分型依据于瘤体的大小、细胞异型性、核

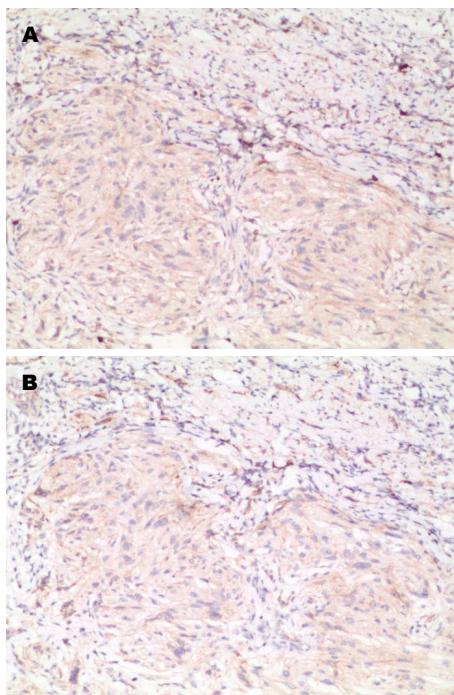


图 3 免疫组织化学检测结果(×200). A: CD117阳性; B: DOG-1阳性.

分裂象、有无坏死及黏膜侵犯、转移等. 手术治疗是阑尾间质瘤首选治疗方法, Vassos等^[4]的研究发现: 位于阑尾体尾部的GIST, 单纯阑尾切除术可作为标准术式; 而阑尾根部GIST行阑尾+回盲部切除术有助于减少局部复发率. 阑尾GIST需与阑尾平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、腺瘤、腺癌、类癌等鉴别. 大部分的GIST免疫组织化学CD34、CD117呈强阳性表达, DOG1特异蛋白及*c-kit*基因突变检测亦有助于阑尾GIST的诊断. 本例患者免疫组织化学结果: CD117(+)、DOG-1(+)、Syn(+)、CgA(+); 与文献报道的检测结果大致相同. 甲磺酸伊马替尼是第一个被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市的酪氨酸激酶抑制剂, 可通过选择性的与*c-kit*等酪氨酸激酶受体三磷酸腺苷结合位点结合, 抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡. 近来研究发现, GIST患者术后辅助应用甲磺酸伊马替尼可提高患者的无病生存率和总生存率, 对中危以上的GIST患者术后推荐使用伊马替尼治疗^[6,7]. 因此, 中高度恶性的阑尾GIST亦推荐口服低剂量甲磺酸伊马替尼预防肿瘤的复发^[6].

3 参考文献

- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites.

相关报道
阑尾GIST极其罕见, 目前世界上仅有14例确诊为阑尾GIST的文献报道.

应用要点
阑尾GIST首选手术治疗, 位于阑尾体尾部的GIST, 单纯阑尾切除术可作为标准术式; 而阑尾根部GIST行阑尾+回盲部切除术有助于减少局部复发率. 中高度恶性的阑尾GIST推荐口服低剂量甲磺酸伊马替尼预防肿瘤的复发.

同行评价

该文从阑尾手术中发现阑尾间质瘤,并根据检测结果报道了阑尾间质瘤,探讨了阑尾间质瘤的诊断、治疗及预后转归,并重点探讨阑尾间质瘤的外科治疗原则。该病症确属临床罕见病例,作为病例报道具有很好的借鉴作用。

- 2 Lasota J, Miettinen M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Semin Diagn Pathol* 2006; 23: 70-83 [PMID: 17193820 DOI: 10.1053/j.semdp.2006.09.001]
- 3 Kim KJ, Moon W, Park MI, Park SJ, Lee SH, Chun BK. Gastrointestinal stromal tumor of appendix incidentally diagnosed by appendiceal hemorrhage. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3265-3267 [PMID: 17589911 DOI: 10.3748/wjg.v13.i23.3265]
- 4 Vassos N, Agaimy A, Günther K, Hohenberger W, Schneider-Stock R, Croner RS. A novel complex KIT mutation in a gastrointestinal stromal tumor of the vermiform appendix. *Hum Pathol* 2013; 44: 651-655 [PMID: 23084635 DOI: 10.1016/j.humpath.2012.09.003]
- 5 Agaimy A, Pelz AF, Wieacker P, Roessner A, Wünsch PH, Schneider-Stock R. Gastrointestinal stromal tumors of the vermiform appendix: clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of 2 cases with literature review. *Hum Pathol* 2008; 39: 1252-1257 [PMID: 18547614 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.12.016]
- 6 Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Tervahartiala P, Tuveson D, Silberman S, Capdeville R, Dimitrijevic S, Druker B, Demetri GD. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344: 1052-1056 [PMID: 11287975 DOI: 10.1056/NEJM200104053441404]
- 7 Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, Hartmann JT, Pink D, Schütte J, Ramadori G, Hohenberger P, Duyster J, Al-Batran SE, Schlemmer M, Bauer S, Wardelmann E, Sarlomo-Rikala M, Nilsson B, Sihto H, Monge OR, Bono P, Kallio R, Vehtari A, Leinonen M, Alvegård T, Reichardt P. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: a randomized trial. *JAMA* 2012; 307: 1265-1272 [PMID: 22453568 DOI: 10.1001/jama.2012.347]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



《世界华人消化杂志》投稿须知

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409位专家组成, 分布在中国29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, 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》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》和

《Abstracts Journals》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, 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*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *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 , $T_{1/2}$ *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。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值的文句中, 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χ²; (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1 000-1 500 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6 347意指6 000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3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 ≤ 1000 , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 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致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《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。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 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。

2015年国内国际会议预告

2015-01-15/17

2015年胃肠道癌症研讨会(GCS)

会议地点: 美国

联系方式: <http://gicasym.org/>

2015-02-05/07

欧洲癌症研究协会大会(EACR)

会议地点: 德国

联系方式: <http://www.eacr.org/radiationbiology2015/>

2015-03-12/15

2015年第24届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)

会议地点: 土耳其

联系方式: <http://apasl.info/about>

2015-03-11/13

2015年欧洲神经内分泌肿瘤学会第12届年度会议(ENETS)

活动地点: 西班牙

联系方式: <http://www.aiihcc.com>

2015-03-18/21

2015年第5届亚太肝胆胰腺协会双年会(A-PHPBA)

会议地点: 新加坡

联系方式: <http://aphpba2015.com/>

2015-03-25/28

2015年第68届肿瘤外科学会年会(SSOACS)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aiihcc.com>

2015-04-17/19

2015中国超声医学学术大会(CCUM)

会议地点: 中国

联系方式: <http://www.cuda.org.cn>

2015-04-18/22

2015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.org/Pages/Home.aspx>

2015-04-22/25

第6届欧洲肿瘤介入大会(ECIO)

会议地点: 法国

联系方式: <http://www.ecio.org/>

2015-04-22/26

2015年第50届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.easl.eu/>

2015-05-06/09

2015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/>

2015-05-07/08

欧洲胃肠镜协会大会(ESGE)

会议地点: 荷兰

联系方式: <http://www.esge.com/>

2015-05-16/19

美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/>

2015-05-29/06-02

2015年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://am.asco.org/>

2015-06-26/28

2015年世界病毒性肝炎峰会(ISVHLD)

会议地点: 德国

联系方式: <http://www.isvhld2015.org/>

2015-07-01/04

第17届世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com>

2015-09-25/29

第18届欧洲癌症大会(ECCO)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ecco-org.eu/>

2015-09-25/29

第40届欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2015-09-28/10-02

世界胃肠病组织大会(AGW/WGO)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://www.worldgastroenterology.org/>

2015-10-18/21

第57届美国放射肿瘤协会大会(ASTRO)

会议地点: 美国

联系方式: <https://www.astro.org/>

2015-10-24/28

第23届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.ueg.eu/>

2015-12-03/06

亚太消化病周(APDW)

会议地点: 台湾

联系方式: <http://www.apdwcongress.org/>

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授

南昌大学第一附属医院消化病研究所

白雪 副主任医师

中国人民解放军北京军区总医院普通外科

柏愚 副教授

长海医院消化内科一病区, 第二军医大学长海医院消化内科

陈进宏 副主任医师

复旦大学附属华山医院外科

陈卫昌 教授

苏州大学附属第一医院消化内科

高泽立 副教授

周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

郭炜 教授

河北医科大学第四医院河北省肿瘤研究所病理研究室

姜又红 教授

中国医科大学附属第一医院

李瀚旻 教授

湖北省中医院, 湖北中医药大学附属医院

李华 副教授

中山大学附属第三医院肝脏外科

李健丁 教授

山西医科大学第一医院放射科CT室

李瑜元 教授

广州市第一人民医院内科

梁国刚 教授

大连医科大学附属第一医院

刘成海 研究员

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

刘杰民 副主任医师

贵州省人民医院消化内镜科

刘占举 教授

同济大学附属上海市第十人民医院

鲁玉辉 副教授

福建中医药大学中医学院

马大烈 教授

长海医院病理科

牛英才 研究员

齐齐哈尔医学院医药科学研究所

孙诚谊 教授

贵阳医学院附属医院院长办

孙学英 教授

哈尔滨医科大学第一附属医院

谭晓冬 副教授

中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

田文静 副教授

哈尔滨医科大学

王富春 教授

长春中医药大学

王健生 教授

西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王小众 教授

福建医科大学附属协和医院消化内科

王晓锋 副主任医师

中国中医科学院广安门医院

王学美 研究员

北京大学第一医院中西医结合研究室

杨江华 副教授

皖南医学院弋矶山医院感染科

姚登福 教授

南通大学附属医院分子医学中心

张侗 主任医师

天津肿瘤医院肝胆科, 天津医科大学肿瘤医院

赵青川 主任医师

西京医院消化外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





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

