

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2015 年 3 月 18 日 第 23 卷 第 8 期 (Volume 23 Number 8)



8/2015

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。

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493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89位、北京市67位、广东省40位、江苏省30位、辽宁省27位、陕西省27位、黑龙江省24位、山东省20位、湖北省14位、吉林省13位、天津市13位、浙江省13位、福建省12位、贵州省11位、湖南省11位、河北省10位、四川省10位、新疆维吾尔自治区10位、广西壮族自治区8位、江西省8位、云南省8位、安徽省7位、重庆市6位、甘肃省3位、海南省3位、河南省3位、山西省3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
杨春波教授
杨思凤教授

名誉主编

潘伯荣教授

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
段志军教授
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
邝敏副教授
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
陈凇教授
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
崔云南教授
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
曲兴龙主任医师
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
徐决副主任医师
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
赵建勇副教授
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
马赟副教授
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
管樛主任医师
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
黄河副教授
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
刘起胜副教授
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
李慧副教授
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

消化护理学

安力彬教授
成杰副主任护师
崔岩副主任护师
单信芝副主任护师
丁焕娟副主任护师
房辉副教授
高薇副主任护师
葛淑芝副主任护师
谷敏副主任护师
郭巧珍主管护师

赫玲玲主任护师
黄砚萍副主任护师
惠娜主管护师
吉建华副主任护师
江丽萍副主任护师
江萍主任护师
金凤娟副主任护师
金爽主任护师
靳雁副主任护师
孔德玲副主任护师
李金娜主任护师
李卡副主任护师
李丽副主任护师
李连红主任护师
李琬主任护师
李雯副主任护师
李秀芬副主任护师
李淳副主任护师
廖培娇副主任护师
刘慧萍主任护师
刘永宁副主任护师
卢根娣主任护师
罗凝香副主任护师
马久红副主任护师
马燕兰主任护师
孟志新副主任护师
潘玉凤副主任护师
齐向秀主管护师
乔晓斐副主任护师
乔筱玲副主任护师
任珍主任护师
宋江美副主任护师
宋艳燕副主任护师
孙丽娟副主任护师
孙晓美副主任护师
唐碧云副主任护师
陶然主管护师
田银娣主管护师
王春英副主任护师
王红副主任护师
王晓春副主任护师
王宇副主任护师
席惠君副主任护师
谢晓芬主管护师
许璧璐副主任护师
薛海燕副主任护师
薛素梅主任护师
杨会副主任护师
杨云英主任护师
姚丽文副主任护师
叶海丹副主任护师
尹安春主任护师
俞静娴副主任护师
张彩云主任护师
张洁副主任护师
张丽副主任护师
张丽燕主管护师
张琳琳副教授
张敏副主任护师
张善红副主任护师
赵艳伟副主任护师
郑思琳主任护师
郑雪梅副主任护师
周文琴副主任护师
周霞霞副教授
朱颖副主任护师

述评

- 1211 长链非编码RNA与肝病关系的研究进展

刘丽璇, 吴灵飞

基础研究

- 1218 BDNF对食管癌细胞株ECa9706体外侵袭能力的影响

冯睿婷, 梅家转, 栗敏, 赵继智, 白桦, 刘桂举

- 1224 枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤

- 1231 肠康方对肠易激综合征内脏高敏感模型大鼠脑肠轴中5-羟色胺转运体的作用

陆敏, 张伟, 姚青, 陆夏敏, 李松林, 鞠建明

临床研究

- 1238 NIBP在结肠癌NF-
- κ
- B非经典激活通路中的作用及其临床意义

谭林, 刘诗权, 覃蒙斌, 李素艳, 刘宝玉, 诸葛春风, 徐春燕, 梁梦紫, 彭鹏, 黄杰安

文献综述

- 1247 胃食管反流病与精神心理、自主神经功能关系的研究进展

袁媛, 肖茹萍, 陈阳, 卜平

- 1252 贲门失弛缓症发病机制的研究进展

李淑香, 曲波, 李惠

- 1258 胆汁酸核受体FXR在非酒精性脂肪性肝病中的作用

陈徐佳, 马岚青

- 1266 小儿功能性腹痛的中医诊疗进展

韦汉鹄, 谢胜

- 1272 荧光蛋白在肿瘤研究中的应用进展

王小平, 庄志祥

研究快报

- 1278 曲古菌素A联合细胞因子体外诱导小鼠胚胎干细胞分化为肝细胞

朱小波, 李正欣, 顾欣欣, 雷卓, 张洁, 李海涛, 周鸣鸣

- 1285 姜黄素和水飞蓟素对大鼠非酒精性脂肪性肝炎的作用及机制比较

万忠惠, 吴富梅

- 1290 IL-22对肠上皮细胞肠三叶因子的调控作用

林雪, 刘之枫, 丁玉华, 王帆, 潘华勤, 李瑾

临床经验

- 1298 复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗老年慢性萎缩性胃炎的疗效及对患者血清胃泌素和内皮素的影响

李蓉, 杨发满, 刘冀, 杨青岩, 汪元浚, 李军, 张培莉, 王卓亚, 李晓平, 敬泽慧

- 1303 调神针法对慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS(肝郁脾虚证)疗效及血浆SP、VIP的影响

陈果, 骆建兴, 扈晓宇

- 1308 肝硬化合并胆囊结石临床特点分析105例

王子晨, 张宁, 陈卫刚, 郑勇

- 1314 有关肝细胞癌微小RNA诊断价值的系统评价

胡琼英, 张爽, 张朝明

- 1323 不同肝功能Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响

孙伟, 李忱瑞

- 1328 超声造影与增强CT对肝脏转移瘤血供情况价值的对比

任卫平, 俞明华, 徐萍

- 1333 地佐辛对ERCP术患者镇痛、镇静效果及安全性

朱菡, 覃华, 李德民, 王波, 张志成, 赵秋

- 1338 全程分期健康教育在内镜逆行性胰胆管造影术患者中的应用效果

王若

- 1344 多层螺旋CT灌注成像在急性胰腺炎中的价值

陈朔, 陶瑞瑞, 李凯, 刘轩, 袁凯, 康海燕, 金龙, 段峰, 王志军, 许乙凯

- 1350 中药注射液联合生长抑素对轻、中度急性胰腺炎血淀粉酶的干预作用及疗效评估

刘路培

- 1354 胰腺实性假乳头状瘤的诊断和治疗

杨彩虹, 江华

- 1359 内质网应激对溃疡性结肠炎患者炎性因子表达的影响

李楠, 王雪明, 姜丽君, 张萌, 李娜, 魏真真, 郑楠, 赵亚娇

- 1369 贵阳地区儿童感染幽门螺杆菌的分离培养及耐药性检测

王菲, 朱莉, 熊妍, 蔡廷娜, 蒋勇, 陈峥宏

病例报告

- 1374 溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病的诊治护理1例

王超鹏, 刘素琴

志 谢

I 志谢世界华人消化杂志编委

消 息

- 1230 《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
- 1246 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
- 1271 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
- 1297 《世界华人消化杂志》参考文献要求
- 1313 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
- 1327 《世界华人消化杂志》修回稿须知
- 1332 《世界华人消化杂志》栏目设置
- 1353 《世界华人消化杂志》正文要求
- 1368 《世界华人消化杂志》2013-2014年电子版合订本正式发布

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 吴灵飞, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 515041, 广东省汕头市东厦北路69号, 汕头大学医学院第二附属医院消化内科. 现任汕头大学医学院第二附属医院消化内科主任, 广东省医学会消化内镜学会委员, 汕头市消化学会副主任委员. 主要从事内镜及消化系统肿瘤的研究工作, 对胃肠动力障碍性疾病及幽门螺杆菌相关性疾病有较深入的研究, 采用中西医结合的方法治疗慢性胃炎取得较好疗效. 承担国家及广东省自然科学基金课题多项, 发表论文60余篇, 获省市级科技进步奖3项, 参与编写专著3部.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 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 2015-03-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 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.

《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

Contents

Volume 23 Number 8 March 18, 2015

EDITORIAL

- 1211 Research progress in long non-coding RNAs and liver diseases

Liu LX, Wu LF

BASIC RESEARCH

- 1218 Effect of brain-derived neurotrophic factor on
- in vitro*
- metastasis of esophageal carcinoma cell line ECa9706

Feng RT, Mei JZ, Li M, Zhao JZ, Bai H, Liu GJ

- 1224 Effect of drug-containing serum of immature bitter orange on cell contraction, intracellular
- Ca^{2+}
- concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells

Li DX, Ling JH, Wang YJ, Pichamon A, Ning HE, Zhang Z, Liu PF

- 1231 Effect of Changkang Fang on serotonin transporter expression in brain-gut axis of visceral hypersensitive rats with irritable bowel syndrome

Lu M, Zhang W, Yao Q, Lu XM, Li SL, Ju JM

CLINICAL RESEARCH

- 1238 Relationship between expression of NIBP and noncanonical NF-
- κ
- B signaling: Clinical significance in colon carcinoma

Tan L, Liu SQ, Qin MB, Li SY, Liu BY, Zhu-Ge CF, Xu CY, Liang MZ, Peng P, Huang JA

REVIEW

- 1247 Relationship between gastroesophageal reflux disease and psychological factors and autonomic nervous function

Yuan Y, Xiao RP, Chen Y, Bu P

- 1252 Pathogenesis of achalasia

Li SX, Qu B, Li H

- 1258 Role of farnesoid X receptor in nonalcoholic fatty liver disease

Chen XJ, Ma LQ

- 1266 Progress in Chinese medical diagnosis and treatment of functional abdominal pain in children

Wei HJ, Xie S

- 1272 Application of fluorescent proteins in tumor research

Wang XP, Zhuang ZX

RAPID COMMUNICATION

- 1278 Trichostatin A combined with cytokines induces differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes

Zhu XB, Li ZX, Gu XX, Lei Z, Zhang J, Li HT, Zhou MM

- 1285 Curcumin and silymarin for nonalcoholic steatohepatitis in rats: Comparison of effects and mechanisms

Wan ZH, Wu FM

- 1290 Effect of IL -22 on expression of intestinal trefoil factor in intestinal epithelial cells

Lin X, Liu ZF, Ding YH, Wang F, Pan HQ, Li J

CLINICAL PRACTICE

- 1298 Compound salvia pellet in combination with rebeprazole for treatment of elderly patients with chronic atrophic gastritis: Curative efficacy and effect on serum gastrin and endothelin

Li R, Yang FM, Liu J, Yang QY, Wang YJ, Li J, Zhang PL, Wang ZY, Li XP, Jing ZH

- 1303 Tiaoshen acupuncture for diarrhea type IBS in patients with chronic hepatitis B (liver stagnation and spleen deficiency syndrome): Curative effect and influence on plasma SP and VIP

Chen G, Luo JX, Hu XY

- 1308 Clinical features of cirrhosis with gallstones: Analysis of 105 cases

Wang ZC, Zhang N, Chen WG, Zheng Y

- 1314 MicroRNAs as diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis

Hu QY, Zhang S, Zhang CM

- 1323 Effect of liver function Child-Pugh grade on prognosis in huge hepatocellular carcinoma after TACE therapy

Sun W, Li CR

- 1328 Contrast-enhanced ultrasonography vs contrast-enhanced computed tomography for assessing blood supply of liver metastases

Ren WP, Yu MH, Xu P

- 1333 Analgesic, sedative effects and safety of dezocine in patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Zhu H, Qin H, Li DM, Wang B, Zhang ZC, Zhao Q

- 1338 Clinical effectiveness of whole course staged health education for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Wang R

- 1344 Value of multi-slice CT perfusion imaging in patients with acute pancreatitis

Chen S, Tao RR, Li K, Liu X, Yuan K, Kang HY, Jin L, Duan F, Wang ZJ, Xu YK

- 1350 Danshen injection combined with somatostatin for treatment of mild or moderate acute pancreatitis: Curative effect and impact on serum amylase levels

Liu LP

- 1354 Diagnosis and treatment of solid pseudopapillary tumor of the pancreas

Yang CH, Jiang H

- 1359 Influence of endoplasmic reticulum stress on T cell function and expression of inflammatory cytokines in ulcerative colitis

Li N, Wang XM, Jiang LJ, Zhang M, Li N, Wei ZZ, Zheng N, Zhao YJ

- 1369 Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* clinical isolates from children in Guiyang area

Wang F, Zhu L, Xiong Y, Qi TN, Jiang Y, Chen ZH

CASE REPORT

- 1374 Treatment and nursing of a case of ulcerative colitis complicated with gangrenous pyoderma

Wang CP, Liu SQ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 23 Number 8 March 18, 2015

APPENDIX

- I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2015

ACKNOWLEDGMENT

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

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Ling-Fei Wu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 2nd Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, 69 Dongxia North Road, Shantou 515041, Guangdong Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date March 18, 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, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

长链非编码RNA与肝病关系的研究进展

刘丽璇, 吴灵飞

刘丽璇, 吴灵飞, 汕头大学医学院第二附属医院消化内科
广东省汕头市 515041
吴灵飞, 教授, 主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床及基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30972925

作者贡献分布: 本文综述由刘丽璇完成; 吴灵飞审核。

通讯作者: 吴灵飞, 教授, 主任医师, 515041, 广东省汕头市东
厦北路69号, 汕头大学医学院第二附属医院消化内科。

lingfeiwu@21cn.com

电话: 0754-88915606

收稿日期: 2014-12-21 修回日期: 2015-01-19

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

Research progress in long non-coding RNAs and liver diseases

Li-Xuan Liu, Ling-Fei Wu

Li-Xuan Liu, Ling-Fei Wu, Department of Gastroenterology,
the 2nd Affiliated Hospital of Shantou University Medical
College, Shantou 515041, Guangdong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of
China, No. 30972925

Correspondence to: Ling-Fei Wu, Professor, Chief
Physician, Department of Gastroenterology, the 2nd Affiliated
Hospital of Shantou University Medical College, 69 Dongxia
North Road, Shantou 515041, Guangdong Province,
China. lingfeiwu@21cn.com

Received: 2014-12-21 Revised: 2015-01-19

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are RNA transcripts longer than 200 nt without protein coding capacity. lncRNAs regulate gene expression at epigenetic transcriptional and post-transcriptional levels, and they are deeply involved in biological and pathological changes. Recently, more and more evidence has shown that the altered expression of lncRNAs in hepatocellular carcinoma and viral hepatitis is

important for the development, progression and prognosis of hepatic diseases. This review focuses on the role of lncRNAs in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma and other liver diseases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Long non-coding RNAs; Hepatocellular carcinoma; Liver disease

Liu LX, Wu LF. Research progress in long non-coding RNAs and liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1211-1217 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1211.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1211>

摘要

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是指一类转录长度超过200个核苷酸的非蛋白质编码RNA, 以RNA形式在表观遗传学, 转录及转录后等多种水平调控基因表达, 在疾病的病理生理过程中起着重要的调节作用, 具有极复杂的生物学功能。越来越多的研究显示原发性肝癌, 肝炎等肝脏疾病中有多种lncRNA表达水平发生了变化。本文主要就几个常见的与肝病相关的lncRNA的特征及其在肝病中的功能进行阐述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 长链非编码RNA; 肝癌; 肝病

核心提示: 肝脏疾病中有多种长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)表达水平发生了变化并在肝癌发生发展及预后中起着重要的调

■背景资料

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)参与了多种疾病尤其是肿瘤发生发展的调控过程, 是近期研究热点之一。随着高通量筛选方法的完善, 越来越多的长链ncRNA(long noncoding RNA, lncRNA)分子被发现, 并有望成为新型肿瘤诊断标志物和肿瘤治疗的靶点。lncRNA在肿瘤诊断和治疗方面具有良好的临床应用前景。

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■ 研发前沿

lncRNA主要影响肿瘤的转移、浸润、细胞凋亡、信号通路, 具有促进肿瘤发生发展的促癌因子、也有抑制肿瘤发生发展的抑制因子, 还有的lncRNA可促进肿瘤的远处转移。

控作用. 本文主要就几个常见的与肝病相关的lncRNA的特征及其在肝病中的功能进行阐述。

刘丽璇, 吴灵飞. 长链非编码RNA与肝病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1211-1217 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1211.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1211>

0 引言

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)参与了多种疾病尤其是肿瘤发生发展的调控过程, 是近期研究热点之一. 随着高通量筛选方法的完善, 越来越多的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)分子被发现, 并有望成为新型肿瘤诊断标志物和肿瘤治疗的靶点. lncRNA在肿瘤诊断和治疗方面具有良好的临床应用前景. 越来越多的证据显示, 肝病中多种lncRNA表达水平发生了变化并具有重要作用. 本文主要就几个常见的与肝病相关的lncRNA的特征及其在肝病中的功能进行阐述。

1 ncRNA定义

人类基因组中能编码蛋白质的序列不到2%, 能被转录成RNA但是不编码蛋白质的序列超过90%, 这些不能编码蛋白质的RNA分子统称为ncRNA. ncRNA分为管家ncRNA(housekeeping non-coding RNA)和调控ncRNA(regulatory non-coding RNA), 而后者又可按其分子大小分为短链ncRNA、中链ncRNA和lncRNA三大类^[1,2].

2 lncRNA功能

lncRNA是指一类转录长度超过200个核苷酸的非蛋白质编码RNA^[3]. lncRNA通常由RNA聚合酶II转录生成, 再经过共转录修饰, 包括多聚腺苷酸化和预RNA剪接^[4]. 但其具有时空表达特异性, 由于缺少有效开放阅读框而不编码蛋白, 直接以RNA的形式发挥作用. 在多个层面上(表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等)调控基因的表达水平. 他们在生命活动中具有调节转录, 转录后加工, 蛋白质翻译等多种作用, 同时可在多个水平调控基因的表达, 在胚胎发育, 细胞分化, 疾病及肿瘤的发生过程中都起着重要作用^[1,5,6]. 在过去的几十年中, 这些长链非编码被认为是转录的“噪音”或克隆的神器^[7]. 大量的研究发现了lncRNAs,

但lncRNAs的细胞功能仍有待于进一步的研究^[8]. 事实上, 最近的研究已经确定了大量的lncRNAs对许多生物进程有着重要的调控作用, lncRNA可以作为亚细胞结构的组织框架并可调节蛋白质的活性. 此外, 一些lncRNAs可以通过招募RNA聚合酶II或者诱导染色质重塑来调节反式或顺式基因表达, 指导染色质重构蛋白复合物的形成, 基因组印记, 核分区, 核交换, RNA剪接和翻译调控^[8,9].

3 lncRNA与肝病的关系

lncRNA的异常表达可能在肿瘤发生中起着重要的作用, lncRNA差异表达于正常组织与不典型增生的组织及肿瘤中, 而且特异性lncRNA可作为肿瘤的预测因子. 越来越多的证据显示原发性肝癌中lncRNA表达水平发生了变化并在肝癌的发生发展甚至于诊断治疗, 预后等方面具有重要作用. 研究lncRNA的文献数量不断攀升^[10-12]. 在本文中, 我们研究的目的是总结lncRNA在肝癌中潜在的功能和分子机制.

3.1 *H19* *H19*是第一个被发现的ncRNA基因, 定位于染色体11p15.5, 全长约2.3 kb, 是唯一从母代等位基因表达的lncRNA. *H19*在细胞生长和发展中起到重要作用^[13-16].

*H19*在肿瘤发生时呈高表达水平, 并在很多类型的组织中被证明具有致癌性^[17-19]. *H19*基因编码的lncRNA高表达于人的胚胎阶段, 在出生后的大多数器官中表达下降, 在肝癌发生时*H19*的转录被激活^[20]. 也就是说, *H19*在正常肝细胞中呈低表达, 肝癌发生时其表达明显升高^[13]. Zhang等^[21]研究证实*H19*可以抑制肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)进展, 在肝癌组织的不同区域, *H19*的表达水平各不相同. 通过对肝癌细胞株SMC7721和HCCLM3的lncRNA沉默和过表达来了解其对基因表达的影响, 探讨肝癌转移对体外和体内的影响, 结果表明*H19*表达在肝癌组织(T)中的表达较癌旁组织(L)低. 此外, 肿瘤组织中*H19*表达水平与癌旁组织中*H19*的表达水平的比值与肿瘤的预后有关. *H19*抑制肝癌的进展和转移, 是上皮间质细胞转化的标志物. *H19*与蛋白复合物hnRNP U/PCAF/RNApol II相关, 通过增加组蛋白乙酰化激活miR-200家族. *H19*可以改变miR-200通路, 从而促进间质上皮过渡和抑制肿瘤转移. *H19*同时具有癌基因

和抑癌基因的功能。在绝大多数原发性肝癌中, *H19*的表达水平较甲胎蛋白水平高, 可起到癌基因的作用^[22], 其与甲胎蛋白联合检测有助于早期肝癌的诊断。

总之, *H19*在肝癌细胞中呈现高表达, 并能抑制肿瘤的转移, 联合检测甲胎蛋白能提高早期肝癌的确诊率。

3.2 肝癌高表达转录本 肝癌高表达转录本(highly up-regulated in liver cancer, HULC), 被认为是第一个在HCC特异性高度上调的lncRNA, 由染色体6p24.3转录得到, 全长500 nt^[23]。

HULC的表达水平与临床肝癌组织中乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)呈正相关。HBx可以在人类的正常肝LO2细胞和肝肿瘤HepG2细胞中上调HULC的表达。荧光素酶报告基因检测和染色质免疫沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)分析表明, HBx蛋白通过cAMP反应元件结合蛋白激活HULC。更重要的是, HBx通过抑制p18上调HULC, 并促进肝肿瘤细胞的增生^[24]。Liu等^[25]研究表明了位于HULC启动子区域的rs7763881变异基因型有助于降低HBV持续携带者发生HCC的易感性。这也提示HULC中的单个核苷多样性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)可能导致HBV慢性感染和提高患HCC的风险。并且, 在HBV相关HCC的患者中, lncRNA在HBV-HCC组织中的表达相对于正常肝细胞有明显的改变, 其中lncRNA主要通过调节肿瘤相关信号通路和MAPK信号转导通路在HBV-HCC的病理形成中发挥关键作用^[26]。Xie等^[27]证实lncRNA HULC在肝细胞癌中表达明显升高, HULC与肝癌的病理分级或与HBV阳性表现有明显的相关性。此外, 肝癌患者血浆中HULC的含量与健康对照组相比明显升高。患者血浆中HULC含量越高则肿瘤的分级越高。这些研究结果表明, 血浆中HULC的表达可作为一种新的标志物来诊断肝癌和判断肝癌的预后。Matouk等^[28]发现, 原发性结肠癌与正常结肠细胞中均无HULC的表达, 但是通过对8例结肠癌发生肝转移的患者检测HULC的表达, 发现了6例肝转移患者HULC呈高表达, 而结肠癌患者若发生淋巴结转移者检测不到HULC的表达。这一结果说明, HULC有可能在结肠癌细胞转移到肝脏的过程中起作用。因此, HULC在未来有可能成为判断结肠癌发生肝转移的新

标志物。除此之外, *H19*在消化系肿瘤发生肝转移时, 其表达也明显升高^[29]。

总之, HULC在肝癌细胞中呈高表达, 并能促进肝肿瘤细胞的增生, 这为肝癌诊断和判断肿瘤发生肝转移提供新的思路。

3.3 转移相关的肺腺癌的转录因子1 转移相关的肺腺癌的转录因子1(metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1), 定位于染色体11q13上, 全长约7 kb^[30]。MALAT1已被证明主要通过调节转录或转录后起作用的^[31,32]。MALAT1能锚定于染色质易位断裂点促进肿瘤侵袭和肿瘤细胞转移^[33]。肝癌早期, lncRNA MALAT1表达水平即上升为正常细胞的6倍^[34]。Lai等^[35]证实MALAT1与许多实体肿瘤和癌症转移和复发相关。用实时定量PCR检测9种肝癌细胞株及112例肝癌组织中MALAT1的表达, 发现MALAT1在肝癌细胞株及肝癌组织样品中表达上调, 随着MALAT1的高表达肝移植术后肿瘤复发的风险显著增加。经过多变量分析, MALAT1可能是预测肝癌复发的独立预测因子。此外, 在HepG2细胞中沉默MALAT1能抑制细胞活力运动和侵袭, 并促进细胞的凋亡。

总之, MALAT1在肝癌细胞中较正常细胞呈高表达, 能促进细胞生存能力, 迁移能力, 侵袭力, lncRNA MALAT1在肿瘤进展中发挥重要的作用, 可用于预测肝移植术后肿瘤复发的生物标志物, 还可成为新的治疗靶点。

3.4 母系表达基因3 母系表达基因3(maternally expressed gene 3, *MEG3*)是Miyoshi等在2000年首次发现的小鼠母系表达基因, 定位于染色体14q32.3, 长度约为1.6 kb。他是基因捕获基因座2(gene trap locus 2, Gtl2)的人类同系物。他是第一个被发现有肿瘤抑制功能的lncRNA, 在多种正常组织中均有表达^[36]。已发现MEG3有12个亚型^[37]。

MEG3在肿瘤细胞发生发展中扮演着重要的角色^[38,39]。有研究发现MEG3的重新表达可以促进细胞凋亡, 进而抑制肿瘤细胞的增殖。Braconi等^[40]通过微阵列分析42300个lncRNA发现, 约3%的lncRNA在恶性肝细胞癌中表达明显降低, 其中MEG3表达相对于非恶性肝细胞的表达明显下调约210倍。实时荧光定量PCR显示, MEG3在不同的肝癌细胞株中表达较正常的肝细胞明显降低。RNA原位杂

■ 相关报道

lncRNA是近期研究的热点, 本文就长链非编码在肝脏疾病的研究进展进行了综述, 引用的文章大部分是近期的文章, 就lncRNA的功能与潜在机制进行了说明与讨论。

■ 创新盘点

本文总结了近几年有关lncRNA与肝病的关系的文章, 主要讨论了lncRNA的异常表达可能在肿瘤发生中起着重要的作用。

交显示, 在正常细胞中高表达的MEG3在肝癌组织细胞中几乎不表达或表达较弱。MEG3过表达能明显抑制肝癌细胞的生长, 并诱导其凋亡。MiR-29可以通过调节甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)1和3b来调节MEG3表达, miR-29过表达可增加MEG3的表达, 小鼠miR-29/B1基因敲除后, 其肝组织中*GTL2*(小鼠中*MEG3*的同源基因)表达下降。这些都表明表观遗传基因的调控与两类ncRNA(包括miRNAs和lncRNAs)之间存在着重要的内在联系。在慢性非酒精性脂肪性肝病及HCC患者肝脏有Mallory小体。Olive等^[41]研究证实, 在小鼠动物模型中, 二环己基碳二亚胺(dicyclohexyl carbodiimide, DCC)可诱导Mallory小体形成。通过基因芯片分析可得知有些lncRNA受DCC的调控, 芯片结果提示H19, AIR表达上调而MEG3表达下调, 给予*S*-腺苷甲硫胺酸(*S*-adenosylmethionine, SAMe)发现能够阻止这些lncRNAs的改变。

总之, MEG3在肝癌细胞中呈现低表达, 过表达MEG3能促进肝癌细胞的凋亡, 抑制肝癌细胞的增殖, 这为酒精性肝病及慢性非酒精性肝病的治疗提供新的方向。

3.5 *HOX*基因的反义基因间RNA *HOX*基因的反义基因间RNA(*HOX* antisense inter genic RNA, *HOTAIR*)是一个长度为2.2 kb的基因, 定位在哺乳动物12q13.13上*HOXC*位点, 不编码任何蛋白质^[42]。

*HOTAIR*在原发性肝癌组织和肝癌细胞株中过量表达。敲除*HOTAIR*可以通过抑制基质金属蛋白酶9和血管内皮生长因子蛋白而显著地抑制HCC细胞株Bel7402增生^[43]。Yang等^[42]通过实时定量PCR检测110例肝癌标本*HOTAIR*表达, 并分析其表达与60例进行肝癌移植的患者预后之间的相关性。通过siRNA技术抑制*HOTAIR*的表达改变了细胞的生存活力和TNF- α 诱导细胞凋亡的敏感性, 同时增加肝癌细胞对顺铂和阿霉素化疗的敏感性, 说明*HOTAIR*在肝癌患者高表达而且可以预测肝移植后肝癌的复发。*HOTAIR*的表达水平与患者的生存率和肿瘤的分期密切相关^[44-46]。Ishibashi等^[47]对64例原发性肝癌中的患者进行检测*HOTAIR*表达, 发现13例患者有表达。有*HOTAIR*表达的患者与没有*HOTAIR*表达的患者相比有着较差的预后, 且原发肿瘤相对更大。

此外, *HOTAIR*的表达还促进肿瘤细胞的快速增殖。

以上研究证明*HOTAIR*能促进肿瘤细胞的快速增长, 还可作为预测因子来判断疾病的预后, 有望为临床诊断及治疗提供新思路。

3.6 与肝病有关的其他lncRNA 涉及到与肝病有关的lncRNA很多。Yang等^[48]通过基因芯片分析lncRNAs的编码基因, 并在细胞和组织中通过实时定量PCR验证, 结果显示, 4.8%(959)和6.1%(1849)序列的蛋白质编码基因有差异表达。在通过组蛋白去乙酰化酶抑制剂(trichostatin A, TSA)处理的细胞或组织中, 差异表达lncRNAs以uc002mbe.2的变化最为显著。与正常人肝细胞和癌旁组织相比, uc002mbe.2在肝癌细胞和肝癌组织中的表达水平显著降低。TSA诱导uc002mbe.2表达与TSA对肝癌细胞凋亡的影响呈正相关。此外, 敲除uc002mbe.2表达显著降低TSA诱导huh7细胞凋亡。因此, TSA诱导肝癌细胞凋亡是uc002mbe.2依赖性, uc002mbe.2表达降低可能与肝癌发生相关。Yuan等^[49]通过研究发现, lncRNA在肝癌中与微血管侵袭相关(lncRNA mvih)。lncRNA mvih通常在肝癌组织中高表达。在215例HCC患者, mvih的过表达与常见的微血管侵袭和较高的肿瘤TNM分期相关, 亦与减少无瘤生存和总生存率有关。此外, 上调mvih的表达可以作为一个独立的危险因素来预测无瘤生存。Mvih也可能通过激活小鼠模型中的血管生成促进肿瘤生长和肝内转移。随后的研究还表明mvih可以通过抑制磷酸甘油酸激酶1(phosphoglycerate kinase 1, PGK1)分泌而诱导肿瘤血管生成。此外, 在65例HCC患者中, mvih表达与血清PGK的表达水平呈负相关, 与毛细血管生长呈正相关。由此可知lncRNA mvih的下调可以预测肝切除术后肝癌患者的无瘤生成率, 而且lncRNA mvih可以作为抗血管生成活性的新辅助治疗的潜在靶点。有研究^[50]证实, 在缺氧条件下, lncRNA-LET能够抑制肝癌细胞的转移, 而进一步的研究表明在肝癌细胞中, 缺氧条件促进组蛋白脱乙酰酶3(histone deacetylase 3, HDAC3)表达上调, 引起结合在lncRNA-LET启动子区的组蛋白乙酰化减少, 从而抑制lncRNA-LET的表达, 最终促进肝癌细胞转移。Zheng等^[51]发现在高血清甲胎蛋白和低分化程度的肝癌组织中lncRNA

SRHC的表达水平较低,且lncRNA SRHC能抑制肝癌细胞的增殖。lncRNA Heih表达水平与HBV相关的HCC复发显著相关,是独立的预后因素,lncRNA Heih还能够致癌,促进肿瘤的发展,可作为肝癌进展的关键调控中心^[52]。HBx蛋白(称为lncRNA dreh)的下调可以在体外和体内抑制肝癌生长和转移,dreh在乙型肝炎病毒HBV相关的肝癌中起抑癌基因的作用。lncRNA dreh可以结合中间丝蛋白从而进一步改变正常的细胞骨架结构抑制肿瘤转移。人类的dreh同源RNA(hdreh)在乙型肝炎病毒HBV相关的肝癌中表达水平较癌旁肝组织下调,其下降水平与HCC患者的生存率显著相关^[53]。

总之,很多lncRNAs与肝病有关联,但是对其研究仅仅处于初步阶段,他们在肝癌细胞中异常表达,影响肝癌细胞的生长增殖,对肝病的诊断治疗及预后有一定的指导价值,更多lncRNA的生物学功能及其调节机制还有待进一步研究。

4 结论

目前关于lncRNA的研究仅仅处于初步阶段,与肝病相关的lncRNA及其变化,主要集中在其表达及功能研究,他们在肝脏疾病中所扮演的角色,具体的分子机制和下游的靶基因的研究还有待阐明。lncRNA在基因的表达调控中扮演了重要角色,在肿瘤发生、发展的调控过程中起着重要的作用。lncRNA可以影响肿瘤转移及浸润、细胞凋亡、信号通路等方面。lncRNA功能复杂多样,既有促进肿瘤发生发展的促癌因子,也有抑制肿瘤发生发展的抑癌因子,有的lncRNA能促进肿瘤远处转移和引起不良的预后。相信随着lncRNA与肝病关系研究的不断深入,lncRNA将可能为肝脏疾病临床早期诊断和预后判断提供一类新的标志物,也为肿瘤的治疗提供一种新的思路。因此,应用lncRNA作为肿瘤的分子诊断标志物和药物作用靶点将是未来几年内研究的热点和新的研究方向。

5 参考文献

- 1 Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth? *Hum Mol Genet* 2010; 19: R162-R168 [PMID: 20798109 DOI: 10.1093/hmg/ddq362]
- 2 Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 861-874 [PMID: 22094949 DOI: 10.1038/nrg3074]
- 3 Zhang Q, Chen CY, Yedavalli VS, Jeang KT.

- NEAT1 long noncoding RNA and paraspeckle bodies modulate HIV-1 posttranscriptional expression. *MBio* 2013; 4: e00596-e00612 [PMID: 23362321 DOI: 10.1128/mBio.00596-12]
- 4 Danko CG, Hah N, Luo X, Martins AL, Core L, Lis JT, Siepel A, Kraus WL. Signaling pathways differentially affect RNA polymerase II initiation, pausing, and elongation rate in cells. *Mol Cell* 2013; 50: 212-222 [PMID: 23523369 DOI: 10.1016/j.molcel.2013.02.015]
- 5 Lee JT. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs. *Science* 2012; 338: 1435-1439 [PMID: 23239728 DOI: 10.1126/science.1231776]
- 6 Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature* 2012; 482: 339-346 [PMID: 22337053 DOI: 10.1038/nature10887]
- 7 van Bakel H, Hughes TR. Establishing legitimacy and function in the new transcriptome. *Brief Funct Genomic Proteomic* 2009; 8: 424-436 [PMID: 19833698 DOI: 10.1093/bfpg/elp037]
- 8 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev* 2009; 23: 1494-1504 [PMID: 19571179 DOI: 10.1101/gad.1800909]
- 9 Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011; 43: 904-914 [PMID: 21925379 DOI: 10.1016/j.molcel.2011.08.018]
- 10 Zhang Y, Yang L, Chen LL. Life without A tail: new formats of long noncoding RNAs. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 54: 338-349 [PMID: 24513732 DOI: 10.1016/j.biocel.2013.10.009]
- 11 Nadal-Ribelles M, Solé C, Xu Z, Steinmetz LM, de Nadal E, Posas F. Control of Cdc28 CDK1 by a stress-induced lncRNA. *Mol Cell* 2014; 53: 549-561 [PMID: 24508389 DOI: 10.1016/j.molcel.2014.01.006]
- 12 Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, Kumakura M, Kawaguchi A, Nagata K, Kato A, Kawaguchi Y, Sato H, Yoneda M, Kai C, Yada T, Suzuki Y, Yamada T, Ozawa T, Kaneki K, Inoue T, Kobayashi M, Kodama T, Wada Y, Sekimizu K, Akimitsu N. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. *Mol Cell* 2014; 53: 393-406 [PMID: 24507715 DOI: 10.1016/j.molcel.2014.01.009]
- 13 Gabory A, Ripoché MA, Yoshimizu T, Dandolo L. The H19 gene: regulation and function of a non-coding RNA. *Cytogenet Genome Res* 2006; 113: 188-193 [PMID: 16575179]
- 14 Hitchins MP, Moore GE. Genomic imprinting in fetal growth and development. *Expert Rev Mol Med* 2002; 4: 1-19 [PMID: 14987379]
- 15 Keverne EB. Importance of the matriline for genomic imprinting, brain development and behaviour. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 368: 20110327 [PMID: 23166391 DOI: 10.1098/rstb.2011.0327]
- 16 Market Velker BA, Denomme MM, Mann MR. Loss of genomic imprinting in mouse embryos with fast rates of preimplantation development in culture. *Biol Reprod* 2012; 86: 143, 1-16 [PMID: 22278980 DOI: 10.1095/biolreprod.111.096602]
- 17 Yu LL, Chang K, Lu LS, Zhao D, Han J, Zheng YR, Yan YH, Yi P, Guo JX, Zhou YG, Chen M, Li L. Lentivirus-mediated RNA interference

应用要点

随着研究的深入,lncRNA或许有望成为肝脏疾病早期诊断及预后判断的新标志物和治疗的新思路。

同行评价

本文对lncRNA在基因表达的调控方面的文章进行了综述, 意义重大, 具有新颖性, 尤其在肿瘤的发生发展的调控中有重要作用方面提供了充足有意义的信息。

- targeting the H19 gene inhibits cell proliferation and apoptosis in human choriocarcinoma cell line JAR. *BMC Cell Biol* 2013; 14: 26 [PMID: 23711233 DOI: 10.1186/1471-2121-14-26]
- 18 Gao T, He B, Pan Y, Gu L, Chen L, Nie Z, Xu Y, Li R, Wang S. H19 DMR methylation correlates to the progression of esophageal squamous cell carcinoma through IGF2 imprinting pathway. *Clin Transl Oncol* 2014; 16: 410-417 [PMID: 23943562 DOI: 10.1007/s12094-013-1098-x]
- 19 Luo M, Li Z, Wang W, Zeng Y, Liu Z, Qiu J. Upregulated H19 contributes to bladder cancer cell proliferation by regulating ID2 expression. *FEBS J* 2013; 280: 1709-1716 [PMID: 23399020 DOI: 10.1111/febs.12185]
- 20 Court F, Baniol M, Hagege H, Petit JS, Lelay-Taha MN, Carbonell F, Weber M, Cathala G, Forne T. Long-range chromatin interactions at the mouse Igf2/H19 locus reveal a novel paternally expressed long non-coding RNA. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 5893-5906 [PMID: 21478171 DOI: 10.1093/nar/gkr209]
- 21 Zhang L, Yang F, Yuan JH, Yuan SX, Zhou WP, Huo XS, Xu D, Bi HS, Wang F, Sun SH. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34: 577-586 [PMID: 23222811 DOI: 10.1093/carcin/bgs381]
- 22 Matouk IJ, DeGroot N, Mezan S, Ayesh S, Abulail R, Hochberg A, Galun E. The H19 non-coding RNA is essential for human tumor growth. *PLoS One* 2007; 2: e845 [PMID: 17786216]
- 23 Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, Moustafa T, Stradner M, Strohmaier HM, Buck CR, Denk H, Schroeder R, Trauner M, Zatloukal K. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology* 2007; 132: 330-342 [PMID: 17241883]
- 24 Du Y, Kong G, You X, Zhang S, Zhang T, Gao Y, Ye L, Zhang X. Elevation of highly up-regulated in liver cancer (HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell proliferation via down-regulating p18. *J Biol Chem* 2012; 287: 26302-26311 [PMID: 22685290 DOI: 10.1074/jbc.M112.342113]
- 25 Liu Y, Pan S, Liu L, Zhai X, Liu J, Wen J, Zhang Y, Chen J, Shen H, Hu Z. A genetic variant in long non-coding RNA HULC contributes to risk of HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *PLoS One* 2012; 7: e35145 [PMID: 22493738 DOI: 10.1371/journal.pone.0035145]
- 26 Pan YF, Qin T, Feng L, Yu ZJ. Expression profile of altered long non-coding RNAs in patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2013; 33: 96-101 [PMID: 23392715 DOI: 10.1007/s11596-013-1078-y]
- 27 Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 136106 [PMID: 23762823 DOI: 10.1155/2013/136106]
- 28 Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A, Galun E, Dweik H, Akkawi M. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 688-692 [PMID: 19445043]
- 29 Yamamoto Y, Nishikawa Y, Tokairin T, Omori Y, Enomoto K. Increased expression of H19 non-coding mRNA follows hepatocyte proliferation in the rat and mouse. *J Hepatol* 2004; 40: 808-814 [PMID: 15094229]
- 30 Lin R, Maeda S, Liu C, Karin M, Edgington TS. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas. *Oncogene* 2007; 26: 851-858 [PMID: 16878148]
- 31 Yang F, Yi F, Han X, Du Q, Liang Z. MALAT-1 interacts with hnRNP C in cell cycle regulation. *FEBS Lett* 2013; 587: 3175-3181 [PMID: 23973260 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.07.048]
- 32 Shi X, Sun M, Liu H, Yao Y, Song Y. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer Lett* 2013; 339: 159-166 [PMID: 23791884 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.06.013]
- 33 Rajaram V, Knezevich S, Bove KE, Perry A, Pfeifer JD. DNA sequence of the translocation breakpoints in undifferentiated embryonal sarcoma arising in mesenchymal hamartoma of the liver harboring the t(11; 19)(q11; q13.4) translocation. *Genes Chromosomes Cancer* 2007; 46: 508-513 [PMID: 17311249]
- 34 Prasanth KV, Prasanth SG, Xuan Z, Hearn S, Freier SM, Bennett CF, Zhang MQ, Spector DL. Regulating gene expression through RNA nuclear retention. *Cell* 2005; 123: 249-263 [PMID: 16239143]
- 35 Lai MC, Yang Z, Zhou L, Zhu QQ, Xie HY, Zhang F, Wu LM, Chen LM, Zheng SS. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Med Oncol* 2012; 29: 1810-1816 [PMID: 21678027 DOI: 10.1007/s12032-011-0004-z]
- 36 Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol* 2012; 48: R45-R53 [PMID: 22393162 DOI: 10.1530/JME-12-0008]
- 37 Zhang X, Rice K, Wang Y, Chen W, Zhong Y, Nakayama Y, Zhou Y, Klibanski A. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology* 2010; 151: 939-947 [PMID: 20032057 DOI: 10.1210/en.2009-0657]
- 38 Qin R, Chen Z, Ding Y, Hao J, Hu J, Guo F. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation of cervical carcinoma cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. *Neoplasma* 2013; 60: 486-492 [PMID: 23790166 DOI: 10.4149/neo_2013_063]
- 39 Ying L, Huang Y, Chen H, Wang Y, Xia L, Chen Y, Liu Y, Qiu F. Downregulated MEG3 activates autophagy and increases cell proliferation in bladder cancer. *Mol Biosyst* 2013; 9: 407-411 [PMID: 23295831 DOI: 10.1039/c2mb25386k]
- 40 Braconi C, Kogure T, Valeri N, Huang N, Nuovo G, Costinean S, Negrini M, Miotto E, Croce CM, Patel T. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer. *Oncogene* 2011;

- 30: 4750-4756 [PMID: 21625215 DOI: 10.1038/onc.2011.193]
- 41 Oliva J, Bardag-Gorce F, French BA, Li J, French SW. The regulation of non-coding RNA expression in the liver of mice fed DDC. *Exp Mol Pathol* 2009; 87: 12-19 [PMID: 19362547 DOI: 10.1016/j.yexmp.2009.03.006]
 - 42 Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1243-1250 [PMID: 21327457 DOI: 10.1245/s10434-011-1581-y]
 - 43 Geng YJ, Xie SL, Li Q, Ma J, Wang GY. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression. *J Int Med Res* 2011; 39: 2119-2128 [PMID: 22289527]
 - 44 Sørensen KP, Thomassen M, Tan Q, Bak M, Cold S, Burton M, Larsen MJ, Kruse TA. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 142: 529-536 [PMID: 24258260 DOI: 10.1007/s10549-013-2776-7]
 - 45 Zhang JX, Han L, Bao ZS, Wang YY, Chen LY, Yan W, Yu SZ, Pu PY, Liu N, You YP, Jiang T, Kang CS. HOTAIR, a cell cycle-associated long noncoding RNA and a strong predictor of survival, is preferentially expressed in classical and mesenchymal glioma. *Neuro Oncol* 2013; 15: 1595-1603 [PMID: 24203894 DOI: 10.1093/neuonc/not131]
 - 46 Chen FJ, Sun M, Li SQ, Wu QQ, Ji L, Liu ZL, Zhou GZ, Cao G, Jin L, Xie HW, Wang CM, Lv J, De W, Wu M, Cao XF. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis. *Mol Carcinog* 2013; 52: 908-915 [PMID: 24151120 DOI: 10.1002/mc.21944]
 - 47 Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, Akiyoshi S, Sasaki S, Iwaya T, Sudo T, Sugimachi K, Mimori K, Wakabayashi G, Mori M. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 946-950 [PMID: 23292722 DOI: 10.3892/or.2012.2219]
 - 48 Yang H, Zhong Y, Xie H, Lai X, Xu M, Nie Y, Liu S, Wan YJ. Induction of the liver cancer-down-regulated long noncoding RNA uc002mbe.2 mediates trichostatin-induced apoptosis of liver cancer cells. *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 1761-1769 [PMID: 23643933 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.04.020]
 - 49 Yuan SX, Yang F, Yang Y, Tao QF, Zhang J, Huang G, Yang Y, Wang RY, Yang S, Huo XS, Zhang L, Wang F, Sun SH, Zhou WP. Long noncoding RNA associated with microvascular invasion in hepatocellular carcinoma promotes angiogenesis and serves as a predictor for hepatocellular carcinoma patients' poor recurrence-free survival after hepatectomy. *Hepatology* 2012; 56: 2231-2241 [PMID: 22706893 DOI: 10.1002/hep.25895]
 - 50 Yang F, Huo XS, Yuan SX, Zhang L, Zhou WP, Wang F, Sun SH. Repression of the long noncoding RNA-LET by histone deacetylase 3 contributes to hypoxia-mediated metastasis. *Mol Cell* 2013; 49: 1083-1096 [PMID: 23395002 DOI: 10.1016/j.molcel.2013.01.010]
 - 51 Zheng H, Yang S, Yang Y, Yuan SX, Wu FQ, Wang LL, Yan HL, Sun SH, Zhou WP. Epigenetically silenced long noncoding-SRHC promotes proliferation of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014 Dec 16. [Epub ahead of print] [PMID: 25512078 DOI: 10.1007/s00432-014-1871-4]
 - 52 Yang F, Zhang L, Huo XS, Yuan JH, Xu D, Yuan SX, Zhu N, Zhou WP, Yang GS, Wang YZ, Shang JL, Gao CF, Zhang FR, Wang F, Sun SH. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology* 2011; 54: 1679-1689 [PMID: 21769904 DOI: 10.1002/hep.24563]
 - 53 Huang JF, Guo YJ, Zhao CX, Yuan SX, Wang Y, Tang GN, Zhou WP, Sun SH. Hepatitis B virus X protein (HBx)-related long noncoding RNA (lncRNA) down-regulated expression by HBx (Dreh) inhibits hepatocellular carcinoma metastasis by targeting the intermediate filament protein vimentin. *Hepatology* 2013; 57: 1882-1892 [PMID: 23239537 DOI: 10.1002/hep.26195]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



BDNF对食管癌细胞株ECa9706体外侵袭能力的影响

冯睿婷, 梅家转, 栗敏, 赵继智, 白桦, 刘桂举

■背景资料

我国是世界上食管癌发病率最高的国家, 临床研究显示食管癌的术后5年生存率极低。食管癌手术失败的主要原因是肿瘤的浸润和转移。阐明食管癌浸润和转移的病理机制对于食管癌的治疗、预后及提高患者生存率, 具有十分重要的意义。

冯睿婷, 梅家转, 栗敏, 赵继智, 白桦, 刘桂举, 郑州市人民医院肿瘤内科 河南省郑州市 450003

冯睿婷, 检验技师, 主要从事消化系统肿瘤的防治研究。
作者贡献分布: 课题设计由冯睿婷与梅家转完成; 研究过程由冯睿婷、栗敏及赵继智完成; 论文写作由冯睿婷与白桦完成; 数据分析由刘桂举完成。

通讯作者: 梅家转, 主任医师, 450003, 河南省郑州市黄河路33号, 郑州市人民医院肿瘤内科。zlnk_mjz@126.com
电话: 0371-67077622

收稿日期: 2014-11-18 修回日期: 2015-01-14

接受日期: 2015-01-23 在线出版日期: 2015-03-18

Effect of brain-derived neurotrophic factor on *in vitro* metastasis of esophageal carcinoma cell line ECa9706

Rui-Ting Feng, Jia-Zhuan Mei, Min Li, Ji-Zhi Zhao, Hua Bai, Gui-Ju Liu

Rui-Ting Feng, Jia-Zhuan Mei, Min Li, Ji-Zhi Zhao, Hua Bai, Gui-Ju Liu, Department of Medical Oncology, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China

Correspondence to: Jia-Zhuan Mei, Chief Physician, Department of Medical Oncology, People's Hospital of Zhengzhou, 33 Huanghe Road, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China. zlnk_mjz@126.com

Received: 2014-11-18 Revised: 2015-01-14

Accepted: 2015-01-23 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To explore the effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on the proliferation and migration of ECa9706 cell line *in vitro* and the underlying mechanism.

METHODS: Cell proliferation and migration were examined by MTT assay and transwell assay, respectively. The mRNA and protein expression levels of tyrosine kinase receptor

B (TrkB) and phospholipase C (PLC)- γ 1 were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blot.

RESULTS: BDNF enhanced the proliferation and migration of ECa9706 cells significantly in a dose-dependent manner, and this effect was blocked by K252a (a TrkB antagonist). Compared with control cells, BDNF increased the mRNA and protein expression of TrkB, and the protein expression of PLC- γ 1.

CONCLUSION: BDNF/TrkB/PLC- γ 1 signaling may play an important role in the migration and metastasis of esophageal carcinoma cells.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Brain-derived neurotrophic factor; Esophageal carcinoma; Proliferation; Migration

Feng RT, Mei JZ, Li M, Zhao JZ, Bai H, Liu GJ. Effect of brain-derived neurotrophic factor on *in vitro* metastasis of esophageal carcinoma cell line ECa9706. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1218-1223 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1218.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1218>

摘要

目的: 本研究观察脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 对食管癌细胞株ECa9706体外增殖和迁移能力的影响以及机制。

方法: 采用MTT和Transwell方法分别观察BDNF以及酪氨酸激酶受体B (tyrosine kinase receptor B, TrkB) 抑制剂K252a对ECa9706细

■同行评议者

李苏宜, 教授, 主任医师, 安徽省肿瘤医院肿瘤营养与代谢治疗科 (肿瘤内三科)

胞增殖和迁移能力的影响, 采用实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)和Western blot方法分别检测ECa9706细胞中TrkB和磷脂酶C(phospholipase C, PLC)- γ 1的mRNA和蛋白表达水平。

结果: BDNF可显著促进ECa9706细胞增殖和迁移能力, 该作用可被K252a拮抗。与对照组相比, BDNF可诱导TrkB的mRNA和蛋白表达显著增加, 并提高PLC- γ 1的蛋白表达水平。

结论: BDNF/TrkB/PLC- γ 1在食管癌细胞迁移浸润中具有重要作用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 脑源性神经营养因子; 食管癌; 增殖; 迁移

核心提示: 脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)通过激活受体酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB), 诱导磷脂酶C(phospholipase C, PLC)- γ 1的表达上调, 进一步刺激食管癌细胞的增殖和迁移。BDNF/TrkB/PLC- γ 1通路在食管癌浸润转移中具有重要意义, 而选择性阻断其关键环节可能成为提高食管癌临床疗效、改善预后的有效途径。

冯睿婷, 梅家转, 栗敏, 赵继智, 白桦, 刘桂举. BDNF对食管癌细胞株ECa9706体外侵袭能力的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1218-1223 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1218.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1218>

0 引言

我国是世界上食管癌发病率最高的国家, 每年全球40万例新发食管患者中, 约30万例为中国人^[1,2]。临床研究数据显示食管癌术后5年的生存率却不足20%^[3-5], 食管癌手术失败的重要原因是肿瘤的浸润和转移。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)属于神经生长因子家族成员之一, 通过与其高亲和力和受体—酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)结合, 调节多种生物学行为, 如肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭等。近年研究^[6-9]表明, 在肝癌等多种原发性肿瘤中均发现BDNF表达上调, 但BDNF与食管癌浸润、转移是否有关系还鲜有报道。本文在体外实验中研究BDNF对食管癌细胞株ECa9706细胞增殖、迁

移的影响, 并探讨其相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料 TRIzol试剂购自Introvigen公司, BDNF、MTT、DMSO、K252a购自Sigma公司, 胎牛血清、RPMI 1640培养液购自Gibco公司, Transwell购自Corning公司, PCR试剂盒购自TAKARA公司, 兔抗人TrkB、磷脂酶C(phospholipase C, PLC)- γ 1抗体和 β -actin抗体购自Abcam公司, 羊抗兔IgG购自Sigma公司。人食管癌细胞株ECa9706购自中国科学院上海细胞库。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 将ECa9706置于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中, 在37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养, 每2-3 d更换培养基1次, 取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 MTT实验: 收集对数期生长的ECa9706细胞, 用0.25%胰蛋白酶消化, 进行细胞计数, 采用新鲜的RPMI 1640培养液制成单细胞悬液, 调整细胞密度为 2×10^4 个/mL。96孔培养板中每孔接种100 μ L, 置于37℃、50 mL/L CO₂的饱和湿度培养箱中, 继续培养12 h。待细胞贴壁生长良好时, 弃去培养基, 分别加入含有不同浓度BDNF的培养液100 μ L, 浓度分别为0、5、10、25、50、100 ng/mL, 以0 ng/mL作为对照。继续培养48 h后, 每孔加入20 μ L 5 mg/mL MTT溶液, 继续培养4 h后, 弃上清液, 加入DMSO溶液100 μ L/孔, 置摇床低速振荡10 min, 使结晶物溶解充分。用全自动酶标仪检测570 nm处各孔的吸光度(A)值, 计算每组细胞增殖率 = 实验组 A_{570} /对照组 $A_{570} \times 100\%$ 。每组药物设3个复孔, 实验重复2次, 取平均值。

1.2.3 Transwell实验: 收集消化并计数细胞, 调整细胞浓度为 5×10^4 个/mL, 吸取400 μ L细胞悬液加入到Transwell上室, 各组加入不同浓度的BDNF。将细胞置于37℃、50 mL/L CO₂的培养箱内培养10 h。去除滤膜上层的细胞, 采用40 g/L多聚甲醛固定后行瑞氏吉姆萨染色。每个滤膜随机选取3个视野, 显微镜下计数滤膜下表面的细胞数, 计算细胞迁移率: 迁移率 = (实验组迁移细胞数/对照组迁移细胞数) $\times 100\%$ 。每组药物设3个复孔, 实验重复2次, 取平均值。

1.2.4 K252a拮抗实验: 实验分为4组: A组(对

■ 研究前沿

脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)/酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)通路介导了细胞多种生物学行为, 包括肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭等。众多研究均表明BDNF在肝癌等多种原发性肿瘤中高度表达, 而与食管癌的关系还鲜有报道。

■ 相关报道

已有研究发现神经生长因子(nerve growth factor, NGF)在食管癌组织中表达显著高于癌旁组织,提示癌细胞可能通过分泌NGF诱导神经向其生长,并随着神经转移、浸润。由于BDNF对神经生长有显著的促进作用,提示BDNF可能参与了肿瘤的神经导向。

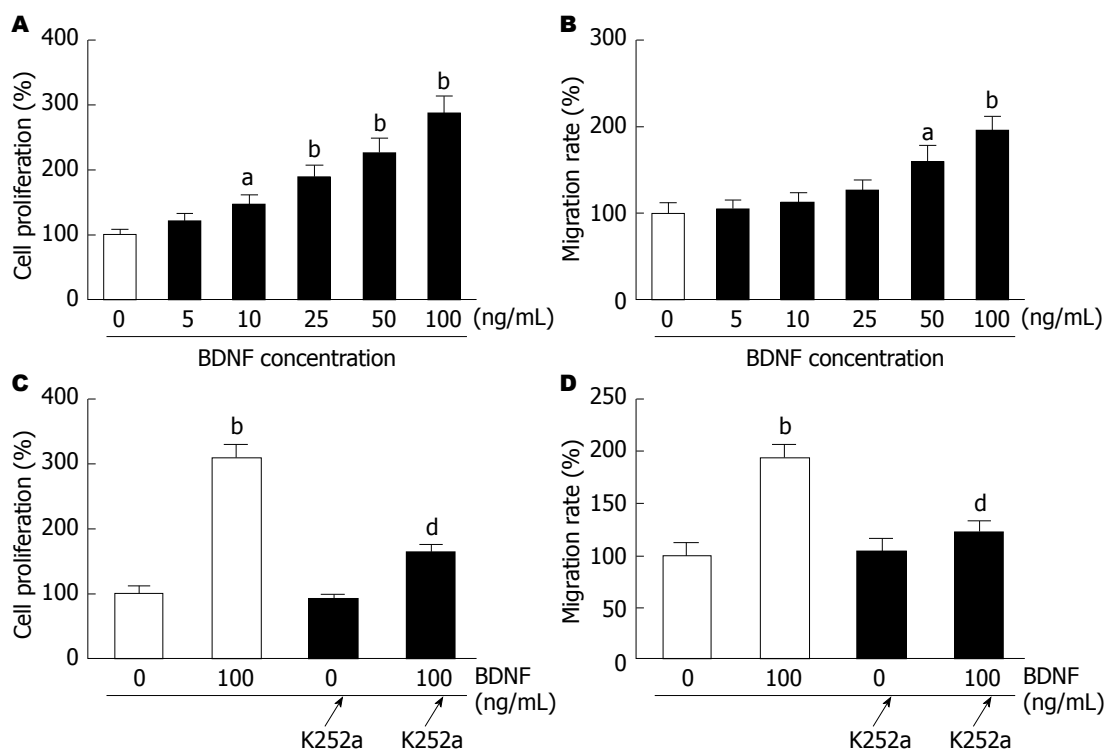


图1 BDNF对ECa9706细胞体外增殖和迁移能力的影响。A: BDNF(0、5、10、25、50、100 ng/mL)对细胞体外增殖的影响; B: BDNF(0、5、10、25、50、100 ng/mL)对细胞迁移能力的影响; C: BDNF(100 ng/mL)+K252a(1 nmol)对细胞体外增殖的影响; D: BDNF(100 ng/mL)+K252a(1 nmol)对细胞迁移能力的影响。* $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs BDNF(0 ng/mL)组; ^d $P<0.01$ vs BDNF(0 ng/mL)+K252a组。BDNF: 脑源性神经生长因子。

照组, 不加任何药物), B组(100 ng/mL BDNF), C组(1 nmol K252a), D组(100 ng/mL BDNF+1 nmol K252a), 其中D组在加入BDNF前先加K252a预处理30 min。其余步骤同1.2.2和1.2.3, 测定细胞增殖率和迁移率。

1.2.5 实时定量聚合酶链反应: 用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 测定 $A_{260/280}$ 为1.8-2.0。M-MLV法逆转录合成cDNA, 取3 μ L cDNA进行实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)反应, 具体步骤按试剂盒说明书进行。扩增条件为94 $^{\circ}$ C预变性5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s变性, 退火58 $^{\circ}$ C 45 s, 延伸72 $^{\circ}$ C 2 min, 扩增循环均为35个循环。引物由上海生工生物工程有限公司合成, 序列分别为: TrkB, 上游引物: 5'-CTTATGCTTGCTGGTCTTGG-3', 下游引物: 5'-GGGTATTCTTGCTGCTCTCA-3'; PLC- γ 1, 上游引物: 5'-AACACGTACCTCACTGGGGA-3', 下游引物: 5'-CTGCAGTGCTCCTCGATAGA-3'; β -actin, 上游引物: 5'-CTCCATCCTGGCGCTGT-3', 下游引物: 5'-GCTGTCACCTTACCGTTCC-3'。结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法^[10]分析。

1.2.6 Western blot检测: 细胞经冰冷PBS冲洗, 加入预冷的细胞裂解液溶解, 冰上静置30 min

后, 于4 $^{\circ}$ C、12000 g 离心20 min, 收集上清。采用Bradford法分析定量后调整蛋白浓度一致。取等量蛋白加入2 \times SDS上样缓冲液, 煮沸变性5 min。取60 μ g总蛋白质经10%SDS-PAGE电泳分离并转移至PVDF膜。室温5%脱脂奶粉封闭1 h, 加入兔抗人TrkB和PLC- γ 1一抗(1:1000)4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST洗涤3次后, 加入辣根过氧化物酶(horse reddish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔二抗(1:8000), 37 $^{\circ}$ C孵育2 h, TBST洗涤3次后, ECL发光法显影。以目的条带与内参 β -actin相对灰度值表示其表达水平。

统计学处理 采用SPSS18.0进行统计学分析, 实验数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BDNF对ECa9706细胞增殖的影响 如图1A所示, 浓度为10-100 ng/mL的BDNF对细胞体外增殖有明显的促进作用, 细胞增殖率呈剂量依赖性增高, 与0 ng/mL组相比差异有统计学意义($P<0.05$), 其中100 ng/mL时细胞增殖率高达296%。加入TrkB拮抗剂K252a预处理后, 100 ng/mL组细胞增殖率显著下降($P<0.001$),

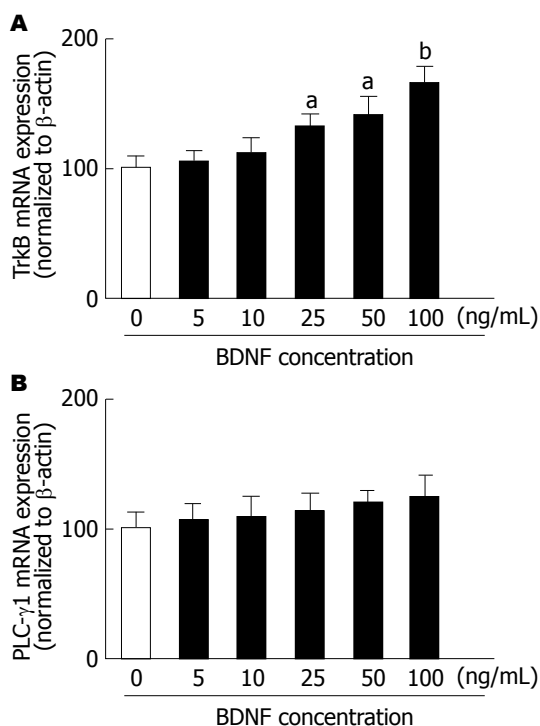


图2 BDNF对ECa9706细胞TrkB、PLC-γ1的mRNA表达的影响。A: 不同浓度BDNF对ECa9706细胞TrkB的mRNA表达的影响; B: 不同浓度BDNF对ECa9706细胞PLC-γ1的mRNA表达的影响。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs BDNF(0 ng/mL)组。BDNF: 脑源性神经生长因子; TrkB: 酪氨酸激酶受体B; PLC: 磷脂酶C。

但对0 ng/mL组无明显影响(图1C)。

2.2 BDNF对ECa9706细胞迁移的影响 如图1B所示, BDNF浓度>50 ng/mL时细胞迁移能力显著增强, 与0 ng/mL组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。浓度低于50 ng/mL时对细胞迁移无显著影响。K252a预处理组细胞迁移率显著下降, 与100 ng/mL组相比差异有统计学意义($P<0.01$), 但对0 ng/mL组无明显影响(图1D)。

2.3 BDNF对ECa9706细胞TrkB、PLC-γ1的mRNA表达的影响 如图2所示, BDNF浓度为25-100 ng/mL时可显著提高TrkB的mRNA表达水平, 与0 ng/mL组相比差异有统计学意义($P<0.05$), 但对PLC-γ1的mRNA表达无明显影响。

2.4 BDNF对ECa9706细胞TrkB、PLC-γ1的蛋白表达的影响 如图3所示, BDNF浓度为25-100 ng/mL时可显著提高TrkB和PLC-γ1的蛋白表达水平, 与0 ng/mL组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

食管癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其死亡率占常见癌症总死亡率的1/4。食管癌以食

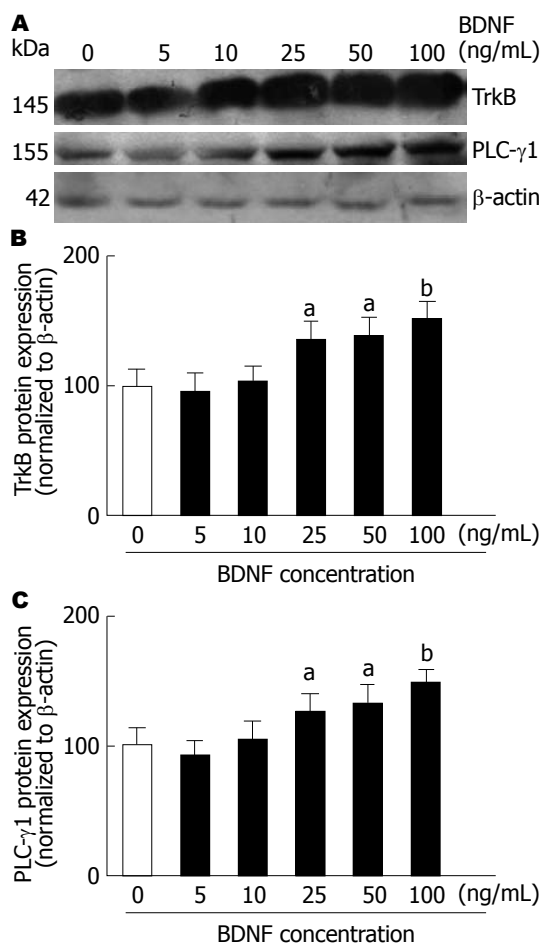


图3 BDNF对ECa9706细胞TrkB、PLC-γ1蛋白表达的影响。A: Western blot检测TrkB、PLC-γ1的蛋白表达; B: 不同浓度BDNF对ECa9706细胞TrkB蛋白表达的影响; C: 不同浓度BDNF对ECa9706细胞PLC-γ1蛋白表达的影响。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs BDNF(0 ng/mL)组。BDNF: 脑源性神经生长因子; TrkB: 酪氨酸激酶受体B; PLC: 磷脂酶C。

管鳞状上皮癌为主, 临床上主要表现为进行性吞咽困难, 并伴有咽下困难、食物反流等症状, 严重影响患者的身体健康。目前认为, 食管癌细胞的浸润和转移是临床治疗失败的主要原因, 因此, 明确食管癌细胞转移的确切机制是提高治疗效率、改善患者预后的关键。

肿瘤的浸润和转移是肿瘤细胞与周围环境不断相互作用的复杂过程, 包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在内的多种生长因子参与了该过程。肿瘤细胞通常并行着神经进行转移, 原因可能在于神经束阻力相对较小, 而神经生长因子可能也参与了肿瘤的转移过程。BDNF属于神经生长因子家族成员之一, 是继神经生长因子(nerve growth factor, NGF)之后发现的第二个神经营养因子, 在神经细胞的生长发育、损伤修复中具有重要作用。BDNF通过其受体

创新点

本研究在体外实验中证明了BDNF可促进食管癌细胞的增殖和迁移能力, 同时诱导TrkB和磷脂酶C(phospholipase C, PLC)-γ1的表达, 提示BDNF/TrkB/PLC-γ1通路在食管癌浸润转移中具有重要意义。

应用要点

进一步深入研究BDNF/TrkB/PLC- γ 1通路在食管癌中的确切机制, 选择性阻断其关键环节可能成为提高疗效、改善预后的有效途径。

TrkB介导生物学功能。TrkB是由原癌基因 trk 编码的神经生长因子受体家族成员之一, 通过受体二聚体化以及胞内激酶区特异性酪氨酸残基磷酸化而激活, 介导胞内信号的转导。近来研究^[11-16]表明, BDNF-TrkB通路不仅在神经发育和功能维持中具有重要作用, 还与多种恶性肿瘤密切相关。在包括神经母细胞瘤以及肾癌、肝癌、肺癌、胃癌等非神经瘤中均发现了BDNF和TrkB的过度表达。郭大伟等^[17]发现干扰BDNF表达可降低人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞侵袭能力, 提示BDNF信号可能成为阻断HCC进展的新靶点。徐光辉等^[18]的研究发现食管癌与神经之间相互促进, 食管癌细胞可以导向神经轴突向其生长, 而神经也对食管癌细胞的增殖、浸润具有导向作用, 使食管癌细胞沿着神经进行转移, 而且在食管癌细胞中也发现了NGF和BDNF的表达。Tsunoda等^[19]已经证实NGF在食管癌患者组织中表达显著高于癌旁组织, 提示癌细胞可能通过分泌NGF诱导神经向其生长, 然而对神经生长具有显著作用的BDNF既然也在食管癌细胞系中表达, 那么是否BDNF也介导了神经导向及肿瘤神经节浸润呢? 目前尚无研究报告。本研究发现, 外源性BDNF可显著增强ECa9706细胞的增殖和迁移能力, 表明BDNF可能涉及了食管癌细胞的增殖和转移, 而该作用可被TrkB抑制剂K252a所阻断, 也表明了BDNF诱导食管癌细胞增殖和转移的作用是通过TrkB所介导的。另外, 本研究还发现BDNF可显著提高ECa9706细胞中TrkB的mRNA和蛋白表达, 表明BDNF/TrkB信号通路的激活, 而由该通路介导的生物学效应也显著增强。

BDNF/TrkB通路主要通过3条下游信号介导其生物学效应, 包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K/Akt)和PLC途径^[20-22]。PLC分为 β 、 γ 、 δ 三型, 每型又分多种亚型。PLC- γ 1亚型是以生长因子受体为中心的多级蛋白质复合物中的重要成员, PLC- γ 1活化后可以催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2)分解成三磷酸肌醇(inositol trisphosphate, IP3)和二酰甘油(diacylglycerol, DAG), 后者作为第二信使在细胞内传递其效应^[23]。研究^[24-29]表明, PLC- γ 1在乳腺癌、结肠

癌、前列腺癌、卵巢癌等均高度表达, 其过量表达可引起肿瘤发生、浸润和转移, 提示PLC- γ 1在肿瘤发生和发展中具有关键作用。在最新的研究^[30]中发现靶向抑制PLC- γ 1可能是预防乳腺癌转移的有效途径。在司富春等^[31]的研究中发现, PLC- γ 1在食管癌组织中高度表达, 提示PLC- γ 1可能也涉及食管癌的浸润和转移。本研究中发现BDNF可诱导PLC- γ 1的蛋白表达上调, 表明BDNF通过上调TrkB的表达, 进而激活下游PLC- γ 1信号途径。

总之, 本研究初步在体外实验中证明了外源性的BDNF可促进食管癌细胞的体外增殖和迁移能力, 同时诱导TrkB和PLC- γ 1的表达上调, 提示BDNF/TrkB/PLC- γ 1通路在食管癌浸润转移中具有重要意义, 提示了食管癌术后预后较差可能与内源性分泌BDNF所介导的效应有关, 而进一步深入研究BDNF-TrkB/PLC- γ 1通路在食管癌中的确切机制, 选择性阻断其关键环节可能成为提高疗效、改善预后的有效途径。

参考文献

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
- 董颖, 杨文君. 消化道恶性肿瘤流行病学特征与发病现状分析. *医学综述* 2014; 20: 429-431
- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. The incidences and mortalities of major cancers in China, 2009. *Chin J Cancer* 2013; 32: 106-112 [PMID: 23452393 DOI: 10.5732/cjc.013.10018]
- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21 [PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]
- Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1276-1299 [PMID: 12953083 DOI: 10.1093/jnci/djg040]
- 赵萌, 张而立, 贾晓青. BDNF-TrkB信号传导通路在肝癌中的作用研究进展. *中国现代普通外科进展* 2010; 13: 730-733
- 孙春艳, 胡豫, 吴涛, 王雅丹, 何文娟. 脑源性神经生长因子及其受体在恶性黑色素瘤细胞中的表达及意义. *中华内科杂志* 2005; 44: 906-909
- Nijs J, Meeus M, Versijpt J, Moens M, Bos I, Knaepen K, Meeusen R. Brain-derived neurotrophic factor as a driving force behind neuroplasticity in neuropathic and central sensitization pain: a new therapeutic target? *Expert Opin Ther Targets* 2014 Dec 18. [Epub ahead of print] [PMID: 25519921 DOI:

- 10.1517/14728222.2014.994506]
- 9 Lawn S, Krishna N, Pisklakova A, Qu X, Fenstermacher DA, Fournier M, Vrionis FD, Tran N, Chan JA, Kenchappa RS, Forsyth PA. Neurotrophin Signaling via TrkB and TrkC Receptors Promotes the Growth of Brain Tumor-initiating Cells. *J Biol Chem* 2015; 290: 3814-3824 [PMID: 25538243 DOI: 10.1074/jbc.M114.599373]
- 10 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408 [PMID: 11846609 DOI: 10.1006/meth.2001.1262]
- 11 Brodeur GM, Nakagawara A, Yamashiro DJ, Ikegaki N, Liu XG, Azar CG, Lee CP, Evans AE. Expression of TrkA, TrkB and TrkC in human neuroblastomas. *J Neurooncol* 1997; 31: 49-55 [PMID: 9049830]
- 12 Pearse RN, Swendeman SL, Li Y, Rafii D, Hempstead BL. A neurotrophin axis in myeloma: TrkB and BDNF promote tumor-cell survival. *Blood* 2005; 105: 4429-4436 [PMID: 15657181 DOI: 10.1182/blood-2004-08-3096]
- 13 Yang ZF, Ho DW, Lam CT, Luk JM, Lum CT, Yu WC, Poon RT, Fan ST. Identification of brain-derived neurotrophic factor as a novel functional protein in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 219-225 [PMID: 15665298]
- 14 Lin CY, Hung SY, Chen HT, Tsou HK, Fong YC, Wang SW, Tang CH. Brain-derived neurotrophic factor increases vascular endothelial growth factor expression and enhances angiogenesis in human chondrosarcoma cells. *Biochem Pharmacol* 2014; 91: 522-533 [PMID: 25150213 DOI: 10.1016/j.bcp.2014.08.008]
- 15 Tomotsuka N, Kaku R, Obata N, Matsuoka Y, Kanzaki H, Taniguchi A, Muto N, Omiya H, Itano Y, Sato T, Ichikawa H, Mizobuchi S, Morimatsu H. Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion of the rat bone cancer pain model. *J Pain Res* 2014; 7: 415-423 [PMID: 25050075 DOI: 10.2147/JPR.S63527]
- 16 Huth L, Rose M, Kloubert V, Winkens W, Schlensog M, Hartmann A, Knüchel R, Dahl E. BDNF is associated with SFRP1 expression in luminal and basal-like breast cancer cell lines and primary breast cancer tissues: a novel role in tumor suppression? *PLoS One* 2014; 9: e102558 [PMID: 25036590 DOI: 10.1371/journal.pone.0102558]
- 17 郭大伟, 姜晓峰, 孙文郁, 朱磊, 张弘彬, 侯学志, 梁健. 干扰BDNF表达对97-H细胞侵袭影响及其机制的探讨. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 19: 1295-1307
- 18 徐光辉, 丰帆, 赵国宏, 康建琴, 杨学文, 陈康, 郭勇, 张洪伟. 食管癌对神经生长及导向作用的研究. *中华胃肠外科杂志* 2013; 16: 70-74
- 19 Tsunoda S, Okumura T, Ito T, Mori Y, Soma T, Watanabe G, Kaganai J, Itami A, Sakai Y, Shimada Y. Significance of nerve growth factor overexpression and its autocrine loop in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2006; 95: 322-330 [PMID: 16832412 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603255]
- 20 Schramm A, Schulte JH, Astrahantseff K, Apostolov O, Limpt Vv, Sieverts H, Kuhfittig-Kulle S, Pfeiffer P, Versteeg R, Eggert A. Biological effects of TrkA and TrkB receptor signaling in neuroblastoma. *Cancer Lett* 2005; 228: 143-153 [PMID: 15921851 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.02.051]
- 21 Eggert A, Ikegaki N, Liu XG, Brodeur GM. Prognostic and biological role of neurotrophin-receptor TrkA and TrkB in neuroblastoma. *Klin Padiatr* 2000; 212: 200-205 [PMID: 10994551 DOI: 10.1055/s-2000-9677]
- 22 Sugimoto T, Kuroda H, Horii Y, Moritake H, Tanaka T, Hattori S. Signal transduction pathways through TRK-A and TRK-B receptors in human neuroblastoma cells. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 152-160 [PMID: 11223544 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2001.tb01077.x]
- 23 Zhu D, Tan Y, Yang X, Qiao J, Yu C, Wang L, Li J, Zhang Z, Zhong L. Phospholipase C gamma 1 is a potential prognostic biomarker for patients with locally advanced and resectable oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014; 43: 1418-1426 [PMID: 25085076 DOI: 10.1016/j.ijom.2014.07.001]
- 24 Piccolo E, Innominato PF, Mariggio MA, Maffucci T, Iacobelli S, Falasca M. The mechanism involved in the regulation of phospholipase Cgamma1 activity in cell migration. *Oncogene* 2002; 21: 6520-6529 [PMID: 12226755 DOI: 10.1038/sj.onc.1205821]
- 25 Wells A, Grandis JR. Phospholipase C-gamma1 in tumor progression. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 285-290 [PMID: 12856715]
- 26 Andruska N, Zheng X, Yang X, Helferich WG, Shapiro DJ. Anticipatory estrogen activation of the unfolded protein response is linked to cell proliferation and poor survival in estrogen receptor α -positive breast cancer. *Oncogene* 2014 Sep 29. [Epub ahead of print][PMID: 25263449 DOI: 10.1038/nc.2014.292]
- 27 Drzewiecka H, Jagodzinski PP. Trichostatin A reduced phospholipase C gamma-1 transcript and protein contents in MCF-7 breast cancer cells. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 1-5 [PMID: 22257695 DOI: 10.1016/j.biopha.2011.09.005]
- 28 Belouche-Babari M, Peak JC, Jackson LE, Tiet MY, Leach MO, Eccles SA. Changes in choline metabolism as potential biomarkers of phospholipase C{gamma}1 inhibition in human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 1305-1311 [PMID: 19417158 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0039]
- 29 Davies G, Martin TA, Ye L, Lewis-Russell JM, Mason MD, Jiang WG. Phospholipase-C gamma-1 (PLCgamma-1) is critical in hepatocyte growth factor induced in vitro invasion and migration without affecting the growth of prostate cancer cells. *Urol Oncol* 2008; 26: 386-391 [PMID: 18367108 DOI: 10.1016/j.urolonc.2007.06.003]
- 30 Lattanzio R, Marchisio M, La Sorda R, Tinari N, Falasca M, Alberti S, Miscia S, Ercolani C, Di Benedetto A, Perracchio L, Melucci E, Iacobelli S, Mottollese M, Natali PG, Piantelli M. Overexpression of activated phospholipase C γ 1 is a risk factor for distant metastases in T1-T2, N0 breast cancer patients undergoing adjuvant chemotherapy. *Int J Cancer* 2013; 132: 1022-1031 [PMID: 22847294 DOI: 10.1002/ijc.27751]
- 31 司富春, 陈玉龙. 启膈散及其拆方对食管癌细胞 Eca109 PLC- γ 1介导的细胞信号转导的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2583-2588

同行评价

本文较为新颖, 具备一定的文献研究证据支持, 理论的逻辑性也较强. 研究设计较为合理, 指标选择也较为恰当, 数据可信.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤

■背景资料

胃动力障碍疾病是临床常见胃肠道疾病之一, 是以胃肠运动异常、出现胃平滑肌收缩下降、张力低的一系列疾病, 中药枳实在促胃动力方面研究前人已经做过许多报道, 但其具体的促胃动力机制还不十分明确, 而在 Ca^{2+} 及钙调蛋白分子水平的研究还未有相关报道.

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤, 广西医科大学第一附属医院中医科广西壮族自区南宁市 530021

李东鑫, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗临床消化系统疾病的研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFAA019139

广西中医药民族医药继承创新工程攻关课题基金资助项目, No. GZGG13-04

广西高校科学技术研究重点项目基金资助项目, No. 2013ZD013

作者贡献分布: 此课题由凌江红设计; 实验研究过程由凌江红指导, 李东鑫、凌江红、王煜姣、Akarayosapong Pichamon、宁海恩、张智及刘培凤共同操作完成; 研究所用试剂由凌江红提供; 论文写作由凌江红与李东鑫完成.

通讯作者: 凌江红, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院中医科.

459183870@qq.com

电话: 0771-5356515

收稿日期: 2014-12-16 修回日期: 2015-01-16

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

National Minority Medicine, No. GZGG13-04; Guangxi Science and Technology Research Fund for Colleges and Universities, No. 2013ZD013

Correspondence to: Jiang-Hong Ling, Professor, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 459183870@qq.com

Received: 2014-12-16 Revised: 2015-01-16

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To observe the effect of drug-containing serum of single herb immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells.

METHODS: Rat drug-containing serum of immature bitter orange was prepared using the routine method. The drug-containing serum was divided into different concentration groups (10%, 20%, and 50% drug-containing serum), and normal serum was used as a blank control. Antral smooth muscle cells were extracted using enzymatic method and cultured. The effect of each group of serum on antral smooth muscle cell contraction was observed under an inverted microscope. The changes of intracellular Ca^{2+} concentration in the antral smooth muscle cells were tested using confocal laser scanning microscopy. Calmodulin expression in antral smooth muscle cells was detected using immunohistochemical method.

RESULTS: The effect of drug-containing serum of immature bitter orange on antral smooth muscle cell contraction and intracellular Ca^{2+}

Effect of drug-containing serum of immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells

Dong-Xin Li, Jiang-Hong Ling, Yu-Jiao Wang, Akarayosapong Pichamon, Hai-En Ning, Zhi Zhang, Pei-Feng Liu

Dong-Xin Li, Jiang-Hong Ling, Yu-Jiao Wang, Akarayosapong Pichamon, Hai-En Ning, Zhi Zhang, Pei-Feng Liu, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Natural Science Foundation, No. 2013GXNSFAA019139; Guangxi Research Fund for Inheritance and Innovation Projects of Chinese

■同行评议者

唐文富, 教授, 主任医师, 四川大学华西医院中西医结合科

fluorescence intensity was dose-dependent. Cell contraction and intracellular Ca^{2+} fluorescence intensity increased with the increase of drug concentration ($P < 0.05$). Antral smooth muscle cell contraction and intracellular Ca^{2+} fluorescence intensity differed significantly between the 20% and 50% drug-containing serum groups and the blank control group ($P < 0.05$). Antral smooth muscle intracellular calmodulin expression differed significantly between the 50% drug-containing serum group and the blank control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The drug-containing serum of immature bitter orange can promote antral smooth muscle cell contraction possibly *via* mechanism related to the increase of intracellular Ca^{2+} concentration and the modulation of calmodulin expression.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Immature bitter orange; Drug-containing serum; Smooth muscle cell; Ca^{2+} ; Calmodulin

Li DX, Ling JH, Wang YJ, Pichamon A, Ning HE, Zhang Z, Liu PF. Effect of drug-containing serum of immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1224-1230 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1224.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1224>

摘要

目的: 观察单味中药枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内 Ca^{2+} 、钙调蛋白表达的影响。

方法: 按照血清药理学通法制备大鼠枳实含药血清, 将血清分为枳实组(10%、20%、50%枳实含药血清)、空白血清对照组, 酶解法提取胃窦平滑肌细胞并进行培养, 倒置显微镜下观察各组对胃窦平滑肌细胞收缩效应, 激光共聚焦显微镜技术检测各组加药前后胃窦平滑肌细胞内 Ca^{2+} 浓度变化, 免疫组织化学方法观察各组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达。

结果: 10%、20%、50%枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩及细胞内 Ca^{2+} 荧光强度的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩、细胞内 Ca^{2+} 荧光强度随药物浓度的增高而增强($P < 0.05$), 20%、50%枳实含药血清与空白

血清对照组对胃窦平滑肌细胞收缩、细胞内 Ca^{2+} 荧光强度差异有统计学意义($P < 0.05$), 50%枳实组与空白血清对照组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 枳实含药血清可以促进胃窦平滑肌细胞收缩, 其机制可能与增加细胞内 Ca^{2+} 浓度、调节钙调蛋白的表达有关。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 枳实; 含药血清; 平滑肌细胞; 钙离子; 钙调蛋白

核心提示: 10%、20%、50%枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞的收缩及其对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度的影响呈对应关系, 50%枳实含药血清可增强胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达, 这提示着枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞的收缩、细胞内 Ca^{2+} 变化、钙调蛋白的表达有着相关性。

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤. 枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1224-1230 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1224.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1224>

0 引言

枳实是一种重要的理气药, 归脾、胃经, 具有破气消积、化痰散痞的作用, 用于积滞内停、痞满胀痛、泻痢后重、大便不通、痰滞气阻胸痹、结胸、胃下垂^[1]等症。枳实的破气作用较强, 临床上常与其他药物组方, 如“枳实消痞丸”、“枳实导滞丸”、“枳术丸”等^[2-5], 对胃肠运动功能障碍有良好的调整作用。有研究^[6]证实枳实含药血清对大鼠胃肠平滑肌条有兴奋作用。胃肠平滑肌的收缩活动与胞内 Ca^{2+} 浓度变化密切相关, 而调控细胞内 Ca^{2+} 释放也是调控平滑肌舒缩活动的有效途径^[7]。钙调蛋白是一种广泛存在于生物体的 Ca^{2+} 结合蛋白, 钙调蛋白能与 Ca^{2+} 结合, 形成有活性的 Ca^{2+} , 并能与靶蛋白相互作用产生一系列的生理效应使平滑肌收缩^[8]。本研究将从细胞水平进一步证实枳实的促胃动力作用, 并基于钙离子的变化及钙调蛋白的表达来探讨其作用机制。

■ 研究前沿

近年来对枳实组方用药促胃肠动力的药理药效及枳实成分提取的研究较多, 对单味枳实的促胃肠动力机制研究较欠缺, 许多涉及细胞分子水平的研究还待解决。

■ 相关报道

杨秀丽就有关枳实在胃肠动力方面机制的报道, 枳实对胃肠的作用因动物种属和功能状态不同而异, 其作用机制与胆囊收缩素(CCK)、生长抑素(SS)、H1受、P物质等都有着相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 枳实、吗丁啉均由广西医科大学第一附属医院药房提供。50只SPF级SD大鼠购自广西医科大学实验动物中心。II型胶原酶购自美国GIBCO公司; M199培养液购自美国Hyclone公司; 青霉素-链霉素溶液、0.25%胰酶+0.02%EDTA、D-Hanks液购自杭州吉诺生物医药技术有限公司; 胎牛血清购自美国SCIENCELL公司; 水合氯醛、25%戊二醛购自成都科龙试剂公司; Fluo-3-AM购自北京泛博生物化学有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物含药血清的制备与血清分组: 按文献[9,10]制备含药血清, 取SD大鼠18只, 雌雄不限, 用简单随机分组法分为枳实组、空白血清对照组, 分别予枳实煎液[(按成人60 kg/人)临床用药量的10倍, 按1:5容积比, 用蒸馏水浸泡30 min, 煎煮2次(30 min/次)后, 过滤, 去渣取汁, 合并滤液加热蒸发, 制成1.015 kg/L水煎浓缩液, 4℃保存备用]、生理盐水灌胃, 灌胃量1.5 mL/100 g, 2次/d, 间隔12 h, 共3 d; 于末次灌胃后1 h后10%水合氯醛腹腔麻醉, 从腹主动脉取血, 置真空采血管室温下静置至有血清析出, 3000 r/min离心20 min, 分离血清, 同组血清混合后, 置于56℃水浴中灭活30 min, 用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌, 置-20℃保存备用。假设所提取的枳实含药血清浓度为100%, 用胎牛血清稀释成10%、20%、50%的枳实含药血清浓度(如10%的枳实组配置: 10 mL枳实含药血清+90 mL胎牛血清)。

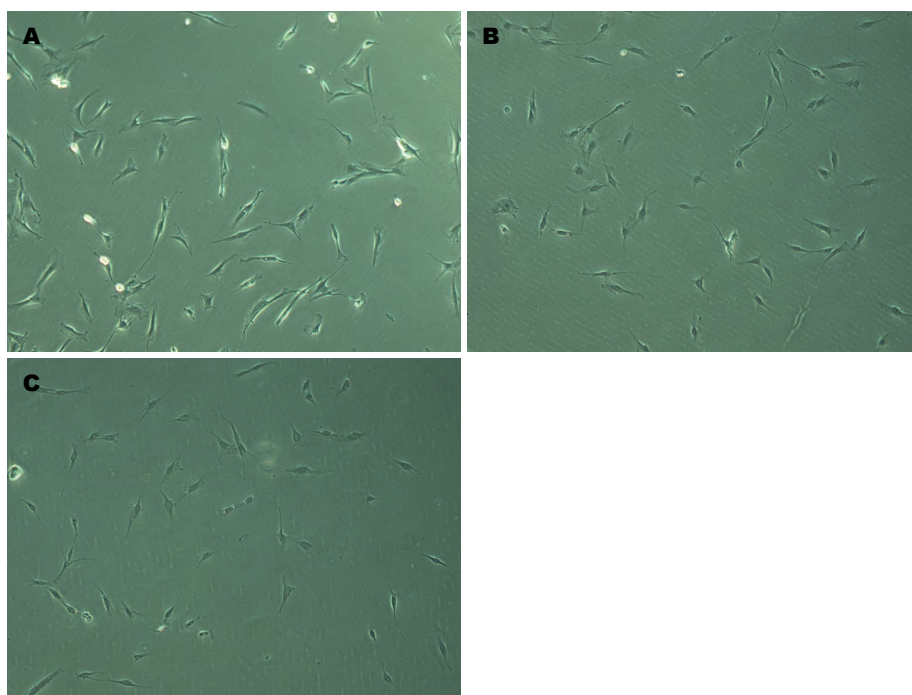
1.2.2 胃平滑肌细胞的提取及培养: 参考相关文献[11,12]中的SD大鼠胃窦平滑肌细胞的分离方法并进行适当调整, 取SD大鼠2只, 雌雄不限, 禁食8 h, 不禁水, 用10%水合氯醛腹腔麻醉, 开腹取胃窦, 所取胃窦长约3 cm, 行胃小弯切开, 用D-Hanks液冲洗3次, 在解剖显微镜下行胃黏膜层的剥离, 剩下的肌条切成0.1 cm×0.1 cm大小的条块。取到的肌条放入含有II型胶原酶(用不含血清的M199配成1.3 mg/mL)的消化液中, 在37℃水浴箱消化30 min, 消化后再离心1000 r/min、5 min, 用D-Hanks液重悬沉淀, 吹打10 min, 再1000 r/min离心5 min, 吸去D-Hanks液, 加入培养基(含有M199, 100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素, 20%胎牛血清), 吹打均匀后, 用200目筛网过滤后形成细胞悬液,

分装到细胞培养瓶中培养, 每瓶约4 mL细胞悬液, 放入37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。每隔3 d换液1次, 倒置显微镜下观察细胞生长情况。待细胞达到80%时, 经胰蛋白酶消化传代^[13]。当细胞生长稳定后, 用血球计数板计数细胞数在1×10⁵/mL左右, 台盼蓝染色确定细胞活力在80%左右时可用于检测。

1.2.3 枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩效应的影响: 将上述符合要求的细胞加入24孔培养板中, 每个孔250 mL细胞悬液, 平均分为5组, 每组4个孔, 待细胞贴壁后, 分别加入10%枳实组、20%枳实组、50%枳实组、空白血清对照组, 每个孔板加入50 μL含药血清, 反应1 min后, 加入2.5%的戊二醛固定, 后放入倒置显微镜下观察细胞并拍照。后用Image-Pro Plus 6.0测量不同组的胃窦平滑肌细胞的长轴变化。

1.2.4 枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞内Ca²⁺浓度的影响: 将培养稳定的平滑肌细胞制成细胞悬液加入培养皿中, 平均分为5组, 置于37℃恒温箱待细胞贴壁后经D-Hanks液清洗, 在避光的情况下加入0.1 mL(10 μmol/L, 含有5 μL/mL的Pluronic F-127)Fluo-3-AM标记细胞内Ca²⁺, 于37℃恒温箱中避光孵育60 min, 再经D-Hanks液清洗后, 在激光共聚焦显微镜下上机检测。测定时将培养皿置于载物台上, 寻找最佳视野, 分别加入上述5组配置好的含药血清, 动态扫描细胞内Ca²⁺荧光强度(fluorescent intensity, FI)的变化, 用FI平均变化值来间接反映细胞内游离Ca²⁺浓度的相对水平。先检测加药前的FI值(静息值), 加药物后再次测量FI值(峰值), 峰高(ΔFI) = 峰值-静息值, 代表药物引起的FI变化值^[14], 细胞荧光强度使用自带软件NIS测定。

1.2.5 免疫组织化学方法观察各组胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达: 将培养稳定的细胞种于24孔板中的细胞爬片内, 平均分为4组, 每组6个孔, 当细胞贴壁稳定后, 分别加入上述4组含药血清, 每个孔板加入50 μL含药血清, 反应2 min后, 加入冰冻甲醇固定10 min, 5%脱脂奶粉封闭10 min, 加入一抗(calmodulin antibody 1:50), 4℃冰箱孵育过夜, PBS液冲洗3遍, 加入结合荧光素山羊抗兔IgG抗体(1:100)标记二抗, 37℃培养箱孵育1 h, 抗淬灭封片液封片后置荧光显微镜下观察并拍照。设每一组中留1孔不加一抗仅加二抗孵育的样本作阴性对照。以胞浆着色为染色阳性细胞。免疫组织化学结



创新亮点

本实验通过制备枳实含药血清, 通过观察枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩效应, 再从其对细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响探讨枳实的促胃动力机制。

图 1 胃窦平滑肌细胞的收缩变化($\times 100$)。A: 10%枳实组; B: 20%枳实组; C: 50%枳实组。

表 1 各组大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应的比较 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	加药后细胞的长度(μm)	细胞收缩百分比(%)
空白血清对照组	60.38 \pm 10.33	—
10%枳实组	59.34 \pm 9.40	1.51 \pm 2.20
20%枳实组	51.55 \pm 7.85 ^{bd}	14.36 \pm 1.90
50%枳实组	41.62 \pm 7.89 ^{bdf}	31.25 \pm 1.47

^b $P < 0.01$ vs 空白血清对照组; ^d $P < 0.01$ vs 10%枳实组; ^f $P < 0.01$ vs 20%枳实组。

果根据染色阳性细胞数和染色强度分别评分。以随机15个100倍视野阳性细胞数所占百分比打分: 0分为阳性细胞数 $\leq 5\%$, 1分为阳性细胞数占6%-25%, 2分为阳性细胞数占26%-50%, 3分为阳性细胞数占51%-75%, 4分为阳性细胞数 $> 75\%$; 染色强度: 0分无染色, 1分淡绿色, 2分绿色, 3分深绿色。两者乘积 > 1 分为阳性, ≤ 1 分为阴性^[15]。

统计学处理 完全随机设计两样本比较的 t 检验分析各组之间对胃窦平滑肌细胞收缩效应及对细胞内钙离子浓度影响的差异, 完全随机设计四格表资料 χ^2 检验分析各组对钙调蛋白表达的差异, 数据采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 枳实含药血清对胃窦大鼠胃平滑肌细胞收

缩效应的影响 10%、20%、50%枳实组对胃窦平滑肌细胞收缩的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩随药物浓度的增高而增强, 20%枳实组、50%枳实组与空白血清对照组对胃窦平滑肌细胞收缩比较差异有统计学意义($P < 0.01$)(表1, 图1)。

2.2 枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞内总 Ca^{2+} 的影响 10%、20%、50%的枳实含药血清对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度呈药物剂量依赖关系, 细胞内 Ca^{2+} 荧光强度随剂量的增加而增强, 50%枳实组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度影响最大, 20%枳实组与空白血清对照组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 50%枳实组与空白血清对照组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较差异有统计学意义($P < 0.01$)(表2, 图2)。

2.3 胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达水平 10%、20%、50%的枳实含药血清对大鼠胃

应用要点

钙离子、钙调蛋白与平滑肌的收缩有着密切相关, 本研究证实枳实促胃动力机制可能与此相关, 并对枳实的临床用药可以提供相应的理论依据。

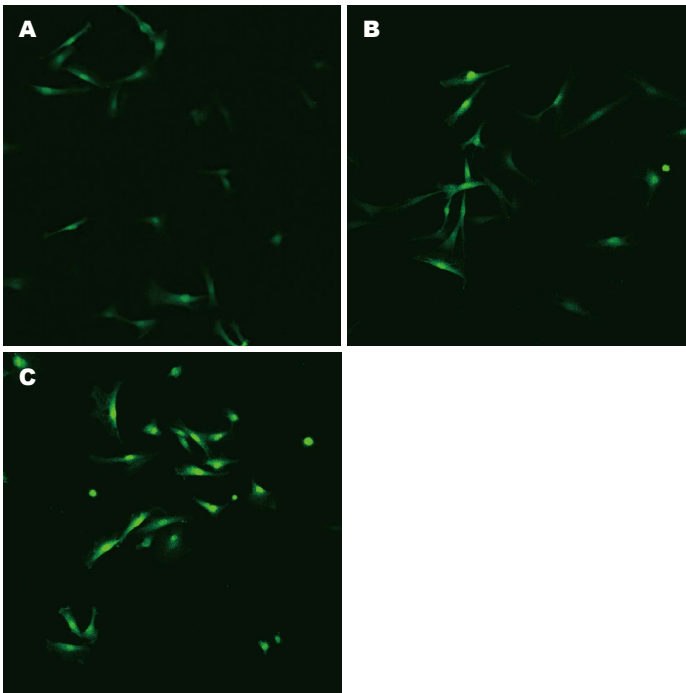


图 2 平滑肌细胞内Ca²⁺的荧光强度(×200). A: 10%枳实组; B: 20%枳实组; C: 50%枳实组.

表 2 各组胃窦平滑肌细胞内总Ca²⁺的变化 (n = 10, mean ± SD, a.u)

分组	峰高
空白血清对照组	756.07 ± 276.03
10%枳实组	878.19 ± 561.37
20%枳实组	1205.98 ± 251.94 ^{ac}
50%枳实组	1475.07 ± 280.42 ^{bde}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 空白血清对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 10%枳实组; ^eP<0.05 vs 20%枳实组.

窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达阳性率分别为40.0%、53.3%、86.7%, 随着血清中枳实浓度的增加, 阳性率增加. 统计学比较中只有空白血清对照组与50%枳实组的比较差异有统计学意义(P<0.05)(表3, 图3).

3 讨论

枳实行滞降泄力强, 长于破滞气、行痰湿、消积滞、除痞满, 为胃肠气分药, 在治疗胃肠疾病的经验由来已久, 《名医别录》中枳实有“降胸胁痰癖, 逐停水, 破结实, 消胀满……胁风痛, 安胃气, 止溏泄”的记载. 前人在动物实验中发现枳实煎液可明显提高小鼠小肠碳末推进率^[16,17], 能改善功能性消化不良大鼠的胃排空^[18-20], 可增加兔离体胃底平滑肌条的张力^[21], 枳实厚朴提取液能显著改善左旋精氨酸所致的大鼠胃动力障碍^[22]. 本研究结果显示

20%、50%浓度的枳实含药血清与空白血清对照组相比能增加胃窦平滑肌细胞的收缩, 本研究从细胞水平上进一步证实了枳实的促胃动力作用.

有相关研究^[23,24]证实枳实促胃动力作用机制可能与P物质、下丘脑内的胆囊收缩素与生长抑素等有关, 而具体的机制还未十分明确. 在胃肠平滑肌收缩与舒张的信号转导机制中, 细胞内游离Ca²⁺作为一种重要的第二信使广泛的参与细胞的运动、分泌、代谢和分化等多种细胞功能活动的调节, 平滑肌的收缩变化跟胞外Ca²⁺内流、细胞内Ca²⁺的释放密切相关, 高浓度Ca²⁺可引起平滑肌收缩, 低浓度的Ca²⁺可引起平滑肌舒张^[25]. 本研究中结果显示低中高浓度的枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩及细胞内Ca²⁺荧光强度的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩、细胞内Ca²⁺荧光强度随药物浓度的增高而增强, 枳实含药血清对平滑肌细胞的收缩效应可能跟增加细胞内Ca²⁺浓度有关, 实验中所用的细胞缓冲液是无钙的D-Hanks液, 结合上述理论我们可以推断枳实含药血清促进胃窦平滑肌细胞的收缩可能是通过调节细胞内钙库Ca²⁺的释放增加细胞内Ca²⁺浓度来完成的. 关于细胞内钙库Ca²⁺的释放, 胞内存在两种钙释放通道, 肌醇三磷酸(IP3)和RYP(ryanodine)受体通道, 将Ca²⁺从钙库中释放出来^[26]. 钙调蛋白是细胞内Ca²⁺信号

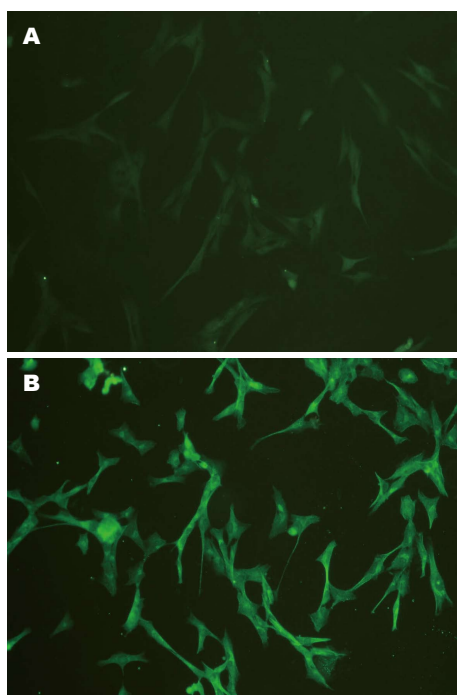


图 3 各组对平滑肌细胞内钙调蛋白的表达($\times 200$)。A: 空白血清对照组; B: 50%枳实组。

传导途径中的主要信号转导分子, 介导调控由 Ca^{2+} 引起的一系列生理生化反应, 参与并调节细胞的增生、分化、运动等基本代谢过程^[27]。当细胞内 Ca^{2+} 浓度增高时, 通过一系列的反应使钙调蛋白结合蛋白磷酸化, 肌丝滑行使平滑肌细胞收缩^[28-30]。有研究^[31]证实钙调蛋白可能参与 IP_3 协调的 Ca^{2+} 从钙池的释放, 本研究中结果显示 50% 枳实组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达最明显, 基于上述分析, 枳实含药血清可能通过调节钙调蛋白的表达、平滑肌细胞内 Ca^{2+} 浓度增加来参与胃窦平滑肌细胞的收缩。其具体的促胃动力机制还需进一步从 IP_3 通道的分子水平来研究。总之, 枳实对胃肠运动调节的机制是个十分复杂的过程, 本研究在枳实促胃动力机制的方面提供了一些研究方向, 为做下一步的研究奠定了基础。

4 参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 1部. 北京: 化学工业出版社, 2005; 172
- 2 何新华. 枳实消痞丸加减治疗功能性消化不良47例临床观察. 当代医学 2013; 5: 155-156
- 3 杨开来. 加味枳实消痞汤治疗糖尿病胃轻瘫60例. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 33-34
- 4 李媛, 董乃娥, 郭玉成. 枳实导滞丸对小鼠胃排空和小肠推进的影响. 承德医学院学报 2008; 25: 212-213
- 5 陈建永, 邱建荣, 潘锋, 丁勇. 枳实丸加减治疗胃食管反流病的临床观察. 中国中西医结合杂志 2004; 24: 25-27

表 3 各组胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达

分组	阳性数(n)	阴性数(n)	阳性率(%)
空白血清对照组	5	10	33.3
10%枳实组	6	9	40.0
20%枳实组	8	7	53.3
50%枳实组	13	2	86.7 ^a

^a $P < 0.05$ vs 空白血清对照组。

同行评价

本文有一定的理论指导价值。

- 6 刘昉, 叶峰, 王锐, 邱根全, 蔡云, 孙焯. 枳实及其含药血清对慢传输性便秘大鼠离体肠平滑肌条的作用. 北京中医药大学学报 2010; 33: 402-405
- 7 Sanders KM. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 39-53 [PMID: 18402641 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01108]
- 8 杨丽亚, 高苗. 钙调蛋白的药用研究. 西北药学杂志 2008; 23: 124-125
- 9 陈宁, 宋冬雪, 凌娜, 徐昶儒. 中药血清药理学方法的研究进展. 北京联合大学学报 2014; 28: 40-43
- 10 葛金文, 朱惠斌, 贺蓉, 王宇红, 贺石林. 关于中药血清药理学方法的再思考. 中南地区第八届生理学学术大会论文集 2012: 12-13
- 11 谢燕东, 杨琦, 王景杰, 黄裕新. SD大鼠胃窦平滑肌细胞分离方法的改进. 山西医科大学学报 2011; 42: 772-774
- 12 陈明镭, 罗和生. 单个胃肠道平滑肌细胞的分离及其细胞膜离子通道检测. 武汉大学学报 2008; 29: 9-12
- 13 《解剖学报》编辑部. 《动物细胞培养—基本技术和特殊应用指南》出版. 解剖学报 2014; 4: 464
- 14 信芳杰, 徐璐. Ghrelin对豚鼠胃窦平滑肌细胞钙离子浓度的影响及与NO关系研究. 现代生物医学进展 2010; 10: 216-220
- 15 吕学霞, 于燕妮, 陈杨, 万昌武, 张华, 官志忠. 钙调蛋白在氟中毒大鼠肝组织中的表达. 中国地方病防治杂志 2008; 23: 165-167
- 16 刘莉洁, 魏义全, 寻庆英, 杨德治. 组胺受体在枳实调节小鼠小肠运动中的作用. 东南大学学报 2001; 20: 144-146
- 17 陈玮. 枳实、白术水煎液对胃肠排空推进的作用. 黑龙江医药 2010; 23: 437-438
- 18 梅学仁, 申秀萍, 王宇伟, 张道莹. 枳实丸对胃肠道功能的影响. 中国药科大学学报 2002; 33: 112-114
- 19 朱金照, 张志坚, 张捷. 中药枳实对功能性消化不良大鼠胃排空的影响. 中国临床药理学杂志 2005; 14: 291-294
- 20 朱金照, 冷恩仁, 陈东风, 史洪涛, 桂先勇. 味中药促胃肠动力作用的筛选研究. 第三军医大学学报 2000; 22: 436-438
- 21 张启荣, 李莉, 陈德森, 彭吉霞, 王新文. 厚朴、枳实、大黄、陈皮对兔离体胃底平滑肌运动的影响. 中国中医药科技 2008; 15: 279-280
- 22 尹爱武, 高鹏飞, 麻黎伟. 厚朴枳实配伍对大鼠胃动力的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 175-177
- 23 宋婷婷, 寻庆英, 魏义全, 杨德治, 殷晓进, 刘莉洁. 枳实对大鼠小肠电活动影响的下丘脑作用机制研究. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 55-58
- 24 王翠芬, 杨德治, 魏义全, 寻庆英. 枳实对大鼠胃肠电活动影响的初步研究. 东南大学学报 2001; 20: 153-154
- 25 吴斌, 齐清会. 平滑肌细胞内钙水平对胃肠动力的调节. 国外医学 2005; 25: 97-100

- 26 周华, 宋洁, 胡金兰, 马嵘, 孔德虎. 平滑肌细胞上的钙库操纵性通道. 生理科学进展 2005; 36: 369-371
- 27 梁婧. 钙调蛋白的研究进展. 临床口腔医学杂志 2010; 26: 500-501
- 28 Kim HR, Appel S, Vetterkind S, Gangopadhyay SS, Morgan KG. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 2165-2180 [PMID: 19120701 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00552]
- 29 Mizuno Y, Isotani E, Huang J, Ding H, Stull JT, Kamm KE. Myosin light chain kinase activation and calcium sensitization in smooth muscle in vivo. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 295: C358-C364 [PMID: 18524939 DOI: 10.1152/ajpcell.90645.2007]
- 30 Pfitzer G, Sonntag-Bensch D, Brkic-Koric D. Thiophosphorylation-induced Ca(2+) sensitization of guinea-pig ileum contractility is not mediated by Rho-associated kinase. *J Physiol* 2001; 533: 651-664 [PMID: 11410624 DOI: 10.1111/j.1469-7793.2001.t01-2-00651]
- 31 卢敏. 钙调蛋白在介导大鼠结肠平滑肌细胞Ca²⁺内流的作用机制. 医学临床研究 2010; 27: 577-578, 581

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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%.

肠康方对肠易激综合征内脏高敏感模型大鼠脑肠轴中5-羟色胺转运体的作用

陆敏, 张伟, 姚青, 陆夏敏, 李松林, 鞠建明

陆敏, 张伟, 南京中医药大学附属江苏省中西医结合医院
消化内科 江苏省南京市 210028

姚青, 南京医科大学附属医院江苏省人民医院病理科 江苏省
南京市 210029

陆夏敏, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市
210029

李松林, 鞠建明, 中国中医科学院江苏分院 江苏省南京市
210028

陆敏, 主任医师, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病临床
研究。

中国中医科学院江苏分院基金资助项目, No. JSBN1305
江苏省科技厅科技支撑计划社会发展基金资助项目, No.
BE2012776

江苏省中医药局基金资助项目, No. LZ09062

全国名老中医传承工作室建设基金资助项目, No. 国中医
药人教发[2011]41号

作者贡献分布: 此课题由陆敏设计; 研究过程由张伟、姚青、
李松林及鞠建明等共同完成; 数据分析及论文写作由陆敏、
张伟及陆夏敏完成。

通讯作者: 陆敏, 教授, 主任医师, 210028, 江苏省南京市红山
路100号, 南京中医药大学附属江苏省中西医结合医院消化内
科, 6666xslr@sina.com

电话: 025-85637811

收稿日期: 2014-12-16 修回日期: 2015-01-10

接受日期: 2015-01-16 在线出版日期: 2015-03-18

Effect of Changkang Fang on serotonin transporter expression in brain-gut axis of visceral hypersensitive rats with irritable bowel syndrome

Min Lu, Wei Zhang, Qing Yao, Xia-Min Lu,
Song-Lin Li, Jian-Ming Ju

Min Lu, Wei Zhang, Department of Gastroenterology,
Jiangsu Integrated Traditional Chinese and Western
Medicine Hospital, Nanjing University of Traditional
Chinese Medicine, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China
Qing Yao, Department of Pathology, Jiangsu Province
People's Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing
210029, Jiangsu Province, China
Xia-Min Lu, the First Clinical Medical School, Nanjing

University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing
210029, Jiangsu Province, China

Song-Lin Li, Jian-Ming Ju, Jiangsu Branch of China
Academy of Chinese Medical Sciences, Nanjing 210028,
Jiangsu Province, China

Supported by: Subject of China Academy of Chinese
Medical Science, No. JSBN1305; the Social Development
Project of Jiangsu Science and Technology Department,
No. BE2012776; Science and Technology Project of
Traditional Chinese Medicine Bureau of Jiangsu Province,
No. LZ09062; National Prominent TCM Doctor De-Ming
Wang Inheritance Studio Construction Project, No. Guo
Zhong Yi Yao Ren Jiao Fa [2011]41

Correspondence to: Min Lu, Professor, Chief Physician,
Department of Gastroenterology, Jiangsu Integrated
Traditional Chinese and Western Medicine Hospital,
Nanjing University of Traditional Chinese Medicine,
100 Hongshan Road, Nanjing 210028, Jiangsu Province,
China. 6666xslr@sina.com

Received: 2014-12-16 Revised: 2015-01-10

Accepted: 2015-01-16 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of Changkang Fang
on the expression of serotonin transporter (SERT)
in the brain-gut axis of visceral hypersensitive
rats with irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: Seventy-two male immature
SD rats were randomly divided into either a
blank control group or a model group. AL-
Chaer's modeling method was used in this
study. After successful modeling, the model rats
were randomly divided into a model group, a
Western medicine group, high-, medium- and
low-dose Chinese medicine groups. After 70 d,
brain and intestinal mucosal tissues were
taken for detecting the expression of SERT by
immunohistochemistry.

RESULTS: The expression levels of SERT in

■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是消化系统疾病中最常见的疾病之一, 属于功能性肠病中的一个亚型, 其病程长, 症状多样, 除腹痛、腹泻、便秘等症状外, 常伴随多种消化系外症状, 病程的持续或反复发作可引发患者焦虑、抑郁等不良精神心理状况, 其病因病理机制复杂, 缺乏有效的治疗药物, 再加上发病率较高, 且对生活质量影响较大, 越来越引起医学研究者的重视。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■ 研发前沿

脑-肠轴在调节胃肠运动功能、内脏敏感性、脑肠肽分泌、机体对应激的反应性、中枢认知功能等方面发挥重要作用, 对寻找治疗IBS的有效途径具有重要意义。5-羟色胺(serotonin, 5-HT)存在于大脑和消化系中, 在各种调节过程中起着关键性作用。5-HT在发挥生理作用后灭活, 以免产生中毒反应及5-HT受体的脱敏, 这个过程主要依靠5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)来完成。

intestinal mucosal and brain tissues of visceral hypersensitive IBS rats were significantly lower compared with normal controls ($P < 0.05$, $P < 0.001$). The expression levels of SERT in intestinal mucosal and brain tissues were significantly improved in the high-dose Chinese medicine group ($P < 0.001$ for both) and the medium-dose Chinese medicine group ($P < 0.001$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Changkang Fang can regulate the expression of SERT in the brain-gut axis of visceral hypersensitive IBS rats.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Serotonin transporter; Brain-gut axis; Changkang Fang; Irritable bowel syndrome

Lu M, Zhang W, Yao Q, Lu XM, Li SL, Ju JM. Effect of Changkang Fang on serotonin transporter expression in brain-gut axis of visceral hypersensitive rats with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1231-1237 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1231.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1231>

摘要

目的: 探讨肠康方对肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)内脏高敏感模型大鼠脑-肠轴中5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)的作用。

方法: 将72只SD幼♂大鼠随机分为空白对照组和造模组。采用AL-Chaer方法造模, 将成功造模后的大鼠随机分为模型组、阳性药物对照组、肠康方高剂量组、中剂量组及低剂量组。第70天取脑、肠组织制作标本, 应用免疫组织化学技术检测SERT的表达。

结果: IBS内脏高敏感模型大鼠具有肠黏膜与脑组织SERT的低表达(0.16 ± 0.05 , $P < 0.05$; 0.10 ± 0.04 , $P < 0.001$); 肠康方高剂量治疗后肠黏膜(0.41 ± 0.11 , $P < 0.001$)与脑组织(0.19 ± 0.05 , $P < 0.001$)中SERT表达水平显著增高; 肠康方中剂量治疗后肠黏膜(0.36 ± 0.10 , $P < 0.001$)与脑组织(0.14 ± 0.03 , $P < 0.05$)SERT表达水平也显著增高。

结论: 肠康方可调控IBS内脏高敏感模型大鼠脑-肠轴中SERT表达来治疗IBS。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 5-羟色胺转运体; 脑-肠轴; 肠康方; 肠易激综合征

核心提示: 从脑-肠轴理论来探讨肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的治疗靶点, 开发安全有效的药物方兴未艾, 中药复方肠康方能从调控内脏高敏感模型大鼠脑-肠轴中5-羟色胺转运体(serotonin transporter)表达来治疗IBS, 可为防治IBS这一全球难题提供一定参考。

陆敏, 张伟, 姚青, 陆夏敏, 李松林, 鞠建明. 肠康方对肠易激综合征内脏高敏感模型大鼠脑肠轴中5-羟色胺转运体的作用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1231-1237 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1231.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1231>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是以腹痛或腹部不适, 伴有大便性状改变和排便习惯改变为特征的功能性肠道疾病。目前认为IBS发病的主要病理生理学基础是内脏感觉异常和肠道平滑肌运动功能障碍, 此二者受到“脑-肠轴”(brain-gut axis)调控^[1]。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是脑-肠轴调控中的重要神经递质, 其合成、释放、受体的变化均参与内脏高敏感的形成, 而5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)作为5-HT在发挥生理作用后灭活最重要的跨膜转运蛋白, 是影响局部5-HT浓度及其生物活性的重要物质, 对5-HT发挥作用的时间和作用强度具有决定性意义。本研究通过观察IBS内脏高敏感模型大鼠脑组织及肠黏膜中SERT的表达情况, 来探讨天然药物“肠康方”对脑-肠轴的影响, 阐述其治疗IBS的机制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物: SD大鼠由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供, 合格证号: SCXK(沪)2008-0016, 并由江苏省中医药研究院实验动物中心清洁级饲养室喂养, 温度为室内22℃-26℃, 自然光照, 自由进食、水。肠康方由熟地、菟丝子、川连、防风、白芍、金荞麦等组成, 以上各单味药均为免煎中药颗粒剂, 由江阴天江制药厂提供, 批号分别为: 1011141、1011163、1009081、1010036、1011026、1005141。临用前用蒸馏水配成1.46 g/mL溶液。阳性对照药为马来酸曲美布

汀, 规格: 0.1 g/片, 批号: 20100501, 临用前用蒸馏水配成0.003 g/mL溶液(药量按照动物实验研究等效剂量的计算方法, 即按60 kg/200 g大鼠转换系数 $W = 6.25$ 计算等效剂量)。德国ZEISS公司MICROM-340E型石蜡切片机, 英国SHANDON公司HYPERCENTER-XP组织脱水机, 英国SHANDON公司HISTOCENTRE-2型组织包埋机, LOGENE PA9000病理图像分析系统。试剂: 英国Abcam公司SERT抗体(1:200), 批号: ab65446。

1.2 方法

1.2.1 动物造模: 采用AL-Chaer方法造模^[2]。SD孕鼠购回后, 单独饲养待大鼠生产, 并记录生产日期。在幼♂大鼠出生后第8、10、12天接受结直肠气囊扩张(colorectal distension, CRD)刺激1次, 压力为60 mmHg, 持续1 min, 共3次; 对照组: 肛门内插入气囊导管, 但不扩张。共72只新生大鼠, 造模60只, 空白对照组12只。

1.2.2 分组给药: 将72只新生大鼠随机分为6组, 分为肠康方高、中、低剂量组, 阳性药物对照组, 模型组和空白对照组, 每组各12只。大鼠于出生后第60天开始灌胃给药, 肠康方高、中、低剂量组按每100 g体重分别灌给2.0、1.0、0.5 mL; 阳性药(马来酸曲美布汀): 2 mL/100 g; 模型组和空白对照组均给予2 mL/100 g生理盐水, 2次/d, 灌胃持续10 d。灌胃结束后分别从每组大鼠中取其新鲜结肠组织、脑组织, 进行固定、脱水、石蜡包埋。肠黏膜及脑组织标本各68个(72只大鼠存活68只)。

1.2.3 免疫组织化学染色: 石蜡切片常规脱蜡、水化, PBS漂洗, 浸泡于3% H_2O_2 (20 min)阻断内源性过氧化物酶, PBS(0.01 mol/L, pH 7.4)洗3次 \times 5 min。组织切片置于10 mmol/L枸橼酸钠(pH 6.0)溶液, 微波炉中沸腾10 min, 冷却到室温, 用PBS洗3次 \times 5 min。滴加正常山羊血清封闭液, 室温20 min。加入试剂, 阴性对照用0.01 mol/L PBS代替一抗。4℃过夜。用PBS洗3次 \times 5 min。滴加生物素化二抗, 20℃-37℃ 20 min, 用PBS洗3次 \times 5 min。滴加试剂SABC, 20℃-37℃ 20 min, 用PBS洗3次 \times 5 min。DAB显色, 蒸馏水洗终止反应。苏木素复染, 脱水, 透明, 封片。每张病理切片光镜下选取5个高倍视野, 用LOGENE PA9000病理图像分析系统测定光密度均值(MOD), 反映免疫组织化学染色阳性

强度, 并进行半定量分析。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 所有数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计量资料组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠康方对内脏高敏感模型大鼠肠黏膜SERT的作用 实验表明内脏高敏感大鼠模型组具有肠黏膜SERT的低表达, 显著低于空白对照组大鼠(0.16 ± 0.05 , $P < 0.05$); 模型大鼠经阳性药物治疗后, 肠黏膜SERT表达有明显改善(0.37 ± 0.11 , $P < 0.001$); 肠康方高、中剂量组, 治疗后肠黏膜SERT表达水平也显著高于模型组(0.42 ± 0.11 , $P < 0.001$; 0.36 ± 0.10 , $P < 0.001$); 采用肠康方低剂量治疗后肠黏膜SERT表达水平无显著变化(0.18 ± 0.06 , $P > 0.05$)(表1, 图1)。

2.2 肠康方对内脏高敏感模型大鼠脑组织SERT的作用 实验表明内脏高敏感大鼠模型组亦具有脑组织SERT的低表达, 显著低于空白对照组大鼠(0.10 ± 0.04 , $P < 0.001$); 模型大鼠经阳性药物治疗后, 脑组织SERT表达水平有明显改善(0.16 ± 0.04 , $P < 0.001$); 肠康方高、中剂量组, 治疗后脑组织SERT表达水平也显著高于模型组(0.19 ± 0.05 , $P < 0.001$; 0.14 ± 0.03 , $P < 0.05$), 且高剂量组的SERT表达较高; 采用肠康方低剂量治疗后脑组织SERT表达水平无显著变化(0.13 ± 0.07 , $P > 0.05$)(表2, 图2)。

3 讨论

IBS是消化系统最常见的疾病之一, 是仅次于上呼吸道感染的第二大常见疾病, 全球IBS发病率为11.2%^[3,4], 在美国的发病率达到了20%^[5], 发展中国家发病率也普遍上升^[6], 亚洲国家发病率为2.9%-15.6%^[7]。由于IBS的反复发作, 不仅生活质量受到影响, 也加重医疗费用的负担^[8]。随着对脑-肠轴在IBS发病重要作用的认识, 对IBS的治疗已从传统的针对终末靶器官肠道为主, 逐步转向包括精神行为治疗在内的调整脑-肠轴稳态的综合治疗。治疗的目标是缓解症状和改善生活质量^[9]。

近年神经胃肠病学指出中枢神经系统(central nervous system, CNS)和肠神经系统(enteric nervous system, ENS)间有脑-肠轴相互连接, 其对应激源产生调控作用的过程涉及神经元通路、免疫过程以及内分泌机制^[10], 形成

■ 相关报道

牛晓玲等发现金荞麦片可降低IBS-D大鼠内脏高敏感性, 有效抑制免疫炎症反应, 多靶点、多层次地参与调节胃肠动力。

■ 创新盘点

中药复方治疗IBS有一定的临床疗效, 但机制尚不明确, 尤其对脑部神经递质的影响有待进一步考证; 传统医学之整体观念与现代医学脑-肠轴的整体调控模式是否有关联还需深入探讨.

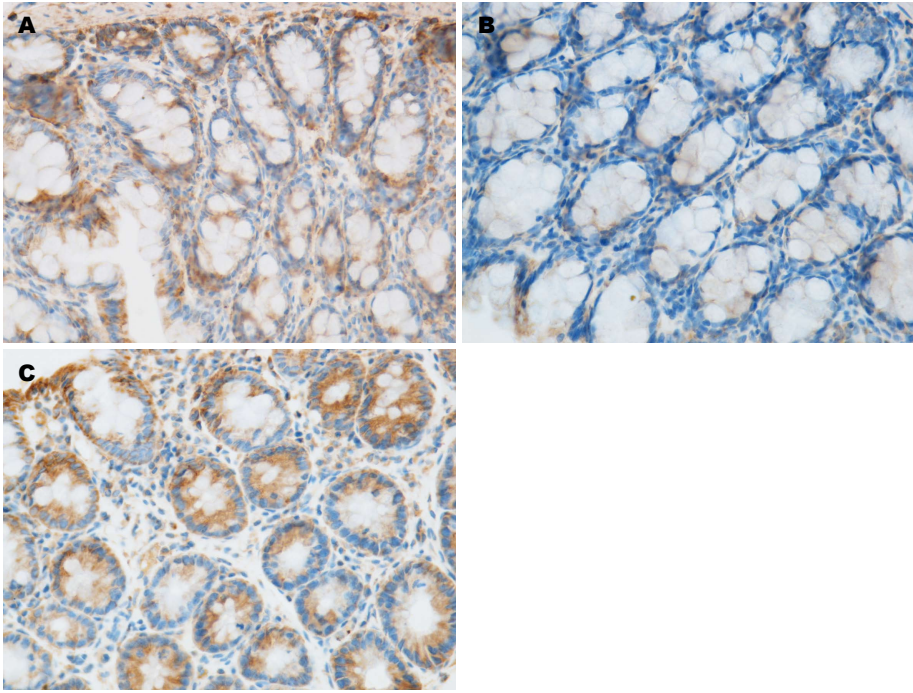


图 1 内脏高敏感模型大鼠肠黏膜SERT的表达(SP × 200). A: 肠康方高剂量组; B: 内脏高敏感模型组; C: 空白对照组. SERT: 5-羟色胺转运体.

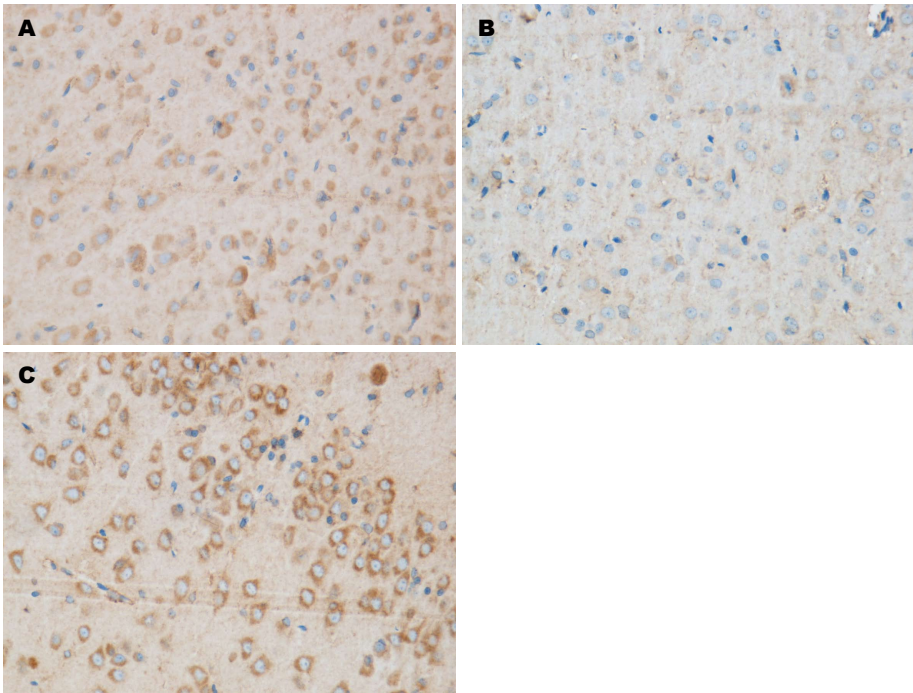


图 2 内脏高敏感模型大鼠脑组织SERT的表达(SP × 200). A: 肠康方高剂量组; B: 内脏高敏感模型组; C: 空白对照组. SERT: 5-羟色胺转运体.

双向通路. 不良的情绪体验等刺激会通过脑-肠轴影响胃肠道, 引发或加重IBS多个发病因素包括生活方式、精神心理、肠道运行、肠道感觉功能等均与脑-肠轴密切相关^[11]. 对IBS的认识从胃肠局部提升到身体整体层面. 这也与

中医治疗的整体理论不谋而合. IBS患者均有不同程度的抑郁不良情绪倾向^[12], 因此精神心理因素在IBS发病中的作用越来越受到重视^[13,14], 但抗抑郁药在治疗IBS中的有效性一直存在争议, Ford等^[15]研究表明对缓解IBS的症状是有

表 1 肠康方对内脏高敏感模型大鼠肠黏膜SERT的作用 (mean \pm SD)

分组	n	肠黏膜
模型组	12	0.16 \pm 0.05
空白对照组	8	0.46 \pm 0.19 ^a
阳性药组	12	0.37 \pm 0.11 ^b
高剂量组	12	0.42 \pm 0.11 ^b
中剂量组	12	0.36 \pm 0.10 ^b
低剂量组	12	0.18 \pm 0.06

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 模型组. SERT: 5-羟色胺转运体.表 2 肠康方对内脏高敏感模型大鼠脑组织SERT的作用 (mean \pm SD)

分组	n	脑组织
模型组	12	0.10 \pm 0.04
空白对照组	8	0.21 \pm 0.05 ^b
阳性药组	12	0.16 \pm 0.04 ^b
高剂量组	12	0.19 \pm 0.05 ^b
中剂量组	12	0.14 \pm 0.03 ^a
低剂量组	12	0.13 \pm 0.07

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 模型组. SERT: 5-羟色胺转运体.

一定疗效的, 而Talley等^[16]发现抗抑郁药在整体症状缓解率方面与对照组相比较差异无统计学意义. 因而IBS伴有抑郁状态的患者症状的改善与抗抑郁药物用量是否相关还需进一步阐明^[17].

研究^[18]表明脑-肠轴中重要的神经递质5-HT具有调节肠道动力、调节肠道分泌和协调肠道感知等功能. 包括调节食欲、睡眠、疼痛、情绪、攻击行为等. 机械性刺激或神经损伤可导致神经可塑性变化, 而5-HT有加强痛觉过敏的作用^[19].

Yeo等^[20]发现5-HT再摄取的降低并不只限于影响肠神经, 这种过强、持久的外源性刺激也会导致外周、脊髓、中枢神经的超敏感性, 反过来再引起肠道感觉敏感性升高, 引发一系列临床症状, 这种神经系统的超敏感性可能是产生IBS多种临床症状的关键因素. 而SERT将5-HT重摄取入突触前神经末梢, 在数量和作用时间上对5-羟色胺能神经传递进行精细的调控. 5-HT在发挥生理作用后将被灭活, 以免产生中毒反应及5-HT受体的脱敏, 这过程主要依赖SERT来完成, SERT表达降低或缺失, 则5-HT灭

活不足^[21]. SERT作为5-HT失活最重要的蛋白, 是影响局部5-HT浓度及其生物活性的重要物质.

由于伦理学等诸多因素, 对于人脑部的SERT研究难以开展, 虽然有一定数量的肠道SERT相关研究, 但无法反映脑-肠轴整体调控功能. 目前一般采用功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)来间接研究IBS患者脑部功能的变化^[22], Tillisch等^[23]与Rosenström等^[24]对2011年前的研究进行了荟萃分析, 结果表明IBS患者的脑部确实存在持续性激活的部位, 主要位于扣带前皮质、岛叶皮质、脑岛皮质、额前皮质等区域. Larsson等^[25]研究提示扣带前皮质、脑岛皮质、额前皮质在IBS中枢调控中发挥感受肠道刺激的作用. 而动物实验研究可以完整的研究脑-肠轴. 以往的动物实验中SERT的表达趋势并不一致, SERT的表达受多种因素的影响, 有些炎症性疾病, 如炎症性肠病, 也有SERT表达的变化, 提示肠黏膜炎症可影响SERT的表达水平^[26]. 因此, 本研究采用幼年大鼠结肠刺激的方法建立了大鼠内脏高敏感大鼠模型, 该动物模型不但具有内脏高敏感性, 并且没有明显的肠道黏膜炎症存在, 能够较好地模拟IBS的生物学特征.

研究所用的天然药物“肠康方”, 为全国名老中医王德明教授及国家中医药管理局第四批全国老中医药专家学术经验继承人陆敏教授的验方. 以“交通心肾、调和肝脾”为治则. 认为IBS临床表现无论为腹泻还是便秘, 均为“脾失健运”所致, 而“肝郁脾虚”为病机关键, 但其内在本质是“心肾不交”. 临床运用对三型IBS均有一定效果, 包括腹泻型(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)、便秘型(constipation-predominant irritable bowel syndrome, IBS-C)、混合型(mixed type irritable bowel syndrome, IBS-M), 有效率为85.2%, 且对腹泻型疗效明显, IBS-D是IBS亚型中最为常见的一种^[27]. 与对照组(马来酸曲美布汀)比较, 对IBS症状包括腹痛、腹泻、失眠、纳差的改善更有疗效^[28]. 肠康方组成中含有金荞麦, 有研究发现金荞麦提取物对IBS样结肠刺激模型内脏高敏感性有改善作用, 并通过调节其脊髓内5-HT及其受体来改善痛觉过敏^[29]. 金荞麦片可降低IBS-D大鼠的内脏高敏感性, 能有效抑制免疫炎症反应, 多靶点、多层次地参与调节胃肠动力^[30].

应用要点

迄今为止, 针对IBS目前尚缺乏有效的药物治疗, 主要采取综合对症处理, 如解痉、促进胃肠动力、止泻、通便、止痛、调节肠道微生态等, 虽有一定疗效, 但停药后易反复、长期使用不良反应明显及费用高. 而祖国医学则在整体观指导下, 辨证论治, 在IBS治疗方面取得了良好的效果. 应进一步研究, 进行大规模的临床多中心实验, 开发出能够进入市场甚至国际市场的治疗IBS的中成药, 使广大IBS患者都真正受益.

■名词解释

5-羟色胺转运体(SERT): 是一种对5-HT有高度亲和力的跨膜转运蛋白, 对脑-肠轴中重要神经递质5-HT有“精细”调控作用, 广泛存在于大脑边缘系统、胃肠道嗜铬细胞膜、肥大细胞和5-羟色胺能神经突触前膜上。

本研究表明模型组肠黏膜($P<0.05$)与脑组织($P<0.001$)中SERT呈低表达, 显著低于空白对照组。说明内脏高敏感模型大鼠的脑肠轴中客观存在SERT的减少。则5-HT失活将减少, 过多的5-HT会导致肠神经及中枢神经的超敏感性, 而引发一系列临床症状。

研究表明采用肠康方高剂量治疗后肠黏膜($P<0.001$)与脑组织($P<0.001$)中SERT表达水平显著增高; 采用肠康方中剂量治疗后肠黏膜($P<0.001$)与脑组织($P<0.05$)SERT表达水平也显著增高。显示肠康方可以明显提高内脏高敏感大鼠脑肠轴中SERT的表达, 从而降低5-HT浓度及其生物活性, 改善大鼠的内脏敏感性。由此我们推断, 肠康方治疗IBS的部分作用机制是通过调节脑-肠轴中的SERT来实现的。

肠康方治疗IBS不仅仅是改善了肠道局部的腹痛、腹泻不适, 还对人体全身不适, 包括纳少、失眠均有疗效, 达到了多种药物联用治疗IBS的综合效果, 这可能与调节脑肠轴中的SERT, 保持相对稳态相关。同时, 高剂量组肠康方的疗效与马来酸曲美布汀组相当, 提示相对化学合成药物, 天然药物“肠康方”具有不良反应小、更安全有效的优势。

4 参考文献

- 1 李宇宁, 方秀才. 脑-肠轴在肠易激综合征发病中的作用. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 163-166
- 2 Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285 [PMID: 11054385 DOI: 10.1053/gast.2000.19576]
- 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 Roberts LM, McCahon D, Holder R, Wilson S, Hobbs FD. A randomised controlled trial of a probiotic 'functional food' in the management of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 45 [PMID: 23496803 DOI: 10.1186/1471-230X-13-45]
- 5 Zhou Q, Zhang B, Verne GN. Intestinal membrane permeability and hypersensitivity in the irritable bowel syndrome. *Pain* 2009; 146: 41-46 [PMID: 19595511 DOI: 10.1016/j.pain.2009.06.017]
- 6 Lee OY. Prevalence and risk factors of irritable bowel syndrome in Asia. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 5-7 [PMID: 20535320 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.1.5]
- 7 Gwee KA, Bak YT, Ghoshal UC, Gonlachanvit S, Lee OY, Fock KM, Chua AS, Lu CL, Goh KL, Kositchaiwat C, Makharia G, Park HJ, Chang

- FY, Fukudo S, Choi MG, Bhatia S, Ke M, Hou X, Hongo M. Asian consensus on irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1189-1205 [PMID: 20594245 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06353.x]
- 8 Kabra N, Nadkarni A. Prevalence of depression and anxiety in irritable bowel syndrome: A clinic based study from India. *Indian J Psychiatry* 2013; 55: 77-80 [PMID: 23439939 DOI: 10.4103/0019-5545.105520]
- 9 Brandt LJ, Chey WD, Foxx-Orenstein AE, Schiller LR, Schoenfeld PS, Spiegel BM, Talley NJ, Quigley EM. An evidence-based position statement on the management of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009; 104 Suppl 1: S1-S35 [PMID: 19521341 DOI: 10.1038/ajg.2008.122]
- 10 Dang J, Ardila-Hani A, Amichai MM, Chua K, Pimentel M. Systematic review of diagnostic criteria for IBS demonstrates poor validity and utilization of Rome III. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 853-e397 [PMID: 22632582 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01943.x]
- 11 Atay O. Update in adolescent gastroenterology. *Adolesc Med State Art Rev* 2013; 24: 264-272, xiv-xv [PMID: 23705529]
- 12 Cho HS, Park JM, Lim CH, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Choi MG, Chung IS, Chung YK. Anxiety, depression and quality of life in patients with irritable bowel syndrome. *Gut Liver* 2011; 5: 29-36 [PMID: 21461069 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.29]
- 13 Ruepert L, Quartero AO, de Wit NJ, van der Heijden GJ, Rubin G, Muris JW. Bulking agents, antispasmodics and antidepressants for the treatment of irritable bowel syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (8): CD003460 [PMID: 21833945 DOI: 10.1002/14651858.CD003460.pub3]
- 14 Tang YR, Yang WW, Liang ML, Xu XY, Wang MF, Lin L. Age-related symptom and life quality changes in women with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7175-7183 [PMID: 23326122 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7175]
- 15 Ford AC, Talley NJ, Schoenfeld PS, Quigley EM, Moayyedi P. Efficacy of antidepressants and psychological therapies in irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Gut* 2009; 58: 367-378 [PMID: 19001059 DOI: 10.1136/gut.2008.163162]
- 16 Talley NJ, Kellow JE, Boyce P, Tennant C, Huskic S, Jones M. Antidepressant therapy (imipramine and citalopram) for irritable bowel syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 108-115 [PMID: 17503182 DOI: 10.1007/s10620-007-9830-4]
- 17 Friedrich M, Grady SE, Wall GC. Effects of antidepressants in patients with irritable bowel syndrome and comorbid depression. *Clin Ther* 2010; 32: 1221-1233 [PMID: 20678672 DOI: 10.1016/j.clinthera.2010.07.002]
- 18 Barbara G, Wang B, Stanghellini V, de Giorgio R, Cremon C, Di Nardo G, Trevisani M, Campi B, Geppetti P, Tonini M, Bunnett NW, Grundy D, Corinaldesi R. Mast cell-dependent excitation of visceral-nociceptive sensory neurons in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 26-37 [PMID: 17241857 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.039]
- 19 Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central

- modulation of pain. *J Clin Invest* 2010; 120: 3779-3787 [PMID: 21041960 DOI: 10.1172/JCI43766]
- 20 Yeo A, Boyd P, Lumsden S, Saunders T, Handley A, Stubbins M, Knaggs A, Asquith S, Taylor I, Bahari B, Crocker N, Rallan R, Varsani S, Montgomery D, Alpers DH, Dukes GE, Purvis I, Hicks GA. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 2004; 53: 1452-1458 [PMID: 15361494 DOI: 10.1136/gut.2003.035451]
- 21 王静, 徐萍, 诸琦. 5-羟色胺转运体在肠易激综合征腹痛机制中的研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 398-401
- 22 Fichna J, Storr MA. Brain-Gut Interactions in IBS. *Front Pharmacol* 2012; 3: 127 [PMID: 22783191 DOI: 10.3389/fphar.2012.00127]
- 23 Tillisch K, Mayer EA, Labus JS. Quantitative meta-analysis identifies brain regions activated during rectal distension in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011; 140: 91-100 [PMID: 20696168 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.053]
- 24 Rosenström T, Jokela M, Hintsanen M, Pulkki-Råback L, Hutri-Kähönen N, Keltikangas-Järvinen L. Longitudinal course of depressive symptoms in adulthood: linear stochastic differential equation modeling. *Psychol Med* 2013; 43: 933-944 [PMID: 22932470 DOI: 10.1017/S0033291712002000]
- 25 Larsson MB, Tillisch K, Craig AD, Engström M, Labus J, Naliboff B, Lundberg P, Ström M, Mayer EA, Walter SA. Brain responses to visceral stimuli reflect visceral sensitivity thresholds in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2012; 142: 463-472.e3 [PMID: 22108191 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.11.022]
- 26 Linden DR, Chen JX, Gershon MD, Sharkey KA, Mawe GM. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G207-G216 [PMID: 12646422 DOI: 10.1152/ajpgi.00488.2002]
- 27 Olden KW. Targeted therapies for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 69-100 [PMID: 22754282 DOI: 10.2147/CEG.S290]
- 28 曹晓龙, 陆敏. 肠康方治疗肠易激综合征临床研究. *南京中医药大学学报* 2014; 30: 232-234
- 29 刘丽娜, 孙志广, 张雪梅, 周梁, 田超, 陈利, 邵铭, 史会连, 郭海燕. 金荞麦提取物对IBS大鼠脊髓镇痛的干预机制. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1290-1295
- 30 牛晓玲, 周英豪, 孙书焰, 庄璘. 金荞麦片对脾虚湿热证腹泻型肠易激综合征大鼠免疫炎症和内脏高敏感性的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 3543-3549

■同行评价

IBS是消化系统常见病多发病,发病机制尚未十分明确,治疗效果也不理想,本研究设计合理,材料标准,方法规范,有所创新,全国名老中医验方(肠康方)治疗IBS有一定疗效,本研究结果对IBS的防治有一定指导作用。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



NIBP在结肠癌NF- κ B非经典激活通路中的作用及其临床意义

谭林, 刘诗权, 覃蒙斌, 李素艳, 刘宝玉, 诸葛春风, 徐春燕, 梁梦紫, 彭鹏, 黄杰安

背景资料

结肠癌是消化系统最常见恶性肿瘤之一, 在我国的发病率亦逐年上升。浸润转移是影响结肠癌预后的关键因素, 是导致结肠癌患者死亡的主要原因。探讨结肠癌浸润转移机制, 寻找调控结肠癌浸润转移的关键因子是改善结肠癌患者预后的关键, 也可作为药物或生物治疗提供靶点。

谭林, 刘诗权, 覃蒙斌, 李素艳, 刘宝玉, 诸葛春风, 徐春燕, 梁梦紫, 彭鹏, 黄杰安, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

谭林, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的发病机制和防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260365, 81460380

广西卫生厅基金资助项目, No. Z2012103

广西自然科学基金项目, No. 2013GXNSFAA019159

作者贡献分布: 此课题由黄杰安与刘诗权设计; 研究过程由谭林、覃蒙斌、李素艳、刘宝玉、诸葛春风、徐春燕、梁梦紫及彭鹏等完成; 研究所用试剂与分析工具由黄杰安提供; 数据分析由谭林完成; 本论文由谭林与刘诗权完成。

通讯作者: 黄杰安, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科。

1404991727@qq.com

电话: 0771-5356501

收稿日期: 2014-12-06 修回日期: 2015-01-26

接受日期: 2015-01-29 在线出版日期: 2015-03-18

Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1404991727@qq.com

Received: 2014-12-06 Revised: 2015-01-26

Accepted: 2015-01-29 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of NIK, IKK β binding protein (NIBP), phosphorylated p100 (p-p100), p52, CD44, Vimentin and E-cadherin in colon carcinoma and to explore their clinical significance.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of NIBP, p-p100, p52, CD44, E-cadherin and Vimentin in 114 paraffin-embedded colon carcinoma tissues, 20 colon adenoma tissues and 50 normal colon mucosa tissues.

RESULTS: The positive expression of NIBP, p-p100, p52, CD44 and Vimentin in colon cancer tissues with metastasis was much higher than that in colon cancer tissues without metastasis, colon adenoma tissues and normal colon mucosa tissues, while the expression of E-cadherin showed a reverse trend ($P < 0.05$). The expression of NIBP, p-p100, p52, CD44, Vimentin and E-cadherin in colon cancer tissues was related with depth of invasion, TNM stage, lymph node metastasis and distant metastasis ($P < 0.05$). There were significant correlations between the expression of p-p100 and p52 or NIBP, and between the expression of CD44 and p52, E-cadherin, or Vimentin.

CONCLUSION: NIBP may regulate the epithelial-mesenchymal transition process by activating the

Relationship between expression of NIBP and noncanonical NF- κ B signaling: Clinical significance in colon carcinoma

Lin Tan, Shi-Quan Liu, Meng-Bin Qin, Su-Yan Li, Bao-Yu Liu, Chun-Feng Zhu-Ge, Chun-Yan Xu, Meng-Zi Liang, Peng Peng, Jie-An Huang

Lin Tan, Shi-Quan Liu, Meng-Bin Qin, Su-Yan Li, Bao-Yu Liu, Chun-Feng Zhu-Ge, Chun-Yan Xu, Meng-Zi Liang, Peng Peng, Jie-An Huang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260365 and 81460380; the Scientific Research Foundation of the Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Z2012103; and the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2013GXNSFAA019159

Correspondence to: Jie-An Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6

同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

noncanonical nuclear factor- κ B (NF- κ B) signal pathway and thus play an important role in the development, invasion and metastasis of colon cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon carcinoma; NIK and IKK β binding protein; Noncanonical NF- κ B signaling pathway; Invasion; Metastasis

Tan L, Liu SQ, Qin MB, Li SY, Liu BY, Zhu-Ge CF, Xu CY, Liang MZ, Peng P, Huang JA. Relationship between expression of NIBP and noncanonical NF- κ B signaling: Clinical significance in colon carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1238-1246
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1238.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1238>

摘要

目的: 检测结肠癌患者组织中NIK-IKK β 结合蛋白(NIK, IKK β -binding protein, NIBP)、磷酸化p100(p-p100)、p52和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关通路蛋白: CD44、波形蛋白(Vimentin)和E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达, 探讨NIBP蛋白的表达与非经典核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路的关系及其在结肠癌发生、发展、浸润和转移中的作用。

方法: 采用免疫组织化学SP法分别检测50例正常结肠黏膜、20例结肠腺瘤以及114例结肠癌患者组织中NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的表达。

结果: 免疫组织化学结果显示有转移结肠癌组织中NIBP、p-p100、p52、CD44和Vimentin的阳性表达均高于无转移结肠癌以及结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织, 而E-cadherin则正好相反($P<0.05$); 且NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin在结肠癌组织中的表达与浸润深度、TNM临床分期、淋巴结转移和远处转移有关($P<0.05$); 结肠癌组织中NIBP与p-p100、p52表达之间, CD44与p52、E-cadherin及Vimentin表达之间均存在明显相关性($P<0.05$)。

结论: NIBP可能通过激活非经典NF- κ B信号通路诱导EMT的发生, 从而促进结肠癌的发生、发展、浸润和转移。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠癌; NIK-IKK β 结合蛋白; 非经典NF- κ B信号通路; 浸润; 转移

核心提示: 本研究通过检测正常结肠黏膜、结肠腺瘤、无转移结肠癌和有转移结肠癌组织中NIK-IKK β 结合蛋白(NIK, IKK β -binding protein, NIBP)和核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)非经典途径相关因子以及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关通路蛋白的表达, 了解NIBP在不同结肠病变中的表达及其与NF- κ B非经典途径以及EMT的关系, 探讨NIBP调控NF- κ B非经典途径影响EMT进程在结肠癌发生、发展、浸润和转移中的意义。

谭林, 刘诗权, 覃蒙斌, 李素艳, 刘宝玉, 诸葛春风, 徐春燕, 梁梦紫, 彭鹏, 黄杰安. NIBP在结肠癌NF- κ B非经典激活通路中的作用及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1238-1246
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1238.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1238>

0 引言

结肠癌是消化系最常见恶性肿瘤之一, 在西方国家中高发, 在我国的发病率亦逐年上升。浸润转移是影响结肠癌预后的关键因素, 是导致结肠癌患者死亡的主要原因^[1]。然而, 目前有关结肠癌浸润转移的研究众多, 但仍突破有限。核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)诱导激酶-I κ B激酶NIK-IKK β 结合蛋白(NIK, IKK β -binding protein, NIBP)是一种能将NF- κ B非经典途径中的关键酶-NIK与经典途径中的关键激活子-IKK β 连接成为三聚体的支架蛋白, 其不仅能通过磷酸化IKK β 从而激活NF- κ B经典途径, 还能通过与NIK的结合影响NF- κ B非经典途径^[2]。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去极性以及基膜连接等上皮表型, 转化为具有间质表型的生物学过程, 使细胞获得较高的迁移、浸润、抗凋亡和降解细胞外基质的能力, 与肿瘤的转移密切相关^[3,4]。NIBP与NF- κ B非经典途径的关系及其与肿瘤的相关报道尚不多见。本研究通过检测正常结肠黏膜、结肠腺瘤、无转移结肠癌和有转移结肠癌组织中NIBP和NF- κ B非经典途径相关因子以及EMT相关通路蛋白的表达, 了解NIBP在不同结肠病变中的表达及其与NF- κ B非经典途径以及EMT的关系, 探讨NIBP调控NF- κ B非经典途径影响EMT进程在结肠癌发生、发展、浸润和

■研究前沿

最近研究发现, 在人结肠癌组织中NIK-IKK β 结合蛋白(NIK, IKK β -binding protein, NIBP)明显升高, 可能与核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)活化有关, 并参与腺瘤向腺癌的演变过程。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在包括结肠癌在内的多种上皮源性肿瘤的浸润和早期转移中起决定性作用, 日益成为肿瘤研究关注的热点。

■ 相关报道

NIBP是一种能将NF- κ B非经典途径中的关键酶-NIK与经典途径中的关键激活子-IKK β 连接成为三聚体的支架蛋白,其不仅能通过磷酸化IKK β 从而激活NF- κ B经典途径,还能通过与NIK的结合影响NF- κ B非经典途径。

转移中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集广西医科大学第一附属医院结直肠外科2013-02/2014-02外科手术切除及消化内科肠镜活检的部分标本,结肠癌标本114例、结肠腺瘤20例、正常结肠黏膜50例(均取自距癌边缘10 cm至切缘的组织)。患者术前均未接受放、化疗,所有标本均经病理证实。114例结肠癌患者中男71例,女43例,年龄25-84岁(56.3岁 \pm 8.6岁);病理组织学类型管状腺癌93例,黏液腺癌21例;形态学类型肿块型34例,溃疡型80例;无转移63例,有转移51例(有淋巴结和/或远处转移);分化I级12例,II级83例,III级19例;侵及浅层(黏膜或浅肌层)21例,侵及深层(深肌层以下)93例;TNM分期I期19例,II期44例,III期30例,IV期21例;无淋巴结转移68例,有淋巴结转移46例;无远处转移93例,伴远处转移21例。术中切取的结肠组织经4%多聚甲醛固定后,脱水、透明、浸蜡包埋,制成4 μ m厚连续切片,分别进行HE染色和免疫组织化学染色。

兔抗人NIBP多克隆抗体购自武汉Proteintech公司;兔抗人磷酸化p100(p-p100)多克隆抗体购自美国Sigma公司;p52、Zeb1、波形蛋白(Vimentin)和E-钙黏蛋白(E-cadherin)多克隆抗体均购自北京博奥森生物技术有限公司;即用型SP免疫组织化学试剂盒及DAB酶底物显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 免疫组织化学染色:采用免疫组织化学SP染色法。常规脱蜡、水化,以0.01 mol/L柠檬酸高压修复5 min,3% H_2O_2 室温孵育5-10 min,正常山羊血清封闭10 min后,滴加一抗(NIBP浓度为1:100,其余浓度均为1:200),孵育过夜,余步骤严格遵照即用型SP免疫组织化学试剂盒说明书进行。DAB显色,苏木素复染,中性树胶封片。阳性对照由试剂公司提供,用PBS代替一抗作为阴性对照。以胞膜/胞质/胞核中出现明显的黄色或黄褐色颗粒视为免疫组织化学染色阳性,综合染色强度及阳性细胞数量进行半定量分析。根据免疫阳性细胞染色程度(A):无染色为0分;细胞膜或质内见淡黄色颗粒,明显高于背景为1分,较多棕黄色颗粒为2分;大量棕黄色颗粒为3分。每片随机观察5个视野,计数500个细胞中染色阳性细胞

数(B):阳性细胞数<5%为0分,5%-25%为1分,26%-50%为2分,>50%为3分。A与B相加为其最后得分,0分判为“-”,1-2分判为“+”,3-4分判为“++”,5-6分判为“+++”,以“++”和“+++”定义为阳性表达,“-”和“+”定义为阴性表达^[9]。

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行分析。计数资料采用 χ^2 检验,等级资料用Spearman等级相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学法检测不同组织中NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的表达 免疫组织化学法检测NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin分别在正常结肠黏膜、结肠腺瘤、无转移结肠癌和有转移结肠癌组织中的表达(图1):NIBP、p-p100、CD44、Vimentin和E-cadherin主要表达于胞质和胞膜,p52主要表达于胞质和胞核。NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin分别在正常结肠黏膜、结肠腺瘤、无转移结肠癌和有转移结肠癌组织中的阳性表达比较(表1)。NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin在结肠癌组织中的阳性表达明显高于结肠腺瘤及正常肠黏膜,且在转移结肠癌组织中的阳性表达明显高于无转移结肠癌组织;E-cadherin在结肠癌组织中阳性表达明显低于结肠腺瘤及正常肠黏膜,且在转移结肠癌组织中的阳性表达明显低于无转移结肠癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$);结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的阳性表达差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的阳性表达与结肠癌患者临床病理特征的关系 NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的阳性表达与结肠癌患者临床病理特征的关系(表2):结肠癌组织中NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的阳性表达与浸润深度、TNM临床分期、淋巴结转移和远处转移有关,差异有统计学意义($P<0.05$),表明在结肠肿瘤浸润深、分化程度低、Dukes'分期晚、有淋巴转移

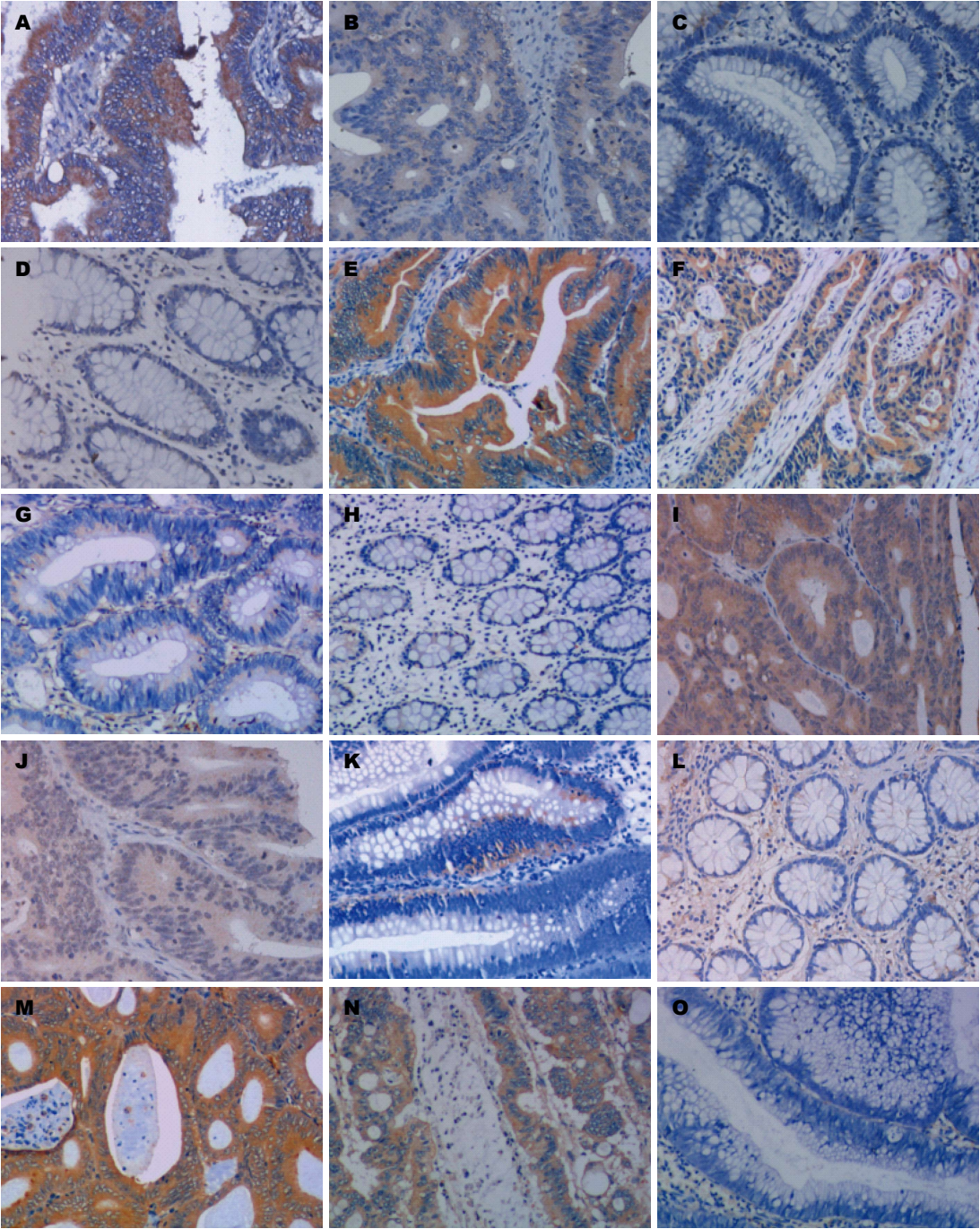
表 1 NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin蛋白在正常结肠黏膜、结肠腺瘤、无转移结肠癌和有转移结肠癌组织中的表达

结肠组织	n	NIBP		p-p100		p52		CD44		Vimentin		E-cadherin	
		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
正常结肠黏膜	50	40	10	36	14	35	15	37	13	42	8	9	41
结肠腺瘤	20	16	4	13	7	13	7	15	5	16	4	4	16
无转移结肠癌	63	33	30	32	31	31	32	35	28	40	23	15	48
有转移结肠癌	51	37	14	15	36	13	38	17	34	19	32	27	24
P值		0.000		0.000		0.000		0.000		0.000		0.000	

创新盘点

本研究通过免疫组织化学检测NIBP蛋白在不同结肠病变中的表达,同时了解其与NF-κB非经典途径以及EMT的关系,探讨NIBP在结肠癌发生、发展、浸润及转移中的意义,相关研究报道尚不多见。

阳性包括++和+++。NIBP: NIK-IKKβ结合蛋白; p-p100: 磷酸化p100; Vimentin: 波形蛋白; E-cadherin: E-钙黏蛋白。



应用要点

NIBP在结肠癌组织中高表达可能参与了结肠癌的发生、发展、浸润和转移. 抑制NIBP的表达有望成为结肠癌治疗的新思路.

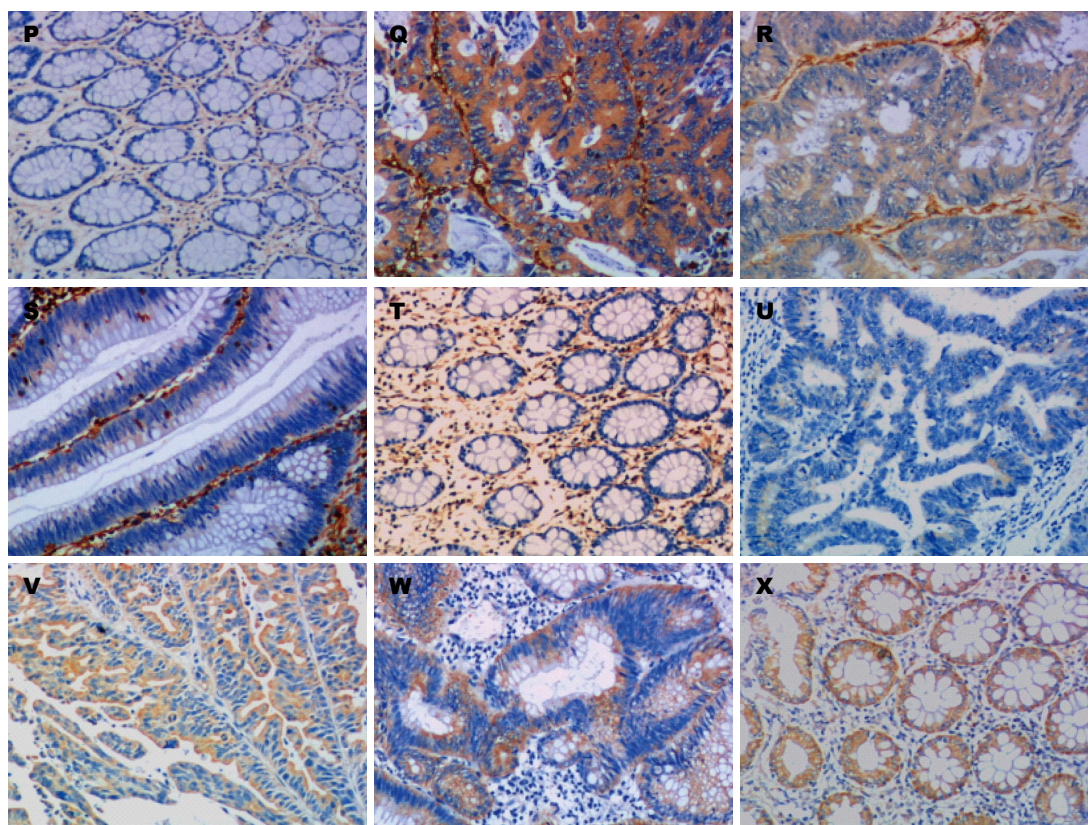


图 1 NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达(SP \times 200). A-D: NIBP在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达; E-H: p-p100在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达; I-L: p52在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达; M-P: CD44在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达; Q-T: Vimentin在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达; U-X: E-cadherin在有转移结肠癌、无转移结肠癌、结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织中的表达. NIBP: NIK- $\text{IKK}\beta$ 结合蛋白; p-p100: 磷酸化p100; Vimentin: 波形蛋白; E-cadherin: E-钙黏蛋白.

和远处转移者NIBP、p-p100、p52、CD44和Vimentin的阳性表达明显增高, 而E-cadherin的阳性表达则明显降低. 结肠癌组织中NIBP与p-p100、p52的表达均存在明显正相关性(表3), 同时CD44与p52、Vimentin的表达均存在明显正相关性, 而与E-cadherin的表达存在明显的负相关(表4).

3 讨论

NIBP是一种能将NF- κ B非经典途径中的关键酶-NIK与经典途径中的关键激活子- $\text{IKK}\beta$ 连接成为三聚体的支架蛋白, 在2005年首先由Hu教授等^[2]在神经细胞中检出, 其分子量为139.34 kDa, 共有1246个氨基酸组成, 与运输蛋白粒子(transport protein particle, TRAAP)共有一段保守序列, 且能与TRAAP复合物的Bet3亚基作用, 因此NIBP可能通过调节NF- κ B信号通路在细胞内蛋白质转运过程中发挥作

用^[6]. NF- κ B是核转录因子, 其家族包括5个成员, 即RelA(p65)、RelB、c-Rel、p105-p50(NF- κ B1)和p100-p52(NF- κ B2), 参与多种生物学过程, 免疫反应、炎症、癌症和细胞死亡^[7,8]. NF- κ B家族有两个信号激活途径: 分别为依赖 $\text{IKK}\beta$ 磷酸化从而促进前体蛋白p105加工成为p65/p50二聚体以及促进p65亚基的磷酸化转运入核发挥相应生物学作用的经典途径; 以及由 $\text{IKK}\alpha$ 介导的促进前体蛋白p100磷酸化以及对其加工处理生成有活性的p52, 形成的p52/RelB复合物转运入核发挥相应作用的非经典途径^[9-11]. NF- κ B经典途径的激活可通过促进炎症扩散、对抗细胞凋亡、促进细胞增殖、促进肿瘤细胞的浸润和转移, 且与结肠癌的发生、发展、浸润转移密切相关^[12-14]. NF- κ B非经典途径的激活不仅有促进淋巴器官的成熟和T细胞的分化、调节骨质代谢以及参与淋巴系统肿瘤形成等作用^[15], 并且与卵巢癌^[16]和乳

表 2 NIBP、p-p100、p52、CD44、Vimentin和E-cadherin的表达与临床病理特征关系

临床病理特征	n	NIBP		P值	p-p100		P值	p52		P值	CD44		P值	Vimentin		P值	E-cadherin		P值
		-	+		-	+		-	+		-	+		-	+		-	+	
浸润深度				0.009			0.033			0.015			0.032			0.013			0.018
黏膜或浅肌层	21	14	7		13	8		13	8		14	7		16	5		3	18	
深肌层以下	93	33	60		34	59		31	62		38	55		43	50		39	54	
TNM分期				0.041			0.015			0.022			0.033			0.003			0.009
I期	19	10	9		12	7		9	10		13	6		14	5		3	16	
II期	44	23	21		20	24		21	23		22	22		26	18		12	32	
III期	30	10	20		12	18		12	18		12	18		15	15		17	13	
IV期	21	4	17		3	18		2	19		5	16		4	17		10	11	
淋巴结转移				0.001			0.007			0.008			0.022			0.027			0.000
无	68	34	34		35	33		33	35		37	31		41	27		16	52	
有	46	13	33		12	34		11	35		15	31		18	28		26	20	
远处转移				0.022			0.005			0.002			0.026			0.001			0.033
无	93	43	50		44	49		42	51		47	46		55	38		30	63	
有	21	4	17		3	18		2	19		5	16		4	17		12	9	

阳性包括++和+++。NIBP: NIK-IKKβ结合蛋白; p-p100: 磷酸化p100; Vimentin: 波形蛋白; E-cadherin: E-钙黏蛋白。

腺癌^[17]等实体恶性肿瘤密切相关。最近研究^[2]发现, NIBP的表达增加可促进IKKβ及其下游的p65磷酸化, 在NF-κB经典途径中发挥激活剂的作用, 而抑制NIBP的表达可减少由NIK介导的NF-κB非经典信号通路活化, 提示NIBP不仅能够通过磷酸化IKKβ从而激活NF-κB经典途径, 还能通过与NIK的结合影响NF-κB非经典途径。最近研究^[18]还发现, 在人结肠癌组织中NIBP明显升高, 可能与NF-κB活化有关, 并参与腺瘤向腺癌的演变过程。

本研究结果显示, 有转移结肠癌组织中NIBP以及NF-κB非经典途径的相关因子p-p100和p52的阳性表达明显高于无转移结肠癌以及结肠腺瘤和正常结肠黏膜组织。此外, NIBP、p-p100和p52在结肠癌组织中的阳性表达与肿瘤浸润深度、TNM临床分期和淋巴结转移以及远处转移有关, 表明NIBP、p-p100和p52的阳性表达在结肠肿瘤浸润深、分化程度低、Dukes'分期晚、有淋巴转移和远处转移者中明显增高, 并且NIBP与p-p100和p52的阳性表达在结肠癌中高表达, 且可能通过促进前体蛋白p100的磷酸化以及对其加工处理生成有活性的p52而激活NF-κB非经典途径, 进而参与腺瘤向腺癌的演变及结肠癌的浸润转移等过程。

CD44是由位于人类11号染色体短臂(11p13)的基因所编码产生分布极为广泛的细胞表面跨膜糖蛋白, 主要参与异质性黏附, 即肿瘤细胞与宿主细胞和宿主基质

■名词解释
上皮间质转化(EMT): 指上皮细胞失去极性以及基膜连接等上皮表型, 转化为具有间质表型的生物学过程, 使细胞获得较高的迁移、浸润、抗凋亡和降解细胞外基质的能力, 与肿瘤的转移密切相关。

同行评价

本文课题设计合理, 方法科学, 数据分析可靠, 结论可信, 有一定科学研究意义。

表 3 结肠癌组织中NIBP与p-p100、p52表达的相关性

	p-p100			相关性	P值	p52			相关性	P值
	--+	++	+++			--+	++	+++		
NIBP				0.457	0.000				0.482	0.000
--+	31	13	3			30	13	4		
++	12	24	11			13	22	12		
+++	3	8	9			1	9	10		

NIBP: NIK-IKKβ结合蛋白; p-p100: 磷酸化p100.

表 4 结肠癌组织中CD44与p52、Vimentin及E-cadherin表达的相关性

	p52			相关性	P值	Vimentin			相关性	P值	E-cadherin			相关性	P值
	--+	++	+++			--+	++	+++			--+	++	+++		
CD44				0.526	0.000				0.670	0.000				-0.503	0.000
--+	33	15	4			43	9	0			10	15	27		
++	10	22	11			14	24	5			16	18	9		
+++	1	7	11			2	5	12			16	3	0		

Vimentin: 波形蛋白; E-cadherin: E-钙黏蛋白.

的黏附, 在介导恶性肿瘤细胞浸润转移中起重要作用^[19,20]. 研究^[21]发现, CD44在结直肠癌组织中存在过表达并且与结直肠癌的转移密切相关. 免疫学研究^[22]发现, 激活CD44信号通路后细胞会出现形态的变化, 如出现伪足、细胞运动能力增强等, 这一形态学变化类似于肿瘤细胞的EMT. 在包括结直肠癌在内的多种肿瘤中CD44的亚型之间转换可诱导EMT^[23]. 近年来, EMT在包括结肠癌在内的多种上皮源性肿瘤的浸润和早期转移中起决定性作用^[24-26], 日益成为肿瘤研究关注的热点. EMT的显著特征为细胞失去上皮细胞形态学表现, 如细胞极性及其紧密连接消失, 并向间质细胞形态学转化, 如细胞失去相互连接及形成纤维细胞样外观等^[4]; 与此同时, 典型的上皮细胞标志物, 如E-cadherin表达下调、β-catenin从胞膜到胞核易位表达, 而间质表型标志物, 如波形蛋白Vimentin、纤连蛋白Fibronectin等表达上调^[27,28]. EMT使细胞获得较高的迁移、浸润、抗凋亡和降解细胞外基质的能力, 与肿瘤的转移密切相关. 最近研究^[29]发现, 激活的NF-κB非经典途径可通过上调CD44的表达而诱导EMT, 从而促进卵巢癌细胞的浸润及转移. 本研究结果显示, 有转移结肠癌组织中CD44和Vimentin的阳性表达明显高于无转移结肠癌以及结肠

腺瘤和正常结肠黏膜组织, 而E-cadherin的表达则正好相反. 进一步分析发现, 肿瘤浸润深、TNM临床分期晚、有淋巴转移和远处转移者CD44和Vimentin的阳性表达明显增高, E-cadherin的阳性表达则明显降低, 此外CD44与Vimentin及p52的表达显著正相关, 而与E-cadherin的表达显著负相关. 说明在结肠癌中已激活的NF-κB非经典途径可能通过上调CD44的表达而促进Vimentin和抑制E-cadherin的表达, 进而达到影响EMT进程促进结肠癌的发生、发展、浸润和转移的作用.

总之, NIBP在结肠癌组织中高表达可能参与了结肠癌的发生、发展、浸润和转移. NIBP可能通过激活由IKKα介导NF-κB非经典途径, 促进前体蛋白p100的磷酸化以及对其的加工处理生成有活性的p52而上调CD44的表达, 进而抑制E-cadherin的表达和促进Vimentin的表达影响EMT进程, 从而在结肠癌的发生、发展、浸润和转移过程中起重要作用. 抑制NIBP的表达有望成为结肠癌治疗的新思路.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 Hu WH, Pendergast JS, Mo XM, Brambilla R,

- Bracchi-Ricard V, Li F, Walters WM, Blits B, He L, Schaal SM, Bethea JR. NIBP, a novel NIK and IKK(beta)-binding protein that enhances NF-(kappa)B activation. *J Biol Chem* 2005; 280: 29233-29241 [PMID: 15951441 DOI: 10.1074/jbc.M501670200]
- 3 Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med* 2013; 19: 1438-1449 [PMID: 24202396 DOI: 10.1038/nm.3336]
- 4 De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 97-110 [PMID: 23344542 DOI: 10.1038/nrc3447]
- 5 Liu SQ, Su YJ, Qin MB, Mao YB, Huang JA, Tang GD. Sphingosine kinase 1 promotes tumor progression and confers malignancy phenotypes of colon cancer by regulating the focal adhesion kinase pathway and adhesion molecules. *Int J Oncol* 2013; 42: 617-626 [PMID: 23232649 DOI: 10.3892/ijo.2012.1733]
- 6 Mir A, Kaufman L, Noor A, Motazacker MM, Jamil T, Azam M, Kahrizi K, Rafiq MA, Weksberg R, Nasr T, Naeem F, Tzschach A, Kuss AW, Ishak GE, Doherty D, Ropers HH, Barkovich AJ, Najmabadi H, Ayub M, Vincent JB. Identification of mutations in TRAPPC9, which encodes the NIK- and IKK-beta-binding protein, in nonsyndromic autosomal-recessive mental retardation. *Am J Hum Genet* 2009; 85: 909-915 [PMID: 20004765 DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.11.009]
- 7 Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86 [PMID: 23915189 DOI: 10.1186/1476-4598-12-86]
- 8 Maier HJ, Schmidt-Strassburger U, Huber MA, Wiedemann EM, Beug H, Wirth T. NF-kappaB promotes epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Lett* 2010; 295: 214-228 [PMID: 20350779 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.03.003]
- 9 Gray CM, Remouchamps C, McCorkell KA, Solt LA, DeJardin E, Orange JS, May MJ. Noncanonical NF- κ B signaling is limited by classical NF- κ B activity. *Sci Signal* 2014; 7: ra13 [PMID: 24497610 DOI: 10.1126/scisignal.2004557]
- 10 Thu YM, Richmond A. NF- κ B inducing kinase: a key regulator in the immune system and in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 213-226 [PMID: 20685151 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.06.002]
- 11 Staudt LM. Oncogenic activation of NF-kappaB. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a000109 [PMID: 20516126 DOI: 10.1101/cshperspect.a000109]
- 12 Vaiopoulos AG, Athanasoula KCh, Papavassiliou AG. NF- κ B in colorectal cancer. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 1029-1037 [PMID: 23636511 DOI: 10.1007/s00109-013-1045-x]
- 13 刘宝玉, 黄杰安, 刘诗权, 李素艳, 徐春燕, 梁梦紫, 谭林, 覃蒙斌. NF- κ B对人结肠癌细胞上皮间质转化及侵袭转移的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 3403-3409
- 14 苏颖洁, 黄杰安, 刘诗权, 黄娟秀, 钟月圆, 唐国都, 姜海行. 鞘氨醇激酶1和核因子 κ B p65在结肠癌中的表达及其临床意义. *中华内科杂志* 2012; 51: 220-224
- 15 Sun SC. The noncanonical NF- κ B pathway. *Immunol Rev* 2012; 246: 125-140 [PMID: 22435551 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01088.x]
- 16 Uno M, Saitoh Y, Mochida K, Tsuruyama E, Kiyono T, Imoto I, Inazawa J, Yuasa Y, Kubota T, Yamaoka S. NF- κ B inducing kinase, a central signaling component of the non-canonical pathway of NF- κ B, contributes to ovarian cancer progression. *PLoS One* 2014; 9: e88347 [PMID: 24533079 DOI: 10.1371/journal.pone.0088347]
- 17 Yu J, Wang Y, Yan F, Zhang P, Li H, Zhao H, Yan C, Yan F, Ren X. Noncanonical NF- κ B activation mediates STAT3-stimulated IDO upregulation in myeloid-derived suppressor cells in breast cancer. *J Immunol* 2014; 193: 2574-2586 [PMID: 25063873 DOI: 10.4049/jimmunol.1400833]
- 18 Kim JC, Kim SY, Roh SA, Cho DH, Kim DD, Kim JH, Kim YS. Gene expression profiling: canonical molecular changes and clinicopathological features in sporadic colorectal cancers. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6662-6672 [PMID: 19034969 DOI: 10.3748/wjg.14.6662]
- 19 Marhaba R, Zöller M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. *J Mol Histol* 2004; 35: 211-231 [PMID: 15339042]
- 20 Jiang W, Zhang Y, Kane KT, Collins MA, Simeone DM, di Magliano MP, Nguyen KT. CD44 Regulates Pancreatic Cancer Invasion through MT1-MMP. *Mol Cancer Res* 2015; 13: 9-15 [PMID: 25566991 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0076]
- 21 Bendardaf R, Algars A, Elzagheid A, Korkeila E, Ristamäki R, Lamlum H, Collan Y, Syrjänen K, Pyrhönen S. Comparison of CD44 expression in primary tumours and metastases of colorectal cancer. *Oncol Rep* 2006; 16: 741-746 [PMID: 16969488 DOI: 10.3892/or.16.4.741]
- 22 Prochazka L, Tesarik R, Turanek J. Regulation of alternative splicing of CD44 in cancer. *Cell Signal* 2014; 26: 2234-2239 [PMID: 25025570 DOI: 10.1016/j.cellsig.2014.07.011]
- 23 Mashita N, Yamada S, Nakayama G, Tanaka C, Iwata N, Kanda M, Kobayashi D, Fujii T, Sugimoto H, Koike M, Nomoto S, Fujiwara M, Kodera Y. Epithelial to mesenchymal transition might be induced via CD44 isoform switching in colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2014; 110: 745-751 [PMID: 24975268 DOI: 10.1002/jso.23705]
- 24 Tse JC, Kalluri R. Mechanisms of metastasis: epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment. *J Cell Biochem* 2007; 101: 816-829 [PMID: 17243120 DOI: 10.1002/jcb.21215]
- 25 Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 2008; 14: 818-829 [PMID: 18539112 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.05.009]
- 26 Okajima M, Kokura S, Ishikawa T, Mizushima K, Tsuchiya R, Matsuyama T, Adachi S, Okayama T, Sakamoto N, Kamada K, Katada K, Uchiyama K, Handa O, Takagi T, Yagi N, Naito Y, Yoshikawa T. Anoxia/reoxygenation induces epithelial-mesenchymal transition in human colon cancer cell lines. *Oncol Rep* 2013; 29: 2311-2317 [PMID: 23589103 DOI: 10.3892/or.2013.2401]
- 27 Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 131-142 [PMID: 16493418 DOI: 10.1038/nrm1835]

- 28 Lim J, Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions: insights from development. *Development* 2012; 139: 3471-3486 [PMID: 22949611 DOI: 10.1242/dev.071209]
- 29 Yakubov B, Chelladurai B, Schmitt J, Emerson

R, Turchi JJ, Matei D. Extracellular tissue transglutaminase activates noncanonical NF- κ B signaling and promotes metastasis in ovarian cancer. *Neoplasia* 2013; 15: 609-619 [PMID: 23730209 DOI: 10.1593/neo.121878]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



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》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 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、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

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。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)

胃食管反流病与精神心理、自主神经功能关系的研究进展

袁媛, 肖茹萍, 陈阳, 卜平

袁媛, 肖茹萍, 陈阳, 卜平, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

袁媛, 主要从事消化系统胃食管反流病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173392

作者贡献分布: 本文综述由袁媛、肖茹萍及陈阳完成; 卜平负责审核。

通讯作者: 卜平, 教授, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市广陵区淮海路11号, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科。
boping@yzu.edu.cn

电话: 0514-7978801

收稿日期: 2014-12-25 修回日期: 2015-01-12

接受日期: 2015-01-15 在线出版日期: 2015-03-18

Relationship between gastroesophageal reflux disease and psychological factors and autonomic nervous function

Yuan Yuan, Ru-Ping Xiao, Yang Chen, Ping Bu

Yuan Yuan, Ru-Ping Xiao, Yang Chen, Ping Bu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173392

Correspondence to: Ping Bu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Guangling District, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn

Received: 2014-12-25 Revised: 2015-01-12

Accepted: 2015-01-15 Published online: 2015-03-18

Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is a multifactorial disease. Psychological factors play an important role in the development and progression process and the treatment of GERD. Autonomic nervous dysfunction leads to changes of the digestive tract and

high gastrointestinal sensitivity. Autonomic nerve function disorder is the intermediate link between psychological factors and gastroesophageal reflux symptoms in patients with GERD. Research on psychological factors and autonomic nervous function plays an important role in the clinical diagnosis and treatment of GERD in the future.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Psychological factors; Autonomic nervous function

Yuan Y, Xiao RP, Chen Y, Bu P. Research progress of the relationship between gastroesophageal reflux disease and psychological factors, autonomic nervous function. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1247-1251
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1247.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1247>

摘要

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种多因素引发的疾病。精神心理因素在GERD的发生发展及治疗过程中扮演了极其重要的角色, 自主神经功能的紊乱会导致胃肠道动力的变化及消化系统高敏状态, 自主神经功能紊乱是精神心理因素与GERD患者反流症状产生的中间环节。对心理因素与自主神经功能的研究对今后GERD的临床诊治工作有重要意义。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃食管反流病; 精神心理因素; 自主神经功能

核心提示: 精神心理因素在胃食管反流病

背景资料

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是由多种因素造成的消化系统动力障碍性疾病。近年来研究表明, GERD的病因与发病机制除了与食管抗反流机制减弱及反流物对食管黏膜攻击作用等因素有关, 精神心理因素与自主神经功能紊乱也与此病的发生发展关系密切。

同行评议者

陈龙奇, 主任医师, 四川大学华西医院

■ 研发前沿

GERD与精神心理、自主神经功能关系是目前GERD方面研究热点。由于心血管和食管神经支配系统非常相似,研究者通常用心血管自主神经功能评定的方法替代测定胃肠道自主神经功能,目前评价胃肠道自主神经功能更好的方法尚在研究阶段。

(gastroesophageal reflux disease, GERD)的发生发展及治疗过程中扮演了极其重要的角色,自主神经功能的紊乱会导致胃肠道动力的变化及消化系高敏状态,自主神经功能紊乱是精神心理因素与GERD患者反流症状产生的中间环节。

袁媛, 肖茹萍, 陈阳, 卜平. 胃食管反流病与精神心理、自主神经功能关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1247-1251 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1247>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是由多种因素造成的消化系动力障碍性疾病^[1,2]。1980年, Heatley等^[3]研究发现, GERD患者存在迷走神经功能紊乱。近年来研究^[4-6]表明, GERD的病因与发病机制除了与食管抗反流机制减弱及反流物对食管黏膜攻击作用等因素有关, 精神心理因素与自主神经功能紊乱也与此病的发生发展关系密切^[7,8]。现将近年来该领域的研究综述如下。

1 GERD与精神心理因素的关系

国内外越来越多的研究表明, 精神心理因素在GERD的发生发展中有重要的影响作用, 而另一方面, GERD的发生发展也可诱发或加重精神心理疾患。国内学者侯艳红等^[9]采用症状自评量表(Symptom Checklist 90, SCL-90)对GERD病例组和健康对照组进行心理因素评分, 研究发现, 病例组较对照组普遍存在抑郁、焦虑、恐惧、强迫观念和人际关系敏感等异常心理, 以焦虑和抑郁更为突出。国外学者Sanna等^[10]系统地研究了GERD与精神病理学之间的相关性, 发现心理症状如情绪障碍等与GERD症状之间有着极其密切的关系。GERD的发生发展与精神心理因素之间相互联系, 相互影响。

在治疗方面, 精神心理因素也常常影响GERD患者就医治疗的效果。质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)抑酸作用强, 可以有效地促进食管黏膜破损的GERD患者的黏膜愈合, 迅速控制GERD患者的临床症状, 是目前治疗本病的标准用药^[11], 但仍有一部分GERD患者经过标准剂量的PPI药物治疗后症状无法完全缓解。Heading等^[12]对1888例GERD患者研究发现焦虑、抑郁是GERD抑酸治疗效果欠佳

的重要危险因素, 研究显示, 部分GERD患者在常规PPI药物治疗的基础上加用一些抗焦虑抗抑郁药物, 往往可以取得更好的疗效。

近年来, GERD与精神心理因素相互作用的病理生理学基础也是国内外学者研究的热点。有学者^[13]指出, 焦虑和抑郁会降低GERD患者的内脏感觉阈值, 增强患者的内脏敏感性, 还有学者研究^[14]证明, 抑郁可以导致全消化系的转运延迟。这说明心理因素可以影响机体的胃肠道动力及内脏敏感性。基于系统的研究, 科学家们发现精神心理因素是通过免疫-神经-内分泌网络实现对胃肠动力及感觉的影响, 并建立了神经胃肠病学说(neurogastroenterology)^[15], 提出了“脑-肠轴”(brain-gut axis, BGA)^[16]和“脑-肠互动”(brain-gut interaction, BGI)^[17]的概念。“脑-肠轴”是指将胃肠道和中枢神经系统联系起来的神经-内分泌网络^[18]。而“脑-肠互动”是指机体通过神经内分泌网络的双向环路进行胃肠道功能的调节^[19]。肠神经系统(enteric nervous system, ENS)在神经元成分, 分泌的神经递质, 及独立完成神经反射的功能上与大脑有极大的相似性, 被称为“第二大脑”(the second brain)^[20], ENS通过神经递质的释放和传递把内脏与和中枢神经系统(central nervous system, CNS)联系起来。这些神经递质称为“脑-肠肽”^[21], 主要兴奋递质有5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)^[22]、组胺^[23]、P物质(substance P, SP)^[24]、促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF)^[25]、降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide, CGRP)^[26]等, 抑制性递质有胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)^[27]、一氧化氮(nitric oxide, NO)^[28]、血管活性肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)^[29]、去甲肾上腺素(noradrenaline, NE)^[30]等。人体通过“脑-肠轴”和“脑-肠互动”实现了胃肠道疾病与精神心理因素之间的相互联系、相互影响^[31]。

2 GERD与自主神经功能的关系

目前, 胃肠道自主神经功能的评定方法尚在研究阶段。国内外研究^[32]发现, 心血管和食管的神经支配系统非常相似, 可以用心血管自主神经功能的评定方法替代, 即通过测定心率变异性判定胃肠道自主神经功能。目前, 测定心率变异性已成为一种简单的, 无创性的, 建立在窦房结水平上的评估交感-迷走神经的方

■ 相关报道

国内外研究显示, GERD患者存在自主神经功能障碍, 但有关自主神经受累的程度与反流症状的相关性报道较少。

法. 心率变异性的分析实质反映的是自主神经系统的活性及平衡协调状态^[33]. 研究者通过心电图进行频域分析, 测定高频(high frequency, HF)(0.15-0.4 Hz)和低频(low frequency, LF)(0.04-0.15 Hz)的功率评估迷走神经和交感神经活性^[34,35]. 一般LF反映交感和迷走神经的双重活性, 主要反映交感神经功能状态, HF反映迷走神经功能状态, 低、高频功率的比值反映了交感神经和迷走神经的平衡状态^[36]. 研究^[37,38]发现, GERD患者存在心率变异性(heart rate variability, HRV)异常, 表明自主神经处于失衡状态, 主要表现为迷走神经活性显著降低, 交感神经活性增高.

Punkkinen等^[39]研究发现, 自主神经功能病变会影响消化系, 引起食管运动障碍. 消化系统器官受神经内分泌的调节, 高级神经中枢通过交感神经和副交感神经组成自主神经系统, 调节各系统的正常活动^[40]. 正常生理状态下, 交感神经与迷走神经处于动态平衡, 可以应对机体的各种生理需要^[41]. 在应激状态或情绪变化时平衡受到破坏, 自主神经系统的活动规律受到干扰, 受其神经调节的躯体各系统功能发生紊乱, 从而导致出现相应的症状. 有学者研究发现, 对GERD等胃肠功能紊乱性疾病如果加用改善自主神经功能紊乱的药物有助于改善患者胃肠道功能紊乱的症状^[42].

3 精神心理异常与自主神经功能紊乱的关系

在最近的很多情绪理论中, 自主神经系统的活性是情绪的重要影响因素^[43,44]. 研究者利用心率变异性来反映精神心理因素与自主神经功能紊乱的关系, 研究^[45-47]发现, 焦虑抑郁等精神心理因素会导致自主神经功能紊乱, 同样, 自主神经功能的异常会引起很多情绪反应. Keary等^[48]对正常受试者进行两轮演讲应激和放松后, 发现两次心理应激刺激后正常受试者LF上升、HF下降. 在两次放松后, 正常对照组HF均能恢复到基线水平. 这表明应激可以提高交感神经活动, 抑制副交感神经活动, 暂时打破自主神经系统的平衡, 但经过放松后, 自主神经可再次恢复平衡状态. Stephens等^[49]和Kop等^[50]研究发现, 不同情绪有各自特定的自主神经反应模式. 国内学者邓光辉等^[51]研究不同类型的自主神经反应模式对大学生情绪体验的影响, 发现自主神经反应模式可以通过决定内脏的活动特点对情绪体验产生影响. 研究发现不同自主

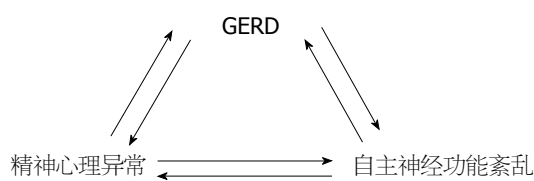


图1 胃食管反流、精神心理因素、自主神经功能紊乱之间的相互关系. GERD: 胃食管反流病.

神经反应模式的被试者在恐惧、悲伤和紧张等负性情绪体验上差异有统计学意义, 而在正性情绪体验上差异无统计学意义.

4 结论

GERD患者的胃食管反流症状, 精神心理因素, 自主神经功能之间相互影响, 互为因果, 三者关系如图1所示. 精神心理因素对GERD的发生发展及预后都存在重要影响. 自主神经功能紊乱是心理因素与GERD患者反流症状产生的中间环节, 虽然不是唯一途径, 但对自主神经功能的研究对GERD的临床诊治工作有重要意义. 按照生物-心理-社会医学模式, 在治疗患者反流症状的同时, 应关注患者的精神心理因素, 根据患者具体情况, 进行心理干预, 整体治疗.

5 参考文献

- 1 Saad AM, Choudhary A, Bechtold ML. Effect of *Helicobacter pylori* treatment on gastroesophageal reflux disease (GERD): meta-analysis of randomized controlled trials. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 129-135 [PMID: 22229305 DOI: 10.3109/00365521.2011.648955]
- 2 Qian B, Ma S, Shang L, Qian J, Zhang G. Effects of *Helicobacter pylori* eradication on gastroesophageal reflux disease. *Helicobacter* 2011; 16: 255-265 [PMID: 21762264 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00846.x]
- 3 Heatley RV, Collins RJ, James PD, Atkinson M. Vagal function in relation to gastro-oesophageal reflux and associated motility changes. *Br Med J* 1980; 280: 755-757 [PMID: 6989439]
- 4 Altomare A, Guarino MP, Cocca S, Emerenziani S, Cicala M. Gastroesophageal reflux disease: Update on inflammation and symptom perception. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 6523-6528 [PMID: 24151376 DOI: 10.3748/wjg.v19.i39.6523]
- 5 Weijenborg PW, Smout AJ, Verseijden C, van Veen HA, Verheij J, de Jonge WJ, Bredenoord AJ. Hypersensitivity to acid is associated with impaired esophageal mucosal integrity in patients with gastroesophageal reflux disease with and without esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 307: G323-G329 [PMID: 24924748 DOI: 10.1152/ajpgi.00345.2013]
- 6 Kandulski A, Malfertheiner P. Gastroesophageal reflux disease--from reflux episodes to mucosal inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 15-22 [PMID: 22105108 DOI: 10.1038/

■创新盘点

国内外对于心理因素与GERD的相关性报道较多, 但GERD与精神心理因素相互作用的病理生理学基础, 尤其是脑肠肽对GERD的影响报道相对较少.

■应用要点

对心理因素与自主神经功能的研究对今后GERD的临床诊治工作有重要意义. 按照生物-心理-社会医学模式, 在治疗患者反流症状的同时, 应关注患者的精神心理因素, 根据患者具体情况, 进行心理干预, 整体治疗.

■ 名词解释

脑肠肽: 调节胆囊和胆管运动的激素有胃动素、胆囊收缩素和促胰液素等, 这些肽类在胃肠和神经系统双重分布, 故称为脑肠肽。脑肠肽不仅在外周广泛地调节着胃肠道的各种功能, 而且在中枢也参与对胃肠道生理活动的调节。

- 7 Iurenev GL, Sirotina NA, Dicheva DT, Bitkova EN, Maev IV. [Role of psychological correction in the combination treatment of patients with gastroesophageal reflux disease]. *Ter Arkh* 2014; 86: 42-49 [PMID: 25306743]
- 8 Amarasiri WA, Pathmeswaran A, de Silva AP, Dassanayake AS, Ranasinha CD, de Silva HJ. Gastric motility following ingestion of a solid meal in a cohort of adult asthmatics. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 355-365 [PMID: 23875103 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.3.355]
- 9 侯艳红, 张林, 张琨鹏, 齐秦甲子, 张颖. 老年胃食管反流病患者心理状态及自主神经功能紊乱的研究. *中华保健医学杂志* 2012; 14: 433-435
- 10 Sanna L, Stuart AL, Berk M, Pasco JA, Girardi P, Williams LJ. Gastro oesophageal reflux disease (GORD)-related symptoms and its association with mood and anxiety disorders and psychological symptomology: a population-based study in women. *BMC Psychiatry* 2013; 13: 194 [PMID: 23883104 DOI: 10.1186/1471-244X-13-194]
- 11 Chung SJ, Kim SG, Jung HC, Song IS, Kim JS. [Clinical practice patterns of gastroenterologists for initial and maintenance therapy in gastroesophageal reflux disease: a nationwide online survey in Korea]. *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 364-370 [PMID: 20026890]
- 12 Heading RC, Mönnikes H, Tholen A, Schmitt H. Prediction of response to PPI therapy and factors influencing treatment outcome in patients with GORD: a prospective pragmatic trial using pantoprazole. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 52 [PMID: 21569313 DOI: 10.1186/1471-230X-11-52]
- 13 Barbara G, Cremon C, De Giorgio R, Dotthel G, Zecchi L, Bellacosa L, Carini G, Stanghellini V, Corinaldesi R. Mechanisms underlying visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 308-315 [PMID: 21537962 DOI: 10.1007/s11894-011-0195-7]
- 14 Muscatello MR, Bruno A, Scimeca G, Pandolfo G, Zoccali RA. Role of negative affects in pathophysiology and clinical expression of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7570-7586 [PMID: 24976697 DOI: 10.3748/wjg.v20.i24.7570]
- 15 Huh S. The new era of journal of neurogastroenterology and motility: what should be prepared to be a top journal in the category of gastroenterology and hepatology. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 419-421 [PMID: 24199000 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.4.419]
- 16 Brock C, Søfteland E, Gunterberg V, Frøkjær JB, Lelic D, Brock B, Dimcevski G, Gregersen H, Simrén M, Drewes AM. Diabetic autonomic neuropathy affects symptom generation and brain-gut axis. *Diabetes Care* 2013; 36: 3698-3705 [PMID: 24026548 DOI: 10.2337/dc13-0347]
- 17 Okumura T. [Brain-gut interaction in the pathophysiology of IBS]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2014; 111: 1334-1344 [PMID: 24998724]
- 18 Quigley EM. Bugs on the brain; brain in the gut--seeking explanations for common gastrointestinal symptoms. *Ir J Med Sci* 2013; 182: 1-6 [PMID: 23179664 DOI: 10.1007/s11845-012-0865-y]
- 19 Koloski NA, Jones M, Kalantar J, Weltman M, Zaguirre J, Talley NJ. The brain--gut pathway in functional gastrointestinal disorders is bidirectional: a 12-year prospective population-based study. *Gut* 2012; 61: 1284-1290 [PMID: 22234979 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300474]
- 20 Mayer EA. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 453-466 [PMID: 21750565 DOI: 10.1038/nrn3071]
- 21 Rubenstein JH, Morgenstern H, McConell D, Scheiman JM, Schoenfeld P, Appelman H, McMahon LF, Kao JY, Metko V, Zhang M, Inadomi JM. Associations of diabetes mellitus, insulin, leptin, and ghrelin with gastroesophageal reflux and Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2013; 145: 1237-1244. e1-e5 [PMID: 23999171 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.08.052]
- 22 Nennstiel S, Bajbouj M, Schmid RM, Becker V. Prucalopride reduces the number of reflux episodes and improves subjective symptoms in gastroesophageal reflux disease: a case series. *J Med Case Rep* 2014; 8: 34 [PMID: 24502186 DOI: 10.1186/1752-1947-8-34]
- 23 Badillo R, Francis D. Diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2014; 5: 105-112 [PMID: 25133039 DOI: 10.4292/wjgpt.v5.i3.105]
- 24 Bediwy AS, Elkholy MG, Al-Biltagi M, Amer HG, Farid E. Induced Sputum Substance P in Children with Difficult-to-Treat Bronchial Asthma and Gastroesophageal Reflux: Effect of Esomeprazole Therapy. *Int J Pediatr* 2011; 2011: 967460 [PMID: 22253635 DOI: 10.1155/2011/967460]
- 25 Koido S, Ohkusa T, Kan S, Takakura K, Saito K, Komita H, Ito Z, Kobayashi H, Takami S, Uchiyama K, Arakawa H, Ito M, Okamoto M, Kajihara M, Homma S, Tajiri H. Production of corticotropin-releasing factor and urocortin from human monocyte-derived dendritic cells is stimulated by commensal bacteria in intestine. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14420-14429 [PMID: 25339828 DOI: 10.3748/wjg.v20.i39.14420]
- 26 Kim JH, Yamamoto T, Lee J, Yashiro T, Hamada T, Hayashi S, Kadowaki M. CGRP, a neurotransmitter of enteric sensory neurons, contributes to the development of food allergy due to the augmentation of microtubule reorganization in mucosal mast cells. *Biomed Res* 2014; 35: 285-293 [PMID: 25152037]
- 27 Lim HC, Kim JH, Youn YH, Lee EH, Lee BK, Park H. Effects of the Addition of Mosapride to Gastroesophageal Reflux Disease Patients on Proton Pump Inhibitor: A Prospective Randomized, Double-blind Study. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 495-502 [PMID: 24199010 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.4.495]
- 28 Pawlik M, Pajdo R, Kwiecień S, Ptak-Belowska A, Sliwowski Z, Mazurkiewicz-Janik M, Konturek SJ, Pawlik WW, Brzozowski T. Nitric oxide (NO)-releasing aspirin exhibits a potent esophagoprotection in experimental model of acute reflux esophagitis. Role of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *J Physiol Pharmacol* 2011; 62: 75-86 [PMID: 21451212]
- 29 Zhao YH, Liu ZL, Li LH, Jiang SH, Shi CH. Systematic review of randomized controlled trials of traditional Chinese medicine treatment of non-acute bronchial

- asthma complicated by gastroesophageal reflux. *J Tradit Chin Med* 2012; 32: 12-18 [PMID: 22594096]
- 30 Legner A, Altorjay A, Juhasz A, Stadlhuber R, Reich V, Hunt B, Rothstein R, Filipi C. Transoral mucosal excision sutured gastroplasty: a pilot study for GERD and obesity with two-year follow-up. *Surg Innov* 2014; 21: 456-463 [PMID: 24623807 DOI: 10.1177/1553350613508228]
 - 31 Chang L, Sundares S, Elliott J, Anton PA, Baldi P, Licudine A, Mayer M, Vuong T, Hirano M, Naliboff BD, Ameen VZ, Mayer EA. Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 149-159 [PMID: 18684212 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01171.x]
 - 32 Yoshizaki T, Tada Y, Hida A, Sunami A, Yokoyama Y, Togo F, Kawano Y. Influence of dietary behavior on the circadian rhythm of the autonomic nervous system as assessed by heart rate variability. *Physiol Behav* 2013; 118: 122-128 [PMID: 23685233 DOI: 10.1016/j.physbeh.2013.05.010]
 - 33 Zhang J, Sha W, Zhu H, Chen JD. Blunted Peripheral and Central Responses to Gastric Mechanical and Electrical Stimulations in Diet-induced Obese Rats. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 454-466 [PMID: 24199005 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.4.454]
 - 34 Miu AC, Heilman RM, Miclea M. Reduced heart rate variability and vagal tone in anxiety: trait versus state, and the effects of autogenic training. *Auton Neurosci* 2009; 145: 99-103 [PMID: 19059813 DOI: 10.1016/j.autneu.2008.11.010]
 - 35 Tsuchie H, Fukata C, Takahashi K, Miyakoshi N, Kobayashi A, Kasukawa Y, Shimada Y, Inoue H. Impact of lumbar kyphosis on gastric myoelectrical activity and heart rate variability in a model using flexion posture in healthy young adults. *Biomed Res* 2011; 32: 271-278 [PMID: 21878734]
 - 36 Jurysta F, van de Borne P, Migeotte PF, Dumont M, Lanquart JP, Degaute JP, Linkowski P. A study of the dynamic interactions between sleep EEG and heart rate variability in healthy young men. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 2146-2155 [PMID: 14580613 DOI: 10.1016/S1388-2457(03)00215-3]
 - 37 Amarasiri DL, Pathmeswaran A, Dassanayake AS, de Silva AP, Ranasinha CD, de Silva HJ. Esophageal motility, vagal function and gastroesophageal reflux in a cohort of adult asthmatics. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 140 [PMID: 23057471 DOI: 10.1186/1471-230X-12-140]
 - 38 Amarasiri DL, Pathmeswaran A, de Silva HJ, Ranasinha CD. Response of the airways and autonomic nervous system to acid perfusion of the esophagus in patients with asthma: a laboratory study. *BMC Pulm Med* 2013; 13: 33 [PMID: 23724936 DOI: 10.1186/1471-2466-13-33]
 - 39 Punkkinen J, Koskenpato J, Rosengård-Bärlund M. [Autonomic neuropathy--a problem of the circulatory system and digestive tract]. *Duodecim* 2014; 130: 1223-1233 [PMID: 25016668]
 - 40 Djeddi DD, Kongolo G, Stéphan-Blanchard E, Ammari M, Léké A, Delanaud S, Bach V, Telliez F. Involvement of autonomic nervous activity changes in gastroesophageal reflux in neonates during sleep and wakefulness. *PLoS One* 2013; 8: e83464 [PMID: 24349512 DOI: 10.1371/journal.pone.0083464]
 - 41 Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Kamiya A, Turner MJ, Yamamoto H, Shishido T, Shirai M, Sugimachi M. Medetomidine suppresses cardiac and gastric sympathetic nerve activities but selectively activates cardiac vagus nerve. *Circ J* 2014; 78: 1405-1413 [PMID: 24727611]
 - 42 Kishi T, Sunagawa K. Combination therapy of atorvastatin and amlodipine inhibits sympathetic nervous system activation and improves cognitive function in hypertensive rats. *Circ J* 2012; 76: 1934-1941 [PMID: 22664571 DOI: 10.1253/circj.CJ-12-0276]
 - 43 Kreibitz SD. Autonomic nervous system activity in emotion: a review. *Biol Psychol* 2010; 84: 394-421 [PMID: 20371374 DOI: 10.1016/j.biopsycho.2010.03.010]
 - 44 Friedman BH. Feelings and the body: the Jamesian perspective on autonomic specificity of emotion. *Biol Psychol* 2010; 84: 383-393 [PMID: 19879320 DOI: 10.1016/j.biopsycho.2009.10.006]
 - 45 Patron E, Messerotti Benvenuti S, Favretto G, Gasparotto R, Palomba D. Depression and reduced heart rate variability after cardiac surgery: the mediating role of emotion regulation. *Auton Neurosci* 2014; 180: 53-58 [PMID: 24355432 DOI: 10.1016/j.autneu.2013.11.004]
 - 46 Patron E, Messerotti Benvenuti S, Favretto G, Valfrè C, Bonfà C, Gasparotto R, Palomba D. Association between depression and heart rate variability in patients after cardiac surgery: a pilot study. *J Psychosom Res* 2012; 73: 42-46 [PMID: 22691558 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2012.04.013]
 - 47 Lane RD, McRae K, Reiman EM, Chen K, Ahern GL, Thayer JF. Neural correlates of heart rate variability during emotion. *Neuroimage* 2009; 44: 213-222 [PMID: 18778779 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2008.07.056]
 - 48 Keary TA, Hughes JW, Palmieri PA. Women with posttraumatic stress disorder have larger decreases in heart rate variability during stress tasks. *Int J Psychophysiol* 2009; 73: 257-264 [PMID: 19374925 DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2009.04.003]
 - 49 Stephens CL, Christie IC, Friedman BH. Autonomic specificity of basic emotions: evidence from pattern classification and cluster analysis. *Biol Psychol* 2010; 84: 463-473 [PMID: 20338217 DOI: 10.1016/j.biopsycho.2010.03.014]
 - 50 Kop WJ, Synowski SJ, Newell ME, Schmidt LA, Waldstein SR, Fox NA. Autonomic nervous system reactivity to positive and negative mood induction: the role of acute psychological responses and frontal electrocortical activity. *Biol Psychol* 2011; 86: 230-238 [PMID: 21182891 DOI: 10.1016/j.biopsycho.2010.12.003]
 - 51 邓光辉, 刘永芳, 经旻, 潘霄, 董薇. 自主神经反应模式对大学生情绪体验的影响. *中华行为医学与脑科学杂志* 2013; 22: 237-239

■同行评价
本文综述内容新颖, 是目前GERD方面研究热点, 有发表价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



贲门失弛缓症发病机制的研究进展

李淑香, 曲波, 李惠

■背景资料

贲门失弛缓症是一种食管运动障碍性疾病, 其主要特征是吞咽时食管蠕动停止, 食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)松弛障碍。原发性贲门失弛缓症主要是由于抑制性神经元缺失引起的。但本病的确切发病机制仍不明确, 目前的研究表明主要涉及感染、自身免疫、遗传因素。

李淑香, 曲波, 李惠, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086
 李淑香, 在读硕士, 主要从事贲门失弛缓症发病机制的研究。
 作者贡献分布: 本文综述由李淑香与李惠完成; 曲波审校。
 通讯作者: 曲波, 副教授, 副主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。qubo1970-@hotmail.com
 电话: 0451-86297243
 收稿日期: 2014-11-24 修回日期: 2015-01-08
 接受日期: 2015-01-15 在线出版日期: 2015-03-18

Pathogenesis of achalasia

Shu-Xiang Li, Bo Qu, Hui Li

Shu-Xiang Li, Bo Qu, Hui Li, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
 Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Health Care Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo1970-@hotmail.com
 Received: 2014-11-24 Revised: 2015-01-08
 Accepted: 2015-01-15 Published online: 2015-03-18

Abstract

Achalasia is a kind of esophageal motility disorder, and it is mainly characterized by loss of the peristalsis of the esophagus during swallowing and insufficient lower esophageal sphincter (LES) relaxation. Primary achalasia is mainly due to the lack of inhibitory nerve fibers in the esophageal myenteric nerve plexus. However, the exact pathogenesis of the disease is still clear. This paper reviews recent progress in understanding the pathogenesis of achalasia.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Achalasia; Pathophysiology; Etiology

Li SX, Qu B, Li H. Pathogenesis of achalasia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(8): 1252-1257 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1252.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1252>

摘要

贲门失弛缓症(achalasia)是一种食管运动障碍性疾病, 其主要特征是吞咽时食管蠕动停止, 食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)松弛障碍。原发性贲门失弛缓症主要是由于食管肌间神经丛抑制性神经纤维缺乏所引起的。但是, 本病的确切发病机制仍未明确, 本文就关于贲门失弛缓症发病机制的文献进行了回顾。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 贲门失弛缓症; 病理生理学; 病因

核心提示: 贲门失弛缓症主要是由于抑制性神经元缺乏引起的, 但已有研究发现路易小体、Cajal细胞、局部的肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system)可能参与该病的病理生理学。虽然引起该病的确切发病机制未明, 但国内外研究发现病毒感染、血清中存在的自身抗体及多种基因多态性与之相关。

李淑香, 曲波, 李惠. 贲门失弛缓症发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1252-1257 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1252.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1252>

0 引言

贲门失弛缓症(achalasia)是一种食管运动障碍性疾病, 其主要特征是吞咽时食管蠕动停止,

■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科; 周力, 主任医师, 贵阳医学院附属医院消化内科

食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)松弛障碍。临床表现为吞咽困难、胸骨后疼痛、消瘦、食物反流以及因食物反流误吸入气管所致的咳嗽、肺炎等症状^[1]。它是一种少见病,在成年人人群中发病率仅为(0.30-1.63)/(10万人·年)^[2,3],在<16岁的青少年中约为0.18/(10万人·年)^[4]。在成年人人群中,原发性贲门失弛缓症的发病率在不同性别^[2]、不同种族人群中差异无统计学意义^[5],但发病率随年龄增加而呈逐渐上升趋势。1674年Sir Thomas Willis第一次描述贲门失弛缓症为“食物阻塞食道”^[6]。1929年, Sir Arthur Hurst首次提出了“贲门失弛缓症”这个概念,暗示这可能是由于食管远端“失去正常的抑制”^[6]。原发性贲门失弛缓症主要是由于食管肌间神经丛抑制性神经纤维缺乏所引起的^[7]。自从首次描述后,大量研究试图探索贲门失弛缓症的确切发病机制,但仍然难以捉摸。本文就关于贲门失弛缓症发病机制的文献进行了回顾。

1 食管运动神经支配

理解贲门失弛缓症病理生理学意义的关键是了解食管远端神经支配。远端食管平滑肌由节前迷走神经和背运动核(dorsal motor nucleus, DMN)的细胞体支配^[8]。节前纤维首先通过胆碱能纤维支配肌间神经丛^[9]。随后由节后神经元支配食管壁和LES,包括兴奋性和抑制性神经元。节后兴奋性神经元释放乙酰胆碱,而抑制性神经元释放一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)和血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP),分别引起食管和LES的收缩与舒张^[10]。另外,食管蠕动是肌间神经丛中兴奋和抑制性神经元沿食管介导的协调性收缩和舒张的净结果^[11]。静息状态下,食管处于收缩状态;吞咽时,抑制性神经元的兴奋作用覆盖了兴奋性神经元的兴奋作用引起食管舒张。因此,贲门失弛缓症中抑制性神经支配缺失引起了LES松弛不良的测压结果以及食管的蠕动停止。

2 病理生理学

食管抑制性神经支配缺失可以是外源性的也可以是内源性的。外源性缺失可能是中枢神经系统(central nervous system, CNS)涉及DMN或迷走神经纤维的病变,而内源性缺失可能是肌间神经丛内抑制性神经节细胞。

2.1 外源性神经病变 有研究发现贲门失弛缓

症患者DMN中神经元数目减少。为了检查上述结果的影响, Higgs等^[12]使用直流电对13只猫诱导产生双侧DMN病变。其中有9只(69%)进展为与贲门失弛缓症一致的测压和X线片结果。此外, CNS以外的迷走神经纤维也与贲门失弛缓症有关。Cassella等^[13]利用电子显微镜在贲门失弛缓症患者中发现了类似Wallerian变性的迷走神经异常。也有报道^[14]在一个复发性十二指肠溃疡出血的患者行高选择性迷走神经切断术后出现了贲门失弛缓症的测压结果。但是,大多数迷走神经切断术后的患者没有出现贲门失弛缓症的症状或测压结果。实际上,外源性神经支配异常在贲门失弛缓症患者中很罕见^[15],很有可能不是该病的主要发病机制。

2.2 内源性神经缺失 研究^[16-18]表明,贲门失弛缓症更可能的神经元异常是肌间神经内兴奋性和抑制性神经元的失衡。Holloway等^[16]的研究已经证明了胆碱能兴奋性神经元的完整性。已有研究表明胆囊收缩素(cholecystokinin octapeptide, CCK-OP)可以降低正常受试者的LES压力,增加贲门失弛缓症患者的LES压力,即证实贲门失弛缓症患者抑制性神经元的缺失。随后大量的动物和人类研究表明贲门失弛缓症患者肌间神经丛中含VIP^[17,18]和NO^[17]的神经纤维减少或缺少,更进一步强化了抑制性神经元的改变是原发性贲门失弛缓症的主要病理特征。

食管肌间神经丛的形态学研究^[19]也证实了贲门失弛缓症患者肌间神经节细胞的缺乏,而且与淋巴细胞、嗜酸性粒细胞的炎性浸润相关。更严重者会出现肌间神经纤维化。在疾病的早期阶段,表现为有神经节炎的肌间炎症,而没有神经节细胞缺失或神经元纤维化(称之为高动力型贲门失弛缓症);晚期则表现为神经节细胞减少或缺如,神经元纤维化(称之为经典型贲门失弛缓症)。因此可以推论,随着抑制性神经元渐进性破坏和神经元纤维化,贲门失弛缓症由高动力型进展为经典型^[17]。

然而,有研究^[20]在贲门失弛缓症患者中发现路易小体,所以提出贲门失弛缓症和帕金森病等神经系统疾病有类似神经元变性机制的假说。另有研究^[18]发现在贲门失弛缓症患者LES中Cajal细胞数量减少。但是未能证明其在疾病进展中的作用。除此之外,最近一项研究^[21]表明,贲门失弛缓症患者中存在局部的肾

■ 研究前沿

目前研究者们通过各种途径寻找贲门失弛缓症的确切发病机制,其中以自身免疫和遗传因素为研究重点。进一步的血清蛋白质组学分析有待证实自身免疫在发病机制中的作用。同样,全基因组相关性研究对于遗传因素的支持有待探索。

■ 相关报道

许多国内外文献对贲门失弛缓症的病理生理学及发病机制进行了详细报道与对照研究,分别从不同角度讲述了各种相关因素与该病的联系。随着基因组研究的进展,基因组研究的文献逐渐增多。

■ 创新盘点

本文从病理生理学和病因学方面总结了贲门失弛缓症发病机制的最新进展, 并重点讨论了自身免疫和遗传因素。同时提出局部的肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)可能参与贲门失弛缓症的病理生理学改变。

素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)。且患者血管紧张素Ⅱ受体(angiotensinⅡ type 1 receptor, AT1R)、肾素表达下降, 血管紧张素-(1-7)[Ang-(1-7)]、MAS受体表达上升。正常情况下血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)通过AT1R可以引起LES收缩^[22]。Ang-(1-7)通过MAS受体, 可以直接拮抗AngⅡ的作用^[23]。因此, RAS可能在贲门失弛缓症患者的生理运动调节中起到显著作用, 但是仍需更多研究证实。

3 病因

虽然引起贲门失弛缓症的发病机制众说纷纭, 但人们普遍认同的观点是食管肌间神经丛内抑制性神经元缺乏。目前国内外也一直在研究发生上述病理生理变化的原因, 主要集中在3个方面: 感染、自身免疫、遗传因素。

3.1 感染 许多研究表明病毒因素在贲门失弛缓症的发病机制中呈现出相互矛盾的结果。Boeckxstaens^[24]报道了麻疹病毒(measles virus, MV)和水痘-带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV)感染与贲门失弛缓症患者之间的关系。Brun等^[25]的报告显示了单纯疱疹病毒-1型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)感染与贲门失弛缓症患者之间的关系。但是Villanacci等^[18]对贲门失弛缓症患者肌间神经丛的免疫组织化学研究结果显示不存在HSV和人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染。

考虑到上述可能性, 最近的一项研究试图在缺乏病毒直接证据的食管组织中证明感染的存在。Facco等^[26]从食管黏膜中分离出寡克隆T细胞, 并在暴露于HSV-1抗原的情况下可以发生特异性增殖并释放细胞因子^[26,27]。然而, 在对照组中亦发现HSV-1 DNA^[27]。总之, 现有的证据^[28]表明, 感染可能不是贲门失弛缓症的一个明确病因。但是, 有一个支持其是贲门失弛缓症发病原因的强有力证据, 克氏锥虫病感染引起的美洲锥虫病, 其病理生理学与贲门失弛缓症极为接近。

3.2 自身免疫 贲门失弛缓症存在神经炎症, 而缺乏感染的确凿证据, 因此又被认为是一种自身免疫性疾病。而且, 流行病学调查显示, 患有贲门失弛缓症的人群中自身免疫性疾病如1型糖尿病、甲状腺功能减退症、干燥综合征及葡萄膜炎的发病率显著高于一般人群^[29]。贲门失弛缓症患者血清中存在自身抗体^[30,31]及该病

与主要组织相容性复合物Ⅱ类抗原的联系^[30,32]进一步支持上述假设。另外, Im等^[33]对贲门失弛缓症患者血清的蛋白质组学分析支持自身免疫作用。

3.2.1 贲门失弛缓症自身抗体: Ruiz-de-León等^[30]比较了贲门失弛缓症患者和对照组中奥尔巴赫神经丛抗体, 报道贲门失弛缓症患者中该抗体发生率(55% vs 8%)明显升高, 从而提出了自身免疫的作用。

Moses等^[31]的研究表明当与贲门失弛缓症患者和胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)患者血清进行免疫染色时, 鼠的食管肌间神经丛表现出相似的免疫程度。与正常人相比, 两组均有较高的免疫反应性。但是, 免疫印迹分析未能揭示贲门失弛缓症或GERD患者血清中可与自身抗体靶向结合的特异性肌间神经元蛋白^[34]。所以以上结果不支持抗神经元自身抗体是贲门失弛缓症的主要病因。

3.2.2 人类白细胞抗原联系: 贲门失弛缓症与人类白细胞抗原(HLA)Ⅱ类组织相容性抗原之间的联系是由Wong等^[35]第一次提出的。随后的研究^[36]证明了贲门失弛缓症与HLA-DQA1*0101等位基因, DQB1*15等位基因之间的关联, 并证实了Wong等^[35]的研究结果。另有研究^[30]显示贲门失弛缓症患者与对照组相比, DQA1*0103等位基因、DQB1*0603等位基因、DQA1*0103-DQB1*0603异源二聚体等位基因出现的频率较高。他们还发现, 有DQA1*0103、DQB1*0603等位基因的贲门失弛缓症患者抗肌间抗体的发生率明显升高。相反, Latiano等^[32]未能发现HLA等位基因与抗神经元抗体之间的任何关联。但是, 在贲门失弛缓症患者中DQB1*0502和DQB1*0601等位基因出现的频率较高。所有这些报告可能得出贲门失弛缓症的自身免疫性病因; 然而并非所有贲门失弛缓症患者都有易感的HLA, 也不是所有含有特定HLA的人都患该病。

3.3 遗传因素 通过对候选基因的研究, 人们发现在贲门失弛缓症发病和一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)^[37]、血管活性肠肽受体1(vasoactive intestinal peptide receptor 1, VIPR1)^[38]、白介素-23受体(interleukin-23 receptor, IL-23R)基因^[39]和蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22(protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22, PTPN22)基因^[39,42]的多态性之

间存在相关性. 而且, 也有报道发现家族性贲门失弛缓症的存在^[43]. 现在仍在进行的一项贲门失弛缓症全基因组相关性研究将为这一假说提供更多的证据^[44].

3.3.1 NOS多态性: NO是食管肌间神经丛中的抑制性神经递质, 参与松弛LES. NOS负责催化合成NO. 有研究^[45]表明, 贲门失弛缓症患者LES中NOS少于对照组. 目前, 报道有3种不同的NOS同工酶, 神经元型NOS(NOS1), 诱导型NOS(NOS2)和内皮型NOS(NOS3). *NOS1*、*NOS2*和*NOS3*基因分别定位于人类染色体12q24.2, 17q11.2-q12, 7q36. 在*NOS1*基因第29外显子的3'端非翻译区内发现了一个微卫星(CA重复)多态性. *NOS2*基因内存在2个双等位基因多态性, 分别在第16和22外显子代表C/T、G/A转换. *NOS3*基因在内含子4内有一个27 bp的可变数目串联重复序列多态性. 已发表的研究^[46]未能解释这些功能多态性在贲门失弛缓症易感性中如何发挥强有力的作用.

3.3.2 VIPR1基因多态性: *VIPR1*基因位于人类染色体3p22. 血管活性肠肽是一种小神经肽、抗炎性神经递质; 他存在于肌间神经丛中调节远端食管壁和LES松弛^[47,48]. 研究^[49]表明该神经肽是维持神经内分泌免疫系统作用的主要元素, 此系统通过存在于免疫细胞的特定受体激活信号转导. 持续的炎症刺激可导致*VIPR1*信号受损, 从而改变肌间神经元上VIP的作用, 进展为神经节细胞缺失和神经纤维间质纤维化^[30,45].

3.3.3 IL-23R基因多态性: *IL-23R*基因, 位于染色体1p31, 编码IL-23R复合物的异源二聚体亚基^[47]. IL-23R是一种I型跨膜蛋白, 表达于T细胞衍生的Th1细胞表面, 该细胞可产生IL-17, 命名为Th17细胞. 以往的数据支持Th17细胞和这些细胞因子在炎症和自身免疫过程中的作用^[48]. IL-23结合于IL-23R/IL-12 β 1受体后激活JAK-STAT信号通路, 从而影响下游的免疫反应数量^[47]. 因此IL-23R与炎症和慢性自身免疫性疾病相关^[50]. 在*IL-23R*基因上有一个单核苷酸多态性, 使精氨酸取代了381号密码子的谷氨酰胺. de León等^[39]报道*IL-23R*编码的381号谷氨酰胺变异在贲门失弛缓症患者中比对照组更为常见. 因此, 这种*IL-23R*基因多态性可能是贲门失弛缓症的一个危险因素.

3.3.4 PTPN22基因多态性: *PTPN22*基因位于染

色体1p13.3-p13, 一种与自身免疫性疾病相关的区域^[39]. 他编码一种淋巴细胞特异性磷酸酶被称为Lyp. Lyp是一种细胞内的蛋白酪氨酸磷酸酶, 是T细胞活化的重要负调节因子^[40]. *PTPN22*基因在1858C/T处有单核苷酸多态性, 导致620号精氨酸(R)密码子被色氨酸(W)所取代. 研究^[41]表明, Lyp-W620有更强的磷酸酶活性, 可能比Lyp-R620更能有效地减弱T细胞信号. 在不同的人群中, 已报道*PTPN22* T等位基因是自身免疫性疾病的一个危险因素. Santiago等^[42]报道*PTPN22* C1858T多态性增加了西班牙人群贲门失弛缓症的患病风险.

4 结论

贲门失弛缓症是由于食管肌间神经丛内抑制性神经元缺失引起的. 神经元变性的逐步进展, 促使该病从高动力型发展为经典型贲门失弛缓症. 虽然一些研究试图探索引起该病的触发因素, 但肌间神经丛神经节细胞变性的确切病因仍然难以明确. 该病可能是多因素疾病, 涉及宿主的遗传因素、自身免疫和环境因素如感染等, 不过需要更多的研究来证实, 以便更好地指导治疗, 造福人类.

5 参考文献

- 1 Richter JE, Boeckstaens GE. Management of achalasia: surgery or pneumatic dilation. *Gut* 2011; 60: 869-876 [PMID: 21303915 DOI: 10.1136/gut.2010.212423]
- 2 Sadowski DC, Ackah F, Jiang B, Svenson LW. Achalasia: incidence, prevalence and survival. A population-based study. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: e256-e261 [PMID: 20465592 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01511.x]
- 3 Gennaro N, Portale G, Gallo C, Rocchietto S, Caruso V, Costantini M, Salvador R, Ruol A, Zaninotto G. Esophageal achalasia in the Veneto region: epidemiology and treatment. *Epidemiology and treatment of achalasia. J Gastrointest Surg* 2011; 15: 423-428 [PMID: 21116729 DOI: 10.1007/s11605-010-1392-7]
- 4 Marlais M, Fishman JR, Fell JM, Haddad MJ, Rawat DJ. UK incidence of achalasia: an 11-year national epidemiological study. *Arch Dis Child* 2011; 96: 192-194 [PMID: 20515971 DOI: 10.1136/adc.2009.171975]
- 5 Enestvedt BK, Williams JL, Sonnenberg A. Epidemiology and practice patterns of achalasia in a large multi-centre database. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1209-1214 [PMID: 21480936 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04655.x]
- 6 Birgisson S, Richter JE. Achalasia: what's new in diagnosis and treatment? *Dig Dis* 1997; 15 Suppl 1: 1-27 [PMID: 9177942]
- 7 Ghoshal UC, Daschakraborty SB, Singh R. Pathogenesis

应用要点

本文较详尽的讲述了贲门失弛缓症发病机制的研究进展, 能够较好的指导研究者进行下一步研究, 从而研发出更有效的治疗方案, 指导临床疗效.

■ 名词解释

PTPN22 基因:
位于染色体
1p13.3-p13, 一种
与自身免疫性疾
病相关的区域。主
要涉及自身免疫
甲状腺病、白癜
风、类风湿性关
节炎。

- of achalasia cardia. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3050-3057 [PMID: 22791940 DOI: 10.3748/wjg.v18.i24.3050]
- 8 Collman PI, Tremblay L, Diamant NE. The central vagal efferent supply to the esophagus and lower esophageal sphincter of the cat. *Gastroenterology* 1993; 104: 1430-1438 [PMID: 8387041]
- 9 Goyal RK, Rattan S. Nature of the vagal inhibitory innervation to the lower esophageal sphincter. *J Clin Invest* 1975; 55: 1119-1126 [PMID: 164484]
- 10 Goyal RK, Rattan S, Said SI. VIP as a possible neurotransmitter of non-cholinergic non-adrenergic inhibitory neurones. *Nature* 1980; 288: 378-380 [PMID: 6107863]
- 11 Crist J, Gidda JS, Goyal RK. Intramural mechanism of esophageal peristalsis: roles of cholinergic and noncholinergic nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81: 3595-3599 [PMID: 6587375]
- 12 Higgs B, Kerr FW, Ellis FH. The experimental production of esophageal achalasia by electrolytic lesions in the medulla. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1965; 50: 613-625 [PMID: 5843968]
- 13 Cassella RR, Ellis FH, Brown AL. Fine-Structure Changes in Achalasia of the Esophagus. I. Vagus Nerves. *Am J Pathol* 1965; 46: 279-288 [PMID: 14256751]
- 14 Duntemann TJ, Dresner DM. Achalasia-like syndrome presenting after highly selective vagotomy. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2081-2083 [PMID: 7555468]
- 15 Khajanchee YS, VanAndel R, Jobe BA, Barra MJ, Hansen PD, Swanstrom LL. Electrical stimulation of the vagus nerve restores motility in an animal model of achalasia. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 843-849; discussion 849 [PMID: 14592656]
- 16 Holloway RH, Dodds WJ, Helm JF, Hogan WJ, Dent J, Arndorfer RC. Integrity of cholinergic innervation to the lower esophageal sphincter in achalasia. *Gastroenterology* 1986; 90: 924-929 [PMID: 3949120]
- 17 Gockel HR, Gockel I, Schimanski CC, Schier F, Schumacher J, Nöthen MM, Lang H, Müller M, Eckardt AJ, Eckardt VF. Etiopathological aspects of achalasia: lessons learned with Hirschsprung's disease. *Dis Esophagus* 2012; 25: 566-572 [PMID: 22050474 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01277.x]
- 18 Villanacci V, Annese V, Cuttitta A, Fisogni S, Scaramuzzi G, De Santo E, Corazzi N, Bassotti G. An immunohistochemical study of the myenteric plexus in idiopathic achalasia. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 407-410 [PMID: 19834336 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181bc9ebf]
- 19 Goldblum JR, Rice TW, Richter JE. Histopathologic features in esophagomyotomy specimens from patients with achalasia. *Gastroenterology* 1996; 111: 648-654 [PMID: 8780569]
- 20 Qualman SJ, Haupt HM, Yang P, Hamilton SR. Esophageal Lewy bodies associated with ganglion cell loss in achalasia. Similarity to Parkinson's disease. *Gastroenterology* 1984; 87: 848-856 [PMID: 6088351]
- 21 Casselbrant A, Kostic S, Lönroth H. The muscular expression of RAS in patients with achalasia. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2014 Jan 27. [Epub ahead of print] [PMID: 24468662]
- 22 Casselbrant A, Edebo A, Wennerblom J, Lönroth H, Helander HF, Vieth M, Lundell L, Fändriks L. Actions by angiotensin II on esophageal contractility in humans. *Gastroenterology* 2007; 132: 249-260 [PMID: 17241875]
- 23 Brzozowski T, Ptak-Belowska A, Kwiecien S, Krzysiek-Maczka G, Strzalka M, Drozdowicz D, Pajdo R, Olszanecki R, Korbut R, Konturek SJ, Pawlik WW. Novel concept in the mechanism of injury and protection of gastric mucosa: role of renin-angiotensin system and active metabolites of angiotensin. *Curr Med Chem* 2012; 19: 55-62 [PMID: 22300076]
- 24 Boeckstaens GE. Achalasia: virus-induced euthanasia of neurons? *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1610-1612 [PMID: 18557706 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01967.x]
- 25 Brun P, Giron MC, Zoppellaro C, Bin A, Porzionato A, De Caro R, Barbara G, Stanghellini V, Corinaldesi R, Zaninotto G, Palù G, Gaion RM, Tonini M, De Giorgio R, Castagliuolo I. Herpes simplex virus type 1 infection of the rat enteric nervous system evokes small-bowel neuromuscular abnormalities. *Gastroenterology* 2010; 138: 1790-1801 [PMID: 20102717 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.036]
- 26 Facco M, Brun P, Baesso I, Costantini M, Rizzetto C, Berto A, Baldan N, Palù G, Semenzato G, Castagliuolo I, Zaninotto G. T cells in the myenteric plexus of achalasia patients show a skewed TCR repertoire and react to HSV-1 antigens. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1598-1609 [PMID: 18557707 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01956.x]
- 27 Castagliuolo I, Brun P, Costantini M, Rizzetto C, Palù G, Costantino M, Baldan N, Zaninotto G. Esophageal achalasia: is the herpes simplex virus really innocent? *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 24-30; discussion 30 [PMID: 14746832]
- 28 de Oliveira RB, Rezende Filho J, Dantas RO, Iazigi N. The spectrum of esophageal motor disorders in Chagas' disease. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1119-1124 [PMID: 7611209]
- 29 Booy JD, Takata J, Tomlinson G, Urbach DR. The prevalence of autoimmune disease in patients with esophageal achalasia. *Dis Esophagus* 2012; 25: 209-213 [PMID: 21899655 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01249.x]
- 30 Ruiz-de-León A, Mendoza J, Sevilla-Mantilla C, Fernández AM, Pérez-de-la-Serna J, González VA, Rey E, Figueredo A, Díaz-Rubio M, De-la-Concha EG. Myenteric antiplexus antibodies and class II HLA in achalasia. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 15-19 [PMID: 11837716]
- 31 Moses PL, Ellis LM, Anees MR, Ho W, Rothstein RI, Meddings JB, Sharkey KA, Mawe GM. Antineuronal antibodies in idiopathic achalasia and gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 2003; 52: 629-636 [PMID: 12692044]
- 32 Latiano A, De Giorgio R, Volta U, Palmieri O, Zagaria C, Stanghellini V, Barbara G, Mangia A, Andriulli A, Corinaldesi R, Annese V. HLA and enteric antineuronal antibodies in patients with achalasia. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 520-525 [PMID: 16771767]
- 33 Im SK, Yeo M, Lee KJ. Proteomic identification of proteins suggestive of immune-mediated response or neuronal degeneration in serum of achalasia patients. *Gut Liver* 2013; 7: 411-416

- [PMID: 23898380 DOI: 10.5009/gnl.2013.7.4.411]
- 34 Goin JC, Sterin-Borda L, Bilder CR, Varrica LM, Iantorno G, Ríos MC, Borda E. Functional implications of circulating muscarinic cholinergic receptor autoantibodies in chagasic patients with achalasia. *Gastroenterology* 1999; 117: 798-805 [PMID: 10500061]
 - 35 Wong RK, Maydonovitch CL, Metz SJ, Baker JR. Significant DQw1 association in achalasia. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 349-352 [PMID: 2920639]
 - 36 Verne GN, Hahn AB, Pineau BC, Hoffman BJ, Wojciechowski BW, Wu WC. Association of HLA-DR and -DQ alleles with idiopathic achalasia. *Gastroenterology* 1999; 117: 26-31 [PMID: 10381906]
 - 37 Alahdab YO, Eren F, Giral A, Gunduz F, Kedrah AE, Atug O, Yilmaz Y, Kalayci O, Kalayci C. Preliminary evidence of an association between the functional c-kit rs6554199 polymorphism and achalasia in a Turkish population. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 27-30 [PMID: 21951831 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01793.x]
 - 38 Paladini F, Cocco E, Cascino I, Belfiore F, Badiali D, Piretta L, Alghisi F, Anzini F, Fiorillo MT, Corazzari E, Sorrentino R. Age-dependent association of idiopathic achalasia with vasoactive intestinal peptide receptor 1 gene. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 597-602 [PMID: 19309439 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01284.x]
 - 39 de León AR, de la Serna JP, Santiago JL, Sevilla C, Fernández-Arquero M, de la Concha EG, Nuñez C, Urcelay E, Vigo AG. Association between idiopathic achalasia and IL23R gene. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 734-738. e218 [PMID: 20367798 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01497.x]
 - 40 Jawaheer D, Seldin MF, Amos CI, Chen WV, Shigeta R, Etzel C, Damle A, Xiao X, Chen D, Lum RF, Monteiro J, Kern M, Criswell LA, Albani S, Nelson JL, Clegg DO, Pope R, Schroeder HW, Bridges SL, Pisetsky DS, Ward R, Kastner DL, Wilder RL, Pincus T, Callahan LF, Flemming D, Wener MH, Gregersen PK. Screening the genome for rheumatoid arthritis susceptibility genes: a replication study and combined analysis of 512 multicase families. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 906-916 [PMID: 12687532]
 - 41 van Oene M, Wintle RF, Liu X, Yazdanpanah M, Gu X, Newman B, Kwan A, Johnson B, Owen J, Greer W, Mosher D, Maksymowych W, Keystone E, Rubin LA, Amos CI, Siminovitch KA. Association of the lymphoid tyrosine phosphatase R620W variant with rheumatoid arthritis, but not Crohn's disease, in Canadian populations. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1993-1998 [PMID: 15986374]
 - 42 Santiago JL, Martínez A, Benito MS, Ruiz de León A, Mendoza JL, Fernández-Arquero M, Figueredo MA, de la Concha EG, Urcelay E. Gender-specific association of the PTPN22 C1858T polymorphism with achalasia. *Hum Immunol* 2007; 68: 867-870 [PMID: 17961776]
 - 43 De la Concha EG, Fernandez-Arquero M, Mendoza JL, Conejero L, Figueredo MA, Perez de la Serna J, Diaz-Rubio M, Ruiz de Leon A. Contribution of HLA class II genes to susceptibility in achalasia. *Tissue Antigens* 1998; 52: 381-384 [PMID: 9820602]
 - 44 Boeckxstaens GE, Zaninotto G, Richter JE. Achalasia. *Lancet* 2014; 383: 83-93 [PMID: 23871090 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60651-0]
 - 45 De Giorgio R, Di Simone MP, Stanghellini V, Barbara G, Tonini M, Salvioli B, Mattioli S, Corinaldesi R. Esophageal and gastric nitric oxide synthesizing innervation in primary achalasia. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2357-2362 [PMID: 10483991]
 - 46 Vigo AG, Martínez A, de la Concha EG, Urcelay E, Ruiz de León A. Suggested association of NOS2A polymorphism in idiopathic achalasia: no evidence in a large case-control study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1326-1327 [PMID: 19337240 DOI: 10.1038/ajg.2009.72]
 - 47 Pozo D, Delgado M. The many faces of VIP in neuroimmunology: a cytokine rather a neuropeptide? *FASEB J* 2004; 18: 1325-1334 [PMID: 15333575]
 - 48 Gonzalez-Rey E, Chorny A, Fernandez-Martin A, Ganea D, Delgado M. Vasoactive intestinal peptide generates human tolerogenic dendritic cells that induce CD4 and CD8 regulatory T cells. *Blood* 2006; 107: 3632-3638 [PMID: 16397128]
 - 49 Voice JK, Dorsam G, Chan RC, Grininger C, Kong Y, Goetzl EJ. Immunoefector and immunoregulatory activities of vasoactive intestinal peptide. *Regul Pept* 2002; 109: 199-208 [PMID: 12409234]
 - 50 Hollis-Moffatt JE, Merriman ME, Rodger RA, Rowley KA, Chapman PT, Dalbeth N, Gow PJ, Harrison AA, Highton J, Jones PB, O'Donnell JL, Stamp LK, Merriman TR. Evidence for association of an interleukin 23 receptor variant independent of the R381Q variant with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1340-1344 [PMID: 18647855 DOI: 10.1136/ard.2008.090142]

同行评价

本文清晰的阐述了有关贲门失弛缓症的发病机制的研究近况, 对今后的研究方向、探索新的治疗药物有一定的指导意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



胆汁酸核受体FXR在非酒精性脂肪性肝病中的作用

陈徐佳, 马岚青

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为一个全球关注的健康问题,至今发病机制仍未阐明,尚无有效药物治疗手段。近年来研究显示胆汁酸(bile acid, BA)核受体法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)参与调控胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、脂质代谢异常等NAFLD的重要环节。提示FXR可能是NAFLD的治疗靶点。目前,FXR应用于NAFLD仍存有争议。

■同行评议者

郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

陈徐佳, 马岚青, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省消化疾病研究所 云南省昆明市 650032
陈徐佳, 在读硕士, 主要从事非酒精性脂肪性肝病的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81160060
作者贡献分布: 本文综述由陈徐佳完成; 马岚青审校。
通讯作者: 马岚青, 副教授, 副主任医师, 650032, 云南省昆明市五华区西昌路295路, 昆明医科大学第一附属医院消化内科, 云南省消化疾病研究所。malanqing@aliyun.com
电话: 0871-65316883
收稿日期: 2014-12-03 修回日期: 2015-01-19
接受日期: 2015-01-23 在线出版日期: 2015-03-18

Role of farnesoid X receptor in nonalcoholic fatty liver disease

Xu-Jia Chen, Lan-Qing Ma

Xu-Jia Chen, Lan-Qing Ma, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Institute of Digestive Disease, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160060

Correspondence to: Lan-Qing Ma, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Institute of Digestive Disease, 295 Xichang Road, Wuhua District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. malanqing@aliyun.com

Received: 2014-12-03 Revised: 2015-01-19

Accepted: 2015-01-23 Published online: 2015-03-18

Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by the aberrant accumulation of triglycerides in hepatocytes in the absence of significant alcohol consumption, viral infection or other specific causes of liver disease. NAFLD has become a global health problem, but its pathogenesis remains poorly understood and no efficient pharmaceutical

treatments have yet been established. The farnesoid X receptor (FXR) is a member of nuclear receptors of intracellular ligand-activated transcription factors and plays an important role in metabolism of bile acids, lipid and glucose. In addition, it has been recently reported that FXR participates in regulating insulin resistance and lipid metabolic disorder, inhibiting the activation of hepatic stellate cells and penetration of inflammatory cells, and promoting the enterohepatic circulation and regeneration of liver cells to defer liver fibrosis, which is significant for NAFLD. Several FXR agonists have been identified and proved to be optimistic in preventing and treating NAFLD both experimentally and clinically, indicating that FXR may be a therapeutic target for NAFLD. The use of FXR in NAFLD remains controversial currently.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: BAs; Nonalcoholic fatty liver disease; Farnesoid X receptor; FXR agonist

Chen XJ, Ma LQ. Role of farnesoid X receptor in nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1258-1265 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1258.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1258>

摘要

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝细胞脂肪变性和脂质沉积为特征,但无过量饮酒史、排外病毒感染和其他原因引起的肝脏疾病。NAFLD已成为一个全球关注的健康问题,其发病机

制仍未阐明, 尚无有效的药物治疗手段. 法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是需配体激活的转录因子, 在胆汁酸、糖脂代谢中起着重要的调节作用. 近年来研究显示FXR参与调控胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、脂质代谢异常、抑制肝星状细胞活化及炎症细胞渗入、促进肝内循环及肝细胞再生、延缓肝纤维化进程等NAFLD的重要环节. 动物实验和临床研究也证实, FXR激动剂有延缓、治疗NAFLD的作用. 提示FXR可能是NAFLD的潜在治疗靶点. 目前, FXR应用于NAFLD仍存有争议.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆汁酸; 非酒精性脂肪性肝病; FXR; FXR激动剂

核心提示: 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病机制复杂, 尚无有效药物治疗手段. 法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)为多效性的胆汁酸核受体, 不仅调节糖脂代谢, 同时参与调控胰岛素抵抗、脂质代谢异常等NAFLD的重要环节. 近年来, 国内外实验和临床研究发现FXR具有抗NAFLD的作用, 提示FXR可能成为治疗NAFLD的作用靶点.

陈徐佳, 马岚青. 胆汁酸核受体FXR在非酒精性脂肪性肝病中的作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1258-1265 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1258.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1258>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝细胞脂肪变性和脂质沉积为特征, 但无过量饮酒史的临床综合征, 与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、代谢综合征密切相关, 疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)及其相关肝硬化和肝细胞癌. 普通成年人群患病率高达15%-30%^[1], 是我国临床上最常见的肝病, 其中约3%-15%^[2]的NASH患者发展为肝硬化, 是导致我国慢性肝脏损伤及死亡的常见原因之一^[1]. 目前全世界超过1千万人患有肝纤维化(liver fibrosis, LF), 随着NAFLD发病率的上升, 未来10-15年LF患者将增至目前的3倍^[3]. NAFLD发病机制复杂, 尚无有效药物治疗手

段, 对于进展为终末期肝病的患者, 肝移植是唯一有效的治疗方法^[4], 但受肝源和经济等限制. 因此, 早期防治是提高NAFLD患者生存率和生活质量的关键^[5].

法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是具有配体活性的核受体超家族成员^[6], 在肝脏、回肠、肾脏、肾上腺中高度表达^[7], 最早于1995年在小鼠肝脏cDNA文库中克隆发现, 因其转录活性可被生理浓度的法尼酯增强而命名. 1999年发现生理水平的胆汁酸(bile acid, BA)是FXR的内源性配体, 因此FXR又称为BA受体. 法尼醇是最初发现的FXR激动剂, 之后鹅脱氧胆酸、脱氧胆酸、石胆酸、GW4064、INT-747和WAY-362450也被证实为FXR重要的激动剂^[8]. FXR不仅是调节糖脂代谢的重要因子, 而且作为一种信号分子参与胰岛素信号转导、氧化应激、炎症、肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化等重要过程^[9,10]. FXR基因敲除小鼠表现为高脂血症, 高糖血症, BA超负荷, 肝脏炎症及脂肪病变甚至LF^[11-14]. 此外, 发现NAFLD患者FXR表达下降, 可能与IR、肝脏脂肪病变有关^[15], 且使用FXR激动剂可改善, 提示FXR可能是NAFLD的潜在治疗靶点.

1 FXR调控BA代谢

BA是胆固醇在胆固醇7 α -羟化酶(cholesterol-7 α -hydroxylase, CYP7A1)的作用下合成的终产物, 经胆管进入胆囊储存, 进餐后分泌至小肠, 约95%的BA经回肠末端被重吸收, 仅5%经粪便排出体外. 当体内BA超负荷时对肝细胞毒性增加, 可能引起肝细胞氧化应激、炎症、坏死、LF甚至肝硬化. 近期一项研究^[16]也提出BA的合成以及血清中BA浓度与NAFLD的病情严重程度相关. BA不仅有助于脂类和维生素的吸收与转运、抑制胆固醇析出形成结石, 而且作为一种信号分子激活核受体FXR调节糖脂代谢、肝内循环、发挥抗炎、抗纤维化^[17]、促进肝细胞再生^[18]、调控肿瘤形成等作用^[19]. FXR具有典型的核受体结构, 羧基末端具有配体结合域(ligand binding domain, LBD)和配体依赖性转录激活功能区, 氨基末端具有高度保守的DNA结合区(DNA binding domain, DBD)和配体非依赖性转录激活功能区. 当体内BA超负荷时, BA与FXR的LBD结合增加并诱导FXR变构, 进而与视黄醇衍生物受体结合形成异源二聚体, 借助其

■ 研究前沿

目前FXR抗NAFLD研究热点、重点是FXR激动剂抗NAFLD的作用机制, 以及何种FXR对NAFLD是有效地, 如何阻断FXR激动带来的不良反应, 单一用药还是联合其他药物效果好, 且FXR抗NAFLD的证据大多来源于临床前期研究, 需要更多的临床证据支持.

■ 相关报道

Mudaliar等在NAFLD患者中开展INT-747的Ⅱ期临床实验,证实25、50 mg INT-747用于患者是安全的,且能增加胰岛素敏感性、降低炎症及纤维化相关指标,并提出FXR激动后带来的安全问题,FXR抗NAFLD的证据仍需开展长期及更全面的临床研究。

DBD结合至FXR目的基因上游的启动子的反向重复序列^[20,21],主要通过调节以下靶基因的表达,来实现BA的反馈调节:(1)小异二聚体伴侣(small heterodimer partner, SHP),FXR激活后诱导SHP的表达,进而SHP促进与肝脏核受体-4(hepatic nuclear factor-4, HNF-4)、肝受体同源物-1(liver receptor homolog-1, LRH-1)结合的共活化物的分离使其失活,从而降低HNF-4、LRH-1对CYP7A1的转录活化作用,最终抑制BA的生成;(2)FXR可刺激多重耐药相关蛋白2(multidrug resistance-associated protein 2, MRP2)、MRP3、胆酸盐输出泵、组织相容性转运体(organic solute transporter α - β , OST α -OST β)的表达,使BA输出增多;上调回肠BA结合蛋白,增加肠腔对BA的重吸收;同时下调钠离子依赖性牛磺胆酸钠协同转运蛋白的表达,减少胆汁在肝的重吸收,从而调控体内BA稳态^[22];(3)FXR诱导人肠道成纤维生长因子-19(fibroblast growth factor-19, FGF-19)的表达或在小鼠诱导FGF-15的产生^[23],与相应的成纤维细胞生长因子受体-4(fibroblast growth factor receptor 4, FGFR-4)结合,通过JNK(c-Jun N-terminal kinase)信号途径下调CYP7A1的表达而抑制BA的合成。FXR通过以上途径反馈调节BA的生成,加速BA的生物转化与排泄,避免肝细胞内BA超负荷和过多堆积所引起的组织损伤。此外,体内BA升高时FXR被BA激活,诱导调控细胞周期的转录因子Foxmlb(forkhead box M1b)的表达,提高肝细胞DNA复制,从而促进肝脏的再生,抵抗BA超负荷的潜在毒性^[24]。由此可见,FXR在BA代谢、维持BA的内稳态和保护肝功能免受BA毒性损害的核心作用。

2 FXR调控脂质代谢

2.1 FXR与胆固醇代谢 在肝细胞中,胆固醇代谢包括胆固醇从头合成,以低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和乳糜微粒(chylomicron, CM)的形式摄取,以极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)分泌至血清中,此过程依赖胆汁的分泌及BA的合成。研究表明肝脏中胆固醇的沉积在NAFLD的进展中起着关键的作用。FXR通过调控胆固醇及脂蛋白代谢相关基因,如VLDL受体(very low density lipoprotein receptor, VLDLR),前蛋

白转化酶枯草溶菌素-9(proprotein convertase subtilisin kexin type 9, PCSK9),肝脏清道夫受体(scavenger receptor group B type 1, SRB1),从而调节胆固醇代谢。FXR基因敲除小鼠的血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)升高^[25]。相反的,给予FXR激动剂,SRB1的表达增加,PCSK9活性降低,使胆固醇酯清除率增加而降低血清HDL-C水平^[26,27]。NAFLD患者的FXR表达下降,诱导VLDLR、集群分化蛋白-36(cluster differentiation protein-36, CD-36)的表达,抑制SRB1的表达^[28],通过抑制胆固醇的摄取及合成,增加胆固醇的分泌,维持胆固醇代谢稳态。由此可见,FXR在胆固醇代谢中的重要作用。磷脂转运蛋白(phosphor lipid transfer protein, PLTP)主要存在于肝脏和小肠,具有促进肝脏可溶性物质交换和运输的作用,FXR激活后可活化PLTP,介导磷脂和胆固醇从富含TG的脂蛋白向高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)转运,维持血浆HDL的水平。此外,FXR激动后抑制胆固醇生成BA,增加了肝脏的结合反应能力和胆管分泌,从而减少肝脏中有毒物质的积累而导致的组织损伤^[29],有效延缓LF及坏死进程,为治疗肝脏胆固醇性疾病如原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、LF等疾病提供了新思路。

2.2 FXR调节TG代谢 FXR对血浆和肝脏TG的调节主要通过两个途径:一是抑制肝脏合成新的脂肪。FXR通过诱导SHP的表达,下调肝脏X受体(liver X receptor, LXR)、固醇调节元件结合蛋白-1C(sterol regulatory element-binding protein-1C, SREBP-1C)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)的表达^[15],活化脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL),抑制TG的合成和脂肪细胞释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),并促进TG的分解和脂肪酸(fatty acids, FA)的氧化^[30,31],最终减少脂肪的生物合成^[32,33]和肝脏中TG的堆积,调节脂质代谢稳态;另一个途径是降解血浆中的TG,主要通过调控与其代谢密切相关的酶类以及一些重要脂蛋白和相应受体的表达来发挥作用。如FXR可诱导多配体聚糖(syndecan-1, SDC1)的转录,通过LPL、载脂蛋白E(apolipoprotein E, ApoE)等与脂蛋白相连,在肝脏清除脂蛋白残粒中发挥作用,最终降低血浆TG^[34]。LPL是清

除血浆脂蛋白中所含TG的限速酶, 其活性受到脂蛋白的调控。载脂蛋白C-III(apolipoprotein C-III, ApoC-III)抑制该酶活性, 载脂蛋白C-II (apolipoprotein C-II, ApoC-II)和载脂蛋白A-V (apolipoprotein A-V, ApoA-V)增强酶活性^[35]。FXR激动后抑制ApoC-III的表达, 上调肝细胞ApoC-II、VLDLR的表达, 增加外周组织对胆固醇的吸收利用, 增强ApoA-V启动子的活性, 从而促进LPL介导的TG分解, 增加CM的清除率, 改善肝脏TG的堆积, 同时抑制游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)的生成和肝细胞VLDL的分泌^[36], 改善脂质代谢异常。高脂饮食诱导的NASH小鼠模型, FXR基因敲除小鼠较野生型, 表现为更严重的肝脏脂肪变性、肝细胞气球样变、肝小叶炎症及胆红素堆积, 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、BA水平增加, 给予FXR激动剂后改善。此外, 近年来发现NAFLD患者的FXR表达下降, 使SREBP-1C抑制TG的合成作用减弱, 加重肝脏脂质沉积, 由此可见FXR在脂质代谢中的重要作用。胆酸和GW4064是率先被证实具备调节TG合成能力的FXR激动剂。将GW4064用于SHP基因敲除小鼠, 发现GW4064可活化FXR并诱导SHP的表达, 下调SREBP-1C的表达和降低FAS的活性, 从而抑制TG的生物合成。魏钰等^[37]发现FXR在NAFLD患者中表达受抑, 其受体激动剂GW4064可明显减少脂肪病变的肝细胞中脂滴和TG含量, 显著改善肝细胞脂肪病变。此外, 发现FXR激动剂WAY-362450可显著改善果糖诱导的肝脏脂肪病变, 提示FXR在预防肝脏TG堆积方面具有多效性^[38]。

2.3 FXR与糖代谢 作为多效性的BA受体, FXR不仅参与BA、脂质代谢, 同时也参与调控糖原代谢稳态^[39]。研究^[32]已证实BA和FXR在糖代谢中的重要作用, 但具体的机制尚未阐明。FXR可活化FXR上的效应元件即葡萄糖载体-4(glucose transporter 4, GLUT-4)启动子, 诱导GLUT-4的表达^[40], 促进外周组织摄取利用葡萄糖, 抑制糖异生, 同时下调丙酮酸激酶的表达从而抑制糖酵解^[41], 促进糖原储存, 调控糖原合成与分解^[5]; 增加脂肪细胞以及外周组织对脂肪的摄取及利用, 抑制脂肪的从头合成, 降低血清TG、胆固醇水平; 增加外周组织对胰岛素的敏感性^[13], 诱导胰岛细胞分泌胰岛素, 最终改善IR, 调控糖原稳态。FXR基因敲除

小鼠由于缺失FXR, 对糖异生的抑制作用和外周组织对糖原的处理能力减弱而表现为糖耐量^[13,33,42]和胰岛素敏感性降低, 从而扰乱糖原稳态。有学者^[30]认为FXR激动后抑制磷酸烯醇式丙酮酸羧基酶和葡萄糖-6-磷酸酶的表达, 抑制糖异生, 诱导脂肪细胞的胰岛素信号转导和增加胰岛素刺激下的糖原摄取, 从而增加外周组织对血糖的利用, 降低血糖水平。由此可见, FXR用于治疗存在高糖血症及高脂血症的NAFLD患者可能是有效的。

3 FXR对NAFLD的作用机制

3.1 FXR改善IR IR是NAFLD发生及发展的重要环节, 因胰岛素易感底物-2(insulin-responsive substrate-2, IRS-2)异常的丝/苏氨酸磷酸化作用(生理性酪氨酸磷酸化消失)导致。由于IR, 外周组织摄取及利用葡萄糖障碍, 加之胰岛素对糖异生抑制作用减弱, 肝糖原过度合成, 导致高糖血症; 其次胰岛素对脂肪分解的抑制作用减弱^[43,44], 血清中FFA增加, 增加了糖原依赖的脂肪合成, 加重肝脏脂肪的沉积。FXR参与胰岛素的信号传导, 当胰岛素信号通路受抑可能导致BA激动FXR的能力减弱, 增加罹患NAFLD的风险^[45]。FXR基因敲除小鼠表现为IR, 使用FXR激动剂后肝脏和外周组织中的IRS-2酪氨酸磷酸化水平增加, 胰岛素的敏感性增加, 表现为血糖下降^[27,46]。过氧化物酶体增生激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)激动剂噻唑烷酮类是临床上改善IR的常用药物。临床研究发现罗格列酮可增加胰岛素敏感性, 显著改善NASH患者的肝细胞损伤, 肝小叶炎症、肝脏脂肪病变及LF^[47,48]。尽管这些有利的作用, 由于使用后患者体质量增加的发生率高达10%, 噻唑烷酮类仍不能作为NASH患者的常规治疗药物。Cipriani等^[7]通过对比10 mg/kg的INT-747与同等剂量的罗格列酮治疗肥胖小鼠的疗效差异, 发现INT-747实验组小鼠的血糖、TG、FFA、HDL下降, 改善了肝脏、肌肉的脂肪沉积, 增加IRS-2的酪氨酸磷酸化作用, 使胰岛素敏感性增加, 体质量无显著变化。罗格列酮对照组TG、血糖、FFA下降、除LDL、HDL外的胆固醇脂蛋白水平下降, 体质量指数增加了20%且未改善脂质代谢障碍, 证实FXR能改善IR, 缓解肝脏脂肪病变。因此FXR治疗NASH可能

■创新盘点

本文较为全面地综述了“BA核受体FXR在NAFLD中的作用”, 内容比较全面, 观点明确, 较为真实、科学地反映了BA核受体FXR在NAFLD中的作用与研究进展, 可指导后续的动物实验和临床研究。

应用要点

目前, FXR激动剂应用于NAFLD还存有争议, 本文就FXR抗NAFLD作用机制和FXR激动剂应用于NAFLD的相关研究作综述, 指导后续的动物实验和临床研究, 为FXR抗NAFLD提供更多的临床证据, 寻找药物治疗NAFLD的新靶点。

具有实效性, FXR激动后抑制SREBP-1C和FAS的表达, 增加肝细胞及脂肪细胞PPAR的表达, 减少脂肪的合成, 改善IR, 增加糖原的合成, 中和由于IR受损的糖原分解作用, 与噻唑烷酮类相比, FXR改善IR、脂质代谢障碍, 且不引起体质量的增加。

3.2 FXR激动剂应用于NAFLD Yang等^[15]通过对比NAFLD患者和健康人群的FXR、LXR、SHP及SREBP-1C的表达, 发现FXR通过诱导SHP的表达, 进而活化LPL和PPAR, 促进TG分解和FA的氧化, 并下调LXR、SREBP-1C以及FFA的表达^[49], 最终减少脂肪的生物合成并增加其转运, 以此调控BA、脂质代谢稳态。Zhang等^[50]研究发现, GW4064增加了胆固醇的逆向转运, 抑制肠道对胆固醇的吸收, 降低血清HDL水平。此外, Ma等^[30]将GW4064用于高脂饮食诱导的脂肪变C57BL/6小鼠, 发现GW4064上调CD36的表达, 抑制TG的合成及FFA的产生, 增加胆固醇的转运, 显著改善小鼠肝脏脂肪变, 并抑制磷酸烯醇式丙酮酸羧基酶和葡萄糖-6-磷酸酶的转录, 改善高胰岛素血症、高血糖症。INT-767, FXR和TGR5的共激动剂, 诱导小肠内分泌细胞分泌胰高血糖素样肽, 增加脂肪细胞对脂质的摄取和肝糖原合成^[13], 减少肝脏VLDL的产生, 促进外周组织对胆固醇的摄取, 从而降低TG和胆固醇水平, 该效应在糖尿病小鼠模型中得到证实^[51]。Hubbert等^[52]给予NAFLD患者口服25、50 mg INT-747 6 wk, 发现INT-747能明显改善IR、肝脏炎症及纤维化指标, 目前该药用于治疗2型糖尿病、NAFLD已进入II期临床试验。Px-102, 非类固醇类FXR激动剂, 目前已通过I期临床试验。INT-747或Obeticholic acid, 是近年研制的一种抗NAFLD的新药, 鹅脱氧胆酸的半合成衍生物, 可激动FXR发挥抗胆汁淤积和保护肝脏的作用。此外, 两项II期临床试验评价了INT-747治疗PBC的效果: (1)165例PBC患者给予随机口服15、25、50 mg不同剂量的INT-747 12 wk, 与安慰剂对照组相比实验组碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)、ALT、 γ 谷氨酰胺转移酶(gamma glutamyl transferase, GGT)明显下降, 50 mg治疗组约33.3%的患者出现了严重的消化系不良反应, 提示50 mg不能作为治疗胆汁淤积性肝病的起始治疗剂量。165例患者中超过50%出现瘙

痒症, 瘙痒既是PBC的常见症状, 也是不容忽视的不良反应之一^[53]; (2)Kowdley^[54]给予PBC患者口服INT-747 10、50 mg 12 wk, 发现可显著改善肝酶、AP、PBC相关炎症及免疫标记物(C反应蛋白、TNF- α 、免疫球蛋白M)水平, 治疗组较安慰剂组更易出现瘙痒, 且发生率随INT-747剂量增加, 未见消化系不良反应。由此可见, INT-747可减轻肝脏损伤, 改善肝脏炎症及组织学改变, 延缓PBC进程并改善其预后, 基于II期临床试验的成果, III期临床试验已启动, INT-747的临床治疗效果及不良反应等仍待进一步研究。

4 FXR应用于NAFLD的争议

FXR激动后也同样带来一定的不良反应。旁氧代酶-1(paraoxonase-1, PON1)由肝脏分泌并与HDL形成复合物而被转运, FXR诱导FGF15/19的分泌, 抑制肝脏PON1、CYPTA1的表达^[55,56]及载脂蛋白A-I (apolipoprotein A-I, ApoA-I)的合成, ApoA-I是HDL的组成蛋白, 从而降低HDL-C。与野生型小鼠相比, FXR基因敲除小鼠的血清HDL-C、非HDL-C和TG升高^[57,58]。有学者则认为FXR基因敲除小鼠, 因丧失FXR活性, 使SRB1介导的选择性清除HDL-C的作用减弱, 血清LDL下降, 而HDL升高^[59]。此外, FXR可诱导VLDLR的表达, 增加LPL介导的TG的分解、VLDL及CM的清除, 上调SHP的表达, 活化的SHP与LRH-1结合并使之失活, 从而降低LRH-1对CYP7A1转录活化作用, 抑制BA的生物合成, 改善肝脏TG的沉积, 但是一定程度上升高血清LDL, 加重肝脏脂质代谢障碍, 且HDL水平降低增加了罹患动脉粥样硬化的风险。在饮食诱导的肥胖小鼠模型中, 发现FXR的缺失可抵御体质量的增加^[60], 改善高血糖症, 修复糖耐量受损, 可能与增加了能量消耗有关^[11]。Watanabe等^[61]也提出GW4064导致BA合成减少, 降低能量消耗, 导致IR及体质量增加。因此, FXR激动剂的有效性和安全性仍待进一步的研究。

5 结论

目前, 大量证据表明FXR可改善IR、脂质代谢障碍, 抑制LF、肝癌进展的炎症反应及纤维化过程, FXR可被特定激动剂激活, 可能成为药物治疗NAFLD的作用靶点。值得注意的是

如何阻断FXR激动后升高LDL, 降低HDL的不良反应, 还有何种FXR激动剂对NAFLD是有效地, 单一用药还是联合其他药物效果好, 且FXR抗NAFLD的证据大多来源于临床前期研究, 需要更多的临床证据支持. 我们期待学者做出更有说服力的研究, 解决尚存的问题, 为NAFLD的治疗提供新思路.

6 参考文献

- Xiao J, Guo R, Fung ML, Liong EC, Tipoe GL. Therapeutic approaches to non-alcoholic fatty liver disease: past achievements and future challenges. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 125-135 [PMID: 23558065 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60021-1]
- Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4: 686-693 [PMID: 15084161 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00432.x]
- Balsano C, Alisi A, Nobili V. Liver fibrosis and therapeutic strategies: the goal for improving metabolism. *Curr Drug Targets* 2009; 10: 505-512 [PMID: 19519352 DOI: 10.2174/138945009788488459]
- Stewart CA, Malinchoc M, Kim WR, Kamath PS. Hepatic encephalopathy as a predictor of survival in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl* 2007; 13: 1366-1371 [PMID: 17520742 DOI: 10.1002/lt.21129]
- Pérez Blanco LA, Vilar Gómez E, Martínez Pérez Y, Calzadilla Bertot L. [Nonalcoholic fatty liver disease. A current perspective]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2013; 43: 254-260 [PMID: 24303694]
- Zhu Y, Li F, Guo GL. Tissue-specific function of farnesoid X receptor in liver and intestine. *Pharmacol Res* 2011; 63: 259-265 [PMID: 21211565 DOI: 10.1016/j.phrs.2010.12.018]
- Cipriani S, Mencarelli A, Palladino G, Fiorucci S. FXR activation reverses insulin resistance and lipid abnormalities and protects against liver steatosis in Zucker (fa/fa) obese rats. *J Lipid Res* 2010; 51: 771-784 [PMID: 19783811 DOI: 10.1194/jlr.M001602]
- Hageman J, Herrema H, Groen AK, Kuipers F. A role of the bile salt receptor FXR in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1519-1528 [PMID: 20631352 DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.197897]
- Sugden MC, Holness MJ. Role of nuclear receptors in the modulation of insulin secretion in lipid-induced insulin resistance. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 891-900 [PMID: 18793157 DOI: 10.1042/BST0360891]
- Bensinger SJ, Tontonoz P. Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. *Nature* 2008; 454: 470-477 [PMID: 18650918 DOI: 10.1038/nature07202]
- Bjursell M, Wedin M, Admyre T, Hermansson M, Böttcher G, Göransson M, Lindén D, Bamberg K, Oscarsson J, Bohlooly-Y M. Ageing Fxr deficient mice develop increased energy expenditure, improved glucose control and liver damage resembling NASH. *PLoS One* 2013; 8: e64721 [PMID: 23700488 DOI: 10.1371/journal.pone.0064721]
- Kong B, Luyendyk JP, Tawfik O, Guo GL. Farnesoid X receptor deficiency induces nonalcoholic steatohepatitis in low-density lipoprotein receptor-knockout mice fed a high-fat diet. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328: 116-122 [PMID: 18948497 DOI: 10.1124/jpet.108.144600]
- Ma K, Saha PK, Chan L, Moore DD. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2006; 116: 1102-1109 [PMID: 16557297 DOI: 10.1172/JCI25604]
- Watanabe M, Houten SM, Wang L, Moschetta A, Mangelsdorf DJ, Heyman RA, Moore DD, Auwerx J. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J Clin Invest* 2004; 113: 1408-1418 [PMID: 15146238 DOI: 10.1172/JCI21025]
- Yang ZX, Shen W, Sun H. Effects of nuclear receptor FXR on the regulation of liver lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int* 2010; 4: 741-748 [PMID: 21286345 DOI: 10.1007/s12072-010-9202-6]
- Bechmann LP, Kocabayoglu P, Sowa JP, Sydor S, Best J, Schlattjan M, Beilfuss A, Schmitt J, Hannivoort RA, Kilicarslan A, Rust C, Berr F, Tschopp O, Gerken G, Friedman SL, Geier A, Canbay A. Free fatty acids repress small heterodimer partner (SHP) activation and adiponectin counteracts bile acid-induced liver injury in superobese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2013; 57: 1394-1406 [PMID: 23299969 DOI: 10.1002/hep.26225]
- Fiorucci S, Cipriani S, Mencarelli A, Baldelli F, Bifulco G, Zampella A. Farnesoid X receptor agonist for the treatment of liver and metabolic disorders: focus on 6-ethyl-CDCA. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 753-762 [PMID: 21707532]
- Chen WD, Wang YD, Meng Z, Zhang L, Huang W. Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 888-892 [PMID: 21167938 DOI: 10.1016/j.bbdis.2010.12.006]
- Koutsounas I, Giaginis C, Theocharis S. Farnesoid X Receptor (FXR) from normal to malignant state. *Histol Histopathol* 2012; 27: 835-853 [PMID: 22648540]
- Li T, Chiang JY. Nuclear receptors in bile acid metabolism. *Drug Metab Rev* 2013; 45: 145-155 [PMID: 23330546 DOI: 10.3109/03602532.2012.740048]
- Pellicciari R, Costantino G, Fiorucci S. Farnesoid X receptor: from structure to potential clinical applications. *J Med Chem* 2005; 48: 5383-5403 [PMID: 16107136 DOI: 10.1021/jm0582221]
- Landrier JF, Eloranta JJ, Vavricka SR, Kullak-Ublick GA. The nuclear receptor for bile acids, FXR, transactivates human organic solute transporter-alpha and -beta genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G476-G485 [PMID: 16269519]
- Fu L, John LM, Adams SH, Yu XX, Tomlinson E, Renz M, Williams PM, Soriano R, Corpuz R, Moffat B, Vandlen R, Simmons L, Foster J, Stephan JP, Tsai SP, Stewart TA. Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and

■名词解释

法尼醇X受体(FXR): 是具有配体活性的核受体超家族成员, 在肝脏、回肠、肾脏、肾上腺中高度表达, 生理水平的BA是FXR的内源性配体, 因此FXR又称为BA受体. 鹅脱氧胆酸、脱氧胆酸、石胆酸、GW4064、INT-747和WAY-362450为FXR重要的激动剂.

同行评价

本文综述了BA核受体FXR调控BA、糖原、脂质代谢的作用机制以及FXR激动剂应用于NAFLD的相关研究, 较为真实、科学地反映了FXR在NAFLD中的作用, 具有一定的学术价值。

- 24 于昊, 崔云甫. FXR促进肝脏再生作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2173-2178
- 25 Lambert G, Amar MJ, Guo G, Brewer HB, Gonzalez FJ, Sinal CJ. The farnesoid X-receptor is an essential regulator of cholesterol homeostasis. *J Biol Chem* 2003; 278: 2563-2570 [PMID: 12421815]
- 26 Langhi C, Le May C, Kourimate S, Caron S, Staels B, Krempf M, Costet P, Cariou B. Activation of the farnesoid X receptor represses PCSK9 expression in human hepatocytes. *FEBS Lett* 2008; 582: 949-955 [PMID: 18298956 DOI: 10.1016/j.febslet.2008.02.038]
- 27 Zhang Y, Lee FY, Barrera G, Lee H, Vales C, Gonzalez FJ, Willson TM, Edwards PA. Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 1006-1011 [PMID: 16410358 DOI: 10.1073/pnas.0506982103]
- 28 Van Rooyen DM, Larter CZ, Haigh WG, Yeh MM, Ioannou G, Kuver R, Lee SP, Teoh NC, Farrell GC. Hepatic free cholesterol accumulates in obese, diabetic mice and causes nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1393-1403, 1403. e1-e5 [PMID: 21703998 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.040]
- 29 Halilbasic E, Baghdasaryan A, Trauner M. Nuclear receptors as drug targets in cholestatic liver diseases. *Clin Liver Dis* 2013; 17: 161-189 [PMID: 23540496 DOI: 10.1016/j.cld.2012.12.001]
- 30 Ma Y, Huang Y, Yan L, Gao M, Liu D. Synthetic FXR agonist GW4064 prevents diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance. *Pharm Res* 2013; 30: 1447-1457 [PMID: 23371517 DOI: 10.1007/s11095-013-0986-7]
- 31 Li Y, Jadhav K, Zhang Y. Bile acid receptors in non-alcoholic fatty liver disease. *Biochem Pharmacol* 2013; 86: 1517-1524 [PMID: 23988487 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.08.015]
- 32 Fiorucci S, Rizzo G, Donini A, Distrutti E, Santucci L. Targeting farnesoid X receptor for liver and metabolic disorders. *Trends Mol Med* 2007; 13: 298-309 [PMID: 17588816 DOI: 10.1016/j.molmed.2007.06.001]
- 33 Cariou B. The farnesoid X receptor (FXR) as a new target in non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes Metab* 2008; 34: 685-691 [PMID: 19195631 DOI: 10.1016/S1262-3636(08)74605-6]
- 34 申丽丽, 彭家和, 刘红, 彭彦孟, 甘淋, 鲁立, 张迁, 江渝. 法尼酯X受体对脂肪酸合酶表达的影响. 第三军医大学学报 2007; 29: 2142-2144
- 35 Fuchs M. Non-alcoholic Fatty liver disease: the bile Acid-activated farnesoid x receptor as an emerging treatment target. *J Lipids* 2012; 2012: 934396 [PMID: 22187656 DOI: 10.1155/2012/934396]
- 36 Mencarelli A, Fiorucci S. FXR an emerging therapeutic target for the treatment of atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 79-92 [PMID: 20041971 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00997.x]
- 37 魏钰, 叶丽静, 邱德凯, 马雄. 胆汁酸核受体FXR在非酒精性脂肪性肝病中的作用. 胃肠病学 2010; 15: 21-24
- 38 Liu X, Xue R, Ji L, Zhang X, Wu J, Gu J, Zhou M, Chen S. Activation of farnesoid X receptor (FXR) protects against fructose-induced liver steatosis reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology* 2004; 145: 2594-2603 [PMID: 14976145 DOI: 10.1210/en.2003-1671]
- 39 于昊, 崔云甫. FXR促进肝脏再生作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2173-2178
- 40 Shen H, Zhang Y, Ding H, Wang X, Chen L, Jiang H, Shen X. Farnesoid X receptor induces GLUT4 expression through FXR response element in the GLUT4 promoter. *Cell Physiol Biochem* 2008; 22: 1-14 [PMID: 18769028 DOI: 10.1159/000149779]
- 41 Caron S, Huaman Samanez C, Dehondt H, Ploton M, Briand O, Lien F, Dorchie E, Dumont J, Postic C, Cariou B, Lefebvre P, Staels B. Farnesoid X receptor inhibits the transcriptional activity of carbohydrate response element binding protein in human hepatocytes. *Mol Cell Biol* 2013; 33: 2202-2211 [PMID: 23530060 DOI: 10.1128/MCB.01004-12]
- 42 Cariou B, van Harmelen K, Duran-Sandoval D, van Dijk TH, Grefhorst A, Abdelkarim M, Caron S, Torpier G, Fruchart JC, Gonzalez FJ, Kuipers F, Staels B. The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice. *J Biol Chem* 2006; 281: 11039-11049 [PMID: 16446356]
- 43 Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: S99-S112 [PMID: 16447287 DOI: 10.1002/hep.20973]
- 44 Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* 2005; 330: 326-335 [PMID: 16355018 DOI: 10.1097/00000441-200512000-00011]
- 45 Duboc H, Taché Y, Hofmann AF. The bile acid TGR5 membrane receptor: from basic research to clinical application. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 302-312 [PMID: 24411485 DOI: 10.1016/j.dld.2013.10.021]
- 46 Duran-Sandoval D, Cariou B, Percevault F, Hennuyer N, Grefhorst A, van Dijk TH, Gonzalez FJ, Fruchart JC, Kuipers F, Staels B. The farnesoid X receptor modulates hepatic carbohydrate metabolism during the fasting-refeeding transition. *J Biol Chem* 2005; 280: 29971-29979 [PMID: 15899888 DOI: 10.1074/jbc.M501931200]
- 47 Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38: 1008-1017 [PMID: 14512888 DOI: 10.1002/hep.1840380427]
- 48 Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, Balas B, Gastaldelli A, Tio F, Pulcini J, Berria R, Ma JZ, Dwivedi S, Havranek R, Fincke C, DeFronzo R, Bannayan GA, Schenker S, Cusi K. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2006; 355: 2297-2307 [PMID: 17135584 DOI: 10.1056/NEJMoa060326]
- 49 Adorini L, Pruzanski M, Shapiro D. Farnesoid X receptor targeting to treat nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Discov Today* 2012; 17: 988-997 [PMID: 22652341 DOI: 10.1016/j.drudis.2012.05.012]
- 50 Zhang Y, Yin L, Anderson J, Ma H, Gonzalez FJ, Willson TM, Edwards PA. Identification of novel pathways that control farnesoid X receptor-

- mediated hypocholesterolemia. *J Biol Chem* 2010; 285: 3035-3043 [PMID: 19996107 DOI: 10.1074/jbc.M109.083899]
- 51 Rizzo G, Passeri D, De Franco F, Ciacchioli G, Donadio L, Rizzo G, Orlandi S, Sadeghpour B, Wang XX, Jiang T, Levi M, Pruzanski M, Adorini L. Functional characterization of the semisynthetic bile acid derivative INT-767, a dual farnesoid X receptor and TGR5 agonist. *Mol Pharmacol* 2010; 78: 617-630 [PMID: 20631053 DOI: 10.1124/mol.110.064501]
 - 52 Hubbert ML, Zhang Y, Lee FY, Edwards PA. Regulation of hepatic Insig-2 by the farnesoid X receptor. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1359-1369 [PMID: 17440045 DOI: 10.1210/me.2007-0089]
 - 53 Mason A. Farnesoid X receptor agonists: a new class of drugs for the treatment of PBC? An international study evaluating the addition of INT-747 to ursodeoxycholic acid. *J Hepatol* 2010; 52: S1-S21 [DOI: 10.1016/S0168-8278(10)60004-9]
 - 54 Kowdley KV. An international study evaluating the farnesoid X Receptor agonist obeticholic acid as monotherapy in PBC. *J Hepatol* 2011; 54: S28 [DOI: 10.1016/S0168-8278(11)60030-5]
 - 55 Gutierrez A, Ratliff EP, Andres AM, Huang X, McKeehan WL, Davis RA. Bile acids decrease hepatic paraoxonase 1 expression and plasma high-density lipoprotein levels via FXR-mediated signaling of FGFR4. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 301-306 [PMID: 16284190 DOI: 10.1161/01.ATV.0000195793.73118.b4]
 - 56 Shih DM, Kast-Woelbern HR, Wong J, Xia YR, Edwards PA, Lusis AJ. A role for FXR and human FGF-19 in the repression of paraoxonase-1 gene expression by bile acids. *J Lipid Res* 2006; 47: 384-392 [PMID: 16269825 DOI: 10.1194/jlr.M500378-JLR200]
 - 57 Fiorucci S, Rizzo G, Antonelli E, Renga B, Mencarelli A, Riccardi L, Orlandi S, Pruzanski M, Morelli A, Pellicciari R. A farnesoid x receptor-small heterodimer partner regulatory cascade modulates tissue metalloproteinase inhibitor-1 and matrix metalloprotease expression in hepatic stellate cells and promotes resolution of liver fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314: 584-595 [PMID: 15860571 DOI: 10.1124/jpet.105.084905]
 - 58 Mudaliar S, Henry RR, Sanyal AJ, Morrow L, Marschall HU, Kipnes M, Adorini L, Sciacca CI, Clopton P, Castelloe E, Dillon P, Pruzanski M, Shapiro D. Efficacy and safety of the farnesoid X receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2013; 145: 574-582. e1 [PMID: 23727264 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.05.042]
 - 59 Urizar NL, Liverman AB, Dodds DT, Silva FV, Ordentlich P, Yan Y, Gonzalez FJ, Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Moore DD. A natural product that lowers cholesterol as an antagonist ligand for FXR. *Science* 2002; 296: 1703-1706 [PMID: 11988537 DOI: 10.1126/science.1072891]
 - 60 Zhang Y, Ge X, Heemstra LA, Chen WD, Xu J, Smith JL, Ma H, Kasim N, Edwards PA, Novak CM. Loss of FXR protects against diet-induced obesity and accelerates liver carcinogenesis in ob/ob mice. *Mol Endocrinol* 2012; 26: 272-280 [PMID: 22261820 DOI: 10.1210/me.2011-1157]
 - 61 Watanabe M, Horai Y, Houten SM, Morimoto K, Sugizaki T, Arita E, Mataka C, Sato H, Tanigawara Y, Schoonjans K, Itoh H, Auwerx J. Lowering bile acid pool size with a synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure. *J Biol Chem* 2011; 286: 26913-26920 [PMID: 21632533 DOI: 10.1074/jbc.M111.248203]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



小儿功能性腹痛的中医诊疗进展

韦汉鵬, 谢 胜

■背景资料

在独生子女占多数的社会中, 孩子的健康问题已成为家长们关注的热点问题; 小儿功能性腹痛因其发病不典型, 但却是十分常见的病证, 而由因小儿生理特点而容易被忽视, 严重影响小儿的健康成长, 中医药对本病有独特疗效, 但亦存在其不足, 本文通过相关文献研究, 从小儿自身、家长、医务人员及中医药本身等多方面指出存在的不足以及改进的方向, 以使研究更有针对性和实用性。

韦汉鵬, 广西中医药大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530001

谢胜, 广西中医药大学第一附属医院脾胃病科 广西壮族自治区南宁市 530001

韦汉鵬, 主要从事脾胃病中医药防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81460723

作者贡献分布: 本文综述由韦汉鵬完成; 谢胜指导论文写作方向及审核。

通讯作者: 谢胜, 教授, 主任医师, 530001, 广西壮族自治区南宁市园湖路2号, 广西中医药大学第一附属医院脾胃病科。
xsh6566@163.com

电话: 0771-5862003

收稿日期: 2014-12-03 修回日期: 2014-12-31

接受日期: 2015-01-15 在线出版日期: 2015-03-18

Progress in Chinese medical diagnosis and treatment of functional abdominal pain in children

Han-Juan Wei, Sheng Xie

Han-Juan Wei, Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Sheng Xie, Department of Spleen-Stomach Disease, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81460723

Correspondence to: Sheng Xie, Professor, Chief Physician, Department of Spleen-Stomach Disease, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, 2 Yuanhu Road, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xsh6566@163.com

Received: 2014-12-03 Revised: 2014-12-31

Accepted: 2015-01-15 Published online: 2015-03-18

Abstract

Functional abdominal pain is a common clinical condition in children, which significantly affects children's health. In this paper, we

summarize the progress in understanding the traditional Chinese medicine (TCM) etiology and pathogenesis, therapeutic principle and treatment of this disease. We point out that more studies should be performed to clarify the TCM etiology and pathogenesis of the disease, and the epidemiology and evidence-based medicine should be established. Depending on the characteristics of children, drugs should be made in good taste, so that medication compliance could be increased. In addition, clinicians' clinical ability and parents' health knowledge should be improved.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children with functional abdominal pain; Etiology and pathogenesis; Treatment principles and treatment methods

Wei HJ, Xie S. Progress in Chinese medical diagnosis and treatment of functional abdominal pain in children. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1266-1271
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1266.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1266>

摘要

小儿功能性腹痛是影响儿童健康成长的一种常见临床症状。本文从小儿功能性腹痛中医病因及机制、治疗法则、治疗方法等方面总结小儿功能性腹痛的治疗进展。指出在今后研究中, 应对本病病因及机制进行深入研究, 形成统一认识; 建立必要流行病学及询证医学支持; 针对小儿特点, 研制适宜小儿口味药物, 提高服药依从性; 提高临床医师临床能力及家长健康知识水平。

■同行评议者

崔清波, 副教授, 副主任医师, 哈尔滨医科大学第二医院儿外科

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 小儿功能性腹痛; 病因病机; 治法治则

核心提示: 本文通过研究小儿功能性腹痛临床中医诊疗进展的相关文献, 提出目前对该病研究还存在对中医病因病机、诊疗标准、辨证认识不足, 无流行病学及无相关询证医学支持, 中药味苦, 家长健康教育不足等问题。提出中医药研究该病可努力的方向。

韦汉鹏, 谢胜. 小儿功能性腹痛的中医诊疗进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1266-1271 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1266.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1266>

0 引言

功能性腹痛为儿科常见症状, 其临床表现以脐周痛多见, 疼痛多呈间歇性或持续性, 患儿多伴有恶心、呕吐、厌食等症状; 如得不到有效治疗, 将影响儿童的生长、发育。研究^[1]显示, 社区医生认为90%腹痛患儿就医时有存在功能性嫌疑。本病诊断依据以罗马III标准^[2]为要: (1)间断或连续发作的腹痛; (2)不满足其他功能性胃肠病的诊断标准; (3)无炎症、解剖学、代谢性或肿瘤性疾病的证据可以解释患者的症状。至少诊断前2 mo满足上述标准, 每周至少发作1次。有学者实验研究^[3]表明功能性腹痛患者可能存在普遍的中枢神经系统高敏感性。还有学者研究^[4]证实, 父亲慢性疼痛与其孩子有重要关系, 尤其童年有功能性腹痛病史者则更明显。有学者研究^[5]认为儿童功能性腹痛好发于学龄前期与学龄期儿童, 且大多为独生子女。有鉴于此, 为使患儿能健康成长, 应及时给予必要的干预措施以使患儿得到有效治疗。本病多与患儿不良生活习惯及心理因素相关^[6]。现代医学对于本病缺乏有效治疗手段, 多以改善患儿症状, 并不能从根本上治疗; 然则祖国医学在治疗本病状却可以收到较好疗效。

1 病因及机制

小儿功能性腹痛属中医“腹痛”范畴。《黄帝内经素问》指出: 寒气客于胃肠之间, 膜原之下, 血不得散, 小络急引故痛, 按之则血气散, 故按之痛止。其病机为以寒气等因素引起血气凝滞不通而引起疼痛。余定辉等^[7]认为本病属功能性胃肠疾病, 多与肝相关, 肝气郁滞、肝

失疏泄, 肝气横逆就会乘脾犯胃, 导致肝脾不调、肝胃不和而引起, 故其提出从肝论治本病理论。涂一世等^[8]在总结倪珠英名老中医经验时认为小儿功能性腹痛的基本病因病机为外感风寒或寒湿之邪侵入腹中、或饮食所伤、情志失调等多因素所致中焦气机升降失常, 经脉气血淤滞, 不通则痛; 或患儿中阳素虚, 不能温养脏腑而痛。其病位在脾胃、肠腑, 涉及肝脏。付美芳等^[9]总结陈宝义教授治疗小儿功能性腹痛本病病因为腑气通降受阻, 凡感受寒凉, 乳食停滞, 胃肠积热及虫积于中, 都可引起本病, 但寒性腹痛最为常见, 有寒气、寒积、虚寒之分。于乐等^[10]认为因各种因素引起肝失疏泄, 气机郁滞, 血流不畅, 经络不通而发生本病。党慧琴等^[11]认为本病多因脾失健运, 中焦气滞, 湿阻中焦, 气机不通, 不通而痛。应建义等^[12]认为本病多由肝失疏泄, 脾失健运, 以及脾胃气虚, 运化无力所致。

2 治疗法则

学者^[13,14]研究认同本病治宜温中散寒, 行气止痛。王津^[15]总结临床经验认为本病多以通腑为基本治则, 但临证又必须根据病情, 灵活配伍运用。卢瑞琴等^[16]认为本病病理表现可分为滞血瘀型及气机阻滞型, 两型的基本治则均以消积导滞、理气止痛为法。樊元^[17]认为本病腹痛均可使脏腑气机升降失常, 经脉凝滞不通, 不通则痛, 治疗宜以调畅气机, 疏通经脉为主。李丽等^[18]认为小儿肝的生发之气充足, 易横逆犯脾, 可使脏腑气机升降失常, 经脉凝滞不通, 不通则痛, 产生腹痛、食欲不振、大便秘结等症状。治疗应以调畅气机, 疏通经脉为主。郝志友^[19]认为本病治疗多从脾、胃、肝三脏入手, 健脾和胃, 温中散寒, 疏肝理气, 缓急止痛为主要治法。付美芳等^[9]在总结陈宝义教授临床经验认为, 依据患儿寒热虚实, 辨证提出: 温中散寒、理气止痛; 温通散寒、行气止痛; 温补脾胃、缓中止痛; 消食导滞、理气止痛; 清热通便、行气止痛; 安蛔止痛六种治法。

3 治疗方法

3.1 中成药治疗 边逊^[20]认为本病治疗应以调理气机, 疏通经脉为主; 以消炎散核冲剂治疗功能性腹痛患儿95例, 10 d为1个疗程, 有效71例, 总有效率74.7%。合力^[21]认为治疗应以健脾益胃为基础, 急则以行气止痛为标, 缓则以运脾

■ 研究前沿

本文所研究的小儿功能性腹痛, 其病因及机制、临床治疗方法为目前研究的热点, 但临床辨证分型、中药味苦、小儿体质、家长健康教育及医务人员临床水平的提高等方面还有待进一步深入研究。

■ 相关报道

本文在前人研究基础上, 深刻提出对本病中医病因病机、诊疗标准、辨证认识等认识的欠缺以及目前临床研究的现状, 深刻剖析中药自身的缺陷以及可以改进的方面; 创新性提出中医对于本病亦可有流行病学及询证医学研究, 在提高临床医师技能的同时, 促进小儿体质研究、家长健康教育研究。

■创新盘点

本文所研究的不同点及创新点在于, 在研究中医治疗小儿功能性腹痛时, 既提出中医自身的不足, 提出解决方向, 更提出小儿自身、家长以及临床医师于广大患儿。

消极顾其本; 以化积颗粒治疗功能性腹痛患儿215例, 对照组215例予多潘立酮口服, 4 wk为1个疗程周期, 观察组总有效率95.81%, 对照组为71.63%。帅粉荣^[22]认为本病治宜温中散寒, 行气化滞, 活血止痛; 以温脾健胃颗粒治疗功能性腹痛患儿40例, 对照组40例予颠茄片、思连康片口服, 2 wk为1个疗程, 观察2个疗程, 随访6 mo, 治疗组总显效36例, 总有效率97.5%, 对照组总显效26例, 总有效率95%。王萍等^[23]认为治疗小儿功能性腹痛当以健脾理气止痛为要; 以小儿健胃止痛颗粒治疗66例功能性腹痛患儿, 对照组60例予妈咪爱口服, 腹痛发作时给予654-2片、庆大霉素普鲁卡因VB12颗粒对症处理, 1 wk为1个疗程, 共治疗2个疗程, 随访3 mo, 治疗组总有效率93.9%, 对照组为73.3%。袁斌等^[24]认为本病治疗当以疏肝理气、和胃为基本治则; 以理气和胃口服液(院内制剂, 药物组成为柴胡、醋香附、佛手等9味药组成)治疗肝胃不和型功能性腹痛患儿45例, 对照组45例予保济丸口服, 两组均以1 mo为1个疗程, 治疗1个疗程, 2 mo后随访, 治疗组总有效40例, 总有效率88.89%, 对照组总有效24例, 总有效率为53.33%。李闯等^[25]认为本病基本病机为脾胃虚弱, 经脉未盛; 以健脾和胃消食化滞之山白消食合剂治疗本病患者43例, 对照组43例予胃酶合剂治疗, 4 wk为1疗程, 治疗组总有效率为95.3%, 对照组为81.4%。何晓瑜^[26]以芳香化浊、理气止痛、健胃导滞之法治疗患儿40例, 对照组40例予饮食指导和心理治疗, 保证营养供给等, 治疗组在对照组基础上, 同时服用胃肠安丸, 1 wk为1个疗程, 治疗组总有效率为92.5%, 治疗组为75.0%。王萍等^[27]认为治疗小儿功能性腹痛多以通腑为基本治则; 以免煎中药加减(方由元胡、苍术、神曲、厚朴、枳壳、鸡内金等多味药组成)辨证治疗本病患者30例, 对照组30例予654-2、庆大霉素普鲁卡因颗粒口服, 经治疗治疗组总有效率93.3%, 对照组为66.7%。

3.2 自拟方治疗 陈培英^[28]认为本病治当柔肝潜阳, 理脾化湿, 疏气止痛; 以自拟柔肝理脾汤加减(方由钩藤、生白芍、炙甘草、青龙齿、广木香、延胡索等多味药组成)治疗患儿60例, 对照组30例予654-2片、颠茄合剂、吗丁琳悬混液等口服, 1 wk为1个疗程, 3个疗程评定疗效, 治疗组总有效率为91.7%, 对照组为70.0%。

孙笃玲等^[29]认为本病病机在于中焦寒邪凝结, 气滞而痛, 治宜温中散寒, 行气止痛; 以木香、青皮、干姜、肉桂、厚朴、乌药等多味药加減治疗小儿慢性功能性腹痛78例, 2 wk为一个疗程, 治疗后总有效率97.4%。余小红^[30]认为情感不畅是小儿肝脾不调或肝脾不和, 致小儿功能性腹痛的主要因素; 以自拟运脾理气汤(方由苍术、白术、厚朴花、枳壳等近10味药组成)治疗36例患儿, 3-7 d为1个疗程, 共服1-2个疗程, 总有效率为97.2%。徐海霞等^[31]认为小儿有脾常不足, 肝常有余的病理生理特点, 治宜以温补中焦, 健脾运土之剂为主; 以自拟理气建中汤(方以木香、白芍、饴糖、桂枝等多味药组成)治疗功能性腹痛患儿35例; 对照组43例予小儿健脾丸口服, 1 mo为1个疗程, 连续观察3个疗程, 治疗组有效率91.4%, 对照组为53.5%。杨光鹏^[32]认为本病病因为肝郁脾虚, 营血不足, 治宜疏肝解郁, 健脾养血; 以逍遥散加味(方以当归、白芍、茯苓、柴胡等多味药组成)治疗本病患者25例, 对照组25例予山莨菪碱片口服, 两组患儿均给予心理疏导, 合理饮食, 保持大便正常, 1 mo为1个疗程, 2 mo后随访, 治疗组总有效率96%, 对照组为60%。陈永辉等^[33]认为肝气郁结, 肝木乘脾土, 脾运失职, 升降失常, 亦致腹痛发作, 甚至迁延不愈; 以温中止痛方(由白术、枳壳、木香、延胡索等8味药组成)治疗患儿58例, 对照组34例予山莨菪碱片口服, 2 wk为1个疗程, 治疗组有效率94.83%, 对照组为82.35%。乔学军^[34]认为本病治疗当以健脾和胃为大法; 以香砂六君子汤治疗患儿38例, 对照组27例予654-2片口服, 3 mo为1疗程, 治疗组总有效率92.11%, 对照组为62.96%。刘素英等^[35]认为本病治疗宜温中散寒, 健脾行滞; 以白术、砂仁、木香、厚朴、半夏、山药等多味药辨证加減组方治疗患儿42例, 对照组38例予复方维生素B及山莨菪碱片口服, 15 d为1疗程, 治疗组治愈率92.86%, 对照组为60.53%。陈璇^[36]以健运脾胃为法, 以消积温经汤(方由炙甘草、白芍、延胡索、佛手、乌药、枳壳等多味药组成)治疗患儿40例, 对照组40例予药方(方由茯苓、莱菔子、山楂、神曲各、清半夏、连翘等药物组成)口服, 1 wk为1个疗程, 连续用药4 wk, 观察组总有效率90%, 对照组为75%。

3.3 中医外治法 张静等^[37]认为本病因外邪直

中, 凝结阻滞, 使乳食凝滞, 脾失健运, 胃失和降, 气机不利, 不通则痛; 以运土和胃推拿手法(取穴板门、劳宫、一窝风、中脘、足三里等)治疗患儿165例, 1次/d, 10 d 1疗程, 总有效率为97%。谢胜等^[38]认为本病治疗通过背俞穴为激发点, 可调节任督二脉经气, 调节脾胃气机升降, 最终通过经络调脏腑而达到治疗小儿功能性腹痛的目的; 以背俞指针疗法治疗患儿38例, 对照组42例予654-2片口服, 4 wk为1疗程, 治疗组总有效率92.10%, 对照组为58.66%。陈立昌等^[39]认为中阳不振, 脏生内寒, 脉络淤滞均可引起气机壅阻, 经脉失调, 凝滞不通而腹痛; 以隔药灸脐法治疗本病患儿120例, 对照组80例予元胡止痛片口服, 1 wk为1疗程, 治疗1 wk结束时治疗组总有效率为97.39%, 对照组为83.33%; 治疗3 mo时治疗组总有效率94.78%, 对照组为80.77%。刘德新等^[40]认为本病多因气机壅塞, 气血受阻, 经脉失调, 凝滞不通; 以自拟温胃散敷脐加艾灸治疗患儿56例, 对照组31例予口服山莨菪碱, 治疗组在对照组的基础上以自拟温胃散(方由吴茱萸、丁香、广木香、肉桂、苍术等组成)敷脐, 再于艾灸, 7 d为1疗程, 1疗程结束后治疗组总有效率为94.64%, 对照组为83.33%; 疗程结束3 mo后治疗组总有效率为92.86%, 对照组为77.42%。颜春艳等^[41]认为本病因诸多因素影响, 导致脾胃升降失衡的基础上, 气机壅阻, 经脉失调, 气血经络凝滞不通而腹痛; 以督脉针刺疗法治疗本病患儿38例, 对照组42例予654-2片或10%颠茄酊口服, 4 wk为1疗程, 治疗疗程后治疗组总有效率92.10%, 对照组为58.66%。

3.4 综合疗法 商艳朝等^[42]认为本病治宜温中健脾止痛; 以温中健脾止痛汤联合苯巴比妥片及山莨菪碱片治疗患儿18例, 经治疗总有效率100%。李凤琴^[43]认为气机紊乱, 升降无常, 乃本虚标实证; 将90例患儿随机分为中西药敷脐组、中西药口服组、西药对照组3组, 中西药敷脐组30例予吗丁啉片联合枳实、木香、大黄敷脐, 中西药口服组30例予吗丁啉联合应用中成药四磨汤口服液口服, 西药对照组30例单用吗丁啉片口服, 疗程4 wk, 中西药敷脐组总有效率90.0%, 中西药口服组为93.3%, 西药对照组为76.6%。张翼宇等^[44]认为本病病机为寒凝气滞, 治宜散寒止痛, 理气行滞; 以内服天台乌药散加味(方以乌药、川楝子、青皮、木香

等多味药组成)配合中药外敷(方以吴茱萸、炮姜、木香、炒厚朴等多味药组成)治疗患儿90例, 15 d为1疗程, 治疗3个疗程, 总有效率84.4%。程小卫^[45]认为本病治疗时应以健脾和胃为法; 以温中健脾止痛汤联合苯巴比妥片治疗患儿46例, 对照组46例予苯巴比妥片口服, 1 wk为1个疗程, 共治疗2 wk, 观察组总有效率为93.48%, 对照组为69.57%。叶沐镕^[46]认为社会心理因素与小儿功能性腹痛的发生密切相关; 以身心联合治疗患儿59例, 观察组予中药温胆汤和百忧解口服, 并进行饮食调节保障营养供给, 建立良好的饮食和排便习惯, 同时辅心理疏导, 对照组59例予多酶片、复方维生素B片、山莨菪碱片口服, 疗程为1 wk, 随访3 wk, 观察组总有效率91.1%, 对照组为74.5%。李海涛^[47]认为本病治疗宜温中散寒, 行气止痛为法; 以自拟温胃散敷脐联合联合山莨菪碱口服治疗患儿30例, 对照组30例予山莨菪碱及双歧杆菌三联活菌胶囊口服, 治疗7 d, 治疗组总有效率96.67%, 对照组为80.00%。卢永康等^[48]认为本病治疗当以消食导滞、理气止痛为法; 以保儿安颗粒联合五维葡钙治疗患儿34例, 对照组34例予加味健脾散口服, 3 wk为一疗程, 连续运用2-3疗程, 观察组总有效率为97.06%, 对照组为70.59%。沈坚强^[49]在认识苗药秘方醒脾养儿颗粒功效基础上, 以该药联合开塞露治疗患儿60例, 经治疗, 有效率为95%。尹国君等^[50]在认识沙棘干乳剂功效基础上, 运用沙棘干乳剂联合心理干预治疗患儿38例, 对照组38例予沙棘干乳剂治疗, 7 d为1个疗程, 共治疗5个疗程, 治疗3 mo, 治疗组总有效率92.1%, 对照组为76.3%。侯艳苗等^[51]认为本病治疗关键是健脾助运、疏理肝气, 使气机宣通, “通则不痛”, 以保儿安颗粒联合五维葡钙治疗患儿39例, 对照组39例予合理饮食, 心理疏导, 保障营养供给, 建立良好的饮食和排便习惯, 鼓励患儿坚持正常的学习和活动等治疗, 疗程1 mo, 随访3 mo, 治疗组总有效率为94.87%, 对照组为69.23%。

4 结论

小儿功能性腹痛病多由感邪、饮食失调、情志不畅及小儿自身发育不足等所引起以中阳不足、气机不畅、经脉凝滞等而导致本病。小儿功能性腹痛中医药干预手段虽有较好疗效,

应用要点

文章提出除本病中医病因病机、诊疗标准、辨证认识等的研究需进一步深入研究外, 尚可加强中医流行病学及询证医学研究; 还可增加小儿体质、家长健康教育, 提高临床医师技能水平及发展小儿治未病等方面研究研究。

名词解释

背俞指针疗法: 是一种中医外治法, 是通过对人体背部是太阳膀胱经俞穴的穴位点按而达到调和脏腑枢机的作用, 是一种无创伤性的治疗方法; 体质: 体质概念最先由王琦提出, 是指人体生命过程中, 在先天禀赋和后天获得的基础上所形成的形态结构、生理功能和心理状态方面综合的、相对稳定的固有特质, 是人类在生长、发育过程中所形成的与自然、社会环境相适应的人体个性特征。

然尚存在以下不足: (1)中医病因病机、诊疗标准、辨证认识等尚未能形成统一认识, 因而未能有效指导临床实际工作; (2)目前的研究多以小样本为主, 其结论说服力尚欠; (3)目前中医流行病学尚没有关于本病的流行特点, 亦无相关询证医学支持, 故治疗多以个人经验为主, 借鉴意义还有待提高; (4)中药等因其味苦等特点, 也容易引起患儿服药依从性差等问题, 虽有中成药出现, 然中成药因其不能临证加加减, 故又影响临床辨证论治的发挥; (5) 临床中医师水平参差不齐, 临证辨证时误诊现象时出, 亦使得患儿病情出现变化; (6)目前, 关于小儿体质状况的研究严重不足, 如何评判小儿体质等研究还有待深入; (7)家长关于儿童健康教育欠缺及有效的心理辅导, 使得儿童不能得到有效的健康指导, 亦易引起发病。总之, 中医药在诊治小儿功能性腹痛需形成对病因病机, 辨证论治等多方面努力, 临床医生则更应提高自身的认识, 以应对临床上所出现的问题。

参考文献

- 1 Spee LA, Lisman-Van Leeuwen Y, Benninga MA, Bierma-Zeinstras SM, Berger MY. Prevalence, characteristics, and management of childhood functional abdominal pain in general practice. *Scand J Prim Health Care* 2013; 31: 197-202 [PMID: 24106821 DOI: 10.3109/02813432.2013.844405]
- 2 罗马委员会. 功能性胃肠病的罗马Ⅲ诊断标准. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 137-140
- 3 Walker LS, Sherman AL, Bruehl S, Garber J, Smith CA. Functional abdominal pain patient subtypes in childhood predict functional gastrointestinal disorders with chronic pain and psychiatric comorbidities in adolescence and adulthood. *Pain* 2012; 153: 1798-1806 [PMID: 22721910 DOI: 10.1016/j.pain.2012.03.026]
- 4 Sherman AL, Bruehl S, Smith CA, Walker LS. Individual and additive effects of mothers' and fathers' chronic pain on health outcomes in young adults with a childhood history of functional abdominal pain. *J Pediatr Psychol* 2013; 38: 365-375 [PMID: 23335355 DOI: 10.1093/jpepsy/jss131]
- 5 石强. 儿童功能性腹痛257例分析. 中国误诊学杂志 2007; 7: 6843-6844
- 6 同建霞, 余景建, 叶晓霓. 儿童功能性腹痛相关因素探讨. 河北医学 2013; 19: 396-398
- 7 余定辉, 林木珍. 从肝论治小儿功能性胃肠疾病体会. 实用中医药杂志 2005; 21: 166-167
- 8 涂一世, 刘晓鹰. 倪珠英诊治小儿功能性腹痛经验. 中医杂志 2011; 52: 1820-1821
- 9 付美芳, 刘虹, 杨萌. 陈宝义教授治疗小儿腹痛六法. 陕西中医 2013; 34: 1202-1203
- 10 于乐, 李善华. 疏肝健脾汤治疗儿童功能性腹痛69例临床观察. 新中医 2013; 45: 70-71
- 11 党慧琴, 牛曼丽. 运脾理气汤治疗儿童功能性腹痛30例. 陕西中医 2010; 31: 835-836
- 12 应建义, 李伟军, 季一姝. 四磨汤联合培菲康治疗功

- 能性腹痛32例. 浙江中西医结合杂志 2010; 20: 786, 792
- 13 张俊平. 木香顺气散治疗小儿功能性腹痛48例. 中国医药导报 2006; 3: 89
- 14 蒋桂淑. 温中散寒法治疗小儿功能性腹痛. 中国社区医师(医学专业半月刊) 2008; 18: 100
- 15 王津. 浅谈中医治疗小儿功能性腹痛的体会. 陕西中医 2008; 29: 1102
- 16 卢瑞琴, 彭兴莲. 自拟消食理气散治疗小儿功能性腹痛. 中国中西医结合急救杂志 2006; 13: 230
- 17 樊元. 健脾止痛汤治疗小儿功能性腹痛60例临床观察. 中国社区医师 2008; 24: 38
- 18 李丽, 朱立东. 从肝论治儿童功能性腹痛50例疗效观察. 中国中西医结合儿科学 2011; 3: 277-279
- 19 郝志友. 辨证治疗小儿功能性腹痛78例. 河南中医 2012; 32: 1663
- 20 边逊. “消炎散核冲剂”治疗小儿功能性腹痛95例. 江苏中医药 2011; 43: 45-46
- 21 合力. 化积颗粒治疗小儿功能性腹痛215例临床观察. 世界中医药 2013; 8: 1295-1297
- 22 帅粉荣. 温脾健胃颗粒治疗小儿功能性腹痛临床观察. 辽宁中医药大学学报 2012; 14: 178-179
- 23 王萍, 杨红梅, 李真玉, 刘金娟, 丛炳江, 李艳红, 单良. 小儿健胃止痛颗粒治疗66例小儿功能性腹痛疗效观察. 中国民族民间医药 2013; 24: 41
- 24 袁斌, 韩新民, 朱先康, 李妮, 张永春, 吴艳明, 杨江, 赵长江. 理气和胃口服液治疗小儿功能性腹痛肝胃不和证45例临床观察. 中国中医急症 2009; 18: 1603, 1623
- 25 李闯, 唐海霞, 王伟伟. 山白消食合剂治疗小儿功能性腹痛43例临床观察. 中国民族民间医药 2014; (20): 61
- 26 何晓瑜. 胃肠安治疗儿童功能性腹痛40例疗效分析. 中国医药指南 2013; 11: 636-637
- 27 王萍, 单良. 小儿功能性腹痛中医治疗前后超声动力学改变的探讨. 光明中医 2011; 26: 1809-1810
- 28 陈培英. 自拟柔肝理脾汤治疗小儿功能性腹痛60例. 中医药临床杂志 2006; 18: 285
- 29 孙笃玲, 卞成磊. 自拟方治疗小儿慢性功能性腹痛. 中国民间疗法 2008; 10: 29
- 30 余小红. 运脾理气汤治疗小儿功能性腹痛38例. 湖北中医杂志 2009; 31: 64-65
- 31 徐海霞, 邵红喜. 理气建中汤治疗小儿功能性腹痛临床研究. 中医临床研究 2012; 4: 78, 80
- 32 杨光鹏. 逍遥散加味治疗小儿功能性腹痛25例. 光明中医 2014; 29: 1417-1418
- 33 陈永辉, 凌科, 高晓林, 王霞, 麻建辉. 温中止痛方治疗儿童功能性腹痛临床观察. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 317-319
- 34 乔学军. 香砂六君子汤加减治疗儿童功能性腹痛38例临床观察. 中医儿科杂志 2010; 6: 40-41
- 35 刘素英, 周盈. 中药治疗儿童功能性腹痛42例疗效观察. 中国中医急症 2012; 21: 1342
- 36 陈璇. 消积温经汤治疗小儿功能性腹痛临床研究. 医学信息 2014; 27: 242
- 37 张静, 孙雨. 运土和胃推拿手法治疗儿童功能性腹痛165例. 辽宁中医杂志 2004; 31: 599
- 38 谢胜, 周晓玲, 韦金秀, 侯秋科. 背俞指针针法治疗小儿功能性腹痛临床观察. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 20-21
- 39 陈立昌, 刘福彬, 范永红. 隔药灸脐法治疗小儿功能性腹痛120例. 中医外治杂志 2011; 20: 34-35
- 40 刘德新, 王娟, 李妙媛. 自拟温胃散敷脐加艾灸治疗儿童功能性腹痛56例疗效观察. 右江医学 2012; 40: 34-35
- 41 颜春艳, 陈峭. 督脉针刺疗法治疗小儿功能性腹痛临

- 床观察. 医学信息(下旬刊) 2013; 26: 254-255
- 42 商艳朝, 秦艳梅. 中西医结合治疗儿童功能性腹痛18例临床观察. 河北中医 2008; 30: 959
- 43 李凤琴. 中西药结合治疗儿童功能性腹痛30例. 中国中医药科技 2013; 20: 93-94
- 44 张翼宇, 陈辉, 殷洁. 中药内服外敷治疗小儿功能性腹痛90例. 实用中医药杂志 2013; 29: 1004
- 45 程小卫. 中西医结合治疗儿童功能性腹痛46例临床研究. 实用临床医学 2014; 15: 78-79
- 46 叶沐榕. 心身联合治疗小儿功能性腹痛118例. 中外医学研究 2013; 11: 56-57
- 47 李海涛. 自拟温胃散敷脐联合西药治疗儿童功能性腹

- 痛30例临床观察. 中国民族民间医药 2014; 21: 45-48
- 48 卢永康, 王敏, 卓飞鹏, 辛均连. 五维葡钙联合保儿安颗粒治疗小儿功能性腹痛的临床研究. 中外医学研究 2012; 10: 19-20
- 49 沈坚强. 开塞露联合醒脾养儿颗粒治疗小儿功能性腹痛60例体会. 临床合理用药杂志 2011; 4: 78
- 50 尹国君, 刘金刚, 安福宁. 沙棘干乳剂结合心理干预治疗儿童功能性腹痛疗效观察. 中国中医药信息杂志 2010; 17: 72-73
- 51 侯艳苗, 刘永华. 保儿安颗粒联合五维葡钙治疗小儿功能性腹痛疗效观察. 按摩与康复医学(上旬刊) 2011; 2: 53-54

■同行评价
本研究有一定的
临床意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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)

荧光蛋白在肿瘤研究中的应用进展

王小平, 庄志祥

■背景资料

过去, 研究者们因不能实时动态、非侵袭性、直观肿瘤的进展, 只能从静态结构上来探讨肿瘤的特性, 进而使肿瘤的研究受到许多限制。荧光蛋白的广泛应用后, 以前在体内不能观察到的现在可以清楚地看到, 革新了肿瘤的基础研究。

王小平, 庄志祥, 苏州大学附属第二医院肿瘤科 江苏省苏州市 215004

王小平, 在读硕士, 主要从事肝癌的基础研究。

苏州市科技发展计划基金资助项目, No. SYS201129

作者贡献分布: 文献的查阅、分析及论文写作由王小平完成; 庄志祥审校。

通讯作者: 庄志祥, 主任医师, 硕士生导师, 215004, 江苏省苏州市三香路1055号, 苏州大学附属第二医院肿瘤科。

sdfeyzzx@sina.com

电话: 0512-67784617

收稿日期: 2014-12-23 修回日期: 2015-01-18

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Fluorescent proteins; Tumor; Fluorescent imaging

Wang XP, Zhuang ZX. Application of fluorescent proteins in tumor research. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1272-1277 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1272.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1272>

Application of fluorescent proteins in tumor research

Xiao-Ping Wang, Zhi-Xiang Zhuang

Xiao-Ping Wang, Zhi-Xiang Zhuang, Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China
Supported by: the Suzhou Science and Technology Development Program, No. SYS201129

Correspondence to: Zhi-Xiang Zhuang, Chief Physician, Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, 1055 Sanxiang Road, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. sdfeyzzx@sina.com

Received: 2014-12-23 Revised: 2015-01-18

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

Fluorescent proteins have been applied in multiple tumor research fields, including tumor cell growth, invasion, metastasis, angiogenesis, the interaction between tumor cells and host cells, and antitumor drugs. Fluorescent imaging has enabled what was formerly invisible to be seen clearly *in vivo* with fluorescent proteins. This article will make a brief review of the application of fluorescent proteins in tumor research.

摘要

荧光蛋白作为一种新型的标记技术, 广泛应用于肿瘤学的研究中, 包括肿瘤的生长、侵袭、转移、血管生成、肿瘤与宿主之间的关系、抗肿瘤药物等等。荧光蛋白结合荧光成像技术, 使以前在体内不能观察到的现在可以清楚地看到, 将肿瘤在体内的研究引领到一个新的领域。本文将对该方面进行综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 荧光蛋白; 肿瘤; 荧光成像

核心提示: 荧光蛋白广泛应用于监测肿瘤的进展及血管生成、发现肿瘤的微小转移灶及融合细胞和被诱导恶变的宿主细胞、探讨肿瘤与宿主之间的关系、抗肿瘤药物的研发、术中荧光导航等方面, 具有非侵袭性、方便、直观、实时动态观察肿瘤进展等优点。

王小平, 庄志祥. 荧光蛋白在肿瘤研究中的应用进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1272-1277 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1272.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1272>

■同行评议者

陈洪, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 东南大学附属中大医院消化科

0 引言

1962年Shimomura等^[1]首次从水母中分离出绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP), 后来, 一些研究者深入研究GFP的工作原理, 并在此基础上对GFP进行化学改造, 不但大大增强了他的发光率, 还研究出了红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP)、蓝色荧光蛋白(cyan fluorescent protein, CFP)、黄色荧光蛋白(yellow fluorescent protein, YFP)等。近年来, 人们试图将这些荧光蛋白用来标记体内不可直观的基因或细胞, 就好像对基因或细胞装上了“摄像头”, 并结合荧光成像技术, 使原本不可见的部分在荧光显微镜下清晰可见。在上个世纪90年代, 美国Hoffman实验室, 通过采用荧光蛋白标记技术结合荧光成像技术, 在动物活体内探讨了肿瘤的进展和转移, 从而揭开了肿瘤研究的“荧光蛋白时代”的序幕^[2,3]。此后, 荧光蛋白被广泛应用于生物医学研究领域, 为肿瘤的研究带来了许多革命性的突破^[4,5]。GFP的发现者及改造者因此而获得了2008年的诺贝尔化学奖。

目前常用的荧光标记方法有: 荧光蛋白(fluorescent proteins)、有机小分子染料(organic dyes)、荧光半导体量子点(quantum dots)。有机小分子荧光染料标记的细胞会随着时间的推移和细胞的增殖而脱色, 只能短时间标记细胞^[6]; 荧光半导体量子点对细胞产生毒性, 而且荧光成像的灵敏度低^[7], 所以有机小分子染料和荧光半导体量子点在标记活细胞时存在一些局限性。而荧光蛋白标记活细胞具有如下独特的优点^[8-10]: (1)只标记活细胞, 若标记的细胞死亡后, 细胞内的荧光蛋白很快扩散并降解, 因此在标记细胞时不会产生假阳性; (2)对细胞不产生毒性, 不影响细胞的生物学特性; (3)灵敏度高, 在活体内能够稳定持续表达, 适合用来实时非侵袭性成像; (4)荧光成像时无需底物, 可直接在荧光显微镜下检测到。

1 常见的荧光蛋白及基本特性

GFP是一种能发出绿色荧光的特殊蛋白, 他是由238个氨基酸构成的27 kDa单体蛋白, 含有由环化三肽构成的生色基团, 生色基团性状稳定, 其在原核及真核细胞中均能表达, 并且不影响细胞的正常生长。GFP在激发光为470 nm, 发射光为508 nm无需底物参与, 即可

在荧光显微镜下发出绿色荧光^[11]。1999年Matz等^[12]从珊瑚虫中分离出最早的RFP DsRed, 各种优化的RFP突变体不断涌现, 如: mCherry、rsTagRFP、mKate2、mApple等。DsRed的最大吸收波长为558 nm, 发射波长为583 nm, 与GFP相比, RFP的发射波长更长, 灵敏度比GFP高, 聚光度较好, 适合深部组织的荧光成像, 为GFP提供了一个很好的互补工具, 拓展了肿瘤的研究的视野^[13,14]。

2 荧光蛋白在肿瘤研究中的应用

2.1 建立肿瘤荧光动物模型 目前在荧光蛋白介导下已建立了乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、胶质瘤等多种肿瘤的荧光动物模型^[15-18]。肿瘤荧光模型在活体荧光成像仪下, 不仅能够实时动态非侵袭性观察肿瘤的生长、侵袭、转移, 还为筛选理想的抗肿瘤药物提供了方便快捷的平台。而在传统的无荧光模型中, 只能将动物处死解剖后才能看到肿瘤在体内进展情况^[19]。我们所在的课题组也将稳定高表达RFP的人肝癌细胞株HepG2-RFP接种于全身表达增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)的裸小鼠肝右叶, 成功建立了一个双色荧光示踪的人肝癌原位移植瘤模型, 分别在接种后第3、5、7周进行实时活体成像, 观察到了早期肉眼无法看到的肿瘤团块及微小转移灶, 同时红色肿瘤团块随着移植时间的延长而增大、增多, 并从肝区向肝外组织迁移。

2.2 肿瘤亚细胞动力学改变 在GFP发现以前, 因传统的荧光分子对细胞产生毒性大, 所以通常人们仅能够研究死亡肿瘤细胞的静态结构。而荧光蛋白对细胞的毒性非常弱, 适于标记活细胞, 因此观察肿瘤亚细胞的动力学的改变成为了可能。Hoffman等^[20]将GFP标记肿瘤细胞核, RFP标记肿瘤细胞质, 高分辨率荧光显像可在活体内非侵袭性实时动态看到肿瘤细胞核质在整个细胞周期中极力拉长, 试图通过“瘦身”改变进入毛细血管和新生的肿瘤血管中。Yamamoto等^[21]在双色标记肿瘤细胞的基础上, 进一步观察了细胞的整个凋亡过程: 首先是胞浆和核畸形改变, 然后是核膜破裂, 最后发展为核碎裂, 染色质被挤出, 肿瘤细胞即凋亡。也可通过观察肿瘤亚细胞的动力学改变, 来明确抗肿瘤药物对肿瘤细胞起作用的部位, Yang等^[22]将双色标记的肿瘤细胞(GFP标

■ 研发前沿

近几年来, 荧光蛋白有效地应用肿瘤于放化疗疗效的评估, 耐药性的检测, 肿瘤新药的研发及术中荧光导航等。未来研发一种特异性标记肿瘤细胞的荧光蛋白, 将其广泛应用于临床工作中是我们亟待解决的问题。

■ 相关报道

美国Hoffman实验室将表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的人结肠癌细胞首先接种于表达红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP)的裸鼠皮下, 2 wk后, 取出肿瘤组织接种于表达蓝色荧光蛋白(cyan fluorescent protein, CFP)的裸鼠皮下。再2 wk后, 观察到肿瘤组织是由表达GFP、RFP、CFP的3种颜色细胞组成, 即宿主本身也参与了肿瘤组织的“重构体”组成。

■ 创新盘点

本文系统地介绍了荧光蛋白在肿瘤的早期诊断、肿瘤的进展、抗肿瘤疗效监测及新药研发方面具有非侵袭性、方便、直观、准确等突出优点。同时, 因荧光蛋白的应用, 我们更深入的了解融合了融合细胞及被诱导恶变的宿主细胞, 这些都有较好的创新性。

记肿瘤细胞核, RFP标记肿瘤细胞质)接种于GFP转基因鼠, 建立了一种三色荧光蛋白的肿瘤模型, 观察到多柔比星在抗肿瘤的过程中主要作用于肿瘤细胞的细胞核, 而对细胞质几乎不起作用。

2.3 肿瘤与宿主之间的相互关系 肿瘤的发生发展离不开宿主提供的微环境^[23]。如果我们将肿瘤与宿主分别标记不同颜色的荧光蛋白, 就能够更清楚更准确的辨别肿瘤与宿主在肿瘤进展中各自扮演着怎样的角色。Yang等^[15]将表达RFP的黑素瘤、前列腺癌细胞等分别接种于C57/B6-GFP转基因小鼠, 建立双色荧光示踪的移植瘤模型, 在荧光显微镜下观察发现黑素瘤细胞B16F10-RFP接种于GFP转基因小鼠3 wk后, 新鲜的红色肿瘤组织中心及周围浸润着大量绿色宿主源性的树突状细胞及淋巴细胞, 形成一个肿瘤局部微环境下的免疫系统。甚至还可以在单细胞水平上直观绿色宿主源性巨噬细胞接触、包绕、吞噬、消化表达红色荧光的前列腺癌细胞。崔宝乾等^[24,25]、吴金鼎等^[26]在红绿双色荧光蛋白示踪的胶质瘤模型基础上, 分离出浸润在肿瘤组织中的绿色巨噬细胞、树突状细胞及胶质细胞, 体外培养并研究发现绿色的巨噬细胞、树突状细胞及胶质细胞已发生了癌变, 具有无限增殖力和致瘤力。这暗示着在肿瘤进展过程中宿主的部分免疫细胞(巨噬细胞、树突状细胞等)不再对肿瘤起免疫监视作用, 而是在肿瘤的诱导下“突变”为癌变的肿瘤相关免疫细胞(tumor-associated immunocyte, TAIC), 甚至宿主本身的主细胞也被肿瘤细胞改造, 成为肿瘤的增殖、侵袭及转移的“帮凶”^[27]。

Dong等^[28]在探讨胶质瘤干祖细胞在肿瘤组织重构中如何发挥作用的实验中发现肿瘤组织中, 除了红、绿色细胞, 还有少量的由红色肿瘤细胞与绿色宿主细胞融合而成的黄色融合细胞, 进一步研究表明黄色融合细胞的恶性程度相对于红色肿瘤细胞要高; 我们在双色荧光肝癌组织中也发现了黄色融合细胞。

2.4 肿瘤新生血管 在过去, 通常采用测定新生血管密度的方法来评估肿瘤生长情况, 这种方法组织均需要经过固定、脱水、染色等步骤, 部分新生血管在这个过程可能会出现变形而无法显示, 所以传统的方法不仅复杂而且不准确。Hoffman等^[29]将HT-1080-RFP纤维肉瘤移植

于ND-GFP转基因裸鼠, 直接在荧光显微镜下就能够清晰的观察到发绿色荧光的肿瘤新生血管。因肿瘤和宿主分别被标记上不同颜色的荧光蛋白, 所以可以直接鉴别肿瘤新生血管的主要组成成分是宿主源性的细胞还是肿瘤源性细胞。张金石等^[30]在双色荧光蛋白示踪的胶质瘤组织中发现肿瘤新生血管的起源细胞除了绿色宿主细胞, 还有红色肿瘤细胞和肿瘤细胞与宿主细胞融合后的黄色融合细胞。

Amoh等^[31]将乳腺癌细胞(RFP标记细胞质, GFP标记细胞核)分别原位种植于免疫活性正常和免疫活性缺陷的ND-GFP小鼠。早期, 在荧光显微镜下观察到免疫活性缺陷的ND-GFP裸小鼠肿瘤组织中有许多表达GFP的新生血管, 而免疫活性正常的ND-GFP小鼠体内却没有发现任何新生血管, 这说明了肿瘤血管的生成与机体免疫力也有着密切关系。

2.5 循环肿瘤细胞及肿瘤休眠细胞 有研究^[32,33]表明, 部分肿瘤细胞脱落后在血管中运动, 我们称这类细胞为循环肿瘤细胞(circulating tumour cell, CTC), 他是肿瘤向远处转移的重要前提条件之一。由此可见新生肿瘤血管既可为肿瘤生长提供营养, 又为肿瘤转移提供了有利的条件。Yamauchi等^[34,35]将肿瘤细胞质标记上GFP, 细胞核标记上RFP, 然后在荧光显微镜下观察到肿瘤细胞在毛细血管中通过时需变形缩小以适应血管的宽度, 肿瘤细胞在毛细血管中的平均长度是本身的平均长度的4倍, 而细胞核是其本身平均长度的1.6倍, 肿瘤细胞在血管中每小时迁移距离约为8.0-48.3 μm 不等, 实时双色荧光成像表明肿瘤细胞从血管迁徙出的过程中, 细胞核和细胞质都经过了“瘦身”改变, 细胞质先从血管中溢出, 然后细胞核跟随其后。

Goodison等^[36]将GFP-NM2C5(NM2C5为一个非转移性的基因)标记的人乳腺癌细胞接种于裸鼠的乳腺后, 荧光显像发现有少量几个肿瘤细胞转移到肺部。切除原发肿瘤的半年内, 通过活体成像仪实时动态观察, 转移到肺的少量肿瘤细胞未见增殖和凋亡, 一直保持着“静止”状态定居在肺中。但这些细胞在体外培养仍然具有肿瘤细胞的生物学特性, 我们将这类称为“休眠细胞”, 他们在体内具有潜在的复发能力。“休眠细胞”的发现及其特性的研究解释了为什么当原发肿瘤被彻底切除后, 部分

患者仍存在复发的风险^[37,38]。

2.6 肿瘤的转移 传统的病理方法需要将动物处死才可以看到肿瘤的转移灶, 而将荧光蛋白标记肿瘤细胞时, 不仅可以在活体内发现肿瘤的转移灶, 甚至早期的单个细胞形成的微小转移灶也能看到^[39,40]。Hoffman^[41,42]通过双色荧光蛋白标记的肿瘤细胞, 在亚细胞水平上动态观察肿瘤细胞的转移, 肿瘤细胞进入血管后, 通过血流及自身的动力运输到远处, 核质形态发生改变, 肿瘤细胞从血管中外渗到其他组织中, 并定居在此处形成转移灶。除上述循环肿瘤细胞外, 宿主提供的微环境在肿瘤转移过程中也扮演着重要的角色。Bouvet等^[43]将RFP标记的人结肠癌细胞HCT-116接种于GFP转基因小鼠脾脏后, 在肝脏组织中观察到由肿瘤细胞和脾脏细胞形成的转移灶; 将GFP脾脏细胞和RFP肿瘤细胞混合静注入门静脉, 同样也可以在肝脏组织中看到脾脏细胞和肿瘤细胞形成的远处转移灶; 而当HCT-116-RFP单独静注入门静脉, 6 h后, 肿瘤细胞质发生了广泛的崩解, 肿瘤细胞几乎全都死亡, 实验结果表明宿主的脾脏细胞能够协助结肠癌肝转移。

2.7 肿瘤的治疗 肿瘤荧光模型结合荧光活体成像技术, 可用来研究活体内肿瘤对药物的敏感性、耐药性及药物作用肿瘤的机制等。同传统的动物模型相比, 建立的荧光肿瘤荧光模型, 有利于实验的序贯性研究, 减少了药物研发所需的动物的数量, 加快了筛选新治疗方案的进程^[44,45]。Tanaka等^[46]将表达RFP人结肠癌细胞(HT29-RFP)接种到表达GFP裸鼠的脾脏, 活体双光子激光扫描显微镜发现结肠癌肝转移后, 将5-氟尿嘧啶和伊立替康两种化疗药物分别注射于荷瘤鼠的腹腔, 实时动态观察转移到肝脏的结肠癌细胞对两种化疗药物的反应。其结果表明这两种化疗药物治疗结肠癌肝转移的疗效无差异无统计学意义。

国外学者Metildi等^[47-49]已报道了将荧光蛋白标记及显像技术引用于外科切除结肠癌、胰腺癌等手术中, 总体提高了动物的存活时间。因肿瘤细胞被标记上了荧光蛋白, 肿瘤的境界能够真实准确显示, 所以荧光介导的外科手术能够彻底清除肿瘤, 包括小转移病灶, 从而提高了手术的疗效。

3 结论

荧光蛋白示踪技术已广泛用于探索肿瘤的生

长、转移、肿瘤与宿主之间的关系, 肿瘤血管的生成, 亚细胞的动力学、抗肿瘤药物的筛选等众多方面, 结合荧光成像技术, 肿瘤能够在活体内进行实时、动态、非侵袭性成像, 为肿瘤的基础研究带来了飞跃的进展, 也为今后临床实践中早期诊断肿瘤、提高抗肿瘤的疗效、术中成像等带来了希望。

未来, 荧光蛋白成像也将极大可能改变传统手术模式。很显然, 现在临床上使用的CT和MRI等检测肿瘤的手段, 都只是术前成像^[50]。Kelly等^[51]借助一种可以同时腹腔内进行荧光成像及探查的多功能内窥镜, 对荷瘤鼠模型中的卵巢癌腹腔转移现象进行成像。如果我们能够将荧光蛋白成像技术与内窥镜技术相结合, 应用于临床外科手术中, 不仅可以清楚地分辨出肿瘤的真实边界, 还可以较早地检测出微小转移灶, 尽可能地减小手术损伤, 提高手术的疗效。这将在外科手术中具有极高的应用价值, 希望在不久的将来我们能够将荧光蛋白标记技术应用于临床工作中。

应用要点

荧光蛋白标记的方法在肿瘤的生长、侵袭、转移、血管生成、肿瘤与宿主之间的关系等基础研究中广泛应用。也是肿瘤的疗效评估、新药物研发不可或缺的方法。将来应用于人体内肿瘤的早期诊断及肿瘤切除术中荧光导航的前景值得我们期待。

4 参考文献

- Shimomura O, Johnson FH, Saiga Y. Extraction, purification and properties of aequorin, a bioluminescent protein from the luminous hydromedusa, Aequorea. *J Cell Comp Physiol* 1962; 59: 223-239 [PMID: 13911999]
- Hoffman RM. Orthotopic transplant mouse models with green fluorescent protein-expressing cancer cells to visualize metastasis and angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 1998-1999; 17: 271-277 [PMID: 10352880]
- Hoffman RM. Green fluorescent protein to visualize cancer progression and metastasis. *Methods Enzymol* 1999; 302: 20-31 [PMID: 12876758]
- Ohba Y, Fujioka Y, Nakada S, Tsuda M. Fluorescent protein-based biosensors and their clinical applications. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 113: 313-348 [PMID: 23244794 DOI: 10.1016/B978-0-12-386932-6.00008-9]
- Hoffman RM. Fluorescent proteins as visible in vivo sensors. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 113: 389-402 [PMID: 23244796 DOI: 10.1016/B978-0-12-386932-6.00010-7]
- Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, Nitschke R, Nann T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nat Methods* 2008; 5: 763-775 [PMID: 18756197 DOI: 10.1038/nmeth.1248]
- Dave SR, White CC, Gao X, Kavanagh TJ. Luminescent quantum dots for molecular toxicology. *Adv Exp Med Biol* 2012; 745: 117-137 [PMID: 22437816 DOI: 10.1007/978-1-4614-3055-1_8]
- Chudakov DM, Matz MV, Lukyanov S, Lukyanov KA. Fluorescent proteins and their applications in imaging living cells and tissues. *Physiol Rev* 2010;

■名词解释

循环肿瘤细胞 (CTC): 通常将进入外周血中的肿瘤细胞称为循环肿瘤细胞。循环肿瘤细胞的检测有效地应用于对肿瘤的早期诊断、化疗药物的快速评估, 肿瘤的进展及复发等方面。

- 90: 1103-1163 [PMID: 20664080 DOI: 10.1152/physrev.00038.2009]
- 9 Nienhaus K, Nienhaus GU. Fluorescent proteins for live-cell imaging with super-resolution. *Chem Soc Rev* 2014; 43: 1088-1106 [PMID: 24056711 DOI: 10.1039/c3cs60171d]
- 10 Fili N, Toseland CP. Fluorescence and labelling: how to choose and what to do. *EXS* 2014; 105: 1-24 [PMID: 25095988 DOI: 10.1007/978-3-0348-0856-9_1]
- 11 Markova SV, Burakova LP, Frank LA, Golz S, Korostileva KA, Vysotski ES. Green-fluorescent protein from the bioluminescent jellyfish *Clytia gregaria*: cDNA cloning, expression, and characterization of novel recombinant protein. *Photochem Photobiol Sci* 2010; 9: 757-765 [PMID: 20442953 DOI: 10.1039/c0pp00023j]
- 12 Matz MV, Fradkov AF, Labas YA, Savitsky AP, Zaraisky AG, Markelov ML, Lukyanov SA. Fluorescent proteins from nonbioluminescent Anthozoa species. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 969-973 [PMID: 10504696 DOI: 10.1038/13657]
- 13 Shcherbakova DM, Subach OM, Verkhusha VV. Red fluorescent proteins: advanced imaging applications and future design. *Angew Chem Int Ed Engl* 2012; 51: 10724-10738 [PMID: 22851529 DOI: 10.1002/anie.201200408]
- 14 Müller-Taubenberger A, Anderson KI. Recent advances using green and red fluorescent protein variants. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 77: 1-12 [PMID: 17704916 DOI: 10.1007/s00253-007-1131-5]
- 15 Yang M, Li L, Jiang P, Moossa AR, Penman S, Hoffman RM. Dual-color fluorescence imaging distinguishes tumor cells from induced host angiogenic vessels and stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 14259-14262 [PMID: 14614130]
- 16 Zhang X, Zheng X, Jiang F, Zhang ZG, Katakowski M, Chopp M. Dual-color fluorescence imaging in a nude mouse orthotopic glioma model. *J Neurosci Methods* 2009; 181: 178-185 [PMID: 19447136 DOI: 10.1016/j.jneumeth.2009.05.004]
- 17 Bouvet M, Hoffman RM. In vivo imaging of pancreatic cancer with fluorescent proteins in mouse models. *Methods Mol Biol* 2012; 872: 51-67 [PMID: 22700403 DOI: 10.1007/978-1-61779-797-2_4]
- 18 Hayashi K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Amoh Y, Hoffman RM, Bouvet M. Dual-color imaging of angiogenesis and its inhibition in bone and soft tissue sarcoma. *J Surg Res* 2007; 140: 165-170 [PMID: 17418866 DOI: 10.1016/j.jss.2006.11.018]
- 19 Yagublu V, Ahmadova Z, Hafner M, Keese M. Review: Fluorescent protein-based tumor models. *In Vivo* 2012; 26: 599-607 [PMID: 22773574]
- 20 Hoffman RM. Cellular and subcellular imaging in live mice using fluorescent proteins. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13: 537-544 [PMID: 22214502]
- 21 Yamamoto N, Tsuchiya H, Hoffman RM. Tumor imaging with multicolor fluorescent protein expression. *Int J Clin Oncol* 2011; 16: 84-91 [PMID: 21347627 DOI: 10.1007/s10147-011-0201-y]
- 22 Yang M, Jiang P, Hoffman RM. Whole-body subcellular multicolor imaging of tumor-host interaction and drug response in real time. *Cancer Res* 2007; 67: 5195-5200 [PMID: 17545599]
- 23 Kucerova L, Skolekova S. Tumor microenvironment and the role of mesenchymal stromal cells. *Neoplasma* 2013; 60: 1-10 [PMID: 23067210 DOI: 10.4149/neo_2013_001]
- 24 崔宝乾, 费喜峰, 王爱东, 王之敏, 兰青, 董军, 黄强. 肿瘤相关巨噬细胞癌变: 在双色荧光示踪肿瘤模型中的发现. *中华微生物学与免疫杂志* 2012; 32: 1015-1016
- 25 崔宝乾, 费喜峰, 王爱东, 陈延明, 张金石, 代兴亮, 张全斌, 赵耀东, 王之敏. 胶质瘤干/祖细胞诱导宿主巨噬细胞癌变的实验研究. *中华神经医学杂志* 2013; 12: 865-869
- 26 吴金鼎, 王德林, 代兴亮, 中勇, 刘兵, 陆朝晖, 王爱东, 董军, 兰青. 胶质瘤干细胞可诱导宿主肝组织内胶质瘤间质细胞恶性转化. *中华医学杂志* 2014; 35: 2775-2780
- 27 Wu A, Wei J, Kong LY, Wang Y, Priebe W, Qiao W, Sawaya R, Heimberger AB. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia. *Neuro Oncol* 2010; 12: 1113-1125 [PMID: 20667896 DOI: 10.1093/neuonc/nuq082]
- 28 Dong J, Dai XL, Lu ZH, Fei XF, Chen H, Zhang QB, Zhao YD, Wang ZM, Wang AD, Lan Q, Huang Q. Incubation and application of transgenic green fluorescent nude mice in visualization studies on glioma tissue remodeling. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 4349-4354 [PMID: 23253700]
- 29 Hoffman RM. Dual-color imaging of tumor angiogenesis. *Methods Mol Biol* 2009; 515: 45-61 [PMID: 19378118 DOI: 10.1007/978-1-59745-559-6_4]
- 30 张金石, 陆朝晖, 费喜峰, 代兴亮, 吴金鼎, 万意, 王之敏, 王爱东, 董军. 双色荧光示踪胶质瘤原位移植裸鼠模型的建立及其特征分析. *中华肿瘤杂志* 2014; 36: 97-102
- 31 Amoh Y, Hamada Y, Katsuoka K, Hoffman RM. In vivo imaging of nuclear-cytoplasmic deformation and partition during cancer cell death due to immune rejection. *J Cell Biochem* 2012; 113: 465-472 [PMID: 21938737 DOI: 10.1002/jcb.23370]
- 32 Balic M, Williams A, Lin H, Datar R, Cote RJ. Circulating tumor cells: from bench to bedside. *Annu Rev Med* 2013; 64: 31-44 [PMID: 23092385 DOI: 10.1146/annurev-med-050311-163404]
- 33 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]
- 34 Yamauchi K, Yang M, Jiang P, Yamamoto N, Xu M, Amoh Y, Tsuji K, Bouvet M, Tsuchiya H, Tomita K, Moossa AR, Hoffman RM. Real-time in vivo dual-color imaging of intracapillary cancer cell and nucleus deformation and migration. *Cancer Res* 2005; 65: 4246-4252 [PMID: 15899816 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0069]
- 35 Yamauchi K, Yang M, Jiang P, Xu M, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Moossa AR, Bouvet M, Hoffman RM. Development of real-time subcellular dynamic multicolor imaging of cancer-cell trafficking in live mice with a variable-magnification whole-mouse imaging system. *Cancer Res* 2006; 66: 4208-4214 [PMID: 16618743]
- 36 Goodison S, Kawai K, Hihara J, Jiang P, Yang M, Urquidi V, Hoffman RM, Tarin D. Prolonged dormancy and site-specific growth potential of

- cancer cells spontaneously disseminated from nonmetastatic breast tumors as revealed by labeling with green fluorescent protein. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3808-3814 [PMID: 14506175]
- 37 Páez D, Labonte MJ, Bohanes P, Zhang W, Benhanim L, Ning Y, Wakatsuki T, Loupakis F, Lenz HJ. Cancer dormancy: a model of early dissemination and late cancer recurrence. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 645-653 [PMID: 22156560 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2186]
 - 38 Yu Y, Zhu Z. Cell dormancy and tumor refractory. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13: 199-202 [PMID: 22934702]
 - 39 Kimura H, Hayashi K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Kishimoto H, Bouvet M, Hoffman RM. Real-time imaging of single cancer-cell dynamics of lung metastasis. *J Cell Biochem* 2010; 109: 58-64 [PMID: 19911396 DOI: 10.1002/jcb.22379]
 - 40 Hoffman RM. Imageable clinically relevant mouse models of metastasis. *Methods Mol Biol* 2014; 1070: 141-170 [PMID: 24092438 DOI: 10.1007/978-1-4614-8244-4_11]
 - 41 Hoffman RM. Imaging metastatic cell trafficking at the cellular level in vivo with fluorescent proteins. *Methods Mol Biol* 2014; 1070: 171-179 [PMID: 24092439 DOI: 10.1007/978-1-4614-8244-4_12]
 - 42 Hoffman RM. Live cell imaging in live animals with fluorescent proteins. *Methods Enzymol* 2012; 506: 197-224 [PMID: 22341226 DOI: 10.1016/B978-0-12-391856-7.00035-4]
 - 43 Bouvet M, Tsuji K, Yang M, Jiang P, Moossa AR, Hoffman RM. In vivo color-coded imaging of the interaction of colon cancer cells and splenocytes in the formation of liver metastases. *Cancer Res* 2006; 66: 11293-11297 [PMID: 17145875]
 - 44 Hoffman RM. Real-time subcellular imaging in live animals: new visible targets for cancer drug discovery. *IDrugs* 2006; 9: 632-635 [PMID: 16952071]
 - 45 Hoffman RM. Orthotopic mouse models expressing fluorescent proteins for cancer drug discovery. *Expert Opin Drug Discov* 2010; 5: 851-866 [PMID: 22823260 DOI: 10.1517/17460441.2010.510129]
 - 46 Tanaka K, Okigami M, Toiyama Y, Morimoto Y, Matsushita K, Kawamura M, Hashimoto K, Saigusa S, Okugawa Y, Inoue Y, Uchida K, Araki T, Mohri Y, Mizoguchi A, Kusunoki M. In vivo real-time imaging of chemotherapy response on the liver metastatic tumor microenvironment using multiphoton microscopy. *Oncol Rep* 2012; 28: 1822-1830 [PMID: 22923070 DOI: 10.3892/or.2012.1983]
 - 47 Metildi CA, Kaushal S, Hardamon CR, Snyder CS, Pu M, Messer KS, Talamini MA, Hoffman RM, Bouvet M. Fluorescence-guided surgery allows for more complete resection of pancreatic cancer, resulting in longer disease-free survival compared with standard surgery in orthotopic mouse models. *J Am Coll Surg* 2012; 215: 126-135; discussion 135-136 [PMID: 22632917 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.02.021]
 - 48 Metildi CA, Kaushal S, Snyder CS, Hoffman RM, Bouvet M. Fluorescence-guided surgery of human colon cancer increases complete resection resulting in cures in an orthotopic nude mouse model. *J Surg Res* 2013; 179: 87-93 [PMID: 23079571 DOI: 10.1016/j.jss.2012.08.052]
 - 49 Metildi CA, Kaushal S, Pu M, Messer KA, Luiken GA, Moossa AR, Hoffman RM, Bouvet M. Fluorescence-guided surgery with a fluorophore-conjugated antibody to carcinoembryonic antigen (CEA), that highlights the tumor, improves surgical resection and increases survival in orthotopic mouse models of human pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 1405-1411 [PMID: 24499827 DOI: 10.1245/s10434-014-3495-y]
 - 50 Abou-Elkacem L, Gremse F, Barth S, Hoffman RM, Kiessling F, Lederle W. Comparison of pCT, MRI and optical reflectance imaging for assessing the growth of GFP/RFP-expressing tumors. *Anticancer Res* 2011; 31: 2907-2913 [PMID: 21868537]
 - 51 Kelly KJ, Brader P, Woo Y, Li S, Chen N, Yu YA, Szalay AA, Fong Y. Real-time intraoperative detection of melanoma lymph node metastases using recombinant vaccinia virus GLV-1h68 in an immunocompetent animal model. *Int J Cancer* 2009; 124: 911-918 [PMID: 19035444 DOI: 10.1002/ijc.24037]

同行评价

本文内容新颖, 展现了荧光蛋白在肿瘤研究中的先进进展。逻辑清晰, 文笔流畅, 可读性好。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



曲古菌素A联合细胞因子体外诱导小鼠胚胎干细胞分化为肝细胞

朱小波, 李正欣, 顾欣欣, 雷卓, 张洁, 李海涛, 周鸣鸣

背景资料

具有自我更新、高度增殖和多向分化的能力的胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)细胞在体内外可以成功地分化为肝细胞, 为多种难治性肝病、代谢性肝病的细胞替代治疗提供了源源不断的种子细胞来源, 但是其诱导分化的低效率一直是难以解决的关键问题.

朱小波, 如皋市人民医院儿科 江苏省南通市 226000
 朱小波, 李正欣, 南通大学杏林学院 江苏省南通市 226019
 顾欣欣, 雷卓, 张洁, 周鸣鸣, 南通大学生命科学学院遗传学教研室 江苏省南通市 226007
 李海涛, 周鸣鸣, 南京中医药大学 江苏省南京市 210023
 朱小波, 主治医师, 主要从事儿科学的研究.
 江苏省高校自然科学研究面上基金资助项目, No. 12KJB310009
 南通市科技计划基金资助项目, No. BK2011015
 江苏省博士后科研基金资助项目, No. 1201023B
 如皋市科技计划基金资助项目, No. SRG(12)3007
 江苏省高等学校大学生实践创新训练计划基金资助项目, No. 201313993012X
 作者贡献分布: 周鸣鸣、李海涛及顾欣欣负责课题设计、论文写作; 朱小波、顾欣欣、李正欣、雷卓及张洁研究实验; 李海涛提供试剂、数据分析.
 通讯作者: 周鸣鸣, 副教授, 226007, 江苏省南通市啬园路9号, 南通大学生命科学学院遗传学教研室. zmm7711@163.com
 电话: 0513-85012818
 收稿日期: 2014-07-04 修回日期: 2014-09-10
 接受日期: 2014-12-18 在线出版日期: 2015-03-18

Postdoctoral Scientists of Jiangsu Province, No. 1201023B; the Science-Technology Foundation of Rugao, No. SRG(12)3007; Higher School in Jiangsu Province College Students' Practice Innovation Training Programs, No. 201313993012X

Correspondence to: Ming-Ming Zhou, Associate Professor, Department of Genetics, Life Science School, Nantong University, 9 Seyuan Road, Nantong 226007, Jiangsu Province, China. zmm7711@163.com

Received: 2014-07-04 Revised: 2014-09-10

Accepted: 2014-12-18 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To present a novel 3-step procedure to efficiently direct the differentiation of mouse embryonic stem cells (ESCs) into hepatocytes.

METHODS: Mouse ESCs were first induced to differentiate into definitive endoderm cells by three days of activin A treatment. Next, definitive endoderm cells were induced to efficiently differentiate to hepatocytes in the presence of acid fibroblast growth factor (aFGF) and trichostatin A (TSA) in the culture medium for 5 d.

RESULTS: After 10 d of further *in vitro* maturation, the morphological and phenotypic markers of hepatocytes were characterized using light microscopy, immunofluorescence and RT-PCR. Furthermore, these cells were tested for the functions associated with mature hepatocytes including glycogen storage, indocyanine green uptake and release, and the rate of hepatic differentiation was determined by counting the albumin-positive cells, which showed that the rate of hepatic differentiation was 57.38%.

CONCLUSION: The method presented in this

Trichostatin A combined with cytokines induces differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes

Xiao-Bo Zhu, Zheng-Xin Li, Xin-Xin Gu, Zhuo Lei, Jie Zhang, Hai-Tao Li, Ming-Ming Zhou

Xiao-Bo Zhu, Department of Paediatrics, Rugao People's Hospital, Nantong 226000, Jiangsu Province, China
 Xiao-Bo Zhu, Zheng-Xin Li, XingLin College, Nantong University, Nantong 226019, Jiangsu Province, China
 Xin-Xin Gu, Zhuo Lei, Jie Zhang, Ming-Ming Zhou, Department of Genetics, Life Science School, Nantong University, Nantong 226007, Jiangsu Province, China
 Hai-Tao Li, Ming-Ming Zhou, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China
 Supported by: the Natural Science Foundation of the Jiangsu Higher Education Institutions of China, No. 12KJB310009; the Science-Technology Foundation of Nantong, No. BK2011015; the Science Foundation for

同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

study provides a new resource for hepatocyte transplantation.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Embryonic stem cells; Hepatocyte; Induced differentiation

Zhu XB, Li ZX, Gu XX, Lei Z, Zhang J, Li HT, Zhou MM. Trichostatin A combined with cytokines induces differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1278-1284 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1278.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1278>

摘要

目的: 建立细胞因子和曲古菌素A(trichostatin A, TSA)联合诱导小鼠胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)向肝细胞分化的3步法。

方法: ESC在含激活素A的不含白血病抑制因子的培养液中培养3 d分化为定形内胚层细胞; 然后加入酸性成纤维细胞生长因子和TSA联合诱导5 d, 再加入肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等诱导因子培养5 d, 向肝细胞方向分化, 最后以肿瘤素M、地塞米松继续培养5 d形成成熟肝细胞。自发分化组做阴性对照组不加上述因子, 不含白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)的培养液进行自发分化培养。

结果: 诱导分化18 d后, 用光镜、免疫荧光、RT-PCR检测显示诱导18 d后, 出现了大量类肝脏细胞表型的上皮细胞, RT-PCR检测显示这些细胞表达成体肝脏细胞特异标记如酪氨酸转氨酶、白蛋白(albumin, ALB)、天冬氨酸转氨酶、甲状腺激素结合蛋白等。细胞免疫荧光也显示为甲胎蛋白、ALB、细胞角蛋白18阳性, 分化细胞具有成熟肝脏细胞所具有的糖原储存、吲哚菁绿摄取和释放功能。其分化效率用ALB阳性率表示, 诱导分化率可达57.38%。

结论: 组蛋白去乙酰化酶抑制剂TSA联合细胞因子体外诱导ESC可以成功分化为肝细胞, 从而为体外获得大量肝细胞对肝病的临床细胞移植治疗及其研究提供理论和实践基础。

© 2015年版版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胚胎干细胞; 肝样细胞; 诱导分化

核心提示: 本实验采用更强组蛋白去乙酰化酶

抑制剂(histone deacetylase inhibitor)效应的曲古菌素A(trichostatin A, TSA)联合细胞因子诱导法将胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)高效诱导分化为成熟有功能的肝细胞, 证实组蛋白去乙酰化酶抑制剂TSA联合细胞因子体外诱导ESC可以成功分化为肝细胞。

朱小波, 李正欣, 顾欣欣, 雷卓, 张洁, 李海涛, 周鸣鸣. 曲古菌素A联合细胞因子体外诱导小鼠胚胎干细胞分化为肝细胞. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1278-1284 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1278.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1278>

0 引言

具有自我更新、高度增殖和多向分化的能力的胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)在体内外可以成功地分化为肝细胞, 为多种难治性肝病、代谢性肝病的细胞替代治疗提供了源源不断的种子细胞来源, 但是其诱导分化的低效率一直是难以解决的关键问题^[1,2]。目前, ESC分化为肝细胞的方法主要有自发分化、体外诱导分化和体内诱导分化^[3]。体外诱导ESC分化为肝细胞是研究的重点, 单层定向分化操作简便, 培养体系简单, 添加适当的细胞因子易获得高比率的分化细胞, 是ESC定向分化和研究早期胚胎发育的理想平台。表观遗传修饰是细胞内调控基因沉默与激活的一个重要机制, 目前使用表观遗传修饰策略诱导干细胞分化已成为该领域一个新的研究方向。组蛋白去乙酰化酶抑制剂可通过抑制组蛋白去乙酰化酶使组蛋白超乙酰化, 激活细胞内特异的沉默基因, 从而引起细胞分化。曲古菌素A(trichostatin A, TSA)是一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂, TSA在近期的研究中发现能诱导ESC分化^[4], 并对原代培养肝脏细胞维持外源性代谢能力活性, 促进白蛋白(albumin, ALB)分泌和CYP1A1基因转录和功能有重要意义^[5]。这就提示我们应用TSA诱导ESC向肝细胞分化将会极大提高诱导效率, 以期建立一套高效肝细胞体外诱导分化方案, 为肝细胞治疗提供新的细胞来源。

1 材料和方法

1.1 材料 小鼠ESC系(E14), 如皋市人民医院细胞研究室保存; Activin A, 酸性成纤维细胞生长因子(acidic fibroblast growth factor, aFGF)购自Peprotech(Rocky Hill, NJ); 肿瘤素M(oncostatin

■ 研究前沿

如何高效率的获取肝细胞是细胞替代治疗终末期肝病的核心问题之一。该研究使用曲古菌素A(trichostatin A, TSA)联合细胞因子在体外分步诱导ESC向肝细胞的定向分化即为解决这个问题, 为肝细胞替代治疗的进一步研究奠定基础。

■ 相关报道

相关报道NaB和TSA均可以诱导细胞分化, NaB在mmol/L浓度级别发挥作用, TSA在nmol/L的级别发挥同样的作用。TSA抑制酶活性是NaB的约106倍, TSA的HDACi效应更强并且不良反应更小。因此本实验采用更强HDACi效应的TSA联合细胞因子诱导法将ESC高效诱导分化为成熟有功能的肝细胞。

表 1 各基因引物序列、片段大小及退火温度

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	片段大小(bp)	退火温度(℃)	循环数
AFP	TCGTATTCCAACAGGAGG	AGGCTTTTGCTTCACCAG	173	55	25
AAT	AATGGAAGAAGCCATTCGAT	AAGACTGTAGCTGCTGCAGC	484	60	25
ALB	AGAAGACACCCTGATTACTCT	TCGAGAAGCAGGTGTCCTTGT	705	55	25
TTR	GGCTGAGTCTCTCAATTC	CTCACACAGATGAGAAAG	223	55	25
TAT	ACCTTCAATCCCATCCGA	TCCCGACTGGATAGGTAG	205	55	25
Oct4	GCTCAGCCTTAAGAACATGTGTAAGC	GCCTCATACTCTCTCGTTGGGA	327	60	25

AFP: 甲胎蛋白; AAT: 天冬氨酸转氨酶; ALB: 白蛋白; TTR: 甲状腺激素结合蛋白; TAT: 酪氨酸转氨酶; Oct4: 八聚体结合转录因子4。

M, OSM)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)购自R&D System(Minneapolis, MN); 地塞米松(dexamethasone, Dex)、TSA购自Sigma公司; 白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)购自Chemicon公司。

1.2 方法

1.2.1 诱导: 首先培养液中加入Activin A 100 ng/mL的去除LIF的上述培养液培养3 d得到限制性内胚层细胞。然后在培养液中加入aFGF 30 ng/mL与TSA 20 ng/mL联合诱导5 d以向肝细胞方向分化, 再加入HGF 20 ng/mL等诱导因子继续诱导成熟培养5 d。最后以OSM 10 ng/mL; Dex 0.1 μmol/L继续培养成熟肝细胞5 d。每天换液1次。自发分化组以无饲养层高糖DMEM培养基, 其中添加10%胎牛血清、0.1 mmol/L β-巯基乙醇、1 mmol/L谷氨酰胺、非必需氨基酸等, ESC复苏后于明胶预处理的6孔板中贴壁自发分化18 d。

1.2.2 对诱导分化形成的肝细胞进行形态观察: 用倒置相差显微镜观察倒置相差显微镜下观察分化各阶段的细胞形态。

1.2.3 RT-PCR分析: 使用Invitrogen公司PureLink™ RNA Mini Kit试剂盒提取细胞总RNA, 用分光光度计进行浓度分析和纯度鉴定, 琼脂糖凝胶电泳检测RNA的质量。取1 μg RNA进行反转录合成cDNA, 总反应体系25 μL。反应结束后取5 μL进行PCR反应, 其余-20℃保存备用。10 μL PCR反应体系组成为: Mix(PCR反应预混液, 上海生物工程有限公司)5 μL、模板cDNA 1 μL、上下游引物各0.25 μL(上海生物工程有限公司合成)和ddH₂O 3.5 μL; 体系之外再加3-5 μL石蜡油。PCR反应条件: 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 退火30 s, 72℃ 30 s, 30个循环; 72℃ 7 min后冷却至4℃保存。各基因

引物序列、片段大小及退火温度如表1, PCR产物用2%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 细胞免疫荧光检测: 所用一抗分别为ALB(1:100), 甲胎蛋白(1:100)、细胞角蛋白CK18(1:100)、FITC标记的羊抗兔IgG(1:100)和TRITC标记的羊抗鼠IgG(1:100)。详细步骤参考各抗体说明书。荧光显微镜下观察。

1.2.5 PAS糖原染色-过碘酸Schiff反应: 将诱导18 d的细胞, 40 g/L的甲醛固定30 min。甲醇固定。1%的过碘酸氧化5 min, PBS洗涤5次, 然后用希夫氏试剂染色15 min。常规脱水、透明、中性树胶封片。红紫色染色的积聚物看作糖原储存。

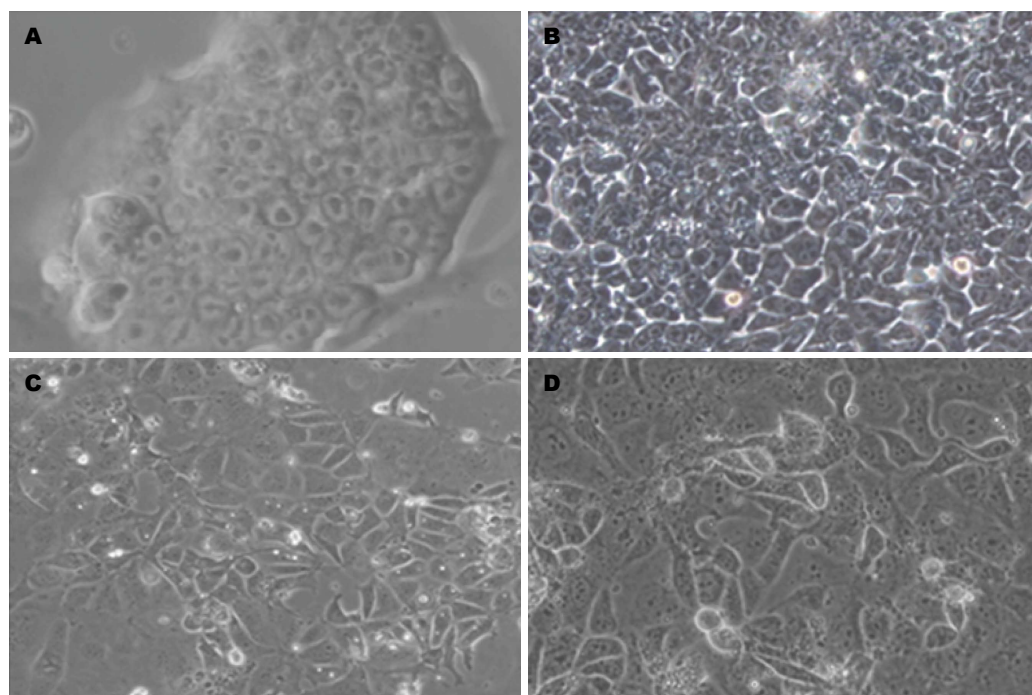
1.2.6 吖啶氯酸(indocyanine green, ICG)摄取和排泌实验: 细胞在含ICG(终浓度1 mg/mL)的培养液中, 37℃孵育15 min, 磷酸盐缓冲液洗3次, 倒置显微镜下观察细胞摄取ICG染色情况。胞浆绿色为阳性。然后换为正常培养液, 6 h后倒置显微镜下观察细胞排泌ICG情况。

1.2.7 分化效率的检测: 每个试验组随机选择6个孔, 每孔随机选择5个视野(不重叠), 每个视野统计ALB绿色荧光阳性细胞占整个视野DAPI对染细胞总数的比例, 3次重复所得ALB荧光阳性细胞比率的平均数即为该组的肝细胞诱导分化率。

统计学处理 全部数据资料采用STATA6.0软件包进行方差分析和t检验。数据资料用mean±SD表示, P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 mESC单层分化为肝样细胞过程中的形态学观察 mESC具有与早期胚胎细胞相似的形态特征, 在未分化前呈克隆化生长, 细胞间无



创新亮点
本实验采用更强HDACi效应的TSA联合细胞因子诱导法将ESC高效诱导分化为成熟有功能的肝细胞, 证实TSA联合细胞因子体外诱导ESC可以成功分化为肝细胞。

图1 ESC分化过程的形态观察(×200). A: 0 d细胞; B: 3 d细胞; C: 12 d细胞; D: 18 d细胞. ESC: 胚胎干细胞。

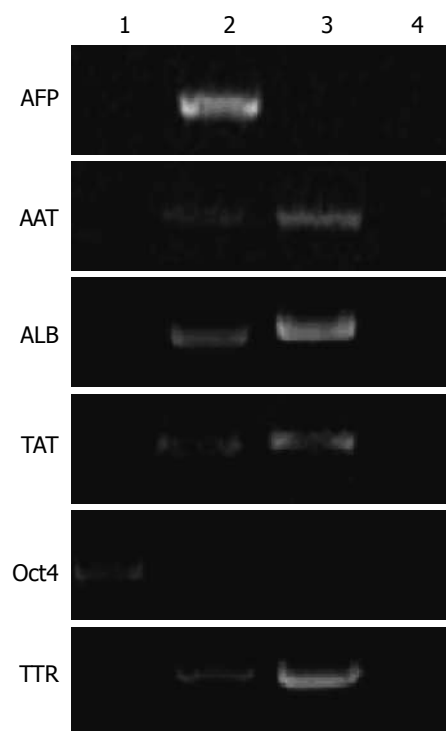


图2 RT-PCR检测分化细胞肝细胞相关基因的表达. 1: 未分化胚胎干细胞; 2: 诱导分化18 d的细胞; 3: 阳性对照; 4: 阴性对照. AFP: 甲胎蛋白; AAT: 天冬氨酸转氨酶; ALB: 白蛋白; TAT: 酪氨酸转氨酶; Oct4: 八聚体结合转录因子4; TTR: 甲状腺激素结合蛋白。

界限, 紧密地聚集在一起, 形似鸟巢. ESC在向肝脏细胞诱导过程中, 细胞大量增殖, 在诱导18 d后, 细胞形态单一, 多数为扁平不规则多边

形, 部分呈类上皮样细胞; 细胞相互连结, 部分细胞呈双核, 核浆比例大, 部分出现双核或三核, 呈现肝细胞样细胞的形态(图1). 而自发分化对照组, 则以混杂细胞为主, 可见多量成纤维样细胞。

2.2 RT-PCR分析 电泳结果显示, 诱导18 d后诱导分化组细胞能够表达成熟肝细胞标志基因 *ALB*、*TTR*、*TAT*和*AAT*以及早期标志基因 *AFP*, 不表达ESC标志基因 *OCT4*, 提示分化组细胞已经具备肝细胞的基因表达特征, 包含不同成熟阶段的肝细胞(图2). 阳性对照组, 小鼠成熟肝脏里除AFP外其他标志物均有表达. 阴性对照组(-R)无条带。

2.3 细胞免疫荧光检测情况 诱导分化第18 d, 行免疫荧光染色检测AFP、ALB、CK18的表达. 可见联合诱导分化组AFP、ALB、CK18均为阳性, 发红色或绿色荧光(图3).

2.4 PAS糖原染色-过碘酸Schiff反应 肝脏是进行糖原合成及糖异生的器官, PAS染色可使细胞内碳水化合物特异性着色为红紫色. 图4显示, 诱导18 d后, 可见大量多边形肝细胞样细胞呈红紫色颗粒沉淀, 显示细胞有糖原合成和贮存功能。

2.5 ICG摄取和排泌实验 ICG的代谢与肝细胞基底细胞膜有机阴离子转运系统有关, 其受体是肝细胞特异性的, 所以ICG的摄取能

应用要点

TSA联合细胞因子体外诱导ESC, 诱导分化率可达57.38%, 这种新的高效诱导ESC分化为肝细胞的方法为体外获得大量肝细胞对肝病的临床细胞移植治疗及其研究提供理论和实践基础.

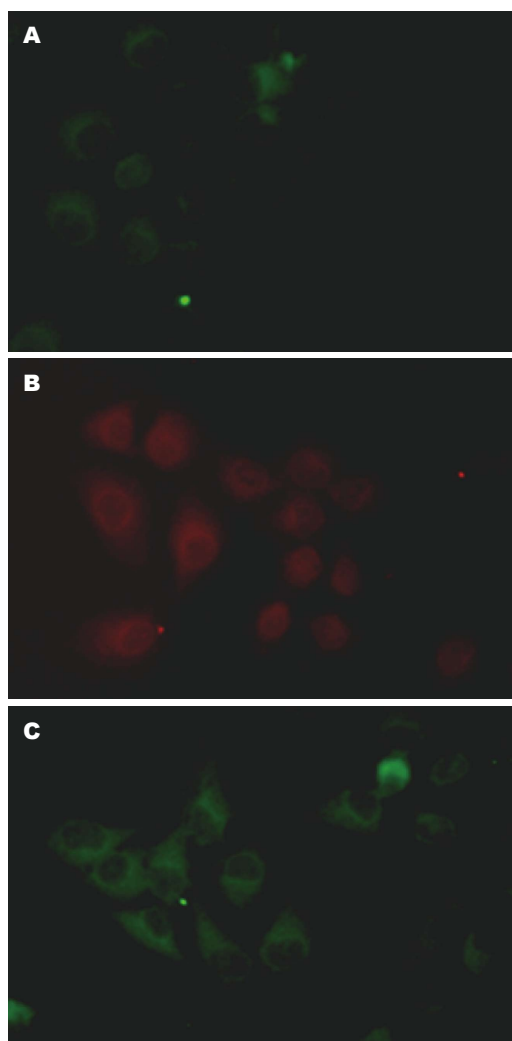


图 3 细胞免疫荧光检测($\times 400$). A: AFP; B: ALB; C: CK18. AFP: 甲胎蛋白; ALB: 白蛋白; CK18: 细胞角蛋白.

力通常用作肝细胞特异性的功能标志. 细胞在含ICG(终浓度1 mg/mL)的培养液中, 37 °C 孵育15 min, 磷酸盐缓冲液洗3次, 倒置显微镜下观察细胞染色情况, 胞浆绿色为阳性, 说明诱导分化后的细胞可特异性的摄取ICG. 换回普通培养基常规培养6 h后, 着色细胞的颜色可完全退去, 将ICG排出细胞外(图5), 提示我们诱导后的肝细胞样细胞具有一定的肝细胞功能.

2.6 各组分化率比较 各组诱导肝脏细胞分化率由细胞免疫荧光ALB阳性率统计而得, 经各组随机挑取30张ALB免疫荧光照片, ALB阳性细胞数和DAPI核染色数经Image-Pro Plus软件计数, 统计. 自发分化对照组分化率10.34%, 而细胞因子与TSA联合诱导组达57.38%. 细胞因子与TSA联合诱导对ESC诱导肝脏细胞分化率提高效果明显($P<0.05$).

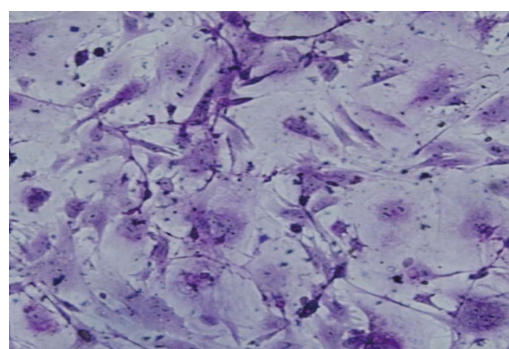


图 4 分化细胞的PAS染色($\times 200$).

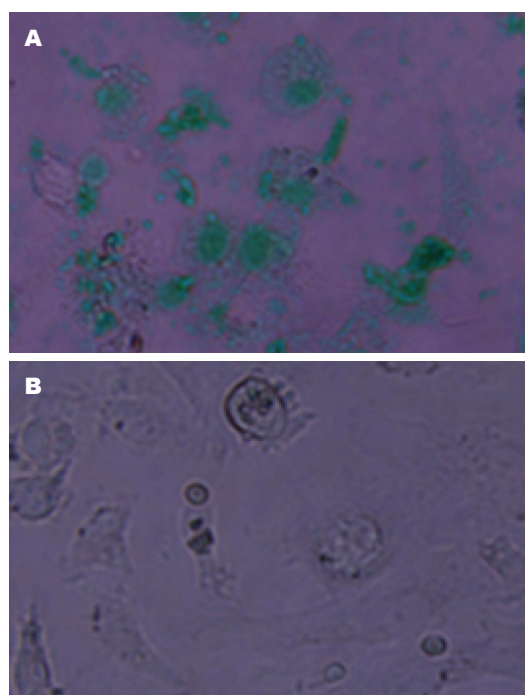


图 5 ICG吸收与排泄检测($\times 200$). A: 0 h细胞; B: 6 h细胞. ICG: 吲哚氰酸.

3 讨论

目前诱导ESC为肝细胞应用最多的是细胞因子分步干预技术, 通过模拟肝脏细胞分化、增殖和成熟的微环境从而实现对ESC分化过程中特定亚群细胞的纯化和选择性扩增. 如诱导中采用的细胞因子和胞外介质有Activin A、aFGF、HGF、OSM、Dex等^[6]. 在诱导分化的早期, 添加Activin A, 是由于他能诱导ESC向定形内胚层细胞分化, 可以提高向肝脏细胞分化效率^[7]; 其后加入的aFGF^[8], 是由于中胚层分化的心肌细胞能够分泌aFGF, 他是第一个定向诱导前肠内胚层形成肝胚细胞的细胞因子; 在诱导分化的中期加入HGF, HGF是广谱多功能细胞因子, 通过与其受体c-MET

的结合, 促进肝脏细胞有丝分裂、细胞形态的形成, 支持诱导肝细胞增殖生长^[9]; 在诱导分化的晚期加入OSM、Dex等肝脏细胞促成熟因子, OSM是由造血细胞分泌的, 能诱导胎肝细胞的成熟^[10], Dex是一个合成的糖皮质激素, 在肝脏中能够诱导糖原异生酶如磷酸烯醇丙酮酸(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)、酪氨酸氨基转移酶(tyrosine amino transferase, TAT)以及其他相关肝脏生化酶的产生^[11,12], 因此Dex常常作为诱导肝脏细胞成熟时期的必加诱导剂。但与细胞因子等诱导剂相比, 化学合成的复合物具有半衰期长、作用稳定、效应明确等特点, 因此化合物诱导更适合于干细胞的长期分化诱导过程。有研究表明, 丁酸钠(NaB)通过其组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACi)活性可以介导多种细胞的分化。此后又发现丙戊酸钠等组蛋白去乙酰化酶抑制剂均可诱导ESC向肝细胞分化, 说明HDACi普遍具有诱导ESC向肝细胞分化作用^[13]。其可能机制为介导了分化过程中细胞周期阻滞、细胞分化和细胞凋亡3种效应, 从而最终得到了形态和功能相对均一的肝细胞。

ESC向肝细胞分化要经历从内胚层、胚肝到成熟肝脏等多个时期, 其中涉及复杂的基因调控过程。表观遗传修饰(epigenetic modification)是细胞内调控基因沉默与激活的一个重要机制, 他通过引起染色质和核小体构型改变来调控基因转录, 而不涉及基因本身序列的改变。干细胞的多能性与其胞内广泛的表观遗传特征密切相关, 而运用表观遗传修饰策略诱导干细胞分化已成为该领域一个新的研究方向。

组蛋白乙酰化和去乙酰化是一个重要表观遗传修饰方式。通常组蛋白乙酰化激活基因转录, 去乙酰化则导致基因沉默, 他们分别受多种组蛋白乙酰化酶和去乙酰化酶控制。HDACi可通过抑制组蛋白去乙酰化酶使组蛋白超乙酰化, 激活细胞内特异的沉默基因, 从而引起细胞分化。

丁酸钠和TSA均是HDACi, 前者是人类结肠中细菌发酵碳水化合物产生的一短链脂肪酸, 属于短链脂肪酸类; 后者是抗真菌药物, 属于氧肟酸类。其中小分子氧肟酸盐(异羟肟酸)类的TSA属于强效抑制剂, 因为其金属结合区

的异羟肟酸能与 Zn^{2+} 充分接触, 并与HDAC中的组胺酸和酪氨酸等形成氢键, 异羟肟酸是产生高效抑制活性的必需部分; 间隔区恰好与HDAC中狭窄的囊紧密接触, 产生大量范德华力, 表面识别区则很好地结合了边缘残基。而短链脂肪酸类的NaB强效抑制剂金属结合区的异羟肟酸被一元羧酸取代, 抑制活性大为降低^[14]。因此NaB和TSA均可以诱导细胞分化, NaB在mmol/L浓度级别发挥作用, TSA在nmol/L的级别发挥同样的作用。TSA抑制酶活性是NaB的约106倍, TSA的HDACi效应更强并且不良反应更小^[15]。因此本实验采用更强HDACi效应的TSA联合细胞因子诱导法将ESC高效诱导分化为成熟有功能的肝细胞, 证实组蛋白去乙酰化酶抑制剂TSA联合细胞因子体外诱导ESC可以成功分化为肝细胞, 其诱导分化率可达57.38%。建立起一种诱导ESC分化为肝细胞的诱导方案, 从而为体外获得大量肝细胞对肝病的临床细胞移植治疗及其研究提供理论和实践基础。

■名词解释

组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi): 是一类化合物, 有干扰与组蛋白去乙酰化酶的功能。DDACi通过增加细胞内组蛋白的乙酰化程度, 提高p21等基因的表达水平等途径, 抑制肿瘤细胞的增殖, 诱导细胞分化和/或凋亡。

4 参考文献

- 1 Subramanian K, Owens DJ, Raju R, Firpo M, O'Brien TD, Verfaillie CM, Hu WS. Spheroid culture for enhanced differentiation of human embryonic stem cells to hepatocyte-like cells. *Stem Cells Dev* 2014; 23: 124-131 [PMID: 24020366 DOI: 10.1089/scd.2013.0097]
- 2 江海洪, 向德栋, 刘国栋, 王宇明. 小鼠胚胎干细胞体外分步诱导为肝细胞的实验研究. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1849-1851
- 3 Deng XG, Qiu RL, Wu YH, Li ZX, Xie P, Zhang J, Zhou JJ, Zeng LX, Tang J, Maharjan A, Deng JM. Overexpression of miR-122 promotes the hepatic differentiation and maturation of mouse ESCs through a miR-122/FoxA1/HNF4a-positive feedback loop. *Liver Int* 2014; 34: 281-295 [PMID: 23834235]
- 4 Hosseinkhani M, Hasegawa K, Ono K, Kawamura T, Takaya T, Morimoto T, Wada H, Shimatsu A, Prat SG, Suemori H, Nakatsuji N, Kita T. Trichostatin A induces myocardial differentiation of monkey ES cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 386-391 [PMID: 17368572 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.02.151]
- 5 Ellis JK, Chan PH, Doktorova T, Athersuch TJ, Cavill R, Vanhaecke T, Rogiers V, Vinken M, Nicholson JK, M D Ebbels T, Keun HC. Effect of the histone deacetylase inhibitor trichostatin a on the metabolome of cultured primary hepatocytes. *J Proteome Res* 2010; 9: 413-419 [PMID: 19894772 DOI: 10.1021/pr9007656]
- 6 Bukong TN, Lo T, Szabo G, Dolganiuc A. Novel developmental biology-based protocol of embryonic stem cell differentiation to morphologically sound and functional yet

同行评价

该研究设计合理, 数据翔实, 结论有说服力. 通过小鼠ESC体外分步定向诱导实验, 为研究高效率的获取肝细胞提供了新的思路.

- immature hepatocytes. *Liver Int* 2012; 32: 732-741 [PMID: 22292891]
- 7 Farzaneh Z, Pakzad M, Vosough M, Pournasr B, Baharvand H. Differentiation of human embryonic stem cells to hepatocyte-like cells on a new developed xeno-free extracellular matrix. *Histochem Cell Biol* 2014; 142: 217-226 [PMID: 24477550 DOI: 10.1007/s00418-014-1183-4]
- 8 Liu T, Zhang S, Xiang D, Wang Y. Induction of hepatocyte-like cells from mouse embryonic stem cells by lentivirus-mediated constitutive expression of Foxa2/Hnf4a. *J Cell Biochem* 2013; 114: 2531-2541 [PMID: 23744720 DOI: 10.1002/jcb.24604]
- 9 Fauzi I, Panoskaltsis N, Mantalaris A. Enhanced hematopoietic differentiation toward erythrocytes from murine embryonic stem cells with HepG2-conditioned medium. *Stem Cells Dev* 2012; 21: 3152-3161 [PMID: 22587789 DOI: 10.1089/scd.2012.0030]
- 10 Shiraki N, Yamazoe T, Qin Z, Ohgomori K, Mochitate K, Kume K, Kume S. Efficient differentiation of embryonic stem cells into hepatic cells in vitro using a feeder-free basement membrane substratum. *PLoS One* 2011; 6: e24228 [PMID: 21887386 DOI: 10.1371/journal.pone.0024228]
- 11 Li L, Davidovich AE, Schloss JM, Chippada U, Schloss RR, Langrana NA, Yarmush ML. Neural lineage differentiation of embryonic stem cells within alginate microbeads. *Biomaterials* 2011; 32: 4489-4497 [PMID: 21481927 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.019]
- 12 Amimoto N, Mizumoto H, Nakazawa K, Ijima H, Funatsu K, Kajiwarra T. Hepatic differentiation of mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells during organoid formation in hollow fibers. *Tissue Eng Part A* 2011; 17: 2071-2078 [PMID: 21457096 DOI: 10.1089/ten.TEA.2010.0689]
- 13 Zhou M, Li P, Tan L, Qu S, Ying QL, Song H. Differentiation of mouse embryonic stem cells into hepatocytes induced by a combination of cytokines and sodium butyrate. *J Cell Biochem* 2010; 109: 606-614 [PMID: 20039312 DOI: 10.1002/jcb.22442]
- 14 Chen JS, Faller DV, Spanjaard RA. Short-chain fatty acid inhibitors of histone deacetylases: promising anticancer therapeutics? *Curr Cancer Drug Targets* 2003; 3: 219-236 [PMID: 12769690]
- 15 Sowa Y, Orita T, Minamikawa S, Nakano K, Mizuno T, Nomura H, Sakai T. Histone deacetylase inhibitor activates the WAF1/Cip1 gene promoter through the Sp1 sites. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 142-150 [PMID: 9405248 DOI: 10.1006/bbrc.1997.7786]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



姜黄素和水飞蓟素对大鼠非酒精性脂肪性肝炎的作用及机制比较

万忠惠, 吴富梅

万忠惠, 吴富梅, 六盘水职业技术学院医学系 贵州省六盘水市 553001

万忠惠, 讲师, 主要从事内科学基础的研究。

作者贡献分布: 万忠惠负责课题的设计、研究过程及论文写作; 吴富梅负责试剂的提供与数据分析。

通讯作者: 万忠惠, 讲师, 553001, 贵州省六盘水市钟山大道西段, 六盘水职业技术学院医学系, 18908582111@189.cn
电话: 0858-8777566

收稿日期: 2014-12-15 修回日期: 2015-01-06

接受日期: 2015-01-12 在线出版日期: 2015-03-18

Curcumin and silymarin for nonalcoholic steatohepatitis in rats: Comparison of effects and mechanisms

Zhong-Hui Wan, Fu-Mei Wu

Zhong-Hui Wan, Fu-Mei Wu, Department of Medicine, Liupanshui Vocational and Technical College, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China

Correspondence to: Zhong-Hui Wan, Lecturer, Department of Medicine, Liupanshui Vocational and Technical College, Xidian, Zhongshan Avenue, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 18908582111@189.cn

Received: 2014-12-15 Revised: 2015-01-06

Accepted: 2015-01-12 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of curcumin and silymarin on nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in rats and the underlying mechanisms.

METHODS: Forty-eight SD rats were randomly divided into four groups: a normal control group, a model group, a curcumin group and a silymarin group. NASH was induced by feeding a fat-rich diet in all rats except the normal control group. The rats in the curcumin

group and silymarin group were treated with curcumin and silymarin, respectively. After six weeks, all the rats were sacrificed. Serum alanine aminotransferase (ALT), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and hepatic TG, TC, MDA, and SOD were measured. Expression of peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR α) mRNA in the liver was detected.

RESULTS: Compared with the other three groups, serum ALT, TG, TC, MDA and hepatic TG, TC, and MDA in the model group were significantly higher. The expression of PPAR α mRNA in the liver of rats in the silymarin group was significantly higher than that in the curcumin group, while serum fasting insulin (FINS) and fasting plasma glucose (FPG) were significantly lower.

CONCLUSION: Both curcumin and silymarin are effective in treating rat nonalcoholic fat liver, but the mechanisms are different. Curcumin exerts anti-inflammatory and antioxidant effects, and silymarin promotes hepatic PPAR α mRNA expression.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Silymarin; Nonalcoholic steatohepatitis; Mechanisms

Wan ZH, Wu FM. Curcumin and silymarin for nonalcoholic steatohepatitis in rats: Comparison of effects and mechanisms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1285-1289 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1285.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1285>

■背景资料

现今, 还未明确发现非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 的发病机制, 有相关研究认为NASH发生和发展与胰岛素受体(insulin receptor)缺陷和糖转运障碍引起的胰岛素抵抗及炎症有非常重要的关系。

■同行评议者

李康, 教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

■ 研究前沿

姜黄素能抗炎、线粒体保护和抗纤维化的作用, 所以对各种肝脏疾病有抑制作用。本文通过高脂饮食诱导大鼠制备NASH模型, 研究并探讨姜黄素和水飞蓟素对干预NASH的不同作用机制。

摘要

目的: 研究并探讨姜黄素和水飞蓟素对干预非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的不同作用机制。

方法: 通过高脂饮食诱导大鼠制备NASH模型。将48只健康♂SD大鼠平均分成4组, 其中正常组12只, 给予普通正常饲料; 模型组12只, 姜黄素组12只, 水飞蓟素组12只, 均给予高脂饲料, 即碳水化合物: 脂肪: 蛋白质为37: 45: 18。NASH模型制备成功后, 姜黄素组每天还需按时给予治疗量的姜黄素羧甲基纤维素(carboxy methyl cellulose, CMC)混悬液50 mg/kg, 水飞蓟素组每天按时给予水飞蓟素CMC混悬液100 mg/kg, 正常组和模型组给予CMC溶液灌胃。治疗时间为6 wk。对比大鼠肝脏、血清生物化学指标、胰岛素抵抗水平、组织病理学、组织谷胱甘肽(glutathione, GSH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、放射免疫和过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α , PPAR α) mRNA表达。

结果: 模型组大鼠的肝指数、总胆固醇(total cholesterol, TC)、谷草转氨酶(aspartate amino transferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、血清三酰甘油、MDA、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)显著高于正常组和两个治疗组; 水飞蓟素组PPAR α mRNA表达明显高于模型组和姜黄素组, FINS和FPG的含量显著低于姜黄素组。

结论: 姜黄素、水飞蓟素对高脂饮食诱导制备大鼠NASH模型具有一定的干预作用, 但二者的作用机制不同, 姜黄素是通过抗炎和抗氧化作用作用于NASH, 水飞蓟素则是通过促进肝脏PPAR α mRNA的表达抑制NASH的发生和发展。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 姜黄素; 水飞蓟素; 非酒精性脂肪性肝炎; 机制

核心提示: 姜黄素、水飞蓟素对高脂饮食诱导制备大鼠非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)模型具有一定的干预

作用, 但二者的作用机制不同, 姜黄素是通过抗炎和抗氧化作用于NASH, 水飞蓟素则是通过促进肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α) mRNA的表达抑制NASH的发生和发展。

万忠惠, 吴富梅. 姜黄素和水飞蓟素对大鼠非酒精性脂肪性肝炎的作用及机制比较. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1285-1289
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1285.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1285>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种主要特征为弥漫性肝细胞大泡性脂肪变的临床综合征, 其引发的因素排除酒精和其他明确的损肝因素, 主要分为单纯性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)、肝硬化和脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)^[1-5]。NASH是一类重要的NAFLD, 是NAFL向肝硬化发展的重要限速步骤^[6]。现今, 还未明确发现NASH的发病机制, 有相关研究^[7]认为NASH发生和发展与胰岛素受体(insulin receptor, IR)缺陷和糖转运障碍引起的胰岛素抵抗及炎症有非常重要的关系。

姜黄素(curcumin)是多酚类化合物中的一种, 是从天南星科和姜科植物中提取出来的, 在中药石菖蒲、郁金、姜黄和莪术中大量存在。有研究^[8]表明姜黄素能抗炎、线粒体保护和抗纤维化的作用, 所以对各种肝脏疾病有抑制作用。水飞蓟素(silymarin)是一种植物提取物, 提取自菊科药用植物水飞蓟种子的种皮。水飞蓟素的主要成分为黄酮类物质, 包括水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭和异水飞蓟宾等^[9]。本文通过高脂饮食诱导大鼠制备NASH模型, 研究并探讨姜黄素和水飞蓟素对干预NASH的不同作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 姜黄素(佛山市禾大生物科技有限公司); 水飞蓟素(西安皓源生物技术有限公司)。SD大鼠(♂, 体质量150-180 g, 温度25℃±2℃, 湿度40%-70%)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组和大鼠NASH模型的制备: 将48只健康♂SD大鼠平均分成4组, 其中正常组12只, 给予普通正常饲料; 模型组12只, 姜黄素

■ 相关报道

姜黄素(curcumin)是多酚类化合物中的一种, 是从天南星科和姜科植物中提取出来的, 在中药石菖蒲、郁金、姜黄和莪术中大量存在。有研究表明姜黄素能抗炎、线粒体保护和抗纤维化的作用, 所以对各种肝脏疾病有抑制作用。水飞蓟素(silymarin)是一种植物提取物, 提取自菊科药用植物水飞蓟种子的种皮。水飞蓟素的主要成分为黄酮类物质, 包括水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭和异水飞蓟宾等。

表 1 4组大鼠肝功能和血脂检测结果比较 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	三酰甘油(mmol/L)	TC(mmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)
正常组	0.41 \pm 0.08	0.81 \pm 0.07	51.09 \pm 1.58	81.76 \pm 6.34
模型组	0.73 \pm 0.12	1.52 \pm 0.23	89.77 \pm 4.33	132.7 \pm 2.98
姜黄素组	0.37 \pm 0.06	1.05 \pm 0.14	46.79 \pm 3.12	80.14 \pm 4.11
水飞蓟素组	0.35 \pm 0.15	1.12 \pm 0.08	45.88 \pm 1.87	81.40 \pm 7.14

TC: 总胆固醇; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶。

组12只, 水飞蓟素组12只, 均给予高脂饲料, 即碳水化合物: 脂肪: 蛋白质为37: 45: 18。饲养6 wk, 然后各组均取出2只, 处死, 观察大鼠NASH模型的制备情况。

1.2.2 姜黄素和水飞蓟素干预: NASH模型制备成功后, 每组大鼠除继续同1.2.1项下喂养以外, 姜黄素组每天还需按时给予治疗量的姜黄素羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)混悬液50 mg/kg, 水飞蓟素组每天按时给予水飞蓟素CMC混悬液100 mg/kg, 正常组和模型组给予CMC溶液灌胃。治疗时间为6 wk。

1.2.3 动物处理: 治疗6 wk结束后, 大鼠禁食不禁水1 h后, 称质量, 腹腔注射氯胺酮麻醉。心脏采血, 用超速离心机离心, 分离出血清, 同时采集肝脏标本。

1.2.4 检测指标: 观察大鼠肝脏: 用肉眼对所有大鼠肝脏的质地和色泽等进行观察, 计算大鼠的肝指数, 即肝脏质量与体质量的百分比。

检测大鼠血清生物化学指标: 大鼠的胆固醇(total cholesterol, TC)、谷草转氨酶(aspartate amino transferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)和血清三酰甘油水平用全自动生物化学分析仪进行测定。

测定大鼠的胰岛素抵抗水平(homeostasis model insulin receptor, HOMA-IR): 血清空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)的含量和空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)的浓度分别用用比色法和放免法检测, 计算HOMA-IR指数。

大鼠组织病理学观察: 用HE染色法处理大鼠肝脏标本, 在光镜下观察, 对大鼠肝脏脂变程度进行判断。

大鼠肝组织谷胱甘肽(glutathione, GSH)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的检测: 将大鼠肝组织匀浆后, 用考马斯亮蓝法对蛋白质进行定量。GSH含量和超氧化物歧化酶

(superoxide dismutase, SOD)的活性用比色法进行检测, MDA的含量用硫代巴比妥酸(2-thiobarbituric acid, TBA)法进行测定。

检测IRA(放射免疫): 将提取的大鼠血清在-80 °C的条件下保存, 应用购买的试剂盒测定大鼠血清中白介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-6和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)的水平。

过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α , PPAR α) mRNA表达检测: 采用实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)法测定大鼠PPAR α mRNA表达。

统计学处理 选用SPSS17.0软件对实验结果进行统计学处理, 全部实验结果进行 F 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4组大鼠肝指数比较 模型组大鼠的肝指数显著高于正常组和姜黄素组治疗组和水飞蓟素组, 差异有统计学意义(3.92 ± 0.19 vs 2.29 ± 0.23 , 3.01 ± 0.15 , 3.15 ± 0.21 , $P < 0.05$)。

2.2 4组大鼠肝功能和血脂检测结果比较 模型组大鼠的TC、AST、ALT和血清三酰甘油显著高于正常组和两个治疗组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

2.3 4组大鼠MDA、GSH含量和SOD活性分析结果比较 模型组大鼠的MDA显著高于正常组和两个治疗组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 模型组大鼠的GSH显著低于正常组和两个治疗组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 模型组大鼠的SOD活性显著低于正常组和两个治疗组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.4 4组大鼠胰岛素抵抗检测 模型组大鼠血清中FINS和FPG的含量明显高于正常组和水飞蓟素组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 模型组大鼠HOMA-IR明显高于正常组和水飞蓟素组,

■ 创新盘点

本文采用高脂饮食诱导制备大鼠NASH模型, 喂养6 wk后, 大鼠出现NASH疾病的各种特点, 说明大鼠已经由单纯性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)发展到NASH, 方法简单可靠。

■ 应用要点

姜黄素干预NASH的作用机制可能是通过增加谷胱甘肽(glutathione)含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)的生成量, 同时减少白介素-6(interleukin-6)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α)的表达来达到干预NASH的作用。水飞蓟素干预NASH的作用机制可能是通过降低病鼠血清谷草转氨酶(aspartate amino transferase)活性和MDA含量, 提高肝细胞过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor α) mRNA的表达和SOD活性, 来达到干预NASH的作用。

■名词解释

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD): 是一种主要特征为弥漫性肝细胞大泡性脂肪变的临床病理综合征, 其引发的因素排除酒精和其他明确的损肝因素, 主要分为NAFL、肝硬化和脂肪性肝炎。

表 2 4组大鼠MDA、GSH含量和SOD活性分析结果比较 (n = 12, mean ± SD)

分组	MDA(nmol/mgprot)	GSH(mg/gprot)	SOD(U/mgprot)
正常组	0.71 ± 0.07	1.49 ± 0.16	390.3 ± 15.14
模型组	1.62 ± 0.04	1.12 ± 0.15	327.8 ± 21.33
姜黄素组	0.58 ± 0.48	1.54 ± 0.17	419.7 ± 41.81
水飞蓟素组	0.62 ± 0.44	1.55 ± 0.13	421.8 ± 55.32

MDA: 丙二醛; GSH: 谷胱甘肽; SOD: 超氧化物歧化酶。

表 3 4组大鼠胰岛素抵抗检测比较 (n = 12, mean ± SD)

分组	FPG(mmol/L)	FINS(mIU/L)	HOMA-IR
正常组	3.49 ± 0.58	16.72 ± 3.39	2.61 ± 0.49
模型组	4.81 ± 2.23	17.15 ± 2.13	3.83 ± 2.17
姜黄素组	4.53 ± 1.19	17.09 ± 1.27	2.73 ± 0.62
水飞蓟素组	2.01 ± 0.12	16.05 ± 2.43	1.42 ± 0.61

FPG: 空腹血糖; FINS: 空腹胰岛素; HOMA-IR: 胰岛素抵抗水平。

表 4 4组大鼠血清炎症相关因子IL-4、IL-6和TNF-α检测结果比较 (n = 12, mean ± SD)

分组	TNF-α(ng/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-4(ng/mL)
正常组	0.79 ± 0.15	189.4 ± 36.51	1.09 ± 0.13
模型组	1.41 ± 0.28	231.5 ± 24.32	1.13 ± 0.17
姜黄素组	0.67 ± 0.13	152.3 ± 31.42	0.99 ± 0.21
水飞蓟素组	0.92 ± 0.24	220.5 ± 18.79	0.98 ± 0.32

IL: 白介素; TNF-α: 肿瘤坏死因子α。

差异有统计学意义($P<0.05$); 但是与姜黄素组差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

2.5 4组大鼠血清炎症相关因子IL-4、IL-6和TNF-α检测结果比较 模型组大鼠血清中TNF-α水平明显高于正常组和两个治疗组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 模型组大鼠血清中IL-6水平明显高于正常组和姜黄素组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 与水飞蓟素组差异无统计学意义($P>0.05$); 4组大鼠血清炎症相关因子IL-4差异无统计学意义($P>0.05$)(表4)。

2.6 4组大鼠PPARα mRNA表达的变化比较 水飞蓟素组PPARα mRNA表达明显高于模型组和姜黄素组, 差异有统计学意义(1.22 ± 0.24 vs $0.82 \pm 0.15, 0.88 \pm 0.34, P<0.05$), 与正常组(1.49 ± 0.23)差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.7 4组大鼠组织病理学观察结果比较 显微镜下观察发现, 正常大鼠肝细胞有清晰小叶结构, 无炎性浸润和脂肪变性情况; 而模型组大鼠出

现肝细胞小叶结构紊乱排列, 出现大大小小的脂肪空泡, 肝细胞有气球样变出现, 以及程度不等的肝细胞炎性浸润和碎屑样坏死, 有的甚至出现桥接坏死; 经过姜黄素和水飞蓟素治疗后, 肝细胞炎性反应程度和脂肪变程度均较模型组低。

3 讨论

本文采用高脂饮食诱导制备大鼠NASH模型, 喂养6 wk后, 大鼠出现NASH疾病的各种特点, 说明大鼠已经由NAFL发展到NASH, 方法简单可靠。

本文的实验结果表明, 经过6 wk的口服给药干预大鼠NASH, 姜黄素和水飞蓟素对NASH均有较好的治疗效果, 均不同程度的干预了NASH疾病的发展。组织病理学观察结果表明经过姜黄素和水飞蓟素治疗后, 肝细胞炎性反应程度和脂肪变程度均较模型组低。但

是姜黄素和水飞蓟素干预NASH的作用机制不同. 姜黄素组的大鼠血清ALT、MDA、IL-6和TNF- α 水平显著降低, GSH含量和SOD活性显著升高. 说明姜黄素干预NASH的作用机制可能是通过增加GSH含量和SOD活性, 降低MDA的生成量, 同时减少IL-6和TNF- α 的表达来达到干预NASH的作用^[10-13]. 水飞蓟素组的大鼠血清AST、MDA水平显著降低, PPAR α mRNA的表达显著提高, 说明水飞蓟素干预NASH的作用机制可能是通过能降低病鼠血清AST活性和MDA含量, 提高肝细胞PPAR α mRNA的表达和SOD活性, 来达到干预NASH的作用^[14,15].

4 参考文献

- 1 周琦, 范建高. 非酒精性脂肪性肝炎的药物治疗. 胃肠病学和肝病杂志 2009; 18: 189-192
- 2 陈润花, 张海鹏, 李军祥. 非酒精性脂肪性肝病的中医证候研究进展. 中西医结合肝病杂志 2008; 18: 63-65
- 3 Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001; 121: 710-723 [PMID: 11522755 DOI: 10.1053/gast.2001.27126]
- 4 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2]
- 5 Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-379 [PMID: 11826411 DOI: 10.1053/jhep.2002.30692]
- 6 李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立. 中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1443-1451
- 7 Tong XL, Zhao LH, Lian FM, Zhou Q, Xia L, Zhang JC, Chen XY, Ji HY. Clinical observations on the dose-effect relationship of gegen qin lian decoction on 54 out-patients with type 2 diabetes. *J Tradit Chin Med* 2011; 31: 56-59 [PMID: 21563509 DOI: 10.1016/S0254-6272(11)60013-7]
- 8 曹玉珍, 张秀英, 王鑫, 王媛媛. 非酒精性脂肪性肝炎动物模型的研究进展. 黑龙江畜牧兽医(科技版) 2011; 1: 17-20
- 9 Smith BW, Adams LA. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes mellitus: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 456-465 [PMID: 21556019 DOI: 10.1038/nrendo.2011.72]
- 10 Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49: 450-465 [PMID: 17064291 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02416.x]
- 11 Kashi MR, Torres DM, Harrison SA. Current and emerging therapies in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 396-406 [PMID: 18956296 DOI: 10.1055/s-0028-1091984]
- 12 Kim WS, Lee YS, Cha SH, Jeong HW, Choe SS, Lee MR, Oh GT, Park HS, Lee KU, Lane MD, Kim JB. Berberine improves lipid dysregulation in obesity by controlling central and peripheral AMPK activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E812-E819 [PMID: 19176354 DOI: 10.1152/ajpen-do.90710.2008]
- 13 Guo HX, Liu DH, Ma Y, Liu JF, Wang Y, Du ZY, Wang X, Shen JK, Peng HL. Long-term baicalin administration ameliorates metabolic disorders and hepatic steatosis in rats given a high-fat diet. *Acta Pharmacol Sin* 2009; 30: 1505-1512 [PMID: 19890358 DOI: 10.1038/aps.2009.150]
- 14 郑培永, 马赞颂, 柳涛, 邢练军, 季光. 葛根素对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏脂质的影响. 上海中医药杂志 2008; 42: 61-63
- 15 孙霞, 吴葆杰, 张岫美. 调血脂药物与肌病、横纹肌溶解症. 中国药理学通报 2003; 19: 130-133

同行评价

本文叙述清楚, 分析合理, 对姜黄素、水飞蓟素治疗NASH的机制进行了系统的研究, 对后续的研究有一定的指导意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



IL-22对肠上皮细胞肠三叶因子的调控作用

林雪, 刘之枫, 丁玉华, 王帆, 潘华勤, 李瑾

■背景资料

肠三叶因子 (intestinal trefoil factor, ITF/TFF3) 能促进黏膜重建和损伤修复, 在胃肠黏膜保护中起着重要作用。白介素 (interleukin, IL)-22参与IBD保护机制, 促进肠上皮细胞增殖、迁移及黏膜愈合, 上调某些保护因子表达如β防御素等。已有研究证实IL-22在结肠炎肠黏膜中表达升高且与疾病活动度正相关, TFF3在黏膜修复过程中明显增加, 而IL-22与TFF3的作用关系, 目前国内外尚未见报道。

林雪, 刘之枫, 丁玉华, 王帆, 潘华勤, 李瑾, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省肠病医学临床研究中心 肠病湖北省重点实验室 湖北省武汉市 430071

丁玉华, 新疆维吾尔自治区职业病医院内三科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830091

林雪, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

武汉大学自主科研基金资助项目, No. 301270059

作者贡献分布: 此课题由李瑾设计; 细胞培养与PCR检测由王帆、林雪、潘华勤及丁玉华完成; 数据分析由林雪、刘之枫、王帆及丁玉华完成; 论文写作由林雪、刘之枫及丁玉华共同完成。

通讯作者: 李瑾, 主任医师, 430071, 湖北省武汉市武昌区东湖路, 武汉大学中南医院消化内科, 湖北省肠病医学临床研究中心, 肠病湖北省重点实验室。lijinluyi@163.com

电话: 027-87335635

收稿日期: 2014-12-14 修回日期: 2015-01-12

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

Effect of IL-22 on expression of intestinal trefoil factor in intestinal epithelial cells

Xue Lin, Zhi-Feng Liu, Yu-Hua Ding, Fan Wang, Hua-Qin Pan, Jin Li

Xue Lin, Zhi-Feng Liu, Yu-Hua Ding, Fan Wang, Hua-Qin Pan, Jin Li, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Hubei Clinical Center & Key Lab of Intestinal & Colorectal Diseases, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Yu-Hua Ding, Department of Internal Medicine III, the Occupational Disease Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumchi 830091, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Self-raised Scientific Research Foundation of Wuhan University, No. 301270059

Correspondence to: Jin Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Hubei Clinical Center & Key Lab of Intestinal & Colorectal Diseases, Donghu Road, Wuchang District, Wuhan 430071, Hubei Province, China. lijinluyi@163.com

Received: 2014-12-14 Revised: 2015-01-12

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of interleukin-22

(IL-22) on the intestinal trefoil factor (ITF/TFF3) expression in IEC-6 cells and discuss the possible mechanism.

METHODS: IEC-6 cells were treated with IL-22 at different concentrations (1, 10, or 100 ng/mL) for 12, 24, or 48 h. The mRNA expression of TFF3, signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), STAT6 and nuclear factor-κB (NF-κB) in IEC-6 cells was measured by RT-PCR.

RESULTS: The mRNA expression of TFF3 and STAT3 in IEC-6 cells treated with 1 ng/mL IL-22 was not significantly up-regulated when incubated for 0, 12, 24 or 48 h ($P > 0.05$). With time increasing, the mRNA expression of TFF3 in IEC-6 cells treated with 10 ng/mL IL-22 increased and the comparison between any two time points of 0, 12, 24 and 48 h showed significant differences ($P < 0.05$) except the comparison between the time points of 12 and 24 h; the mRNA expression of STAT3 also increased, and there were significant differences in any two time points ($P < 0.05$), except between 0 and 12 h ($P > 0.05$). When treated with 100 ng/mL IL-22, the mRNA expression of TFF3 in IEC-6 cells showed obvious up-regulation with time increasing, and the comparison between any two time points was statistically different ($P < 0.05$); the relationship between the mRNA expression of STAT3 and treatment time was the same as the group of 10 ng/mL. When IEC-6 cells were treated for 12 h, the mRNA expression of TFF3 was significantly higher in the 100 ng/mL group compared with the 1 ng/mL and 10 ng/mL groups ($P < 0.05$), although there was no statistical difference between the groups of 1 ng/mL and 10 ng/mL; the mRNA expression of STAT3 did not

■同行评议者

董玉兰, 副教授, 中国农业大学动物医学院

show a statistical difference ($P > 0.05$). The mRNA expression of TFF3 in IEC-6 cells for 24 and 48 h was significantly up-regulated as the concentration of IL-22 increased, and the comparison between any two concentrations of IL-22 showed a significant difference ($P < 0.05$); the mRNA expression of STAT3 was also up-regulated, showing a significant difference between any two concentrations of IL-22 except the comparison between the groups of 10 ng/mL and 100 ng/mL. We could not measure the expression of STAT6 mRNA, and the mRNA expression of NF- κ B did not show a significant difference among the groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: IL-22 may up-regulate the mRNA expression of TFF3 in IEC-6 cells through the STAT3 signal transduction pathway in a time- and dose-dependent fashion.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-22; Intestinal trefoil factor; Inflammatory bowel disease

Lin X, Liu ZF, Ding YH, Wang F, Pan HQ, Li J. Effect of IL-22 on expression of intestinal trefoil factor in intestinal epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1290-1297 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1290.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1290>

摘要

目的: 研究白介素-22(interleukin-22, IL-22)对大鼠小肠上皮细胞(intestinal epithelial cells 6, IEC-6)肠三叶因子(trefoil factor family 3, TFF3)表达的影响,并探讨其可能调控机制。

方法: 采用不同浓度的重组大鼠IL-22(recombinant rat interleukin, rIL-22)(1、10、100 ng/mL)处理IEC-6细胞,分别培养(12、24、48 h)后,RT-PCR法检测并比较处理前(0 h)及处理后不同时间点TFF3、信号转导及转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、STAT6、细胞核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B) mRNA表达变化。

结果: 1 ng/mL的IL-22干预IEC-6细胞12、24、48 h后TFF3和STAT3 mRNA与干预前(0 h)比较,各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。10 ng/mL的IL-22干预后,随着干预时间的延长,TFF3 mRNA表达升高($P < 0.05$),但干预24 h与48 h差异不大;STAT3 mRNA表达量随

时间的延长而升高,12 h与0 h比较差异不大($P > 0.05$),其余各组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。100 ng/mL组,TFF3 mRNA表达量随时间延长而显著升高,各组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);STAT3 mRNA表达与干预时间的关系与10 ng/mL组相似。不同浓度组共培养12 h时,IL-22浓度100 ng/mL干预后TFF3 mRNA表达量显著升高($P < 0.05$),而实验中10 ng/mL干预后与1 ng/mL干预后比较表达量无明显升高($P > 0.05$);STAT3 mRNA表达随IL-22浓度升高差异均无统计学意义($P > 0.05$)。共培养24、48 h后,随着IL-22浓度升高,TFF3 mRNA表达量显著升高($P < 0.05$);STAT3 mRNA表达量随IL-22浓度升高同样升高,但100 ng/mL与10 ng/mL干预后表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)而分别与1 ng/mL干预后表达量相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。我们尚未能测到STAT6 mRNA表达,NF- κ B mRNA表达量与处理前相比差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: IL-22可能通过STAT3信号转导途径上调IEC-6细胞TFF3表达,且呈明显的时间、浓度依赖性;IL-22干预的时间延长、浓度升高,STAT3和TFF3表达升高且两者升高趋势基本同步。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 白介素-22; 肠三叶因子; 炎症性肠病

核心提示: 白介素-22(interleukin-22, IL-22)可上调大鼠肠上皮细胞-6(intestinal epithelial cells 6)三叶因子(trefoil factor family 3)表达,其可能机制是通过信号转导及转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3)信号转导途径,这可能是IL-22在炎症性肠病(inflammatory bowel disease)中促进黏膜修复、发挥黏膜保护作用的机制之一。

林雪, 刘之枫, 丁玉华, 王帆, 潘华勤, 李瑾. IL-22对肠上皮细胞肠三叶因子的调控作用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1290-1297 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1290.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1290>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制主要包括遗传、感染、免疫、环境。其中,肠黏膜免疫紊乱在IBD发病机制中处于中心地位^[1]。免疫、炎症系统可以被多种

■ 研究前沿

随着动物实验的不断发展,发现IL-22在IBD的肠黏膜修复中发挥积极作用,TFF3在胃肠黏膜保护和维持黏膜屏障稳定性中起着重要作用,进一步明确IL-22与TFF3的作用关系,有望为IBD的治疗提供新思路。

■ 相关报道

国内外已有相关研究证实IL是TFF3表达的重要调控因子, IL-22在实验性结肠炎肠黏膜中表达增加且与疾病活动度正相关, TFF3在实验性结肠炎后期黏膜修复过程中亦明显增加, 而IL-22与TFF3的作用关系, 目前国内外尚未见报道, IL-22调控TFF3表达的具体机制尚未明确。

细胞因子调控, 如白介素(interleukin, IL)、干扰素(interferon, INF)等通过各种途径行使其生物功能。近来研究^[2-5]发现, IL-22除参与炎症和免疫反应外, 还显示黏膜保护作用。另外, 肠道还合成一些控制炎症和保持上皮屏障完整性的物质, 如肠三叶因子(intestinal trefoil factor, ITF/TFF3), TFF3与IBD的发病亦明显相关, 并有望成为预防和治疗IBD的一种新途径。IL是TFF3表达的重要调节因子, 目前IL-22对TFF3表达的影响尚未见报道, 鉴于IL-22在IBD发病中起重要作用, 而TFF3有望成为应用于IBD临床防治的新途径, 本研究通过动物细胞模型, 观察IL-22对肠上皮细胞TFF3表达的影响并探讨其可能调控机制。

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠肠上皮细胞-6(intestinal epithelial cells 6, IEC-6)购自中国科学院典型培养物保藏中心昆明细胞库, 编号: KCB200720YJ。细胞常规培养于含10%胎牛血清(Hyclone公司)、100 U/mL双抗(Hyclone公司)、0.1 U/mL胰岛素(Sigma公司)的DMEM(高糖)培养基中, 37℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度培箱内培养, 选择第5-10代的细胞用于实验。重组大鼠IL-22(recombinant rat interleukin, rrIL-22)购自美国RD公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞分组: 实验分3组进行, 用含高中低(1、10、100 ng/mL)3种浓度rrIL-22的DMEM培养液分别干预IEC-6不同时间(12、24、48 h), 最后检测各组干预前(0 h)及干预后12、24、48 h时TFF3、信号转导及转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、STAT6、细胞核因子κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB) mRNA的表达量。

1.2.2 RT-PCR法检测mRNA表达量: (1)收集处于对数生长期的细胞, 并调整细胞密度, 以细胞数 1×10^7 个/孔接种于6孔培养板内, 每孔加入DMEM培养液2 mL。细胞培养24 h后予以换液, 弃去原培养液, 加入含终浓度为1、10、100 ng/mL的rrIL-22新鲜培养液继续培养, 培养12、24、48 h后, 分别提取总RNA, 逆转录并进行PCR扩增(操作步骤按照试剂盒说明); (2)采用GAPDH作为参照, 引物由上海生物工程有限公司合成, 引物序列及反应条件如表1; (3)配制2%的琼脂糖凝胶及0.5×TBE缓冲

液, 将PCR产物和DNA Marker点样, 设置电泳仪电源电压为80 V, 电泳约40 min后, 将凝胶放入凝胶成像系统内观察并拍照, AlphaEase FC 4.0凝胶图像分析软件分析计算各目的基因与GAPDH扩增产物的光密度比值, 即为mRNA半定量结果。

统计学处理 采用SPSS17.0软件处理, 数据以mean±SD表示。多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较, 方差齐则采用LSD-*t*法比较, 若方差不齐则采用Dunnett's C法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各浓度组TFF3 mRNA、STAT3 mRNA表达与干预时间的关系 1 ng/mL的IL-22干预IEC-6细胞12、24、48 h后TFF3和STAT3 mRNA与干预前(0 h)比较, 各组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。10 ng/mL组中, 随着干预时间的增加, TFF3 mRNA表达升高, 干预24 h与48 h差异无统计学意义($P > 0.05$), 其余各时间点比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); STAT3 mRNA表达量随时间的增加而升高, 12 h与0 h比较差异不大($P > 0.05$), 其余各时间点比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。100 ng/mL组, TFF3 mRNA表达量随时间增加而升高, 各时间点比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); STAT3 mRNA表达与干预时间的关系与10 ng/mL组相同(表2, 3)。从实验分析结果来看, TFF3 mRNA、STAT3 mRNA表达与IL-22干预的时间有一定相关性, 即干预时间延长, 表达量升高(图1-3, 4A, B)。

2.2 各时间点TFF3 mRNA、STAT3 mRNA表达与IL-22浓度的关系 共培养12 h时, TFF3 mRNA在100 ng/mL的IL-22干预后表达量与10 ng/mL、1 ng/mL干预后相比均显著升高($P < 0.05$), 而统计结果显示10 ng/mL干预后与1 ng/mL干预后比较表达量无明显升高($P > 0.05$); STAT3 mRNA表达随IL-22浓度升高差异均无显著意义($P > 0.05$)。共培养24、48 h时, IL-22干预浓度越高, TFF3 mRNA表达量越高, 各组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); STAT3 mRNA表达量随IL-22浓度升高同样升高, 但100 ng/mL与10 ng/mL干预后表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)而分别与1 ng/mL干预后相比差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2, 3)。总的来看, TFF3 mRNA、STAT3 mRNA表达量均存在IL-22浓度依赖性,

表 1 引物序列及反应条件

基因	序列	PCR反应条件	片段长度(bp)
<i>GAPDH</i>	上游: 5'-GTCGGTGTGAACGGATTT-3' 下游: 5'-ACTCCACGACGTACTCAGC-3'	94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 57 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 25个循 环; 72 °C延伸10 min	277
<i>TFF3</i>	上游: 5'-ATGGAGACCAGAGCCTTCTG-3' 下游: 5'-ACAGCCTTGTGCTGACTGTA-3'	94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 56 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 30个循 环; 72 °C延伸10 min	403
<i>STAT3</i>	上游: 5'-CACAACTGCGAAGAATCAAG-3' 下游: 5'-GCTGCTTCTCCGTCCTAC-3'	94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 30个循 环; 72 °C延伸10 min	184
<i>STAT6</i>	上游: 5'-GGGGACTGCTACCAGAACACT-3' 下游: 5'-ATCTGTGAGGAGCCATCCTG-3'	94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 58 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 30个循 环; 72 °C延伸10 min	358
<i>NF-κB</i>	上游: 5'-GACCAGGAAGTCAGCGAGTC-3' 下游: 5'-TCCAGAGGGACAGCTCTTGT-3'	94 °C预变性3 min; 94 °C变性30 s, 54 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 30个循 环; 72 °C延伸10 min	176

■创新盘点

既往研究多关注TFF3与IL-4、IL-6、IL-13及IL-β的关系, 本文在此基础上对IL-22与TFF3的关系做了进一步阐述。

TFF3: 肠三叶因子; STAT3: 信号转导与转录活化因子3; NF-κB: 核因子-κB。

表 2 不同浓度IL-22处理IEC-6后各时间点TFF3 mRNA表达水平比较 (n = 5, mean ± SD)

浓度(ng/mL)	时间				F值	P值
	0 h	12 h	24 h	48 h		
1	0.26 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.02	2.01	0.062
10	0.26 ± 0.01	0.36 ± 0.02 ^a	0.47 ± 0.02 ^{acg}	0.52 ± 0.03 ^{acg}	121.58	0.000
100	0.26 ± 0.01	0.48 ± 0.03 ^{agi}	0.62 ± 0.04 ^{acgi}	0.73 ± 0.05 ^{acgi}	389.05	0.000
F值	0.000	44.320	150.390	214.620		
P值	1.000	0.021	0.000	0.000		

P值为相应F值对应的概率。^aP<0.05 vs 0 h; ^cP<0.05 vs 12 h; ^gP<0.05 vs 24 h; ^gP<0.05 vs 1 ng/mL组; ⁱP<0.05 vs 10 ng/mL组。
IL: 白介素; IEC: 小肠上皮细胞; TFF3: 肠三叶因子。

表 3 不同浓度IL-22处理IEC-6后各时间点STAT3 mRNA表达水平比较 (n = 5, mean ± SD)

浓度(ng/mL)	时间				F值	P值
	0 h	12 h	24 h	48 h		
1	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.35 ± 0.04	0.37 ± 0.02	1.90	0.054
10	0.32 ± 0.01	0.35 ± 0.02	0.46 ± 0.05 ^{acg}	0.58 ± 0.05 ^{acg}	134.05	0.006
100	0.32 ± 0.01	0.36 ± 0.03	0.48 ± 0.05 ^{acg}	0.60 ± 0.05 ^{acg}	142.59	0.005
F值	0.000	44.320	86.240	137.680		
P值	1.000	0.073	0.026	0.009		

P值为相应F值对应的概率。^aP<0.05 vs 0 h; ^cP<0.05 vs 12 h; ^gP<0.05 vs 24 h; ^gP<0.05 vs 1 ng/mL组。IL: 白介素; IEC: 小肠上皮细胞; STAT3: 信号转导与转录活化因子3。

即IL-22浓度越高, 表达量越高(图4A, B)。

2.3 不同浓度组IL-22干预后STAT6、NF-κB mRNA表达结果 各浓度组均未能测到STAT6

表达, IEC-6细胞培养12、24、48 h后NF-κB mRNA与处理前相比差异均无统计学意义 (P>0.05)(表4, 图4C)。

应用要点

本研究发现IL-22可上调IEC-6细胞TFF3的表达, 若将IL-22应用于IBD患者治疗, 可能会改善患者肠道炎症反应, 促进黏膜愈合。

表 4 不同浓度IL-22处理IEC-6后各时间点NF-κB mRNA表达水平比较 (n = 5, mean ± SD)

浓度(ng/mL)	时间				F值	P值
	0 h	12 h	24 h	48 h		
1	0.46 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.49 ± 0.04	2.27	0.097
10	0.46 ± 0.02	0.46 ± 0.03	0.49 ± 0.04	0.50 ± 0.03	2.27	0.094
100	0.46 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.48 ± 0.03	0.52 ± 0.04	2.371	0.087
F值	0.000	1.912	2.007	1.832		
P值	1.000	0.183	0.146	0.169		

P值为相应F值对应的概率。

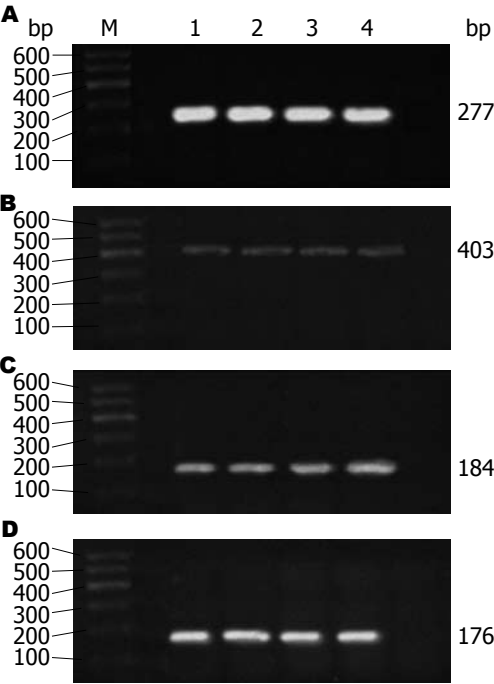


图 1 1 ng/mL组RT-PCR产物电泳结果. A: GAPDH; B: TFF3; C: STAT3; D: NF-κB. 1: 0 h; 2: 12 h; 3: 24 h; 4: 48 h. TFF3: 肠三叶因子; STAT3: 信号转导与转录活化因子3; NF-κB: 核因子-κB.

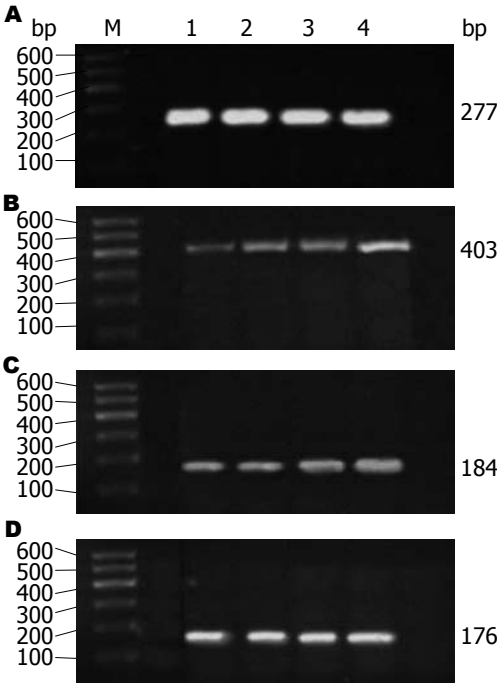


图 2 10 ng/mL组 RT-PCR产物电泳结果. A: GAPDH; B: TFF3; C: STAT3; D: NF-κB. 1: 0 h; 2: 12 h; 3: 24 h; 4: 48 h. TFF3: 肠三叶因子; STAT3: 信号转导与转录活化因子3; NF-κB: 核因子-κB.

3 讨论

TFF3能促进黏膜重建和损伤修复, 在胃肠黏膜保护和维持黏膜屏障稳定性中起着重要作用. IL-22可以促进肠上皮细胞增殖、迁移及黏膜愈合, 并上调保护因子β防御素及黏蛋白2(mucin 2, MUC2)的表达, 增强上皮细胞紧密连接, 增强上皮屏障功能而在IBD中发挥保护作用. 已有研究^[2]证实IL-22在实验性结肠炎肠黏膜中表达增加且与疾病活动度正相关, TFF3在实验性结肠炎后期黏膜修复过程中亦明显增加^[6], IL-22与TFF3的表达是否有关值得进一步研究. 本研究发现IL-22可能是TFF3的重要调控因子, 通过上调TFF3表达参与黏膜修复. 实

验结果显示, TFF3 mRNA表达与IL-22在总体上呈现时间、浓度依赖性, 即随着IL-22浓度升高、干预时间的延长, TFF3表达升高更为显著. 我们发现低浓度的IL-22(1 ng/mL)不能上调TFF3的表达, 而高浓度的IL-22(10、100 ng/mL)可以上调TFF3表达, 从而推测, 生理剂量的IL-22对TFF3表达可能没有影响或者影响较小, 而炎症情况下IL-22表达增加则可发挥黏膜保护及促进修复作用.

IL-22调控TFF3表达的具体机制尚未明确. 有关IL-22和TFF3两者各自的信号转导途径已有较多研究. IL-22发挥生物学效应的机制主要有STAT信号途径、JAK1和TYK2信号途径、

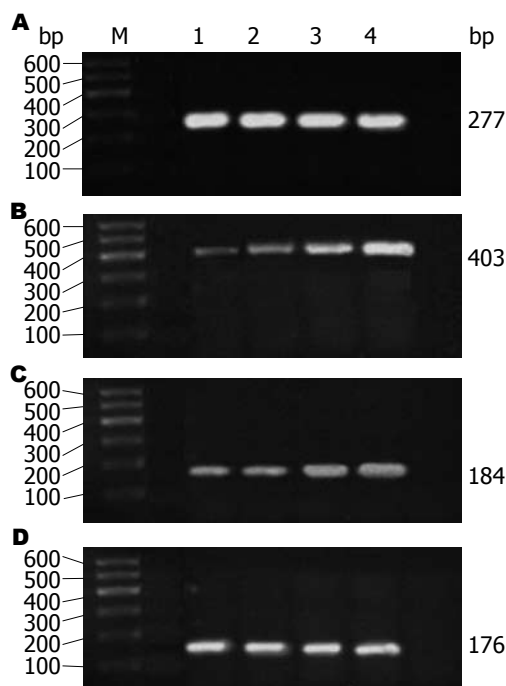


图 3 100 ng/mL组RT-PCR产物电泳结果. A: GAPDH; B: TFF3; C: STAT3; D: NF-κB. 1: 0 h; 2: 12 h; 3: 24 h; 4: 48 h. TFF3: 肠三叶因子; STAT3: 信号转导与转录活化因子3; NF-κB: 核因子-κB.

MEK-ERK-RSK、SAPK/JNK、P38激酶的MAPK途径^[7]. Brand等^[5]证实, IL-22可以通过激活依赖MAP激酶的ERK1/2、Akt途径增加IEC的增殖及β-防御素的表达. Auernhammer等^[8]发现IL-22可以通过STAT1/STAT3途径上调IEC细胞表达细胞因子信号抑制物3(suppressor of cytokine signaling, SOCS3). 另有相关研究^[9]表明IL-22可以通过PI3-Akt途径、ERK-MAPK途径增加上皮细胞迁移及上皮损伤修复. Hommes等^[10]在小鼠克罗恩病模型中, 发现IL-22通过激活SAPK/JNK途径, 从而促进肠道黏膜愈合, 使临床症状得到改善. Andoh等^[11]证实IL-22可以通过NF-κB、AP-1以及MAP激酶途径上调一些炎症基因, 如: *IL-6*、*IL-8*、*IL-11*、白血病抑制因子的表达. Pickert等^[4]应用STAT3IEC-KO小鼠模型, 证实IL-22可以通过STAT3信号途径增强结肠损伤黏膜修复. 另外, 多种细胞因子也可以通过不同的调控途径影响TFF3的表达. Blanchard等^[12]发现IL-4和IL-13可以通过STAT6途径上调TFF3的表达. Dossinger等^[13]证实IL-6对TFF3的表达具有双重作用, 他既可以通过C/EBPβ途径抑制TFF3的表达, 又可以通过STAT3途径明显增加TFF3基因转录. 根据上述研究, 推测IL-22可能通

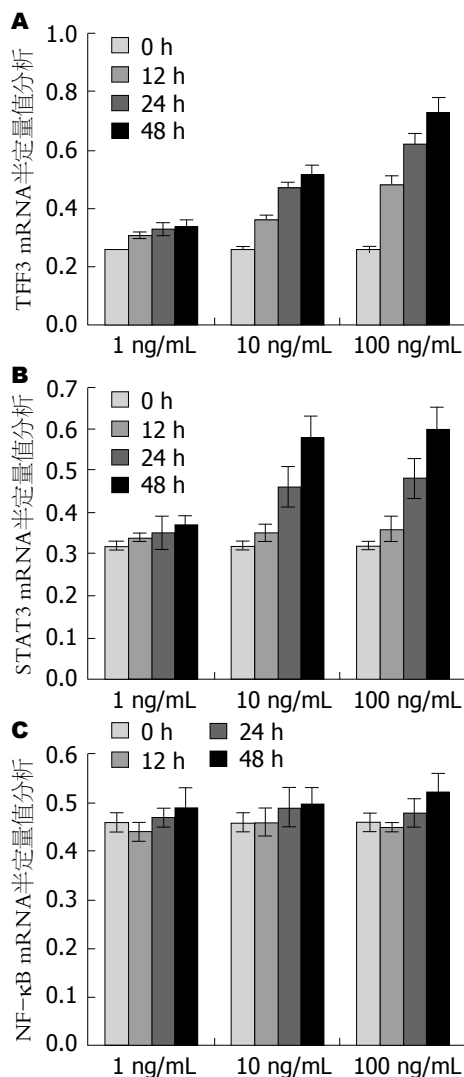


图 4 IL-22干预后RT-PCR分析结果. A: TFF3; B: STAT3; C: NF-κB. TFF3: 肠三叶因子; STAT3: 信号转导与转录活化因子3; NF-κB: 核因子-κB.

过STAT3、STAT6及NF-κB途径调节TFF3表达.

STAT蛋白家族参与了多种细胞因子、生长因子的信号转导, 调控人体免疫反应、炎症反应以及细胞的生长、分化等. 关于IBD患者的研究^[14]均提示, 总STAT3和磷酸化的STAT3水平在UC和CD患者炎症肠黏膜中持续性高表达, 且磷酸化的STAT3升高水平与这些组织炎症损伤程度呈正相关. Dossinger等^[13]研究证实, IL-6可以活化肠上皮细胞STAT3, 进而明显增加TFF3的转录. Monteleone等^[3]发现相对于IL-6, STAT3的活化更依赖于IL-22, 敲除STAT3基因的小鼠, 更容易发生结肠炎, 而且这种小鼠的肠上皮细胞缺乏明显的自我修复功能, IL-22诱导结肠炎损伤黏膜处STAT3活化, 不仅促进肠上皮细胞增殖、迁移及防治细胞凋亡, 而且

名词解释

重组大鼠白介素-22(rIL-22): 利用基因重组技术作用于大鼠获得的, 为白细胞或免疫细胞间相互作用的淋巴因子, 是白介素家族成员之一, 发挥免疫调节作用.

■ 同行评价

文章关注了IL-22对IEC-6细胞TFF3表达的影响及可能的作用机制, 研究设计合理、方法得当, 与大多数研究关注IL-4、IL-6、IL-13及IL- β 与TFF3表达的关系相比, 具有一定创新性。

可以有效控制细菌在损伤黏膜处繁殖。Brand等^[5]曾研究证实, 在肠上皮细胞, IL-22通过激活STAT3途径, 从而增加一些促炎性细胞因子的转录, 如IL-8和TNF- α 。本实验亦发现IL-22可以诱导STAT3在肠上皮细胞表达增加, 且基本与TFF3的表达同步增加, 从而可以推测, IL-22可能通过活化STAT3信号通路而上调TFF3表达。STAT6主要在IL-4和IL-13产生的反应中发挥作用, Blanchard等^[12]研究证实, 在结肠癌细胞, IL-4和IL-13可以通过STAT6途径上调TFF3表达。但本实验结果则显示, 在IL-22干预IEC-6细胞前后, 均未检测到STAT6表达, 其原因可能为IEC-6为正常肠上皮细胞而非癌细胞, STAT6本身在IEC-6不表达。

NF- κ B是参与调控肠道免疫炎症反应的关键因子之一。许多IBD临床治疗用药, 如糖皮质激素、5-氨基水杨酸以及细胞因子抑制剂等的药理作用均与抑制NF- κ B有关^[15]。研究^[11]报道, 在肠上皮细胞及结肠下成纤维细胞, IL-22可以激活NF- κ B, 进而上调一些促炎因子如IL-6、IL-8、IL-11、TNF- α 以及趋化因子和金属蛋白酶的产生和释放, 在IBD的致病机制中发挥重要作用。同样, TFF3的表达也受NF- κ B调节信号的影响, 如IL-1 β 可以通过NF- κ B途径下调TFF3的表达^[13]。但本实验结果显示IEC-6细胞经不同浓度IL-22干预不同的时间, NF- κ B转录水平与干预前无明显变化。分析其原因, 可能不同来源的细胞有不同的信号通路。而且有研究报道, IL-22的主要信号转导通路是Jak1/Tyk2/SATA3。另外, IL-22需在特殊条件下与其异质二聚体受体复合物结合才可以激活STAT1、MAPK、NF- κ B、AP-1及蛋白激酶B这些信号转导因子^[16]。Teng等^[17]研究证实, TFF3减轻实验性结肠炎动物模型肠道炎症的机制之一是TFF3可以下调Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)和NF- κ B的转录, 从而抑制促炎因子TNF- α 的转录而减轻炎症。由此推测, 本实验中IL-22上调TFF3表达的同时, TFF3反过来可能抑制NF- κ B的表达, 从而使NF- κ B的表达增加被抵消。

总之, 本实验发现IL-22可上调IEC-6细胞TFF3表达, 其可能机制是通过STAT3信号转导途径, 这可能是IL-22在IBD中促进黏膜修复、发挥黏膜保护作用的机制之一。

4 参考文献

1 Rescigno M. The pathogenic role of intestinal

- flora in IBD and colon cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 395-403 [PMID: 18473768 DOI: 10.2174/138945008784221125]
- Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1152-1167 [PMID: 19592695 DOI: 10.1136/gut.2008.163667]
- Monteleone I, Pallone F, Monteleone G. Interleukin-23 and Th17 cells in the control of gut inflammation. *Mediators Inflamm* 2009; 2009: 297645 [PMID: 19503799 DOI: 10.1155/2009/297645]
- Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, Lehr HA, Hirth S, Weigmann B, Wirtz S, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med* 2009; 206: 1465-1472 [PMID: 19564350 DOI: 10.1084/jem.20082683]
- Brand S, Beigel F, Olszak T, Zitzmann K, Eichhorst ST, Otte JM, Diepolder H, Marquardt A, Jagla W, Popp A, Leclair S, Herrmann K, Seiderer J, Ochsenkühn T, Göke B, Auernhammer CJ, Dambacher J. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G827-G838 [PMID: 16537974 DOI: 10.1152/ajpgi.00513.2005]
- 宋敏, 李瑾, 夏冰. TNBS诱发大鼠结肠炎中三叶因子3的表达. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2212-2214
- Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Functional biology of the IL-22-IL-22R pathway in regulating immunity and inflammation at barrier surfaces. *Adv Immunol* 2010; 107: 1-29 [PMID: 21034969 DOI: 10.1016/B978-0-12-381300-8.00001-0]
- Auernhammer CJ, Bousquet C, Melmed S. Autoregulation of pituitary corticotroph SOCS-3 expression: characterization of the murine SOCS-3 promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 6964-6969 [PMID: 10359822 DOI: 10.1073/pnas.96.12.6964]
- Brand S, Dambacher J, Beigel F, Olszak T, Diebold J, Otte JM, Göke B, Eichhorst ST. CXCR4 and CXCL12 are inversely expressed in colorectal cancer cells and modulate cancer cell migration, invasion and MMP-9 activation. *Exp Cell Res* 2005; 310: 117-130 [PMID: 16125170 DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.07.006]
- Hommers D, van den Blink B, Plasse T, Bartelsman J, Xu C, Macpherson B, Tytgat G, Peppelenbosch M, Van Deventer S. Inhibition of stress-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 7-14 [PMID: 11781274 DOI: 10.1053/gast.2002.30770]
- Andoh A, Zhang Z, Inatomi O, Fujino S, Deguchi Y, Araki Y, Tsujikawa T, Kitoh K, Kim-Mitsuyama S, Takayanagi A, Shimizu N, Fujiyama Y. Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 129: 969-984 [PMID: 16143135 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.071]
- Blanchard C, Durual S, Estienne M, Bouzakri K, Heim MH, Blin N, Cuber JC. IL-4 and IL-13 up-regulate intestinal trefoil factor expression: requirement for STAT6 and de novo protein

- synthesis. *J Immunol* 2004; 172: 3775-3783 [PMID: 15004182 DOI: 10.4049/jimmunol.172.6.3775]
- 13 Dossinger V, Kayademir T, Blin N, Gött P. Down-regulation of TFF expression in gastrointestinal cell lines by cytokines and nuclear factors. *Cell Physiol Biochem* 2002; 12: 197-206 [PMID: 12297725 DOI: 10.1159/000066279]
 - 14 Musso A, Dentelli P, Carlino A, Chiusa L, Repici A, Sturm A, Fiocchi C, Rizzetto M, Pegoraro L, Sategna-Guidetti C, Brizzi MF. Signal transducers and activators of transcription 3 signaling pathway: an essential mediator of inflammatory bowel disease and other forms of intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 91-98 [PMID: 15677901 DOI: 10.1097/00054725-20050200-00001]
 - 15 Dijkstra G, Moshage H, Jansen PL. Blockade of NF-kappaB activation and donation of nitric oxide: new treatment options in inflammatory bowel disease? *Scand J Gastroenterol Suppl* 2002; (236): 37-41 [PMID: 12408502 DOI: 10.1002/ibd.20262]
 - 16 Ziesché E, Bachmann M, Kleinert H, Pfeilschifter J, Mühl H. The interleukin-22/STAT3 pathway potentiates expression of inducible nitric-oxide synthase in human colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 16006-16015 [PMID: 17438334 DOI: 10.1074/jbc.M611040200]
 - 17 Teng X, Xu LF, Zhou P, Sun HW, Sun M. Effects of trefoil peptide 3 on expression of TNF-alpha, TLR4, and NF-kappaB in trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis mice. *Inflammation* 2009; 32: 120-129 [PMID: 19238529 DOI: 10.1007/s10753-009-9110-x]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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;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。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,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。

复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗老年慢性萎缩性胃炎的疗效及对患者血清胃泌素和内皮素的影响

李 蓉, 杨发满, 刘 冀, 杨青岩, 汪元浚, 李 军, 张培莉, 王卓亚, 李晓平, 敬泽慧

■背景资料

慢性萎缩性胃炎是临床上常见的消化系统疾病, 该病常伴有肠化生, 病情可进一步发展为异常增生而导致癌变, 医学上通常认为慢性萎缩性胃炎是癌前状态。因此, 逆转胃黏膜病变, 阻止癌前状态对该疾病的治疗和预后具有重要的临床意义。

李蓉, 杨发满, 刘冀, 杨青岩, 汪元浚, 李军, 张培莉, 王卓亚, 李晓平, 敬泽慧, 青海大学附属医院老年二科 青海省西宁市 810001

李蓉, 主治医师, 主要从事老年病的治疗与研究。

作者贡献分布: 本课题的设计由李蓉、杨发满、刘冀、杨青岩及汪元浚完成; 研究过程由李军、张培莉、王卓亚、李晓平及敬泽慧完成。

通讯作者: 李蓉, 主治医师, 810001, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院老年二科。lrrongli@163.com
 电话: 0971-6162000

收稿日期: 2014-12-29 修回日期: 2015-01-23

接受日期: 2015-01-30 在线出版日期: 2015-03-18

Compound salvia pellet in combination with rebeprazole for treatment of elderly patients with chronic atrophic gastritis: Curative efficacy and effect on serum gastrin and endothelin

Rong Li, Fa-Man Yang, Ji Liu, Qing-Yan Yang, Yuan-Jun Wang, Jun Li, Pei-Li Zhang, Zhuo-Ya Wang, Xiao-Ping Li, Ze-Hui Jing

Rong Li, Fa-Man Yang, Ji Liu, Qing-Yan Yang, Yuan-Jun Wang, Jun Li, Pei-Li Zhang, Zhuo-Ya Wang, Xiao-Ping Li, Ze-Hui Jing, Department of Geriatric Medicine II, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Rong Li, Attending Physician, Department of Geriatric Medicine II, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810001, Qinghai Province, China. lrrongli@163.com
 Received: 2014-12-29 Revised: 2015-01-23

Accepted: 2015-01-30 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To assess the clinical effects of compound salvia pellet in combination with rebeprazole

in the treatment of elderly patients with chronic atrophic gastritis (CAG) and the effect on serum gastrin and endothelin.

METHODS: One hundred and sixty CAG patients were randomly and equally divided into two groups: a control group and an observation group. Besides amoxicillin and clarithromycin, the control group was treated with rebeprazole, while the observation group was treated with compound salvia pellet and rebeprazole. The curative efficacy, improvement of clinical symptoms, pathological changes of the gastric mucosa and levels of serum gastrin-17 and endothelin-1 (ET-1) were observed and compared for the two groups.

RESULTS: The observation group had a response rate of 93.8%, which was significantly higher than that in the control group (81.2%; $P < 0.05$). After treatment, the observation group had significantly fewer cases with upper abdominal distention and pain, eructation, acid regurgitation and nausea than those in the control group ($P < 0.05$ for all). As to pathological results of the gastric mucosa, the observation group had significantly fewer cases with gastric mucosal atrophy, intestinal metaplasia and atypical hyperplasia than those in the control group ($P < 0.05$). In comparison with the control group, serum level of gastrin-17 was statistically higher and that of ET-1 was statistically lower in the treatment group ($P < 0.05$ for both). During the treatment, there were no severe adverse reactions.

CONCLUSION: Combined compound salvia

■同行评议者

赵岩, 教授, 滨州医学院中西医结合学院

pellet with rebeprazole in elderly patients with CAG is effective, and can increase the response rate, significantly improve clinical symptoms and gastric mucosal lesions, promote secretion of gastrin and decrease endothelin level with fewer adverse reactions.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Compound salvia pellet; Rebeprazole; Chronic atrophic gastritis; Gastrin-17; Endothelin-1

Li R, Yang FM, Liu J, Yang QY, Wang YJ, Li J, Zhang PL, Wang ZY, Li XP, Jing ZH. Compound salvia pellet in combination with rebeprazole for treatment of elderly patients with chronic atrophic gastritis: Curative efficacy and effect on serum gastrin and endothelin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1298-1302 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1298.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1298>

摘要

目的: 探讨复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗老年慢性萎缩性胃炎疗效及对患者血清胃泌素和内皮素的影响。

方法: 160例符合纳入标准的慢性萎缩性胃炎患者随机分为2组, 每组各80例。随意患者给予阿莫西林+克拉霉素治疗, 在此基础上对照组给予雷贝拉唑治疗, 观察组在对照组的基础上联合应用复方丹参滴丸治疗。疗程结束后, 观察比较两组患者临床疗效、症状改善情况、胃黏膜病理检查变化情况、血清胃泌素-17、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)水平。

结果: 观察组总有效率为93.8%, 明显高于对照组81.2%的总有效率($P<0.05$)。治疗后, 与对照组相比, 观察组存在上腹胀痛、嗝气、反酸和恶心症状的患者例数明显减少, 胃黏膜萎缩、肠上皮化生、不典型增生例数均显著减少, 血清胃泌素-17水平明显升高, ET-1水平明显下降, 比较都有统计学差异(均 $P<0.05$)。治疗过程中, 均未出现严重不良反应。

结论: 复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗慢性萎缩性胃炎疗效可靠, 可以提高治疗有效率高, 显著改善临床症状、胃黏膜病变, 促进分泌胃泌素, 降低血清内皮素水平, 且不良反应少, 临床上值得进一步研究。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 复方丹参滴丸; 雷贝拉唑; 慢性萎缩性胃

炎; 胃泌素-17; 内皮素-1

核心提示: 复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗方案治疗慢性萎缩性胃炎有效率高, 可以在很大程度上改善患者临床症状, 抑制胃黏膜病变, 促进胃泌素分泌, 降低患者血清内皮素水平, 并且不良反应较少, 值得临床推广。

李蓉, 杨发满, 刘冀, 杨青岩, 汪元浚, 李军, 张培莉, 王卓亚, 李晓平, 敬泽慧. 复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗老年慢性萎缩性胃炎的疗效及对患者血清胃泌素和内皮素的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1298-1302 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1298.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1298>

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是临床上常见的消化系统疾病, 其具体发病机制尚不明确, 一般认为是在胃部动脉硬化、血流量不足、炎症反应等综合因素下损害胃黏膜屏障而导致的一种以胃黏膜萎缩或消失为主要病理特征的疾病^[1]。当患者罹患CAG时, 常伴有肠化生, 如果病情进展, 则会发生细胞生长不典型, 甚至异常增生而导致癌变^[2]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)已经将CAG列为癌前状态, 因此, 逆转胃黏膜病变, 阻止癌前状态对该疾病的治疗和预后具有重要的临床意义。然而, CAG具有病情反复、迁延不愈的特点, 目前临床上治疗该疾病的方案较多, 但疗效不一, 且有待进一步提高。复方丹参滴丸与雷贝拉唑治疗CAG均有文献报道, 然而关于二者联合治疗方案却尚少。本研究旨在探讨复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗老年CAG疗效及对患者血清胃泌素和内皮素的影响, 以期进一步提供相关临床证据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-08/2014-08青海大学附属医院老年二科收治的老年CAG患者共160例, 随机分为2组, 每组各80例。纳入标准: (1)经胃黏膜组织病理活检确诊为CAG, 符合中华医学会消化病学分会制定的《全国慢性胃炎研讨会共识意见》中规定的CAG诊断标准^[3]; (2)排除胃肠道肿瘤、结石、感染、肝肾功能、凝血功能异常患者。对照组男48例, 女32例, 年龄62-74岁, 平均68.4岁±6.7岁; 病程0.5-20.0年, 平均11.5年±4.3年; A型6例, B型74例。观察组

■ 研究前沿

慢性萎缩性胃炎具体发病机制尚不明确, 具有病情反复、迁延不愈的特点, 因此, 如何制定较为有效的治疗方案以逆转胃黏膜病变并阻止癌前状态是目前消化病研究的热点问题之一。目前临床上治疗该疾病的方案较多, 但疗效不甚理想, 探索较为可靠而有效的治疗方案是临床上亟需解决的重要议题。

■ 相关报道

慢性萎缩性胃炎机制不清, 严重限制了该病的有效治疗。近年来, 胃泌素-17与内皮素-1(endothelin-1, ET-1)在该病中的作用越来越受到重视, 有报道显示其余慢性萎缩性胃炎治疗及预后高度相关。因慢性萎缩性胃炎病因复杂, 单药治疗通常难以显著缓解病情, 联合治疗方案成为临床用药理想选择。目前, 关于复方丹参滴丸与雷贝拉唑应用于慢性萎缩性胃炎治疗均有文献报道, 并且疗效较好。

■ 创新盘点

慢性萎缩性胃炎具有病情反复、迁延不愈的特点, 目前临床上治疗该疾病的方案较多, 但疗效不甚理想。目前, 复方丹参滴丸与雷贝拉唑治疗慢性萎缩性胃炎均有文献报道, 然而关于二者联合治疗方案疗效研究尚少, 并且其对患者胃泌素-17及ET-1水平的影响也未见报道。

表 1 两组临床疗效比较 [n = 80, n(%)]

分组	显效	有效	无效	总有效率
观察组	36(45.0)	39(48.8)	5(6.2)	75(93.8)
对照组	41(51.2)	24(30.0)	15(18.8)	65(81.2)
χ^2 值		5.71		
P值		0.02		

男50例, 女30例, 年龄60-73岁, 平均68.9岁±7.4岁; 病程0.8-22年, 平均12.0年±5.7年; A型5例, B型75例。组间性别、年龄、病程及分型等基线资料比较大体一致(均 $P>0.05$), 具有可比性。阿莫西林(江西东风药业股份有限公司, 国药准字H36020243, 0.25 g); 克拉霉素(陕西京西药业股份有限公司, 国药准字H20000026, 0.25 g); 雷贝拉唑(山东新华制药股份有限公司, 国药准字H20080699, 10 mg); 复方丹参滴丸(天士力制药集团股份有限公司, 国药准字Z10950111, 27 mg); 血清胃泌素-17、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)放射免疫检测试剂盒(试剂盒均购自上海蓝基生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者均给予清淡饮食、禁酒等治疗。对照组给予阿莫西林1.0 g/次, 2次/d; 克拉霉素0.5 g/次, 2次/d; 雷贝拉唑20 mg/次, 1次/d。观察组在对照组的基础上联合复方丹参滴丸10粒, 3次/d, 4 wk为1个疗程, 2个疗程结束后评价治疗疗效。

1.2.2 疗效判定及观察指标: 显效: 治疗后患者临床症状及体征基本消失, 复查胃镜显示胃黏膜急性炎症基本消失, 慢性炎症较前好转, 腺体萎缩、肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)、不典型增生(atypical hyperplasia, ATP)减轻≥2个级度; 有效: 临床症状和体征较治疗前明显减轻, 复查胃镜显示胃黏膜灰白区缩小, 腺体萎缩、IM、ATP减轻≥1个级度, 但未达到上述显效标准; 无效: 治疗后患者临床症状无改善或者恶化, 胃镜复查及病理组织学无改变。显效和有效均为治疗有效。观察比较两组患者症状改善情况、胃黏膜病理检查变化情况。于治疗前后抽取静脉血, 离心后收集血清, 采用免疫放射法检测血清胃泌素-17、ET-1水平。并在治疗过程中, 观察不良反应发生情况。

统计学处理 采用统计学软件SPSS16.0对数据进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 采

用t检验比较分析, 计数资料采用 χ^2 检验比较分析, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 观察组总有效率为93.8%, 对照组的总治疗有效率为81.2%, 两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 两组临床症状改善比较 治疗前, 两组患者大部分存在上腹胀痛、嗝气、反酸和恶心的症状, 组间比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗后, 两组患者上述症状均有不同程度改善(均 $P<0.05$)。与对照组相比, 观察组治疗后存在上腹胀痛、嗝气、反酸和恶心症状的患者例数明显减少, 比较差异有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

2.3 两组患者治疗前后胃黏膜病理检查变化比较 治疗前, 组间胃黏膜萎缩、IM、ATP例数比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗后, 对照组胃黏膜萎缩、IM较治疗前减轻, 例数减少(均 $P<0.05$), 而ATP较治疗前无改变($P>0.05$), 观察组胃黏膜萎缩、IM、ATP较治疗前均有减轻, 例数均较治疗前减少(均 $P<0.05$)。与对照组相比, 观察组胃黏膜萎缩、IM、ATP例数明显减少, 比较差异有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.4 两组治疗前后胃泌素-17与ET-1水平比较 治疗前, 两组患者胃泌素-17和ET-1水平比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗后, 两组患者上述指标均有不同程度改善(均 $P<0.05$), 与对照组相比, 观察组治疗后胃泌素-17明显升高, ET-1水平显著下降, 比较差异有统计学意义($P<0.05$)(表4)。

2.5 不良反应 治疗过程中, 所有患者均未出现严重不良反应, 治疗后复查血常规、肝肾功能无明显异常, 药物的安全性好。

3 讨论

CAG是慢性胃炎的一种类型, 临床上常以上腹胀痛、嗝气、反酸、恶心为主要表现。随着

表 2 两组患者临床症状改善比较 ($n = 80, n(\%)$)

分组	上腹胀痛	暖气	反酸	恶心
对照组				
治疗前	78(97.5)	75(93.8)	77(96.2)	79(98.8)
治疗后	67(83.8) ^a	65(81.2) ^a	64(80.0) ^a	68(85.0) ^a
观察组				
治疗前	76(95.0)	74(92.5)	73(91.2)	78(97.5)
治疗后	52(65.0) ^{de}	50(62.5) ^{de}	48(60.0) ^{de}	46(57.5) ^{de}

^a $P < 0.05$ vs 对照组治疗前; ^d $P < 0.01$ vs 观察组治疗前; ^e $P < 0.05$ vs 对照组治疗后.

表 3 两组患者胃黏膜病理检查变化比较 ($n = 80, n(\%)$)

分组	胃黏膜萎缩	肠上皮化生	不典型增生
对照组			
治疗前	80(100.0)	51(63.8)	27(33.8)
治疗后	52(65.0%) ^b	39(48.8) ^a	23(28.8)
观察组			
治疗前	80(100.0)	53(66.2)	29(36.2)
治疗后	9(11.2) ^{df}	16(20.0) ^{de}	10(12.5) ^{ce}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组治疗前; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 观察组治疗前; ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs 对照组治疗后.

表 4 两组患者胃泌素-17与ET-1水平的比较 ($n = 80$, mean \pm SD)

分组	胃泌素-17(mmol/L)	ET-1(ng/L)
对照组		
治疗前	6.81 \pm 2.36	81.76 \pm 12.17
治疗后	9.27 \pm 2.01 ^b	70.14 \pm 10.25 ^b
观察组		
治疗前	6.39 \pm 2.65	82.13 \pm 11.78
治疗后	13.28 \pm 2.57 ^{de}	61.52 \pm 9.74 ^{de}

^b $P < 0.01$ vs 对照组治疗前; ^a $P < 0.01$ vs 观察组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组治疗后. ET-1: 内皮素-1.

年龄的增长, 该疾病的发病率呈现出逐渐上升的趋势. 研究^[4]显示, CAG是重要的癌前病变, 与胃癌的发生密切相关, 且胃癌高发区CAG的发病率明显高于低发区. 因此, CAG的治疗不仅仅满足于症状的消除, 逆转胃黏膜萎缩、肠化生及ATP等病变是该疾病治疗中的一个重要目标.

目前, CAG的具体发病机制尚不明确, 有研究显示幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是其发病相关因素之一^[5]. 因此, 清

除*H. pylori*是西医治疗CAG的一项重要治疗手段. 雷贝拉唑是一种新型的质子泵抑制剂, 在抗*H. pylori*感染中占据重要地位. 该药可以有效抑制胃酸分泌, 降低胃内酸度, 提高阿莫西林、克拉霉素等抗生素的稳定性而增强其杀菌作用, 并且能够直接作用于*H. pylori*的部分分子而直接抑制*H. pylori*增殖, 从而通过清除*H. pylori*感染改善CAG患者的临床症状和体征^[6,7]. 然而, 该药治疗后, 有些患者临床症状和体征未能得到显著改善, 且在胃黏膜病变方面未表现出理想效果. 因此, 该治疗方案还有待进一步优化.

CAG属于中医的“胃脘痛”、“嘈杂”等范畴, 虽然病因多样, 但发病机制均为“不通则痛”, 中药中的活血化瘀药物可以通过作用于此发病机制而发挥治疗作用^[8]. 复方丹参滴丸是由丹参、三七和冰片组成的中药制剂, 具有行气止痛、活血化瘀功效. 研究^[9,10]发现, 该药还具有清除自由基抗氧化作用, 并且能够降低血液黏稠度, 改善微循环, 促进胃黏膜愈合. 刘茂先^[11]研究显示, 在常规治疗基础上应用复方丹参滴丸可以显著提高CAG的治疗疗

应用要点

复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗慢性萎缩性胃炎疗效可靠, 并且可以在一定程度上改善患者胃泌素-17与ET-1水平, 提示可能对患者预后改善具有一定意义, 值得推广.

同行评价

本文抓住目前慢性萎缩性胃炎治疗热点, 立题新颖, 实验设计较为合理, 结论可靠, 建议发表并在以后工作中扩大样本量进行深入研究。

效。本研究中, 与对照组相比, 联合复方丹参滴丸治疗组的有效率显著提高, 临床症状和胃黏膜癌前病变状态明显改善, 结果表明复方丹参滴丸可以通过行气止痛、活血化瘀作用达到“通则不痛”的目的, 改善CAG临床症状, 逆转胃黏膜病变, 提高CAG疗效。

胃泌素-17是由胃窦和十二指肠G细胞分泌的一种胃肠激素, 当胃黏膜腺体萎缩时, 其分泌水平显著下降^[12]。相关研究^[13]表明, 胃泌素-17水平高低对CAG诊断及疾病严重程度评估具有一定意义。在CAG的病因中, 胃黏膜血流量降低是其重要的发病机制之一。据报道, CAG患者胃黏膜血流量明显降低, 胃黏膜容易受损, 并促进腺体萎缩, 进一步导致疾病难以治愈^[14]。ET-1是目前已知最强的缩血管物质, 广泛分布于胃肠道, 在调节胃黏膜血流量方面具有重要作用^[15,16]。因此, 检测胃泌素-17可以在一定程度上评估CAG疾病程度, 而降低CAG患者血清ET-1水平对该疾病的治疗具有积极临床意义。然而, 目前关于联合复方丹参滴丸治疗对CAG患者胃泌素-17和ET-1影响的研究较少。本研究中, 与对照组相比, 联合复方丹参滴丸治疗组血清胃泌素-17显著升高, 而ET-1明显下降, 表明复方丹参滴丸联合治疗可以有效减轻胃肠道缩血管效应, 增加胃黏膜血流量, 从而缓解疾病症状, 减轻疾病严重程度, 这可能是该治疗方案提高CAG治疗疗效, 逆转胃黏膜病变的一个作用机制。

总之, 复方丹参滴丸联合雷贝拉唑治疗慢性萎缩性胃炎疗效可靠, 可以提高治疗有效率高, 显著改善临床症状、胃黏膜病变, 促进分泌胃泌素, 降低血清内皮素水平, 且不良反应少, 临床上值得进一步研究。

参考文献

- Kang JM, Kim N, Shin CM, Lee HS, Lee DH, Jung HC, Song IS. Predictive factors for improvement of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: a three-year follow-up study in Korea. *Helicobacter* 2012; 17: 86-95 [PMID: 22404438 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00918.x]
- 李艳, 张国梁. 中药治疗慢性萎缩性胃炎的机制研究进展. 安徽中医学院学报 2013; 32: 90-93
- 中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研讨会共识意见. 中华消化杂志 2000; 20: 51-53
- Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S, Ohtani M, Ito Y, Muramatsu A, Suto H, Yamazaki Y, Keida Y, Higashi H, Hatakeyama M. Distinct diversity of the *cag* pathogenicity island among *Helicobacter pylori* strains in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2508-2517 [PMID: 15184428 DOI: 10.1128/JCM.42.6.2508-2517.2004]
- 吴欣欣. 半夏泻心汤治疗幽门螺杆菌相关性慢性萎缩性胃炎. 长春中医药大学学报 2013; 29: 286-287
- 仲永根. 雷贝拉唑治疗幽门螺杆菌阳性十二指肠球部溃疡的疗效. 实用医学杂志 2009; 25: 1145-1146
- 沈凤. 雷贝拉唑钠肠溶片早期联合抗生素治疗Hp阳性胃溃疡患者97例疗效观察. 海南医学院学报 2009; 15: 453-454
- 余秀娟. 加味泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎举隅. 安徽中医学院学报 2011; 30: 34-35
- 梁凤铭. 复方丹参滴丸联合奥美拉唑治疗老年胃溃疡的疗效. 中国医药指南 2013; 11: 608-609
- 何兰香. 复方丹参滴丸的作用机制及临床应用. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 1030-1032
- 刘茂先. 复方丹参滴丸治疗慢性萎缩性胃炎176例. 医学信息(下旬刊) 2010; 23: 2088-2089
- 杨勤, 姚玉玲. 胃蛋白酶原与胃泌素检测对慢性萎缩性胃炎的诊断价值探讨. 实用临床医药杂志 2012; 16: 23-24, 31
- 诸霞群, 庄亚杰. 阿莫西林联合叶酸对慢性萎缩性胃炎患者多项血清因子水平的影响. 中国药房 2010; 21: 4159-4161
- 张虹, 成映霞, 段永强, 程容, 朱立鸣. 治萎防变胶囊对气虚血瘀型慢性萎缩性胃炎模型大鼠生长抑素和免疫功能的影响. 中国中医药信息杂志 2011; 18: 35-37
- 成映霞, 段永强, 朱立鸣, 张虹, 程容. 治萎防变胶囊对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜NO/NOS和胃泌素、内皮素的影响. 中国老年学杂志 2011; 31: 611-613
- 李光荣, 杨剑, 屈树行, 张治秋, 何英肖, 张彩侠. 三参方对慢性萎缩性胃炎大鼠血浆ET-1和6-k-PGF1 α 含量的影响. 河北中医学报 2012; 27: 3-4

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



调神针法对慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS(肝郁脾虚证)疗效及血浆SP、VIP的影响

陈果, 骆建兴, 扈晓宇

陈果, 骆建兴, 扈晓宇, 成都中医药大学附属医院感染科
 四川省成都市 610072
 陈果, 主治医师, 主要从事中医药防治感染性疾病的临床及实验研究。

成都中医药大学校基金资助项目, No. YZ2012009

作者贡献分布: 陈果负责课题研究实施与论文写作; 骆建兴负责课题研究实施、数据分析及论文写作; 扈晓宇负责课题设计。

通讯作者: 扈晓宇, 教授, 博士生导师, 610072, 四川省成都市十二桥路39号, 成都中医药大学附属医院感染科。

xiaoyuhu@aliyun.com

电话: 028-87766041 传真: 028-87732407

收稿日期: 2014-12-31 修回日期: 2015-01-21

接受日期: 2015-01-29 在线出版日期: 2015-03-18

Tiaoshen acupuncture for diarrhea type IBS in patients with chronic hepatitis B (liver stagnation and spleen deficiency syndrome): Curative effect and influence on plasma SP and VIP

Guo Chen, Jian-Xing Luo, Xiao-Yu Hu

Guo Chen, Jian-Xing Luo, Xiao-Yu Hu, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Supported by: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine Funded Projects, No. YZ2012009

Correspondence to: Xiao-Yu Hu, Professor, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 39 Twelve Bridge Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. xiaoyuhu@aliyun.com

Received: 2014-12-31 Revised: 2015-01-21

Accepted: 2015-01-29 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To assess the curative efficacy of Tiaoshen

acupuncture for diarrhea type irritable bowel syndrome (IBS) in chronic hepatitis B (CHB) patients (liver stagnation and spleen deficiency syndrome) and its impact on serum levels of substance P (SP) and vasoactive intestinal peptide (VIP).

METHODS: One hundred and eight patients were randomly assigned to two groups (a treatment group and a control group) to receive both acupuncture and sham acupuncture treatment for 4 wk. The treatment group received acupuncture at gastric area and intestinal area of scalp acupuncture, and sham acupuncture at Tianshu, Zusanli, and Taichong. The control group were acupunctured at Tianshu, Zusanli, and Taichong, and sham-acupunctured at gastric area and intestinal area of scalp acupuncture. Traditional Chinese medicine (TCM) syndrome curative efficacy, TCM syndrome scores and serum levels of SP and VIP were evaluated before and after therapy.

RESULTS: A total of 96 patients (including 49 in the treatment group) completed the four-week study. Clinical curative effect in the treatment group was significantly better than that in the control group [89.80% (44/49) vs 65.96% (31/47), $P < 0.05$]. Compared with pretreatment values, TCM syndromes of both groups after treatment were decreased significantly [(26.4 ± 3.6) vs (8.5 ± 1.8); (25.3 ± 2.5) vs (15.6 ± 2.7)], while the treatment group showed a more significant decrease compared with the control group [(8.5 ± 1.8) vs (15.6 ± 2.7), $P < 0.05$]. After treatment, serum levels of SP and VIP in the two groups

背景资料

慢性乙型肝炎合并肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)常规治疗的疗效不满意, 近来研究表明, 应用传统针法, 或结合灸法来治疗慢性乙型肝炎合并IBS, 都可较好的改善患者的临床症状和提高其生存质量。

同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研究前沿

目前, 针灸治疗疾病的安全性和有效性愈来愈得到国内外医学界的肯定, 但由于针灸的疗效长期依赖于医者个人的实践经验, 如何对针灸的疗效用现代医学的观点来进行评价仍存有较大的争议。本研究将传统针灸疗法与脑-肠轴理论相结合, 寻求更加安全有效地治疗慢性乙型肝炎合并IBS的方法。

■相关报道

不少报道用非传统针法, 如周氏万应点灸笔点灸法、俞募配穴埋线法、电针配合耳压法等, 来治疗IBS均获得了良好的疗效。另有学者对针灸治疗IBS的机制作了较为深入的探讨, 认为针灸可调节中枢神经系统、免疫系统、内分泌系统及胃肠动力等。由此可见, 针灸治疗慢性乙型肝炎合并IBS有非常夯实的理论基础及实践经验。不少报道用非传统针法, 如周氏万应点灸笔点灸法、俞募配穴埋线法、电针配合耳压法等, 来治疗IBS均获得了良好的疗效。另有学者对针灸治疗IBS的机制作了较为深入的探讨, 认为针灸可调节中枢神经系统、免疫系统、内分泌系统及胃肠动力等。由此可见, 针灸治疗慢性乙型肝炎合并IBS有非常夯实的理论基础及实践经验。

decreased significantly [SP: (43.68 ± 15.15) vs (22.08 ± 11.47) ; VIP: (45.24 ± 15.07) vs (34.52 ± 14.76)], and the decrease was more significant in the treatment group [SP: (38.44 ± 13.57) vs (16.31 ± 13.72) ; VIP: (37.13 ± 10.19) vs (25.47 ± 12.75) , $P < 0.05$]. There were no adverse reactions or seroconversion in the study.

CONCLUSION: Tiaoshen acupuncture has a better clinical efficacy in CHB patients with diarrhea type IBS (liver stagnation and spleen deficiency syndrome) than traditional acupuncture treatment. Tiaoshen acupuncture may alleviate syndromes of CHB patients with diarrhea type IBS by altering serum levels of SP and VIP and thereby modulating intestine-brain responses.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tiaoshen acupuncture; Chronic hepatitis B; Diarrhea type IBS; Liver stagnation and spleen deficiency syndrome; Substance P; Vasoactive intestinal peptide

Chen G, Luo JX, Hu XY. Tiaoshen acupuncture for diarrhea type IBS in patients with chronic hepatitis B (liver stagnation and spleen deficiency syndrome): Curative effect and influence on plasma SP and VIP. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1303-1307 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1303.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1303>

摘要

目的: 研究调神针法对慢性乙型肝炎患者腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)(肝郁脾虚证)疗效及血浆P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)的影响。

方法: 将108例入组病例随机分到治疗组及对照组, 各为54例。治疗组给予真刺头针胃区(双)和头针肠区(双), 假刺天枢(双)、足三里(双)、太冲(双)治疗; 对照组给予真刺天枢(双)、足三里(双)、太冲(双), 假刺头针胃区(双)和头针肠区(双)治疗。疗程均为4 wk。观察中医证候积分、中医证候疗效及血浆SP、VIP水平。

结果: 共有96例(治疗组49例)患者完成4 wk的研究。临床证候疗效方面治疗组总有效率优于对照组[89.80%(44/49) vs 65.96%(31/47), $P < 0.05$]. 疗程结束后治疗组、对照组中医证候积分均较治疗开始前

明显降低[(26.4 ± 3.6) vs (8.5 ± 1.8) ; (25.3 ± 2.5) vs (15.6 ± 2.7)], 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后治疗组中医证候积分下降幅度比对照组大[(8.5 ± 1.8) vs (15.6 ± 2.7)], 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。疗程结束后治疗组、对照组血浆SP、VIP水平均较治疗开始前明显降低: 两组SP: $[(43.68 \pm 15.15)$ vs (22.08 ± 11.47) ; (45.24 ± 15.07) vs (34.52 ± 14.76)]; 两组VIP: $[(38.44 \pm 13.57)$ vs (16.31 ± 13.72) ; (37.13 ± 10.19) vs (25.47 ± 12.75)], 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后治疗组SP、VIP水平下降幅度均较对照组大[(22.02 ± 11.47) vs (33.52 ± 14.76) ; (16.31 ± 13.72) vs (25.47 ± 12.75)], 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。本研究中治疗组、对照组均未发现不良反应病例及血清学转换患者。

结论: 调神针法可显著提高慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS(肝郁脾虚证)疗效, 且优于传统针灸疗法; 调神针法可通过影响血浆SP、VIP含量进而通过调节脑-肠轴改善慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS(肝郁脾虚证)临床症状。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 调神针法; 慢性乙型肝炎; 腹泻型肠易激综合征; 肝郁脾虚证; P物质; 血管活性肠肽

核心提示: 本研究基于脑肠轴学说, 以针刺头针胃区和头针肠区作为切入点, 运用“调神针法”这一非药物疗法调节“脑神”进而调节“五脏神”, 从而降低血浆P物质(substance P)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide)含量, 显著改善患者中医证候疗效、中医证候积分, 疗效显著。

陈果, 骆建兴, 扈晓宇. 调神针法对慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS(肝郁脾虚证)疗效及血浆SP、VIP的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1303-1307 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1303.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1303>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以慢性或反复发作的腹痛伴排便习惯改变, 并缺乏形态学和生化标志的异常为特征的功能性肠病^[1,2]。据国外报道^[3,4], 慢性乙型肝炎患者中合并IBS的比例高达22.0%-25.9%。目前, 西医常规治疗的疗效不满意, 而中医治疗本病优势明显。在继承的基础上, 我们基于

脑-肠轴学说, 提出以针刺头针胃区和头针肠区作为切入点, 运用“调神针法”这一非药物治疗法调节“脑神”进而调节“五脏神”, 以达到阴平阳秘, 百病不生的状态, 从而治愈本病。2012-07/2014-07, 我们采用调神针法治疗慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS属肝郁脾虚证者, 以观察其临床疗效。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-07/2014-07成都中医药大学感染科门诊的符合入组条件患者。西医诊断标准: 慢性乙型肝炎西医诊断标准参照2010年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[5]的标准; IBS西医诊断标准参照2006年IBS罗马诊断标准^[6]和中华医学会消化病学分会胃肠动力学分组2007年长沙会议制订的《肠易激综合征诊断和治疗的共识意见》^[7]; 中医辨证标准: 符合中医泄泻诊断标准; 符合中医证候诊断标准肝郁脾虚证诊断标准^[8]。排除标准: (1)经检查证实为痢疾、霍乱以及全身性疾病、中毒、寄生虫感染、恶性肿瘤等引起的腹泻; (2)年龄在18岁以下或65岁以上; (3)肠道器质性病变, 如炎症性肠病、肠结核、结肠息肉; (4)合并心脑血管、肝肾、造血、内分泌系统疾病以及肿瘤等严重原发性疾病; (5)治疗前至少15 d内应用可能影响胃肠道功能的药物, 如钙通道阻滞剂、抗胆碱能药物、前列腺素、抗酸剂、促动力剂等; (6)妊娠期、哺乳期妇女; (7)正在参加其他药物临床试验的患者。纳入标准: (1)符合上述慢性乙型肝炎合并IBS诊断标准及腹泻肝郁脾虚中医辨病辨证标准; (2)无上述排除标准中的任一项; (3)病程6 mo以上; (4)既往无针灸体验; (5)愿意参加本研究并签署知情同意书。剔除标准: 不符合诊断、纳入和排除标准者; 纳入后发现不符合纳入标准而被误纳入; 虽符合纳入标准, 但纳入后未曾针刺治疗或无任何随访记录; 脱落标准: (1)发生并发症, 不宜继续接受试验; (2)受试者依从性差, 不能按时针灸治疗; (3)不愿意继续接受试验自行退出, 或失访; (4)资料不全影响安全性和有效性判断; (5)临床医生认为有其他情况而应该中止者。参加临床试验的研究者对试验中止的原因及与临床试验的关系要认真记录; 对中途因不愿意继续进行临床试验而提出退出临床试验的受试者要明确记录原因, 并详细记录中止时

评价的指标。

1.2 方法

1.2.1 研究设计: 采用前瞻性、单盲、随机对照的临床设计。患者知情同意后将接受随机分组, 使用DPS统计软件的完全随机分组功能, 指定样本数为108, 按1:1比例, 将患者随机分为治疗组、对照组。

1.2.2 给药方案及疗程: 对照组: 给予真刺天枢(双)、足三里(双)、太冲(双), 假刺头针胃区(双)和头针肠区(双)治疗。治疗组: 给予真刺头针胃区(双)、头针肠区(双), 假刺天枢(双)、足三里(双)、太冲(双)治疗。两组疗程均为4 wk(1次/d, 连续针灸5次休息2次为1疗程, 治疗4个疗程)。

1.2.3 观察项目与检测方法: (1)中医证候积分: 参照《中药新药临床研究指导原则》^[8]制订中医证候量化分级标准: 以腹痛、腹胀、排便不尽感、大便次数、大便性状等症状的不同程度, 即正常或无、轻度、中度、重度, 分为0级、1级、2级、3级, 依次计为0、1、2、3分, 其中黏液便按照有无, 有为1级(计1分), 无为0级(计0分)。治疗前及治疗结束时, 记录各个症状并评分; (2)中医证候疗效: 参照《中药新药临床研究指导原则》^[8]中“腹泻”部分拟定: 临床痊愈: 症状、体征消失或基本消失, 证候积分减少 $\geq 95\%$; 显效: 症状、体征明显改善, 证候积分减少 $\geq 70\%$; 有效: 症状、体征均有好转, 证候积分减少 $\geq 30\%$; 无效: 症状、体征均无明显改善, 甚或加重, 证候积分减少 $< 30\%$ 。中医证候积分按公式(尼莫地平法)证候积分 = (治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分 $\times 100\%$ 。治疗结束时评价中医证候疗效; (3)效应性指标: 血浆P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)的含量: 采用放射免疫方法测定; (4)其他指标: 结肠镜检查 and 乙型肝炎标志物检查(采用ELISA法检测)。

1.2.4 安全性评价: 观察针灸治疗后受试者新出现的症状和体征(如皮疹、发热、恶心、呕吐、抑郁、食欲不振等); 治疗前后均监测以下指标用于安全性评价: (1)心率、心律、血压、体质量; (2)血、尿、大便常规; (3)心电图、肝肾功能检查。

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行分析处理, 计量资料数据以mean \pm SD表示, 样本

■创新亮点

本课题在前期工作基础上, 引入脑-肠轴的概念, 以头针胃区和头针肠区作为调神的切入点, “调神针法”通过调节脑神, 进而调节五脏神, 以达到阴平阳秘, 百病不生的状态。“调神针法”这一非药物治疗不仅体现了中医的整体观理论, 又体现了西方医学的生物全息思想。

■应用要点

本课题采用单盲、安慰剂针刺的研究方法, 很大程度上避免了患者心理因素对慢性乙型肝炎合并IBS临床疗效的干扰, 其研究结果更为客观、真实, 可作为针灸治疗本病的疗效评价依据。

■ 名词解释

脑-肠轴: 将胃肠道与中枢神经系统联系起来的神经-内分泌网络。

表 1 两组血浆SP水平比较 (mean ± SD)

分组	n	血浆SP(pg/mL)	
		0 wk	4 wk
治疗组	49	43.68 ± 15.15	22.08 ± 11.47 ^a
对照组	47	45.24 ± 15.07	34.52 ± 14.76

^a*P*<0.05 vs 对照组. SP: P物质.

表 2 两组血浆VIP水平比较 (mean ± SD)

分组	n	血浆VIP(pg/mL)	
		0 wk	4 wk
治疗组	49	38.44 ± 13.57	16.31 ± 13.72 ^a
对照组	47	37.13 ± 10.19	25.47 ± 12.75

^a*P*<0.05 vs 对照组. VIP: 血管活性肠肽.

符合正态分布采用*t*检验, 非正态分布资料采用Wilcoxon秩和检验; 计数资料采用 χ^2 检验、Ridit分析检验, 以*P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 描述性统计

2.1.1 病例入组选择、剔除及试验完成情况: 按照试验方案, 入组108例病例, 治疗过程中有12例未按规定针灸或治疗期间自行在院外进行治疗被剔除, 总的剔除率为11.1%; 其中治疗组5例, 占9.2%; 对照组7例, 占13.0%, 差异无统计学意义(*P*>0.05). 共有96例按照研究方案完成4 wk的治疗, 进入统计学分析.

2.1.2 两组基线资料比较: 治疗组49例(男29例), 平均47.66岁±7.82岁, SP平均为43.68 pg/mL±15.15 pg/mL, VIP平均为38.44 pg/mL±13.57 pg/mL. 中医证候积分平均为26.4分±3.6分; 对照组47例(男25例), 平均45.87岁±8.53岁, SP平均为45.24 pg/mL±15.07 pg/mL, VIP平均为37.13 pg/mL±10.19 pg/mL. 中医证候积分平均为25.3分±2.5分; 两组基线资料差异无统计学意义(*P*>0.05), 具有可比性.

2.2 治疗后两组患者中医证候的疗效比较 治疗组共49例, 痊愈29例, 显效11例, 有效4例, 无效5例, 总有效率为89.80%; 对照组共47例, 痊愈20例, 显效6例, 有效5例, 无效16例, 总有效率为65.96%. Mann-Whitney检验示 $Z = -4.739, P = 0.000$, 差异有统计学意义, 提示治疗组可以显著提高中医证候疗效.

2.3 治疗后两组患者中医证候的积分比较 治疗组中医证候积分平均为8.5分±1.8分, 与治疗前26.4分±3.6分比较, 差异有统计学意义($t = 6.485, P = 0.000$). 对照组中医证候积分平均为15.6分±2.7分, 与治疗前25.3分±2.5分比较, 差异有统计学意义($t = 5.487, P = 0.000$). 治疗后治疗组中医证候积分高于对照组, 差异有统计学意义($t = 4.317, P = 0.000$). 提示治疗组在改善中医证候方面明显优于对照组.

2.4 治疗后两组患者血浆SP水平比较 治疗结束后, 两组血浆SP值都较治疗前降低. 治疗组血浆SP值降低幅度高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.5 治疗后两组患者血浆VIP水平比较 治疗结束后, 两组血浆VIP值都较治疗前降低. 治疗组血浆VIP值降低幅度高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

2.6 安全性评价 治疗组和对照组均未发现与针灸相关的不良反应; 两组治疗后心率、心律、血压、体质量、血、尿、大便常规、心电图、肝肾功能检查均未发现与针灸相关的、有临床意义的异常结果.

3 讨论

目前尚无治疗慢性乙型肝炎合并IBS的特效方法. 西医治疗多为去除诱因和对症治疗, 强调综合治疗与个体化治疗相结合的原则. 临床上常用的药物如肠道受体调节剂、三环抗抑郁剂、微生态调节剂, 以及针对腹痛、大便异常

等药物的药物^[9]。虽然药物很多, 但疗效往往不太令人满意, 且西药普遍存在不同程度的不良反应, 因此, 有必要进一步探索更加安全、有效的慢性乙型肝炎合并IBS治疗方案。

既往研究^[10-12]表明, 脑-肠轴异常理论被认为是其病理生理学机制的基础。脑-肠轴是将胃肠道与中枢神经系统联系起来的神经-内分泌网络^[13,14]。机体通过这个神经-内分泌网络可进行双向的调节, 即一方面刺激内在信息通过肠神经链与高级神经中枢相联结影响胃肠感觉、动力和分泌等; 另一方面亲内脏作用又反过来作用于中枢的痛感、情绪和行为, 即胃肠症状对心理状态有反作用^[15]。

本研究结果显示, 治疗组治疗4 wk后中医证候总体疗效优于对照组, 中医证候积分改善、情况优于对照组, 血浆SP、VIP降低幅度优于对照组, 且无相关不良反应。

慢性乙型肝炎合并IBS后, 归属于中医“泄泻”“腹满”及“腹痛”等范畴, 与“大肠泄”“痛泄”等关系最为密切, 同“郁证”也有一定联系。中医学认为, 本病病位在肠, 与肝脾关系密切, 与肾亦有一定关系。五脏化神, 而神控五脏, 乃人体生命活动的总概括, 脑又为元神之府, 故慢性乙型肝炎合并IBS的发病与脑神也有十分紧密的联系。“治神”是调神针法取效的关键所在, 即通过针刺头针胃区和肠区对脑神进行调节, 以调节脑-肠轴, 即神经-内分泌网络, 进而调和五脏之神, 恢复脏腑的生理功能, 阴平阳秘则疾病向愈。

总之, 调神针法治疗慢性乙型肝炎患者腹泻型IBS肝郁脾虚证, 能显著改善患者中医证候疗效、中医证候积分, 能够显著降低血浆SP、VIP含量, 进而调节脑-肠轴。但本研究尚存在不足, 样本量不够大, 进一步作用机制尚未完全阐明, 这也将是我们下一步的工作任务。

4 参考文献

- 1 Drossman DA. Rome III: The Functional Gastrointestinal Disorders. 3rd ed. McLean: Degnon Association Inc, 2006
- 2 宁丽琴, 叶柏. 肠易激综合征研究进展. 现代医学 2008; 36: 449-452
- 3 Fouad YM, Makhoul MM, Khalaf H, Mostafa Z, Abdel Raheem E, Meneasi W. Is irritable bowel syndrome associated with chronic hepatitis C? *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1285-1288 [PMID: 20594257 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06311.x]
- 4 Fiderkiewicz B, Rydzewska-Rosolowska A, Myśliwiec M, Birecka M, Kaczanowska B, Rydzewska G, Rydzewski A. Factors associated with irritable bowel syndrome symptoms in hemodialysis patients. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1976-1981 [PMID: 21528075 DOI: 10.3748/wjg.v17.i15.1976]
- 5 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华肝脏病杂志 2011; 19: 79-100
- 6 Boyce PM, Talley NJ, Burke C, Koloski NA. Epidemiology of the functional gastrointestinal disorders diagnosed according to Rome II criteria: an Australian population-based study. *Intern Med J* 2006; 36: 28-36 [PMID: 16409310 DOI: 10.1111/j.1445-5994.2006.01006.x]
- 7 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007, 长沙). 中华消化杂志 2008; 28: 38-41
- 8 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 139-143
- 9 严蕙蕙, 杜勤. 肠易激综合征的治疗进展. 胃肠病学 2007; 12: 442-445
- 10 Gaman A, Bucur MC, Kuo B. Therapeutic advances in functional gastrointestinal disease: irritable bowel syndrome. *Therap Adv Gastroenterol* 2009; 2: 169-181 [PMID: 19936327 DOI: 10.1177/1756283X08103656]
- 11 李宁宁, 方秀才. 脑-肠轴在肠易激综合征发病中的作用. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 163-166
- 12 张学君, 陈采益. 基于脑肠轴学说探讨针灸治疗功能性肠病的思路. 福建中医药大学学报 2011; 21: 55-58
- 13 李景南, 钱家鸣. 胃肠激素与消化系统疾病. 中华消化杂志 2005; 25: 253-254
- 14 陈寒昱, 孙志广. 肠易激综合征发病机制研究进展. 东南大学学报(医学版) 2012; 31: 243-245
- 15 Talley NJ, Howell S, Poulton R. The irritable bowel syndrome and psychiatric disorders in the community: is there a link? *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1072-1079 [PMID: 11316149 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03741.x]

同行评价

本文以西医标准评价针灸疗效, 有一定创新性。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



肝硬化合并胆囊结石临床特点分析105例

王子晨, 张宁, 陈卫刚, 郑勇

背景资料

肝硬化合并胆囊结石目前是国内、外医学界研究的热点及难点, 早年尸检发现肝硬化患者胆囊结石发病率为14%-30%, 约普通人群的2倍, 近年来, 随诊B超、CT及MRI等检查的广泛应用及肝硬化治疗进展, 使患者生存期显著延长。发现肝硬化患者合并胆囊结石发病率近年来呈上升趋势。临床观察表明肝硬化并胆囊结石临床多无明显症状, 易被内科医师所忽视, 使患者失去了择期手术的机会, 影响预后, 肝硬化易并发胆囊结石, 但其机制尚不清楚。

王子晨, 张宁, 陈卫刚, 郑勇, 石河子大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832000

王子晨, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 王子晨与郑勇对此文所作贡献均等; 此课题由王子晨与张宁设计; 研究过程、数据分析、论文写作由王子晨完成, 陈卫刚协助。

通讯作者: 郑勇, 教授, 832000, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学第一附属医院消化内科。

zy2850@126.com

电话: 0993-2859284

收稿日期: 2015-01-08 修回日期: 2015-01-27

接受日期: 2015-01-30 在线出版日期: 2015-03-18

Clinical features of cirrhosis with gallstones: Analysis of 105 cases

Zi-Chen Wang, Ning Zhang, Wei-Gang Chen, Yong Zheng

Zi-Chen Wang, Ning Zhang, Wei-Gang Chen, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong Zheng, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com

Received: 2015-01-08 Revised: 2015-01-27

Accepted: 2015-01-30 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and risk factors for gallstones in a large series of patients with cirrhosis.

METHODS: Clinical data for 492 patients with liver cirrhosis treated at the First Affiliated Hospital of Shihezi University from January 2009 to January 2013 were retrospectively analyzed. Of these patients, 105 with gallbladder stones comprised an observation group, and 387

without gallbladder stones were included in a control group. A normal control group consisting of 412 healthy volunteers was also included. Clinical characteristics and possible risk factors were compared between different groups.

RESULTS: The incidence of gallstones in patients with cirrhosis was 21.3%, significantly higher than that in the general population (5.6%). Univariate analysis showed significant differences between the observation group and the control group with regard to Child-Pugh class, direct bilirubin, apolipoprotein A, high density lipoprotein, and triglycerides ($P < 0.05$).

CONCLUSION: In cirrhosis patients, Child-Pugh classification, direct bilirubin, apolipoprotein A, high density lipoprotein, and triglyceride levels are risk factors for gallstones.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Gallstones; Incidence rate; Risk factor

Wang ZC, Zhang N, Chen WG, Zheng Y. Clinical features of cirrhosis with gallstones: Analysis of 105 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1308-1313
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1308.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1308>

摘要

目的: 回顾性分析492例肝硬化患者合并胆囊结石的发生率、临床特点及其相关影响因素, 探讨肝硬化与胆囊结石的关系, 为预防及临床治疗提供理论及治疗依据。

方法: 本研究将492例肝硬化患者分为两组,

同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

分别为: 观察组(105例)为肝硬化合并胆囊结石组, 对照组(387例)为肝硬化无胆囊结石组. 并设立正常对照组(412例)为同期石河子大学第一附属医院健康体检并行腹部B超检查者为正常对照组. 分析及比较两组各组间患者在年龄、性别、肝硬化病因、Child-Pugh分级、血浆白蛋白水平、血小板、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、载脂蛋白A、甘油三脂、高密度脂蛋白、总胆汁酸等指标之间的差异.

结果: 观察组及肝硬化合并胆囊结石的发生率为21.3%, 明显高于正常对照组的单纯性胆囊结石发生率(5.6%). 不同病因之间比较, 乙型肝炎肝硬化患者合并胆囊结石发病率明显增高. 单变量分析显示观察组和对照组在肝功能分级、直接胆红素、载脂蛋白A、高密度脂蛋白、甘油三脂相比差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$).

结论: 肝硬化患者易合并胆囊结石, 肝功能Child-Pugh分级、直接胆红素、载脂蛋白A、高密度脂蛋白、甘油三脂水平是肝硬化并发胆囊结石的危险因素.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝硬化; 胆囊结石; 发生率; 危险因素

核心提示: 肝硬化是影响人类健康的重要疾病, 其中乙型肝炎后肝硬化发病率较高, 肝硬化患者发生胆囊结石的发病率是正常非肝硬化患者的2-5倍, 并发胆囊结石对肝功能有进一步损害, 影响患者预后. 因此, 研究肝硬化合并胆囊结石的致病原因及危险因素有助于其预防和治疗.

王子晨, 张宁, 陈卫刚, 郑勇. 肝硬化合并胆囊结石临床特点分析105例. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1308-1313 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1308.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1308>

0 引言

肝硬化患者易发生胆囊病变, 胆囊结石及非特异性炎症是伴随症状, 这样会加重对肝脏的损害^[1], 肝硬化患者门静脉扩张、压力升高、白球比例失调、脂代谢功能障碍, 可导致一系列临床症状发生. 临床研究^[2]表明, 肝硬化患者并发胆囊结石的发病率高, 胆色素及胆固醇代谢异常及胆囊收缩功能异常等多种因素与其相关, 但是具体发病机制或原因尚未完全阐明.

本研究2009-01/2013-01石河子大学第一附属医院消化内科收治的492例肝硬化患者临床资料进行回顾性分析, 探讨肝硬化合并胆囊结石的危险因素及临床特点.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析石河子大学医学院第一附属医院2009-01/2013-01消化内科收治的肝硬化患者492例, 设立肝硬化并胆囊结石患者为观察组, 共105例, 男68例, 女37例, 平均年龄 59.05 ± 11.86 岁, 设立肝硬化无胆囊结石患者为对照组, 共387例, 男249例, 女138例, 平均年龄 56.34 ± 11.99 岁, 且患者均经临床病史、实验学及影像学检查符合肝硬化诊断标准^[2]. 并同时收集同期在石河子大学第一附属医院健康体检并进行腹部B超检查患者412例为正常对照组, 其中男289例, 女123例, 平均年龄 53.69 ± 11.67 岁, 诊断胆囊结石患者23例. 以上均已排除本身患有胆道系统原发病(急性胆囊炎及胆囊切除患者)、伴有血液系统疾病、严重心肾功能不全及恶性肿瘤患者(主要指肝癌患者)及资料不全的患者.

1.2 方法

1.2.1 观察指标: 比较观察组与对照组者在年龄、性别、肝硬化病因、Child-Pugh分级、血浆白蛋白水平、血小板、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、载脂蛋白A、甘油三脂、高密度脂蛋白、总胆汁酸是否存在指标差异.

1.2.2 检测: 观察组及对照组均行肝功能、凝血功能及腹部B超检查. 腹部B超主要了解肝脏、门静脉、胆管、胆囊结石及腹水情况.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件对数据进行统计分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝硬化合并胆囊结石发病率 本组资料肝硬化患者合并胆囊结石发生率为21.3%(105/492), 单纯性胆囊结石发生率5.6%(23/412), 两组差异有统计学意义($P<0.05$).

2.2 病因比较 本研究将492例肝硬化患者根据病因分为乙型肝炎后肝硬化(395例)、丙型肝炎后肝硬化(55例)、酒精性肝硬化(18例)及其他型肝硬化(24例), 对照组中乙型肝炎后肝硬化(308例)、丙型肝炎后肝硬化(45例)、酒精

■ 研究前沿

肝硬化患者胆囊结石发生率高, 其胆囊结石发生与肝功能损伤程度的分级、形成不同肝硬化的病因相关. 故内科医师要从预防和治疗肝炎做起, 降低肝硬化的发病率, 合理调整患者的脂质代谢与胆汁代谢, 预防胆囊结石及并发症发生.

■ 相关报道

有学者指出,胆汁酸池减少胆色素代谢异常,脾功能亢进,胆囊浓缩功能异常及葡萄糖醛酸酶浓度及活性增加均是肝硬化患者伴发胆囊结石的原因。

表 1 不同病因观察组与对照组之间比较

病因	对照组(n)	观察组(n)	合并(n)	发生率(%)
乙型肝炎后肝硬化	308	87	395	22.02
丙型肝炎后肝硬化	45 ^a	10	55	18.18
酒精性肝硬化	13 ^{ac}	5	18	27.78
其他型肝硬化	21 ^{ac}	3	24	21.50
合计	387	105	492	21.34

^a*P*<0.05 vs 乙型肝炎后肝硬化; ^c*P*<0.05 vs 丙型肝炎后肝硬化。

表 2 肝功能分级比较

分组	Child-Pugh分级[n(%)]			合计(n)
	A级	B级	C级	
观察组	11(10.28)	42(18.34) ^a	52(33.33) ^{ac}	105
对照组	96(89.72)	187(81.66)	104(66.67)	387
合计(n)	107	229	156	492

^a*P*<0.05 vs Child-Pugh A级; ^c*P*<0.01 vs Child-Pugh B级。

表 3 生化指标比较 (mean ± SD)

观察指标	观察组	对照组	<i>P</i> 值
总胆红素(μmol/L)	51.89 ± 37.67	48.30 ± 43.41	0.43
直接胆红素(μmol/L)	20.66 ± 20.33	23.67 ± 26.20	0.04
间接胆红素(μmol/L)	31.87 ± 22.27	26.46 ± 20.28	0.57
载脂蛋白A(g/L)	0.89 ± 0.22	0.82 ± 0.32	0.02
甘油三酯(mmol/L)	1.51 ± 0.91	1.65 ± 1.23	0.03
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.87 ± 0.31	0.79 ± 0.38	0.04

性肝硬化(13例), 其他型肝硬化(21例); 观察组中乙型肝炎后肝硬化(87例)、丙型肝炎后肝硬化(10例)、酒精性肝硬化(5例)、其他型肝硬化(3例)。不同病因之间进行比较, 观察组与对照组比较, 差异具有统计学意义($\chi^2 = 164.06$, *P*<0.05)。不同病因之间两两比较, 差异均有统计学意义(*P*<0.05)。其中乙型肝炎后肝硬化合并胆囊结石发病率为82.86%(87/105), 明显高于其他组, 认为乙型肝炎后肝硬化患者合并胆囊结石发病率明显增高(表1)。

2.3 肝功能分级比较 本研究表明, 据Child-Pugh分级, 将肝硬化患者分为3组, 其中Child-Pugh A级107例, 合并胆囊结石11例(10.28%), Child-Pugh B级229例, 合并胆囊结石42例(18.34%), Child-Pugh C级156例, 合并胆囊结石52例(33.33%)。3组肝功能之间比较, $\chi^2 = 22.39$, *P*<0.05, 认为不同

肝功能分级之间合并胆囊结石发病率存在差异。组间两两比较, 其中对照组中Child-Pugh分级C级发病率为33.33%, 认为肝功能越差, 肝硬化合并胆囊结石发病率越高(表2)。

2.4 生化指标比较 本研究表明, 分别观察总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、载脂蛋白A、甘油三酯、高密度脂蛋白在观察组与对照组之间是否存在差异, 结果显示: 直接胆红素、载脂蛋白A、甘油三酯、高密度脂蛋白在两组之间比较差异均有统计学意义(表3)。

3 讨论

肝硬化是由多种病因长期或反复作用形成的弥漫性肝损害。病理组织上由广泛的肝细胞坏死、肝细胞结节性再生, 结缔组织增生与纤维隔形成, 导致肝小叶结构破坏和假小叶形

成, 肝脏逐渐变形、变硬而发展为肝硬化。胆囊结石的形成则主要与胆道感染、胆固醇过饱和、胆囊收缩功能异常、胆汁成分性质改变相关。年龄、性别、家族史、高脂饮食、肥胖、妊娠是胆囊结石发生的高危因素。肝脏不仅是胆汁产生的唯一器官, 也是糖、脂代谢重要场所, 而且是致石性胆汁产生的场所, 肝硬化与胆囊结石形成互为因果, 相互影响。有研究^[3,4]发现, 肝硬化时肝脏摄取血中游离脂肪酸增多, 外周脂解增加, 脂类代谢异常, 胆固醇和磷脂代谢比例增高, 胆固醇结晶析出, 易形成胆固醇结石; 另一方面, 肝细胞受到脂肪浸润后, 功能受损, 不能产生足够的胆汁酸, 溶石能力下降, 促进结石形成。肝硬化时肝功能降低, 导致血清中组胺、胰高血糖素、血管活性肠肽等浓度升高, 降低胆囊收缩能力, 促使胆汁淤积, 利于结石形成。

本研究发现, 肝硬化患者合并胆囊结石发生率为21.3%, 单纯性胆囊结石发生率为5.6%, 肝硬化合并胆囊结石显著高于对照组, 结果与国内外的研究^[5-8]报道基本一致(17.91%-38%)。有学者认为, 肝硬化时间越长, 越容易合并胆囊结石, 如Conte等^[9]对618例肝硬化患者进行随访观察, 病程在2、4、6、8年肝硬化合并胆囊结石的发生率分别为6.5%、18.0%、28.0%和40.9%, 并认为肝硬化合并胆囊结石与病因无明显相关, 但在本组资料中, 从肝硬化合并胆囊结石病因上看, 乙型肝炎后肝硬化占有胆囊结石的82.86(87/105), 丙型肝炎后肝硬化合并胆囊结石为9.53%(10/105), 酒精性肝硬化合并胆囊结石为4.76%(5/105), 其他类型肝硬化合并胆囊结石为2.86%(3/105)。乙型肝炎后肝硬化合并胆囊结石发病率最高, 这可能与以下因素有关: (1)HBV病毒侵入肝脏组织和免疫复合物沉积, 主要包括IgG和IgM, 激活补体清除免疫复合物, 同时也是胆道黏膜上皮受损, 促使胆囊结石发生^[10]; (2)另一方面, HBV病毒感染至胆管上皮排黏液糖蛋白的量多于非乙肝患者, 提供了形成结石的蛋白构架。有国外研究^[11]表明HCV感染是肝硬化合并胆囊结石独立危险因素, 丙型肝炎后肝硬化合并胆结石这可能是因为胆管上皮及胆汁中检测出丙肝病毒, 发现HCV非结构蛋白5A(non-structural 5A)和脂滴级载脂蛋白A1有密切关系, 导致脂代谢紊乱加重, 促进胆囊结石形成, 另一方

面, HVC核心蛋白还直接作用于胆囊上皮, 至胆囊黏膜受损, 影响胆囊运动, 导致胆汁流出不畅, 加重结石形成^[12,13]。而本例中丙型肝炎肝硬化合并胆囊结石发病率低于乙型肝炎后肝硬化合并胆囊结石, 可能是由于样本量有限, 其与丙型肝炎的相关性还需进一步研究。本组资料中, 酒精性肝硬化合并胆囊结石发病率为4.76%, 明显低于乙型肝炎后肝硬化合并胆囊结石发病率, 目前关于酒精与胆囊结石之间关系尚有争议, 有学者认为胆囊结石发生于酒精摄入量与酒精浓度有一定关系, 这可能是因为酒精导致胆囊收缩功能受损, 利于结石形成^[14]。有学者认为酒精摄入量与酒精浓度相关。考虑酒精性肝硬化合并胆囊结石发病率低于乙型肝炎后肝硬化主要是因为收集例数较少, 且我国主要是以乙型肝炎后肝硬化患者居多。

有学者^[5,15]认为肝硬化合并胆囊结石发生率与肝功能有关, 且与肝功能Child-Pugh分级成正相关, 认为肝硬化失代偿期患者更容易合并胆囊结石^[1,16], 同样有学者如Conte等^[9]认为只有Child-Pugh B级及Child-Pugh C级肝硬化患者相对于Child-Pugh A级肝硬化患者有着较高的胆囊结石发生率。本研究对不同肝功能分级的患者合并胆囊结石的情况进一步进行比较, 肝硬化合并胆囊结石Child-Pugh A级11例, 发病率为10.28%, Child-Pugh B级42例, 发病率为18.34%, Child-Pugh C级52例, 发病率为33.33%, 3组之间进行比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 结果发现肝功能程度越差, 合并胆囊结石的概率越高, 这与Conte等^[9]报道类似。可能与以下因素有关: (1)肝硬化时门静脉高压, 导致胃肠道淤血水肿, 肠道黏膜保护作用减低, 肠道菌群移位, 产生 β -葡萄糖苷酸, 至结合胆红素变为不溶于水的非结合胆红素, 与钙离子结合形成胆红素钙, 加重胆囊结石形成^[17]; (2)肝硬化伴有脾功能亢进, 产生慢性溶血, 红细胞破坏增加, 使得胆红素水平增高, 排至胆汁中, 且结合胆红素载体蛋白减少及酶活性障碍, 不能酯化未结合的胆红素而导致这种非水溶性复合物沉淀而形成纯色素性结石^[18]; (3)肝功能程度越差, 白蛋白水平降低及胆红素水平升高, 胆囊壁水肿, 胆囊收缩能力降低, 胆囊充盈时间过长, 导致胆囊排空能力降低, 易合并胆囊结石发生^[19], 而胆红素水平升高, 则易形成色素性结石, 促进胆囊结石形成。

创新盘点

分析比较不同肝硬化合并胆囊结石患者在病因、肝功能分级、胆红素及血脂等方面差异, 为临床诊疗提供参考。

应用要点

本文根据分析肝硬化合并胆囊结石患者的临床资料特点, 提出了应积极控制高胆红素血症及积极调控脂代谢紊乱, 有望降低肝硬化合并胆囊结石的发病率。

在研究血脂及胆红素之间水平发现, 肝硬化合并胆囊结石组与肝硬化无合并胆囊结石组在间接胆红素、载脂蛋白A、甘油三脂、高密度脂蛋白之间具有统计学差异, 表示脂代谢异常及异常胆红素水平促进肝硬化合并胆囊结石发生, 肝硬化时脂代谢异常及间接胆红素水平升高可能促进肝硬化合并胆囊结石发生率增高的危险因素。有研究^[20,21]认为肝硬化时胆囊中胆汁中未结合胆红素水平明显增高, 胆汁酸、胆固醇浓度降低, 肝硬化时形成的胆囊结石多以胆色素性结石为主, 多为黑色结石。本例资料中, 肝硬化合并胆囊结石组直接胆红素高于无结石组, 差异具有统计学意义, 但结石组中总胆红素及间接胆红素与无结石组之间差异无统计学意义。这可能是与当肝硬化时门脉高压引起脾脏阻塞性充血、肿胀, 发生脾功能亢进导致慢性溶血, 红细胞生存时间缩短, 胆红素产生增多, 且肝硬化导致肝脏处理胆红素能力降低, 导致血中非结合胆红素增高, 促进形成胆色素性结石; 另一方面, 胆囊结石的形成与血脂水平改变有一定的关系, 在观察血脂水平时发现, 肝硬化合并胆囊结石组中甘油三酯水平明显高于无合并结石组, 但载脂蛋白A与高密度脂蛋白水平低于无胆囊结石组。这可能是与以下因素有关: HDL-C与LDL-C、TG含量之间有一定关系, 因HDL-C和LDL-C转运胆固醇的方式不同, 血浆HDL参与集体胆固醇的转运, 将机体内过多的胆固醇转运至肝脏内代谢; ApoA1是高密度脂蛋白重要组成部分, 主要在肝脏和肠内合成, 其主要功能是将体内过多的胆固醇转运回肝脏内进行降解, 并且活化卵磷脂胆固醇酰基转移酶, 从而使得胆固醇转化成胆固醇酯^[22,23]。而肝脏损伤严重程度很大程度决定了血脂及载脂蛋白水平, 患者肝硬化时, 肝细胞坏死, 至血脂及载脂蛋白减少, 导致体内胆汁酸合成减少, 胆汁中胆固醇胆盐比值增高, 胆固醇超饱和状态, 易形成胆固醇结晶; 另一方面, 肝硬化脂类代谢紊乱, 导致分泌到胆汁中的ApoA1浓度降低, 促进胆固醇结石形成。

总之, 肝硬化患者应积极控制肝病进展, 改善肝功能, 防止高胆红色血症、调节脂代谢紊乱, 有望达到降低及预防肝硬化合并胆囊结石的发生率。

4 参考文献

1 李华喜, 林华. 肝硬化合并胆囊结石的相关因素与临

- 床特点. 华西医学 2007; 22: 593-594
- 2 包明稳, 李汉英. 肝硬化合并胆囊结石多因素logistic回归分析. 亚太传统医药 2010; 6: 64-65
- 3 张舒眉, 黄春旺. 超声诊断慢性肝炎患者合并胆囊病变的意义. 实用肝脏病杂志 2011; 14: 142
- 4 黄英, 陈洪. 非酒精性脂肪性肝病与胆囊结石的相关性研究进展. 临床肝胆病杂志 2014; 30: 1217-1220
- 5 Acalovschi M. Gallstones in patients with liver cirrhosis: incidence, etiology, clinical and therapeutical aspects. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7277-7285 [PMID: 24966598 DOI: 10.3748/wjg.v20.i23.7277]
- 6 Chen JY, Hsu CT, Liu JH, Tung TH. Clinical predictors of incident gallstone disease in a Chinese population in Taipei, Taiwan. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 83 [PMID: 24775330 DOI: 10.1186/1471-230X-14-83]
- 7 Silva MA, Wong T. Gallstones in chronic liver disease. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 739-746 [PMID: 15862273]
- 8 Park JH, Kim TN, Lee SH. The prevalence and risk factors of gallstones in Korean patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 461-465 [PMID: 23635439]
- 9 Conte D, Fraquelli M, Fornari F, Lodi L, Bodini P, Buscarini L. Close relation between cirrhosis and gallstones: cross-sectional and longitudinal survey. *Arch Intern Med* 1999; 159: 49-52 [PMID: 9892330]
- 10 蒋素贞. 乙型肝炎病毒整合在原发性肝细胞癌中的作用再评价. 广州: 南方医科大学, 2012
- 11 Stroffolini T, Sagnelli E, Mele A, Cottone C, Almasio PL. HCV infection is a risk factor for gallstone disease in liver cirrhosis: an Italian epidemiological survey. *J Viral Hepat* 2007; 14: 618-623 [PMID: 17697013]
- 12 Acalovschi M, Buzas C, Radu C, Grigorescu M. Hepatitis C virus infection is a risk factor for gallstone disease: a prospective hospital-based study of patients with chronic viral C hepatitis. *J Viral Hepat* 2009; 16: 860-866 [PMID: 19486279 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01141.x]
- 13 Kohler JJ, Nettles JH, Amblard F, Hurwitz SJ, Bassit L, Stanton RA, Ehteshami M, Schinazi RF. Approaches to hepatitis C treatment and cure using NS5A inhibitors. *Infect Drug Resist* 2014; 7: 41-56 [PMID: 24623983 DOI: 10.2147/IDR.S36247]
- 14 Ugwu A, Ohagwu C, Ezeokeke U. The effect of moderate alcohol intake on gallbladder motility a milk ultrasonographic study. *Libyan J Med* 2008; 3: 136-137 [PMID: 21499455 DOI: 10.4176/080423]
- 15 韩东. 肝硬化与胆囊结石的相关性研究. 中国热带医学 2008; 8: 55-56
- 16 陈银珍. 肝硬化合并胆囊结石患者的相关因素及其临床特点探讨. 中国保健营养 2012; 8: 766-767
- 17 丁佐龙, 黄勇. 肝硬化患者合并胆囊结石临床特征分析. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 265-266
- 18 闻颖, 崔巍, 刘沛. 肝硬化患者好发胆结石的危险因素探讨. 中国全科医学 2008; 21: 1986-1987
- 19 胡明秋. 胆囊结石患者胆囊动力学变化相关研究. 天津: 天津医科大学, 2010
- 20 Debray D, Rainteau D, Barbu V, Rouahi M, El Mourabit H, Lerondel S, Rey C, Humbert L, Wendum D, Cottart CH, Dawson P, Chignard N, Housset C. Defects in gallbladder emptying and

- bile Acid homeostasis in mice with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficiencies. *Gastroenterology* 2012; 142: 1581-1591. e6 [PMID: 22370478 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.033]
- 21 刘海波, 肖丽芬. 探讨肝硬化合并胆囊结石患者的相

- 22 关因素及其临床特点. *中外医疗* 2012; 34: 64-66
- 李英, 黄华, 李未华. 血清载脂蛋白A1的含量与肝硬化的关系. *中国医药导报* 2010; 7: 40
- 23 林居辉, 蔡东贵, 鲍文婷. 血清脂类测定结果与临床分析. *现代中西医结合杂志* 2010; 34: 4468-4469

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



同行评价
在临床诊疗过程中, 应注意患者肝硬化病因、肝功能Child-Pugh分级、胆红素水平及脂代谢紊乱程度, 及时纠正, 可以对肝硬化合并胆囊结石起到一定的预防作用。

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493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、中医医学、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。

有关肝细胞癌微小RNA诊断价值的系统评价

胡琼英, 张爽, 张朝明

■背景资料

微小RNA(micro RNAs, miRNAs)调控着细胞生命活动的各个环节, 作为诊断标志物在多种疾病的研究层出不穷[包括肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)], 但研究内容和诊断价值各不相同, 基于这种现状, 本文作一系统评价以期了解miRNAs诊断HCC的真正价值。

胡琼英, 张爽, 张朝明, 成都中医药大学附属医院检验科四川省成都市 610072
胡琼英, 主管技师, 主要从事微小RNA的分子诊断研究。
作者贡献分布: 胡琼英主要负责课题设计、文献检索及论文撰写; 张爽主要负责文献检索与统计学分析; 张朝明主要负责文献质量评价与论文修改。
通讯作者: 张朝明, 教授, 610072, 四川省成都市金牛区十二桥路39号, 成都中医药大学附属医院检验科。
18981885705@163.com
电话: 028-87766347
收稿日期: 2014-12-17 修回日期: 2015-01-07
接受日期: 2015-01-12 在线出版日期: 2015-03-18

MicroRNAs as diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis

Qiong-Ying Hu, Shuang Zhang, Chao-Ming Zhang

Qiong-Ying Hu, Shuang Zhang, Chao-Ming Zhang, Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Chao-Ming Zhang, Professor, Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, 39 Shier Bridge Road, Jinniu District, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. 18981885705@163.com
Received: 2014-12-17 Revised: 2015-01-07
Accepted: 2015-01-12 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To perform a literature review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of microRNAs (miRNAs) for HCC.

METHODS: We systematically searched the Cochrane Central Register of Controlled Trials, PubMed, MEDLINE, EMBASE, the Chinese Biomedical Literature Database, the China Academic Journals Full-text Database, and the Chinese Scientific Journals Database for

potential studies till October 2014. Studies were included and excluded according to inclusion and exclusion criteria. Meta-analysis was then performed to evaluate the overall diagnostic performance of miRNAs.

RESULTS: A total of 676 studies were retrieved, of which 11 were finally included in this meta-analysis. The range of the diagnostic sensitivity of miRNAs for HCC was 72%-98%, pooled sensitivity was 85%; specificity was 76%-100%, pooled specificity was 89%; positive likelihood ratio was 3.52-97.45, pooled positive likelihood ratio was 7.20; negative likelihood ratio was 0.02-0.57, pooled negative likelihood ratio was 0.18; and diagnostic odds ratio was 13.14-2646.00, pooled diagnostic odds ratio was 51.09.

CONCLUSION: MiRNAs have a relatively high accuracy in identifying HCC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Meta-analysis; MicroRNAs; Hepatocellular carcinoma; Sensitivity; Specificity

Hu QY, Zhang S, Zhang CM. MicroRNAs as diagnostic biomarkers for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1314-1322 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1314.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1314>

摘要

目的: 近年来, 出现了很多有关微小RNA(micro RNAs, miRNAs)对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)诊断价值的研究, 结果显示不同的miRNAs对HCC的诊断价值有所不

■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室; 张偶, 主任医师, 天津肿瘤医院肝胆科, 天津医科大学肿瘤医院

同, 现将各文献的研究结果作一荟萃分析, 用以评价miRNAs对HCC的诊断价值。

方法: 系统性地检索“Cochrane图书馆”、“PubMed文献数据库”、“MEDLINE数据库”、“EMBASE数据库”、“维普中文科技期刊数据库”、“万方数据知识服务平台”、“中国生物医学文献数据库”、“中国科学期刊数据库”、“中国学术期刊全文数据库”截止2014-10以前的文献, 对相关文献进行“纳入”和“排除”, 提取符合要求文献的诊断数据, 评价其诊断效能。

结果: 共检索出676条文献, 排除后总共有11篇文献符合分析要求, 进行荟萃和异质性分析后, 其灵敏度范围为72%-98%, 合并灵敏度为85%; 特异度范围为76%-100%, 合并特异度为89%; 阳性似然比范围为3.52-97.45, 合并阳性似然比为7.20; 阴性似然比范围为0.02-0.57, 合并阴性似然比为0.18; 诊断优势比范围为13.14-2646.00, 合并诊断优势比为51.09。

结论: miRNAs对HCC有较高的诊断价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 系统评价; 微小RNA; 肝细胞癌; 灵敏度; 特异度

核心提示: 本研究通过对文献的纳入和排除, 挑选出11篇与微小RNA(microRNAs)诊断肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)诊断价值相关的文献, 先对文献质量进行评估, 再提取数据进行统计学分析, 得出其有较高诊断价值的重要结论, 不仅是一次文献的聚集、再现, 更是数据的充分展示, 可为科研和临床工作者提供较大的参考价值。

胡琼英, 张爽, 张朝明. 有关肝细胞癌微小RNA诊断价值的系统评价. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1314-1322 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1314.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1314>

0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度约为22个核苷酸的非编码RNA分子, 可以调控真核细胞的基因表达、增殖、分化、凋亡等一系列生物学行为^[1]. 通过对miRNA的功能研究, 了解其与疾病发生、发展和预后之间的关系是miRNA研究的热点. 研究^[2]表明, 约有

50%的miRNA基因位于肿瘤相关的基因位点区域, 并且不同的肿瘤类型表达不同的miRNA谱. miRNA与肿瘤关系的探讨涉及到肿瘤研究的各个领域, 包括肿瘤的发生(癌基因和抑癌基因的调控)、肿瘤的诊断和治疗等, 这些肿瘤包括肝肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[3,4]、肺癌^[5,6]、卵巢癌^[7,8]、白血病^[9,10]等. HCC是全世界最常见的死亡率较高、预后较差的恶性肿瘤之一, 转移和复发率较高与HCC发现晚错失了手术及放化疗的最佳时期密切相关, 因此, 早期发现、早期治疗成为HCC诊治策略的主要方向^[11]. HCC的常规诊断包括肝活体组织穿刺检查、影像学检查及血肿瘤标志物检查. 肝活体组织穿刺检查是HCC诊断的“金标准”, 但因其取材部位、花费和较大创伤性限制, 难以普及应用; B超、计算机断层扫描(computed tomography, CT)及磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等影像学检查手段对HCC的诊断有十分重要的价值, 但对<1 cm的癌灶及组织的癌前病变缺乏较高的灵敏度; 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是HCC实验室诊断的常用指标, 但据报道其灵敏度和特异度仅41%-65%和80%-94%, 难以早期诊断^[12,13]. 由此可见, 寻找一种早期诊断HCC的方法或标志物, 是HCC诊断研究领域的重点. 近年来, 越来越多的文献研究了不同的miRNAs诊断HCC的诊断价值, Yang等^[14]汇总了miRNA与HCC诊治之间的关系, 指出miRNA是一类创伤性小、灵敏度高的早期诊断HCC的生物标志物. Tan等^[15]筛选出8种miRNAs联合诊断HCC, 受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)下面积(area under the curve, AUC)为88%; Zhang等^[16]发现miR-143和miR-215是HCC早期诊断的循环标志物, 诊断灵敏度和特异度分别为: 73%和83%(miR-143), 80%和91%(miR-215). Qi等^[17]应用RT-PCR筛选出血清miR-122在诊断界值为0.475时, 诊断HCC的灵敏度和特异度分别为81.6%和83.3%。

基于miRNA在HCC诊断研究中的优秀表现, 我们将这些文献做一汇总分析, 以期评判miRNA诊断HCC的价值, 为HCC的分子机制、诊断及分子靶向治疗提供新的证据。

1 材料和方法

1.1 材料 检索数据库和策略: 检索“Cochrane

■ 研究前沿

本文就各发表文献的诊断数据运用Meta分析的手段分析他们的诊断价值, 并归类、整理评估各文献的质量、异质性, 从方法学设计、病例纳入等课题设计方面全面评估发表文献的质量。

相关报道

Li等在课题的方法学设计上合理、诊断数据详实,尤其是病例选择,涵盖了目的疾病的相关疾病,有说服力。

图书馆”(2005/2014-10的系统评价)、“PubMed文献数据库”、“MEDLINE数据库”(1946/2014-10)、“EMBASE数据库”、“维普中文科技期刊数据库”、“万方数据知识服务平台”、“中国生物医学文献数据库”(1978/2014-10)、“中国科学期刊数据库”(1989/2014-10)、“中国学术期刊全文数据库”(1979/2014-10)相关的文献(无语言限制),遵循的检索策略为英文: ‘microRNA’ and (‘hepatocellular carcinoma’ OR ‘HCC’ OR ‘liver cancer’ OR ‘liver’);中文: #1检测技术指标(主题词OR自由词); #2目标疾病(主题词OR自由词); #3诊断准确性指标(主题词OR自由词); #4#1 AND #2 AND #3; 中文主要检索词: 微小RNA、microRNA、miRNA、肝细胞癌、HCC、肝癌、肝等。所有的文献管理应用文献管理软件(Thomson Reuters EndNote X5)。

1.2 方法

1.2.1 纳入和排除标准: 纳入标准: 所有待纳入的文献必须有诊断价值的数据(灵敏度、特异度等),并能构建2×2表格(直接数据或间接计算); 金标准明确。

排除标准: 数据不足; 动物实验; 语言非中英文; 病例未经“金标准”确诊。

1.2.2 质量评价: 运用QUADAS质量评价表评价文献质量,如有异议,由所有评价者共同讨论或咨询原文献作者决定。表内容的评价方式是“是”、“否”和“不清楚”^[18]。

1.2.3 数据提取和分析: 提取纳入文献的原始数据,基本的资料信息包括: 第一作者名字,出版年限,研究对象,方法设计,标本例数、miRNA类型和检测方法等; 对纳入文献进行异质性评价。

统计学处理 提取2×2表格(诊断性试验的四格表)所需数据来源于验证标本例数、灵敏度和特异度; 进行基本数据提取后,将数据整合,应用诊断性试验系统评价专用软件Meta-Disc1.4软件进行数据分析和处理,得到诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR),计算及各诊断指标的综合效应,绘制汇总受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristic, SROC),用Q值描述SROC曲线接近图形左上角的程度,作为诊断试验效能综合测量的评价指标, Q值越大, 诊断试验准确

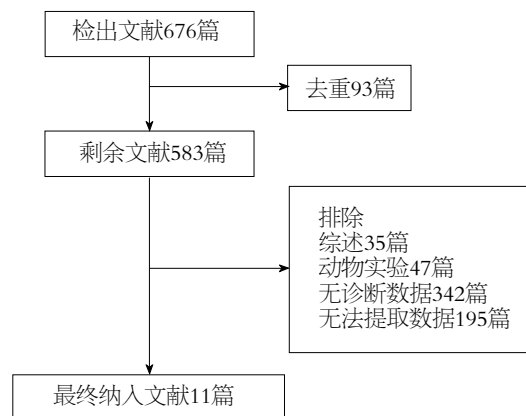


图1 文献筛选流程图。

性越好,并计算AUC。

2 结果

2.1 文献筛选及信息提取 共检索文献676篇,去重93篇,按纳入和排除标准,排除572篇,最终纳入11篇文献(图1)。对11篇待评价的文献进行基本信息、文献质量分析和基本数据提取(构建2×2表格)(表1, 2)。

2.2 Meta分析结果 对11篇应用miRNA诊断HCC的文献进行Meta分析,将从各原始文献提取的2×2表中的数据输入Meta-Disc1.4软件进行分析,得到灵敏度(sensitivity)范围为72%-98%,合并后为85%,其95%CI为0.83-0.87(图2); 特异度(specificity)范围为76%-100%,合并后为89%,其95%CI为0.87-0.91(图3); 绘制的SROC曲线, AUC为0.9477(图4); 阳性似然比(positive likelihood ratio, PLR)范围为3.52-97.45,合并后为7.20,其95%CI为5.13-10.12(图5); 阴性似然比(negative likelihood ratio, NLR)范围为0.02-0.57,合并后为0.18,其95%CI为0.13-0.25(图6); 诊断优势比范围为13.14-2646.00,合并后为51.09,其95%CI为28.36-92.03(图7)。

3 讨论

诊断性实验的系统评价主要包括文献质量评价和数据分析两方面。因此在文献检索和筛选的过程中,需要多名工作者遵循相同的检索策略、纳入和排除标准,共同商议决定。以QUADAS质量评价表为判断标准,将能够提取样本量、真阳性数(true positive, TP)、假阳性(false positive, FP)、假阴性(false negative, FN)、真阴性(true negative, TN)的纳入文献质

表 1 纳入文献的基本信息提取和文献质量分析

纳入研究	Li等 ^[19] 2010	Gul等 ^[24] 2011	Qi等 ^[17] 2011	Qu等 ^[26] 2011	Zhou等 ^[20] 2011	Li等 ^[21] 2012	Liu等 ^[25] 2012	Tomimaru等 ^[22] 2012	Shen等 ^[23] 2013	Tan等 ^[15] 2014	Zhang等 ^[16] 2014
miRNAs	microRNA组合 ¹	miR-885-5p	miR-122	miR-16	microRNA组合 ²	miR-18a	miR-15b和 miR-130b	miR-21	miR-483-5p	microRNA组合 ³	miR-143和 miR-215
相关疾病	HBV相关性HCC	HCC	HCC(HBV阳性)	HCC	HBV相关性HCC	HBV相关性HCC	HCC	HCC	HCC	HCC	HCC
样本种类	血清	血清	血清	血清	血清	血清	血清	血清	血清	血清	血清
检测方法	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR
年龄(岁)	53.43±9.10 ^b	54.2(平均)	24-55	55(平均)	53±12 ^b	54(25-82)	<60和≥60	63±10 ^b	61.1±11.7	52.01±10.21	54.21±6.95
*条目1	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目2	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目3	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目4	不清楚	是	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	是	是	是	是	是
*条目5	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目6	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目7	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目8	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目9	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目10	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目11	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目12	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目13	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是
*条目11	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚

¹Items chosen to rate from QUADAS checklist in Table 1; ²均值±标准差; miRNA组合¹: miR-23b, miR-423, miR-375, miR-23a, miR-342-3p, miR-25 and let-7f; miRNA组合²: miR-122, miR-192, miR-21, miR-223, miR-26a, miR-27a and miR-801; miRNA组合³: hsa-miR-206, hsa-miR-141-3p, hsa-miR-433-3p, hsa-miR-1228-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-122-5p, hsa-miR-192-5p and hsa-miR-26a-5p. qRT-PCR: 实时荧光定量PCR.

量进行逐一评价, 进而初步判断诊断性实验研究在方法学设计上的优劣. 本次评价的11篇文献, 均能以病理诊断为金标准, 短时期内将待测实验的结果与之比较, 在

创新亮点

本文与一般综述不一样, 涵盖二次分析; 在系统评价领域中并不止局限于对数据的统计学处理, 更在文献质量和方法学设计上着手, 让读者全面了解待评估的文献.

应用要点

miRNAs在诊断标志物中的应用一直处于一种研究阶段, 还没有像甲胎蛋白等生物标志物一样进入临床应用, 本文作一系统评价, 意在使其诊断价值更加明确, 为临床诊断及分子靶向治疗提供一定的依据。

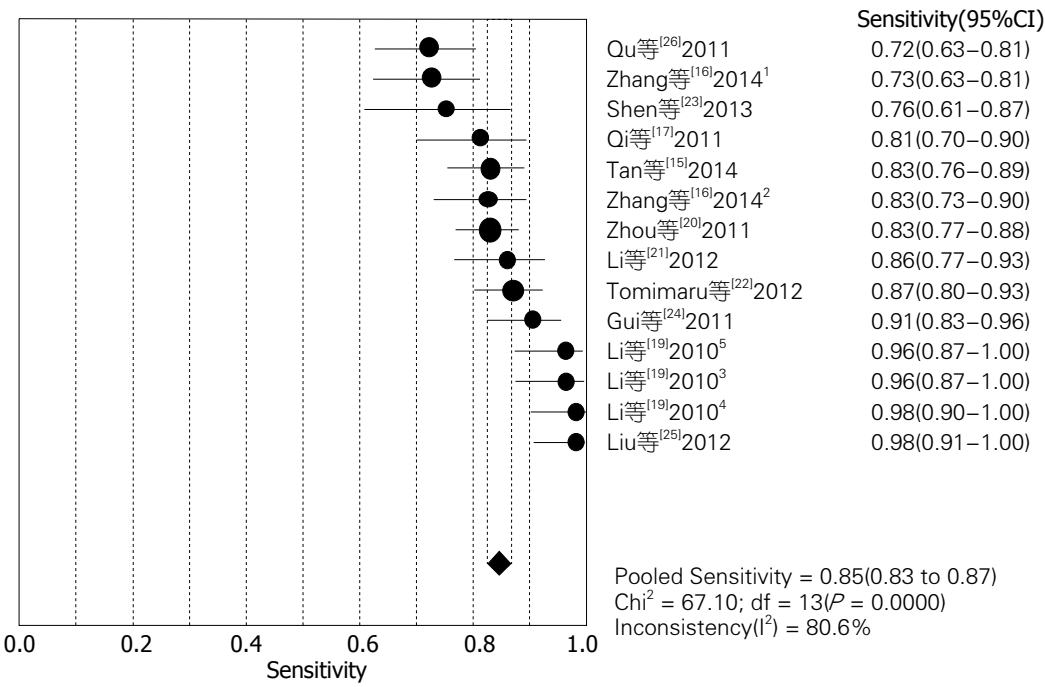


图 2 微小RNA诊断肝细胞癌的灵敏度分析. ¹miR-143; ²miR-215; ³miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ⁴miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ⁵miR-375.

表 2 纳入文献提取2 × 2表

文献	n	真阳性数(n)	假阳性数(n)	假阴性数(n)	真阴性数(n)	灵敏度(%)	特异度(%)
Li等 ^[19] 2010 ¹	513	53	1	2	49	97	99
Li等 ^[19] 2010 ²	513	54	1	1	49	98	99
Li等 ^[19] 2010 ³	513	53	0	2	50	96	100
Gui等 ^[24] 2011	151	86	12	9	44	91	79
Qi等 ^[17] 2011	152	57	6	13	28	82	83
Qu等 ^[26] 2011	283	76	12	29	95	72	89
Zhou等 ^[20] 2011	934	163	4	33	62	83	94
Li等 ^[21] 2012	191	74	11	12	34	86	75
Liu等 ^[25] 2012	212	56	5	1	54	98	92
Tomimaru等 ^[22] 2012	216	110	4	16	46	87	92
Shen等 ^[23] 2013	138	37	5	12	44	76	90
Zhang等 ^[16] 2014 ⁴	340	69	21	26	104	73	83
Zhang等 ^[16] 2014 ⁵	340	76	11	16	114	80	91
Tan等 ^[15] 2014	658	108	10	22	50	83	83

¹miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ²miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ³miR-375; ⁴miR-143; ⁵miR-215.

相同的检测技术情况下(RT-PCR), 筛选出合格的miRNA标志物(训练组), 再以诊断明确的目标疾病(金标准)或健康对照者的标本对这些标志物进行诊断效能的验证, 从整体设计和技术而言, 是满足诊断性实验的基本要求的. 但在这个过程中有两个方面易产生异质性, 一是疾病谱的构成; 另一个是标本类型的选择. 因为

实验目的不同, 可能疾病谱的构成有差异, Li等^[19]、Zhou等^[20]、Li等^[21]、Qi等^[17]所采用的疾病标本均是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关的HCC标本, 而其余文献均没有阐明HCC的相关性; Zhou等^[20]、Tomimaru等^[22]和Shen等^[23]采用的是血浆标本, 而剩余9篇文献皆采用的是血清标本, 以上两点对miRNA的筛

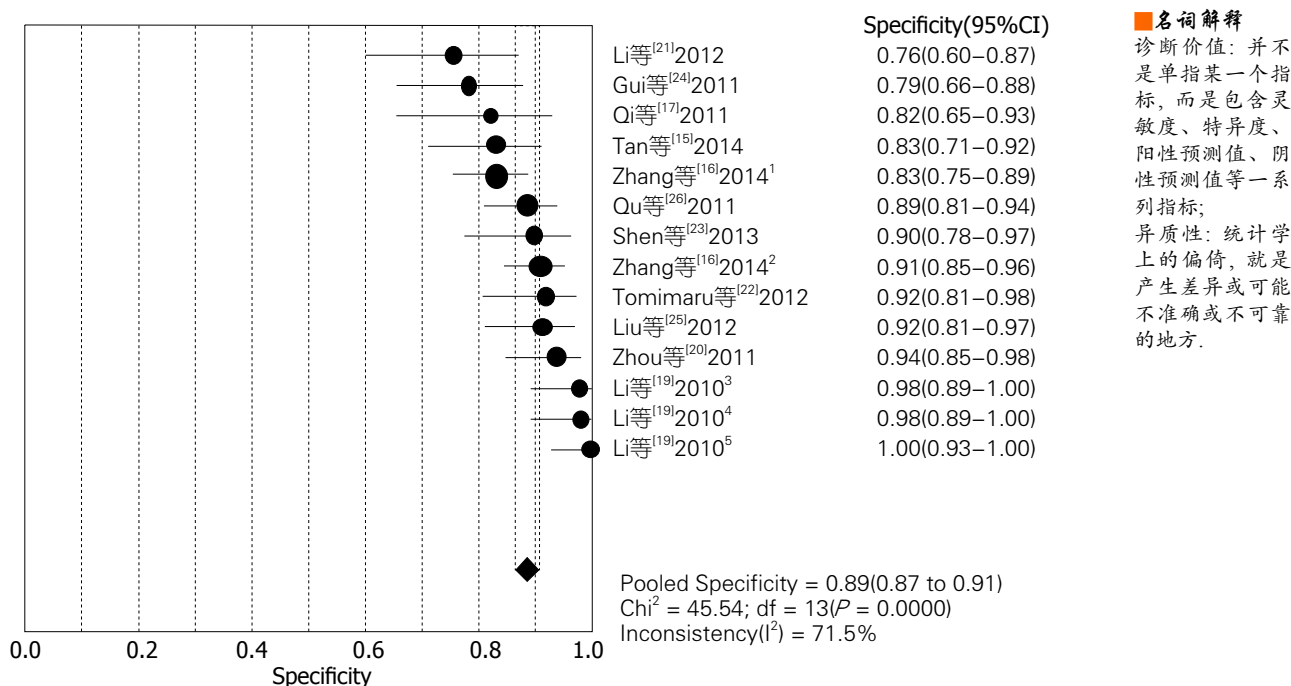


图3 微小RNA诊断肝细胞癌的特异性分析。¹miR-143; ²miR-215; ³miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ⁴miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ⁵miR-375。

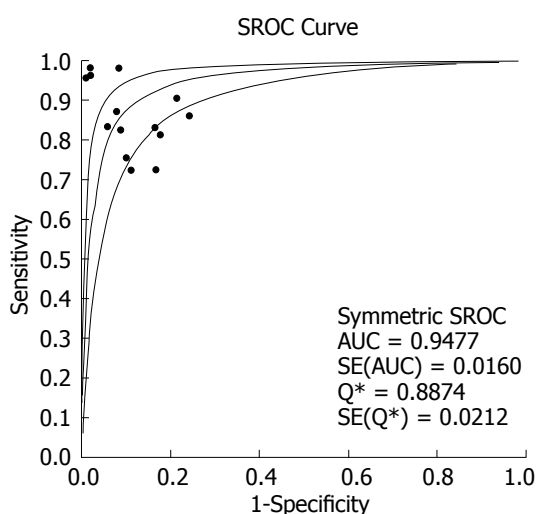


图4 微小RNA诊断肝细胞癌的综合受试者工作曲线及曲线下面积分析。

选可能存在一定影响,这在Meta分析中是异质性的来源。

基于疾病谱组成和样本类型的不同,miRNA的类型也有所不同。具体体现在单个RNA的诊断和多个RNA组合联合诊断的效能表现。以单个RNA为例,Gui等^[24](miR-885-5p)、Liu等^[25](miR-122)、Qu等^[26](miR-16)、Qi等^[17](miR-122)、Li等^[21](miR-18a)、Tomimaru等^[22](miR-21)、Shen等^[23](miR-483-5p)和Zhang等^[16](miR-143和miR-215)均不相同、诊断界值

(cut-off值)也不相同,这对后面系统评价时的数据分析有很大的影响,所以我们在数据处理时,主要以各诊断效能的范围呈现为主,合并效应只是作为参考。已知同一个疾病,可能表达多种不同的miRNAs,相同的miRNA也会出现在不同的疾病种类中。如miR-21,在Tomimaru等^[22]的文献中,他作为HCC的诊断标志物,灵敏度和特异度分别达87%和92%,是一个相对较理想的标志物。另有多篇文献报道miR-21可作为肺癌、结肠癌等癌症诊断标志物,Shen等^[23]miR-21诊断各种癌症的文献做了一篇系统评价,通过对4684例癌症患者及3108例健康对照的比较,得到miR-21诊断癌症的综合灵敏度和特异度分别为78%和83%。可见,虽然miRNA的表达病变特异,但在不同疾病中的表达有高低之分,作为诊断标志物,在追求较高灵敏度的同时更需考虑特异度的问题,从实际研究来看,多种miRNA联合甚至联合其他的生物标志物优于单纯靠某一种标志物作为诊断手段。

对纳入文献进行文献治疗评估后,提取数据进行Meta分析,得到灵敏度范围为72%–98%,特异度范围为76%–100%,绘制的SROC曲线,曲线下面积为0.9477;阳性似然比范围为3.52–97.45,合并后为7.20,其95%CI为5.13–10.12;阴性似然比范围为0.02–0.57,合并

■ 同行评价

本文在HCC的早期诊断评价中有较高的价值, 本文从文献筛选、评估、纳入、排除等各个环节均提供了较为充足且有意义信息, 具有一定的创新性。

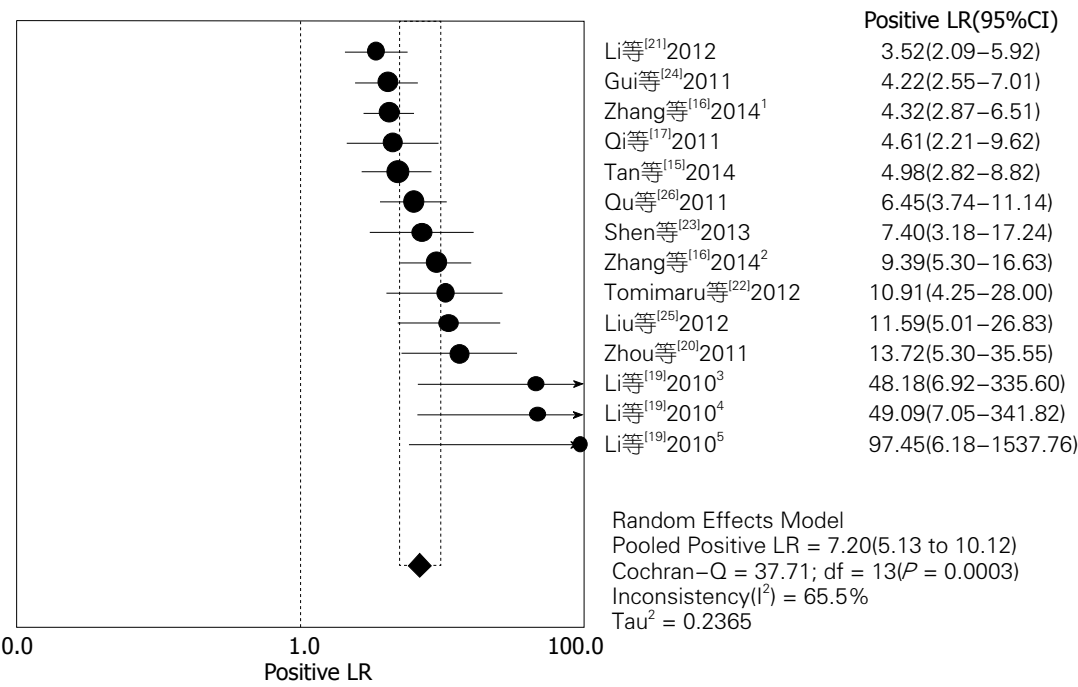


图 5 微小RNA诊断肝细胞癌的阳性预测值分析. ¹miR-143; ²miR-215; ³miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ⁴miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ⁵miR-375.

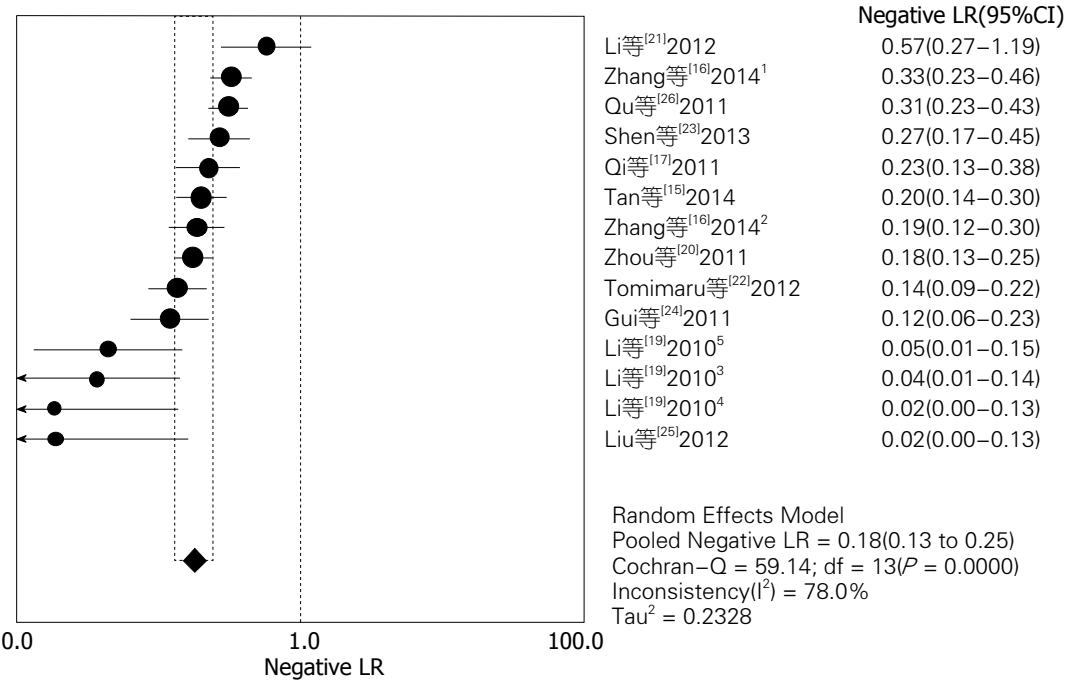


图 6 微小RNA诊断肝细胞癌的阴性预测值分析. ¹miR-143; ²miR-215; ³miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ⁴miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ⁵miR-375.

后为0.18, 其95%CI为0.13-0.25; 诊断优势比范围为13.14-2646.00, 合并后为51.09, 其95%CI为28.36-92.03. SROC曲线中用Q值描述SROC曲线接近图形左上角的程度, 作为诊断试验效能综合测量的评价的又一指标, Q值越大, 诊断试验准确性越好^[27]. 本研究分析结果显示曲线

下面积为0.9477, Q值为0.8874, 综合其他诊断效能的结果判断, miRNA是诊断HCC较好的生物标志物.

4 参考文献

1 Imamura K, Akimitsu N. Long Non-Coding

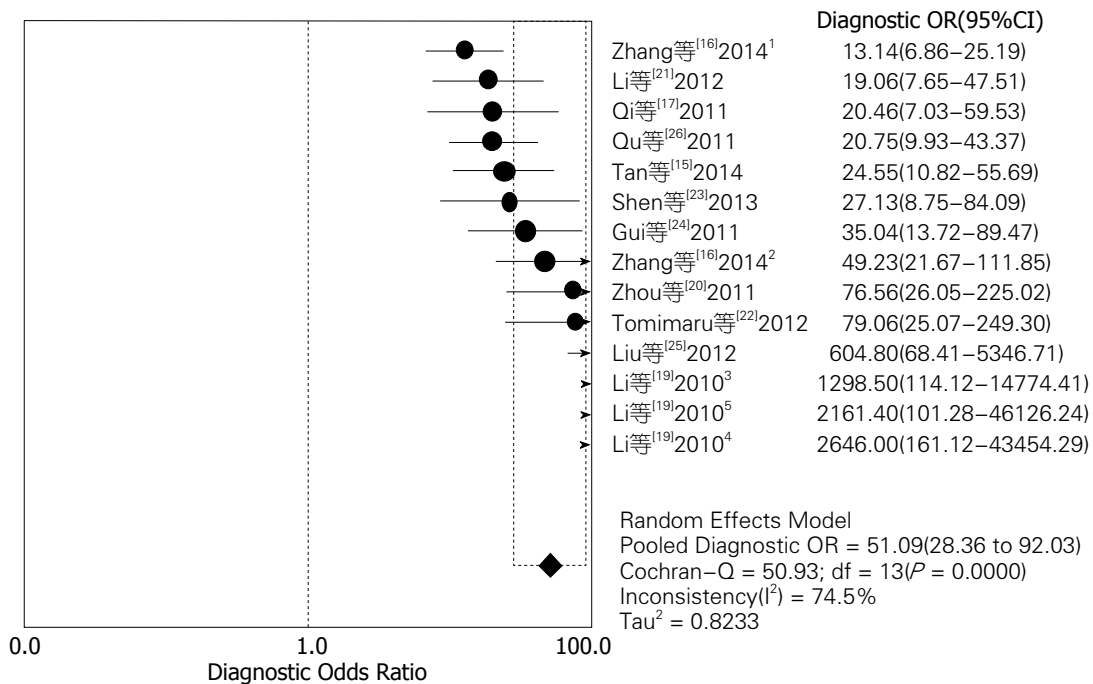


图 7 微小RNA诊断肝细胞癌的诊断优势比分析. ¹miR-143; ²miR-215; ³miRNA组合: miR-23b、miR-423、miR-375、miR-23a、miR-342-3p; ⁴miRNA组合: miR-375、miR-25、et-7f; ⁵miR-375.

- 1 RNAs Involved in Immune Responses. *Front Immunol* 2014; 5: 573 [PMID: 25431574 DOI: 10.3389/fimmu.2014.00573]
- 2 Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in Cancer. *Annu Rev Med* 2009; 60: 167-179 [PMID: 19630570 DOI: 10.1146/annurev.med.59.053006.104707]
- 3 Korhan P, Erdal E, Atabey N. MiR-181a-5p is downregulated in hepatocellular carcinoma and suppresses motility, invasion and branching-morphogenesis by directly targeting c-Met. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 450: 1304-1312 [PMID: 25058462 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.06.142]
- 4 Ni F, Zhao H, Cui H, Wu Z, Chen L, Hu Z, Guo C, Liu Y, Chen Z, Wang X, Chen D, Wei H, Wang S. MicroRNA-362-5p promotes tumor growth and metastasis by targeting CYLD in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 2015; 356: 809-818 [PMID: 25449782 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.10.041]
- 5 Usó M, Jantus-Lewintre E, Sirera R, Bremnes RM, Camps C. miRNA detection methods and clinical implications in lung cancer. *Future Oncol* 2014; 10: 2279-2292 [PMID: 25471039 DOI: 10.2217/fon.14.93]
- 6 Sozzi G, Boeri M, Rossi M, Verri C, Suatoni P, Bravi F, Roz L, Conte D, Grassi M, Sverzellati N, Marchiano A, Negri E, La Vecchia C, Pastorino U. Clinical utility of a plasma-based miRNA signature classifier within computed tomography lung cancer screening: a correlative MILD trial study. *J Clin Oncol* 2014; 32: 768-773 [PMID: 24419137 DOI: 10.1200/JCO.2013.50.4357]
- 7 Langhe R, Norris L, Saadeh FA, Blackshields G, Varley R, Harrison A, Gleeson N, Spillane C, Martin C, O'Donnell DM, D'Arcy T, O'Leary J, O'Toole S. A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant ovarian disease. *Cancer Lett* 2015; 356: 628-636 [PMID: 25451316 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.10.010]
- 8 Wang L, Zhu MJ, Ren AM, Wu HF, Han WM, Tan RY, Tu RQ. A ten-microRNA signature identified from a genome-wide microRNA expression profiling in human epithelial ovarian cancer. *PLoS One* 2014; 9: e96472 [PMID: 24816756 DOI: 10.1371/journal.pone.0096472]
- 9 Ruan J, Liu X, Xiong X, Zhang C, Li J, Zheng H, Huang C, Shi Q, Weng Y. miR-107 promotes the erythroid differentiation of leukemia cells via the downregulation of Ccna2d1. *Mol Med Rep* 2015; 11: 1334-1339 [PMID: 25373460 DOI: 10.3892/mmr.2014.2865]
- 10 Kaymaz BT, Cetintas VB, Aktan C, Kosova B. MicroRNA-520a-5p displays a therapeutic effect upon chronic myelogenous leukemia cells by targeting STAT3 and enhances the anticarcinogenic role of capsaicin. *Tumour Biol* 2014; 35: 8733-8742 [PMID: 24870597 DOI: 10.1007/s13277-014-2138-z]
- 11 Schlageter M, Terracciano LM, D'Angelo S, Sorrentino P. Histopathology of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 15955-15964 [PMID: 25473149 DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.15955]
- 12 Colli A, Fraquelli M, Casazza G, Massironi S, Colucci A, Conte D, Duca P. Accuracy of ultrasonography, spiral CT, magnetic resonance, and alpha-fetoprotein in diagnosing hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 513-523 [PMID: 16542288 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00467.x]
- 13 Marrero JA. Screening tests for hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 235-251, vi [PMID: 15831271 DOI: 10.1016/j.cld.2004.12.006]
- 14 Yang N, Ekanem NR, Sakyi CA, Ray SD. Hepatocellular carcinoma and microRNA: new perspectives on therapeutics and diagnostics. *Adv*

- Drug Deliv Rev* 2015; 81: 62-74 [PMID: 25450260 DOI: 10.1016/j.addr.2014.10.029]
- 15 Tan Y, Ge G, Pan T, Wen D, Chen L, Yu X, Zhou X, Gan J. A serum microRNA panel as potential biomarkers for hepatocellular carcinoma related with hepatitis B virus. *PLoS One* 2014; 9: e107986 [PMID: 25238238 DOI: 10.1371/journal.pone.0107986]
- 16 Zhang ZQ, Meng H, Wang N, Liang LN, Liu LN, Lu SM, Luan Y. Serum microRNA 143 and microRNA 215 as potential biomarkers for the diagnosis of chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Diagn Pathol* 2014; 9: 135 [PMID: 24993656 DOI: 10.1186/1746-1596-9-135]
- 17 Qi P, Cheng SQ, Wang H, Li N, Chen YF, Gao CF. Serum microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2011; 6: e28486 [PMID: 22174818 DOI: 10.1371/journal.pone.0028486]
- 18 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]
- 19 Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 9798-9807 [PMID: 21098710 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1001]
- 20 Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- 21 Li L, Guo Z, Wang J, Mao Y, Gao Q. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2910-2916 [PMID: 22865399 DOI: 10.1007/s10620-012-2317-y]
- 22 Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Tomokuni A, Takemasa I, Umeshita K, Kanto T, Doki Y, Mori M. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 167-175 [PMID: 21749846 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.026]
- 23 Shen J, Wang A, Wang Q, Gurvich I, Siegel AB, Remotti H, Santella RM. Exploration of genome-wide circulating microRNA in hepatocellular carcinoma: MiR-483-5p as a potential biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22: 2364-2373 [PMID: 24127413 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0237]
- 24 Gui J, Tian Y, Wen X, Zhang W, Zhang P, Gao J, Run W, Tian L, Jia X, Gao Y. Serum microRNA characterization identifies miR-885-5p as a potential marker for detecting liver pathologies. *Clin Sci (Lond)* 2011; 120: 183-193 [PMID: 20815808 DOI: 10.1042/CS20100297]
- 25 Liu AM, Yao TJ, Wang W, Wong KF, Lee NP, Fan ST, Poon RT, Gao C, Luk JM. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *BMJ Open* 2012; 2: e000825 [PMID: 22403344 DOI: 10.1136/bmjopen-2012-000825]
- 26 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 27 Jones CM, Athanasiou T. Summary receiver operating characteristic curve analysis techniques in the evaluation of diagnostic tests. *Ann Thorac Surg* 2005; 79: 16-20 [PMID: 15620907 DOI: 10.1016/j.athoracsurg.2004.09.040]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



不同肝功能Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响

孙 伟, 李忱瑞

孙伟, 李忱瑞, 中国医学科学院, 北京协和医学院肿瘤医院介入病房 北京市 100021

孙伟, 主治医师, 主要从事介入放射学的研究。

作者贡献分布: 此文主要由孙伟完成; 研究过程由孙伟与李忱瑞操作完成; 试剂提供与数据分析由孙伟与李忱瑞完成。

通讯作者: 李忱瑞, 主任医师, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院, 北京协和医学院肿瘤医院介入病房, lcr0009@163.com

电话: 010-87788502

收稿日期: 2015-01-17 修回日期: 2015-01-29

接受日期: 2015-01-30 在线出版日期: 2015-03-18

Effect of liver function Child-Pugh grade on prognosis in huge hepatocellular carcinoma after TACE therapy

Wei Sun, Chen-Rui Li

Wei Sun, Chen-Rui Li, Department of Interventional Ward, Cancer Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

Correspondence to: Chen-Rui Li, Chief Physician, Department of Interventional Ward, Cancer Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, 17 Panjiayuan South Lane, Chaoyang District, Beijing 100021, China. lcr0009@163.com

Received: 2015-01-17 Revised: 2015-01-29

Accepted: 2015-01-30 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To assess the impact of different liver function Child-Pugh classifications on prognosis in massive unicellular carcinoma after transcatheter arterial channelization (TACE) therapy.

METHODS: The clinical data for 108 massive hepatocellular carcinoma patients who underwent TACE therapy from January 2011 to

January 2013 at Beijing Union Medical College Hospital for Cancer were retrospectively analyzed. The patients were divided into two groups based on preoperative Child-Pugh classification: A ($n = 90$) and B ($n = 18$). All patients were followed for a period of 18 months, and survival was analyzed.

RESULTS: Postoperative survival rates at 3, 6, 12, and 18 mo for the Child-Pugh A group patients were 87.77%, 68.88%, 22.22%, and 13.33%, respectively, significantly higher than those for the Child-Pugh B group (72.22%, 44.44%, 16.66%, and 5.55%; $P < 0.05$). The average survival time of the 108 patients was $6.51 \text{ mo} \pm 0.82 \text{ mo}$, and median survival was 7.45 mo. The average survival time of patients in the Child-Pugh A group was $7.74 \text{ mo} \pm 0.85 \text{ mo}$, and median survival was 8.06 mo. The average survival time of patients in the Child-Pugh B group was $4.57 \text{ mo} \pm 1.78 \text{ mo}$, and median survival was 5.74 mo. Both average survival time and median survival were significantly longer in the Child-Pugh A group than in the Child-Pugh B group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Patients with Child-Pugh A liver function can more greatly benefit from TACE therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Child-Pugh classification; Massive hepatocellular carcinoma; TACE

Sun W, Li CR. Effect of liver function Child-Pugh grade on prognosis in huge hepatocellular carcinoma

■背景资料

经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemotherapeutic embolization, TACE)是临床中治疗巨块型肝癌的常见手术,在临床中也具有较高的应用价值,但是不同Child-Pugh分级对其治疗预后的影响成为医师们关注的重点。

■同行评议者

禄韶英, 副教授, 硕士生导师, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

研究前沿

本研究中对不同Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响进行探究, 就不同Child-Pugh分级患者的预后进行分析, 了解其对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响。

after TACE therapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(8): 1323-1327 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1323.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1323>

摘要

目的: 探究不同肝功能Child-Pugh分级对巨块型肝癌经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗预后的影响。

方法: 回顾性分析2011-01/2013-01北京协和医学院肿瘤医院接受的经TACE治疗的巨块型肝癌患者的临床资料。术前将108例患者根据Child-Pugh分级分为Child-Pugh A组和Child-Pugh B组, Child-Pugh A组有90例, Child-Pugh B组有18例。对两组患者进行为期18 mo的随访, 并对两组患者进行相关性生存分析。

结果: 术后3、6、12、18 mo Child-Pugh A组患者的生存率分别为87.77%、68.88%、22.22%、13.33%, Child-Pugh B组的生存率分别为72.22%、44.44%、16.66%、5.55%。比较两组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。108例患者的平均生存期为6.51 mo \pm 0.82 mo, 中位生存期为7.45 mo。Child-Pugh A组患者的平均生存期为7.74 mo \pm 0.85 mo, 中位生存期为8.06 mo, Child-Pugh B组患者的平均生存期为4.57 mo \pm 1.78 mo, 中位生存期为5.74 mo。比较Child-Pugh A组与Child-Pugh B组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: Child-Pugh A级患者较Child-Pugh B级患者更能够从TACE治疗中获益。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝功能Child-Pugh分级; 巨块型肝癌; 经导管肝动脉化疗栓塞

核心提示: 临床中Child-Pugh A级患者较Child-Pugh B级患者更能够从经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗中获益, 对TACE治疗的耐受能力较强, 生存期较长。

孙伟, 李忱瑞. 不同肝功能Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1323-1327 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1323.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1323>

0 引言

原发性肝癌是常见的消化系恶性肿瘤, 发病率约为恶性肿瘤中第5位。其中巨块型肝癌具有较高的恶性程度, 且预后情况不良, 平均生存期约为6 mo^[1]。临床多采用手术切除进行治疗, 但是手术切除治疗的术后复发率较高, 目前经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)被认为是治疗巨块型肝癌最有效的方法之一。但是TACE会造成患者不同程度的肝功能损害, 患者术前的肝功能储备情况对于TACE治疗后患者病情的恢复也具有重要意义^[2]。因此本文回顾性分析2011-01/2013-01北京协和医学院肿瘤医院接受的经TACE治疗的巨块型肝癌患者的临床资料, 对不同肝功能Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响进行了探究。现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2011-01/2013-01北京协和医学院肿瘤医院接受的经TACE治疗的巨块型肝癌患者的临床资料。其中男72例, 女36例。年龄为42-68岁, 平均年龄为50.4岁 \pm 5.8岁。根据Child-Pugh评分系统对肝脏功能进行分级, A级患者90例占83.33%, B级患者18例占16.67%。Child-Pugh A组与Child-Pugh B组间一般资料差异不具有统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。两组患者的一般资料如表1。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)全部病例经CT或MR检查发现肝内病灶, 通过穿刺活检或临床和实验室诊断为肝癌; (2)无肺转移及其他肝外转移; (3)治疗前检查无介入手术禁忌证; (4)患者过去未做过TACE治疗; (5)肝功能Child-Pugh分级为A级或B级, 无腹水、出血、肿瘤数目不超过3个; (6)全部完成所需治疗后复查, 初次治疗后18 mo随访结束。

1.2.2 排除标准: (1)不符合上述纳入标准者; (2)肝功能Child-Pugh C级、门静脉主干癌栓患者; (3)合并多种急慢性疾病或免疫系统疾病者。

1.2.3 手术: 采用seldinger技术、经股动脉插管了解患者的肿瘤部位、肿瘤大小、供血情况。了解患者基本情况后推注化疗药物和碘油。化疗药物主要为阿霉素、表阿霉素、奥沙利铂等, 部分还加用氟尿嘧啶, 之后再注入超液化

相关报道

临床中对于TACE治疗巨块型肝癌的临床治疗效果已经有较多的报道。而本研究重点对不同Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响进行分析。

表 1 两组患者术前一般资料

分组	年龄(岁)	性别(n)		肿瘤最大直径 (cm)	AFP(ng/mL)	乙型肝炎(n)	
		男	女			阳性	阴性
Child-Pugh A组	62.1 ± 9.1	62	28	13.74 ± 2.55	513.28 ± 424.71	59	31
Child-Pugh B组	58.7 ± 9.8	10	8	13.32 ± 2.36	674.31 ± 485.91	16	2
χ^2/t 值	1.602	2.964		1.819	1.741	2.184	
P值	0.087	0.063		0.067	0.078	0.074	

AFP: 甲胎蛋白.

创新盘点

TACE治疗巨块型肝癌的预后一直以来是临床医师关注的重点, 本研究中重点阐述不同Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响, 以期找到能够从TACE治疗中获益最多的Child-Pugh分级患者.

表 2 两组患者的术后随访生存率 n(%)

分组	n	3 mo	6 mo	12 mo	18 mo
Child-Pugh A组	90	79(87.77)	62(68.88)	20(22.22)	12(13.33)
Child-Pugh B组	18	13(72.22)	8(44.44)	3(16.66)	1(5.55)
χ^2 值		5.946			
P值		0.021			

表 3 两组患者的生存期 (mo)

分组	n	平均生存期	中位生存期
Child-Pugh A+Child-Pugh B组	108	6.51 ± 0.82	7.45
Child-Pugh A组	90	7.74 ± 0.85	8.06
Child-Pugh B组	18	4.57 ± 1.78	5.74
t值		2.281	2.419
P值		0.029	0.018

碘油, 具体用量必须根据患者供血情况、肿瘤大小、肝功能情况、患者体表面积确定, 必要时可以加用明胶海绵颗粒或KMG微球栓塞. 若患者术前诊断为肝硬化较重或肝功能较差, 应当只进行栓塞治疗.

1.2.4 术后随访: 所有患者均经TACE治疗, 治疗后均进行定期随访. 4-6 wk的患者进行肝功能复查、CT增强扫描、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查. 根据患者的MRI或CT上肿瘤的残存和复发情况、患者AFP变化情况、肝功能的储备情况, 决定是否对患者进行再次TACE治疗. 随访到患者死亡或末次随访日期为止.

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mean ± SD表示, 采用独立样本t检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者的术后随访生存率 研究结果显示, 术后3、6、12、18 mo Child-Pugh A组患者的生存率分别为87.77%、68.88%、22.22%、13.33%, Child-Pugh B组的生存率分别为72.22%、44.44%、16.66%、5.55%. 比较两组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.2 两组患者的生存期 研究结果显示, 108例患者的平均生存期为6.51 mo ± 0.82 mo, 中位生存期为7.45 mo. Child-Pugh A组患者的平均生存期为7.74 mo ± 0.85 mo, 中位生存期为8.06 mo, Child-Pugh B组患者的平均生存期为4.57 mo ± 1.78 mo, 中位生存期为5.74 mo. 比较Child-Pugh A组与Child-Pugh B组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表3).

3 讨论

巨块型肝癌的早期症状较隐匿, 大多数的肝癌患者在就诊时就已经是中晚期. 目前治疗巨块

应用要点

本研究是从临床角度出发, 进一步说明不同Child-Pugh分级对巨块型肝癌TACE治疗预后的影响, 对以后该病的治疗具有较大的指导意义.

名词解释

Seldinger术: 一种血管穿刺技术, 一般可以分为经典Seldinger术和Seldinger术改良法。目前临床多采用Seldinger术改良法, 笔统称称为Seldinger术, 具体方法为: 使用不带针芯的穿刺针直接经皮穿刺血管, 当穿刺针穿破血管前壁进入血管内时, 就会见到血液从针尾喷出, 此时引入导丝导管即可。

型肝癌的主要手段是以手术为主的综合治疗^[3]。但慢性肝病的背景、多数合并血管的侵犯和肝内散播等特点导致其手术切除难度大、手术切除率低且手术危险性高^[4]。临床上常用TACE术治疗中晚期巨块型肝癌患者, 他是通过将导管有选择性的置于肿瘤的供血血管中^[5], 然后注入化疗药物后使用碘油对肝癌靶血管进行栓塞阻断, 从而促使肝癌细胞坏死, 达到抑制肿瘤生长的目的^[6]。而Child-Pugh分级是一种评价肝功能的重要方法, 他能够将患者的血清胆红素、凝血酶原时间、有无腹水、白蛋白含量、肝性脑病分级等的基础上对患者的肝功能进行综合评价的方式, 分为A、B、C 3级, C级则说明患者肝功能较差, 不能进行TACE手术治疗^[7,8]。

TACE是不能进行手术治疗的肝癌患者的首选治疗方法, 但是化疗药物随着肿瘤的血供而进入瘤体, 不可避免的使化疗药物进入正常肝组织, 对肝细胞造成化学损伤^[9]。同时, TACE对肿瘤血管进行栓塞, 但不能精确的进行栓塞时会造成其周围的正常小血管栓塞, 引起肝功能缺血性损伤, 因而肝功能异常是影响患者经TACE治疗后预后的重要因素^[10,11]。且Child-Pugh分级能够从侧面了解患者的肝功能代偿能力, Child-Pugh分级评分越高, 说明肝功能代偿能力越差, 也就具有较高的手术风险^[12]。本文研究结果显示, 术后3、6、12、18 mo Child-Pugh A组患者的生存率分别为87.77%、68.88%、22.22%、13.33%, Child-Pugh B组的生存率分别为72.22%、44.44%、16.66%、5.55%。比较两组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。Child-Pugh A组患者的生存情况显著优于Child-Pugh B组患者。108例患者的平均生存期为 $6.51\text{ mo}\pm0.82\text{ mo}$, 中位生存期为7.45 mo。Child-Pugh A组患者的平均生存期为 $7.74\text{ mo}\pm0.85\text{ mo}$, 中位生存期为8.06 mo, Child-Pugh B组患者的平均生存期为 $4.57\text{ mo}\pm1.78\text{ mo}$, 中位生存期为5.74 mo。比较Child-Pugh A组与Child-Pugh B组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。Child-Pugh A组患者的平均生存期和中位生存期均显著优于Child-Pugh B组患者。这说明Child-Pugh A级的患者较Child-Pugh B级患者更能够接受多次的TACE治疗, 术后不良反应相对较少, 且疗效较好, 生存期更长^[13]。其次, 随访中对患

者的AFP进行检测, 能够了解患者汇总了的状态, 其次有研究^[14]显示Child-Pugh A级患者术后的AFP较Child-Pugh B级患者的AFP显著下降, 这说明使用TACE治疗能够更好的控制肿瘤, 且疗效较好。对于Child-Pugh分级越低的患者来说, 其肝功能储备越好, 对TACE治疗的耐受能力越强, 因而更能够从TACE中获益, 生存期也较长^[15]。

总之, Child-Pugh A级患者较Child-Pugh B级患者更能够从TACE治疗中获益。

参考文献

- Liu H, Hemminki K, Sundquist J, Holleccek B, Katalinic A, Emrich K, Brenner H. Second primary cancers after cancer of unknown primary in Sweden and Germany: efficacy of the modern work-up. *Eur J Cancer Prev* 2013; 22: 210-214 [PMID: 22960777 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3283592c62]
- 张成佳, 何仕诚, 滕皋军, 万文, 郭金和, 邓刚, 朱光宇, 李国昭. TACE治疗原发性肝癌对肝功能影响的相关因素分析. *东南大学学报(医学版)* 2013; 32: 18-22
- Giunchi F, Vasuri F, Baldin P, Rosini F, Corti B, D'Errico-Grigioni A. Primary liver sarcomatous carcinoma: report of two cases and review of the literature. *Pathol Res Pract* 2013; 209: 249-254 [PMID: 23484778 DOI: 10.1016/j.prp.2013.01.005]
- 李征, 米登海, 杨克虎, 曹农, 田金徽, 马彬. 介入化疗栓塞术联合热疗治疗原发性肝癌的Meta分析. *中国循证医学杂志* 2012; 12: 672-678
- 狄纪君, 郭卫东, 张惠洁, 李海利. TACE联合热疗治疗原发性肝癌的临床观察. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 42-46
- 赵广生, 张跃伟, 刘影, 刘松, 孟冉冉, 周军, 唐顺雄, 李闯. 新型明胶海绵微粒TACE治疗原发性肝癌术后致肝脓肿三例及文献复习. *介入放射学杂志* 2013; 22: 415-417
- 陈欣, 刘怀平, 刘树业. 肝癌肝硬化患者生化、凝血指标与Child-Pugh分级之间的相关性. *中国老年学杂志* 2013; 33: 4974-4976
- 崔红元, 李照, 朱继业. 外科肝癌患者营养状况与肝功能分级和临床结局的相关性分析. *中华临床营养杂志* 2014; 22: 82-86
- 尹治清, 李佳睿, 张文雷, 王大伟. 可吸收性明胶海绵颗粒在TACE治疗巨块型肝癌中的应用价值. *中国老年学杂志* 2013; 33: 301-304
- 丁以银, 吕维富, 周春泽, 鲁东, 唐文静. 术后预防性肝动脉化疗栓塞对肝癌患者生存的影响及预后相关因素分析. *介入放射学杂志* 2014; 23: 299-302
- 熊斌, 阙雪峰, 郑传胜, 冯敢生, 叶天和, 李浩. 肝癌TACE术中医源性肝动脉夹层的临床分析. *介入放射学杂志* 2013; 22: 198-201
- 叶迎宾, 郭卫刚, 柴广丽, 章健, 田楠楠, 王晓芳, 黄秀香, 李友生. 肝硬化合并肝癌血氨水平、层粘连蛋白、IV型胶原变化与Child-Pugh分级间的相互关系. *国际检验医学杂志* 2013; 34: 2394-2395, 2397
- 朱迎, 董健, 王万里, 王博, 吕毅. 终末期肝病模型评分对评价肝癌患者肝切除围手术期风险的价值. *中华肝胆外科杂志* 2014; 20: 165-169

14 龚显恩, 刘娟. 肝硬化合并肝癌患者血清甲胎蛋白、胆碱酯酶、总胆汁酸水平与Child-Pugh分级间的相互关系. 检验医学 2012; 27: 79-80

15 刘纪营, 金洁, 管生, 马南, 李明省, 胡小波, 陈振, 刘朝, 王子博. 肝功能状态对晚期肝癌介入治疗生存期的影响. 介入放射学杂志 2013; 22: 247-250

■同行评价
本研究设计合理, 结果科学, 有一定的临床价值.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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》修回稿须知

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

1 修回稿件件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

超声造影与增强CT对肝脏转移瘤血供情况价值的对比

任卫平, 俞明华, 徐萍

■背景资料

在治疗前评估肝转移瘤的血供情况对于患者的肝脏转移瘤(liver metastases, LM)外科治疗、血管介入治疗及预后具有重要意义, 增强计算机断层扫描(contrast-enhanced computed tomography, CECT)是高分辨率和高时间分辨率的CT, 是研究肝脏血流的有效方法, 但因其是非连续的、非动态的扫描, 尚不能记录到注入造影剂后病灶的连续变化情况, 亦不能区别LM的肝动脉、门静脉血供的有无及多少。近年来, 随着增强超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)技术的发展, 临床上CEUS逐渐被应用于评价LM血供情况。然而作为一种评价LM血供的新兴技术, 其在临床应用过程中的价值及缺陷研究甚少。

■同行评议者

程树群, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗六科

任卫平, 俞明华, 徐萍, 宁波市鄞州三院超声科 浙江省宁波市 315191

任卫平, 主治医师, 主要从事腹部超声的研究。

作者贡献分布: 课题的设计、数据分析、论文写作由任卫平完成; 俞明华提供试剂; 研究过程由徐萍完成。

通讯作者: 任卫平, 主治医师, 315191, 宁波市鄞州区人民南路18号, 宁波市鄞州三院超声科, 260817687@qq.com

电话: 0574-88098993

收稿日期: 2014-12-17 修回日期: 2015-01-08

接受日期: 2015-01-15 在线出版日期: 2015-03-18

Contrast-enhanced ultrasonography vs contrast-enhanced computed tomography for assessing blood supply of liver metastases

Wei-Ping Ren, Ming-Hua Yu, Ping Xu

Wei-Ping Ren, Ming-Hua Yu, Ping Xu, Department of Ultrasound, Yinzhou Third Hospital, Ningbo 315191, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Wei-Ping Ren, Attending Physician, Department of Ultrasound, Yinzhou Third Hospital, 18 Renmin South Road, Ningbo 315191, Zhejiang Province, China. 260817687@qq.com

Received: 2014-12-17 Revised: 2015-01-08

Accepted: 2015-01-15 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To compare the value of contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) vs contrast-enhanced computed tomography (CECT) in assessing the blood supply of liver metastases (LM).

METHODS: Fifty-five patients with LM (70 nodules) who underwent both CEUS and CECT were included. The degree of enhancement in arterial phase, the appearance of vasa vasorum

and the classification of the blood supply around the nodule were compared between CEUS and CECT.

RESULTS: The degree of enhancement in arterial phase was more significant for CEUS than for CECT (1: 59% vs 5%; 0: 41% vs 62%; -1: 0% vs 33%) ($P < 0.05$). The appearance of vasa vasorum around the nodule was significantly more frequent for CEUS than for CECT (54% vs 34%, $\chi^2 = 5.674$, $P = 0.017$). The rate of abundant blood supply was 70% for CEUS, significantly higher than that for CECT (30%; $\chi^2 = 19.330$, $P = 0.000$).

CONCLUSION: CEUS is better than CECT in evaluation of blood supply of LM.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasonography; Liver metastases; Contrast-enhanced computed tomography

Ren WP, Yu MH, Xu P. Contrast-enhanced ultrasonography vs contrast-enhanced computed tomography for assessing blood supply of liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1328-1332 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1328.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1328>

摘要

目的: 以增强计算机断层扫描(contrast-enhanced computed tomography, CECT)作对比探讨超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)在评价肝脏转移瘤(liver metastases, LM)血供方面的价值。

方法: 研究宁波市鄞州三院55例LM患者(70个病灶)同时采用CECT和CEUS检查, 对比分析二者分别在扫描动脉期强化程度的分级、病灶周边滋养血管的出现和病灶血供程度的分类的差异。

结果: CEUS在对扫描动脉期强化程度上较CECT更为敏感(1级: 59% vs 5%; 0级: 41% vs 62%; -1级: 0% vs 33%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。CEUS动脉期病灶周边滋养血管54%, 而CECT为34%, 差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.674, P = 0.017$)。CEUS对动脉期病灶血供程度的分类显示富血供LM所占比率为70%, 而CECT为33%, 差异具有统计学意义($\chi^2 = 19.330, P = 0.000$)。

结论: CEUS在评价LM血供方面优于CECT, 具有一定的临床应用价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声造影; 肝脏转移瘤; 增强CT

核心提示: 超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)能够实时地反映出病灶不同时期血供的变化特点, 以在临床上评价肝脏转移瘤(liver metastases, LM)血供情况。相比增强计算机断层扫描(contrast-enhanced computed tomography, CECT), 对滋养血管的有无、血供的强弱程度的鉴别率更高。本文章研究结果显示, CEUS对LM动脉期强化程度分级、滋养血管的有无、血供程度的分类方面与CECT比较, 做了详细的研究, 结果显示均有显著的提高。与之前研究相符合, CECT在判断血供方面具有优越性。

任卫平, 俞明华, 徐萍. 超声造影与增强CT对肝脏转移瘤血供情况价值的对比. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1328-1332
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1328.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1328>

0 引言

肝脏是恶性肿瘤血源性转移最常见的器官之一, 研究^[1-3]表明, 肺癌、乳腺癌、消化系统癌等器官可作为肝脏转移的原发灶, 约有30%-50%可以通过血液转移至肝脏, 其病理学特征及血供表现因原发灶的不同而不同。肝转移瘤(liver metastases, LM)的血供情况对于治疗效果具有重要的影响, 因此在治疗前评估LM的血供情况对于患者的LM外科治疗、

血管内介入治疗及预后具有重要意义^[4,5]。目前, 对于LM的血供的评估主要有以下几种方法: 增强CT扫描(contrast-enhanced computed tomography, CECT)、数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、增强超声造影(contrast-enhanced ultrasonography, CEUS)等^[2,6,7]。尽管上述方法能够在一定程度上有效地判断LM的血供, 但仍然存在缺陷。CECT扫描是高密度分辨率和高时间分辨率的CT, 是研究肝脏血流的有效方法, 但因其是非连续的、非动态的扫描, 尚不能记录到注入造影剂后病灶的连续变化情况, 亦不能区别LM的肝动脉、门静脉血供的有无及多少^[1,8]。DSA是介入治疗中研究肿瘤血供的常用方法, 但DSA因其有创性且为间接造影, 对动脉血供分析较容易, 但因其密度分辨率较低而不能清晰的提供LM门静脉血供情况^[9,10]。MRI能在较短时间内对肝脏进行多次扫描, 亦是LM血供研究的有效方法之一, 但因其不是动态性扫描不能记录病灶的连续变化情况^[11]。近年来, 随着CEUS技术的发展, 临床上CEUS逐渐被应用于评价LM血供情况。然而作为一种评价LM血供的新兴技术, 其在临床应用过程中的价值及缺陷研究甚少。因此本研究回顾LM患者分别应用CEUS和CECT技术观察LM血供情况, 并经对比分析CEUS在评价LM血供情况上的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2010-01/2014-01在宁波市鄞州三院接受CEUS检查的LM患者, 其中同时接受CECT检查的LM患者55例(男26例, 女29例), 共发现70个病灶。在55例LM患者中原发灶来自于肺癌20例, 乳腺癌12例, 胰腺癌5例, 直肠癌4例, 其他器官恶性肿瘤14例。所有入选的LM患者中男26例, 女29例, 年龄27-78岁, 平均58.3岁±4.7岁, 平均身高167.4 cm±9.3 cm, 平均体质量5.6 kg±6.7 kg, 平均病灶直径3.4 cm±0.4 cm。所用彩色超声诊断仪型号为西门子Sequoia-512, 凸阵探头; 所用CT扫描机为飞利浦Brilliance16排螺旋CT扫描机。

1.2 方法 用5 mL生理盐水将造影剂SonoVue溶解, 启用CEUS全面检查肝脏, 寻找造影目标, 观察结节大小、位置, 记录其形态、边界及血

■ 研究前沿

随着CEUS技术的发展, 临床上CEUS逐渐被应用于评价LM血供情况。然而作为一种评价LM血供的新兴技术, 其在临床应用过程中的价值及缺陷研究甚少。

■ 相关报道

研究表明, CEUS显示乏血供肝转移瘤动脉期血供情况优于CT增强扫描; 对于CT增强扫描怀疑为乏血供肝转移瘤患者, 尤其是单发转移瘤, CEUS检查对临床诊断和治疗有很大帮助。

应用要点

本文的研究提示了CEUS在临床应用中可以较为准确的诊断LM的血供, 可以应用于临床实践中。

供情况。

对肝脏进行扫描, 发现结节后再行增强扫描。静脉注射造影剂碘海醇(80-100 mL)25 s后, 行第一期扫描(动脉扫描), 60 s行第二期扫描(门脉扫描), 150 s行第三期扫描(平衡器扫描)并记录各期资料。

根据卫生部发布的《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》^[12]进行强化程度分级: 根据CEUS和CECT扫描动脉期肝脏病灶的强化类型, 将病灶强化程度分级, 1级: 病灶整体均匀强化; 0级: 病灶整体不均匀强化或者边缘强化; -1级: 点状强化或者无强化^[13]。

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 计量资料以mean±SD表示, 组间数据比较用t检验, 计数资料组间比较应用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CECT与CEUS扫描动脉期强化程度分级比较 CECT扫描动脉期, 强化程度为1级的有4个病灶(5%), 0级的有43个病灶(62%), -1级的有23个病灶(33%); CEUS扫描动脉期强化结果显示, 强化程度为1级的有41个病灶(59%), 0级的有29个病灶(41%), -1级的有0个病灶(0%)。组间分别进行 χ^2 检验比较差异性, 统计结果显示CECT和CEUS在1级与0级、1级与-1级、0级与-1级组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 29.774, 52.777, 13.334; P = 0.000, 0.000, 0.000$)。

2.2 滋养血管的出现 采用CECT方法检出滋养血管的病灶有24例(34%), 而CEUS方法检查出滋养血管的病灶有38例(54%), 二者比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 血供丰富程度的分类 CECT和CEUS动脉期病灶血供程度的分类结果所示, CECT方法检查出富血供肿瘤23例(33%), 乏血供肿瘤47例(67%), 而CEUS方法检查出富血供肿瘤49例(70%), 乏血供肿瘤21例(30%)。二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 19.330, P<0.05$)。

3 讨论

肝脏是最常见的恶性肿瘤转移部位之一, 在西方国家转移性肝癌远的发生率远高于原发性肝癌, 是原发性肝癌的20倍^[9,14]。目前, 临床上对于LM的治疗方法有多种, 包括单纯肝动脉途径和肝动脉、门静脉双重途径来进行介入治疗^[15]。而LM的血供来源对于选择正确的介

入治疗方式和制定合理的治疗方案上具有重要意义。目前临床上对于LM血供的检查方法如前言所述, 有CECT、DSA、MRI和CEUS等, CECT、DSA和MRI在一定程度上是检查LM血供的有效方法, 但都存在其缺陷性。随着超声技术的发展与应用, CEUS作为一种评价病灶微循环和组织血流的新技术, 能够实时地反映出病灶不同时期血供的变化特点^[16,17]。但其在临床应用过程中的效果及缺陷研究甚少, 因此本研究以CECT技术作对比, 探讨CEUS技术在评价LM血供方面的临床应用价值。

本研究结果显示, 在55例LM患者70个病灶中, CECT扫描动脉期47个病灶(67%)出现不同程度的强化(包括1级4个病灶和0级43个病灶), 23个病灶(33%)未出现强化。而CEUS扫描动脉期均出现强化, 其中1级41个病灶(59%), 0级29个病灶(41%)。CECT和CEUS在扫描动脉期出现强化程度不同级别上, 分别具有统计学差异($P<0.05$)。差异产生的原因可能为: (1)CEUS是实时观察病灶内部变化情况, 对整个增强期间进行连续评估, 而CECT则是在间断的不同时间点进行, 因此很可能捕捉不到; (2)CEUS和CECT造影剂不同: CEUS造影剂性质稳定, 仅存在于血管内而不会渗漏到血管外, 而CECT所用的对比剂可渗透到周围组织, 直至渗透达到平衡后, 病灶才开始出现强化^[18,19]。基于以上两点分析, 我们认为CEUS在分析动脉期强化程度方面敏感度高于CECT。

对于LM血供的研究结果显示, CECT对于动脉期病灶周边滋养血管的检出率为34%, 而CEUS的检出率为54%, 二者相比具有统计学差异($P<0.05$)。CECT检出富血供LM所占比率为33%, 乏血供LM比率为67%, 而CEUS检出富血供LM所占比率为70%, 乏血供LM比率为30%, 二者相比差异具有统计学意义($P<0.05$)。此差异产生的原因与对动脉期扫描出现强化程度的不同类似, 可能是由于: (1)CEUS为实时动态扫描, 并且具有较高的清晰度, 而CECT则是在造影剂注入一定时间后再进行扫描, 病灶的瞬间增强很可能被错过; (2)CECT所用的造影剂会渗透到组织间隙, 但由于动脉期造影剂瞬间高灌注的特性, 当肿瘤达到高增强时造影剂还尚未渗透到组织间隙, 因此CECT尚不能捕捉到组织间隙的造影剂所反馈的信息^[20,21]。因此我们认为, CEUS在检查LM血供方面要优

于CECT. 以往研究显示, 大多数LM为乏血供肿瘤, 而我们采用CEUS新技术表明LM中富血供肿瘤所占比例比乏血供肿瘤要高. 正确的判断肿瘤的富血供具有重要意义, 因为富血供肿瘤预后较差, 早期发现富血供肿瘤以便及时采取治疗措施; 另外, 正确的判断富血供以便采取相应的介入治疗, 从而延缓病程的进展^[22].

尽管CEUS具有上述优点, 但其仍然存在一定的缺陷. 首先CEUS一次注药只能观察一个病灶或者与其相邻的2、3个病灶的强化; 其次CEUS对于位置较深的、小的病灶强化程度观察尚不准确^[23].

总之, CEUS方法在检查LM的血供方面效果优于CECT方法, 具有一定的临床应用价值, 鉴于CEUS所存在的缺陷, 我们建议临床上应该针对患者的实际情况而正确选择CEUS应用于临床检查. 由于本实验例数较少, 仍需要进一步扩大样本量进行更深入的研究来验证本研究结果.

4 参考文献

- Cantisani V, Grazhdani H, Fioravanti C, Rosignuolo M, Calliada F, Messineo D, Bernieri MG, Redler A, Catalano C, D'Ambrosio F. Liver metastases: Contrast-enhanced ultrasound compared with computed tomography and magnetic resonance. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9998-10007 [PMID: 25110428 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9998]
- Ruan L, Wang S, Zhang J, Ai H, Zhao Q, Yang J, Wei W. Doppler perfusion index and contrast-enhanced ultrasound in patients with colorectal cancer liver metastases. *Hepatogastroenterology* 2014; 61: 37-41 [PMID: 24895790]
- Seitz K, Strobel D, Bernatik T, Blank W, Friedrich-Rust M, Herbay Av, Dietrich CF, Strunk H, Kratzer W, Schuler A. Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) for the characterization of focal liver lesions - prospective comparison in clinical practice: CEUS vs. CT (DEGUM multicenter trial). Parts of this manuscript were presented at the Ultrasound Dreiländertreffen 2008, Davos. *Ultraschall Med* 2009; 30: 383-389 [PMID: 19688670 DOI: 10.1055/s-0028-1109673]
- Massironi S, Conte D, Sciola V, Pirola L, Paggi S, Fraquelli M, Ciafardini C, Spampatti MP, Peracchi M. Contrast-enhanced ultrasonography in evaluating hepatic metastases from neuroendocrine tumours. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 635-641 [PMID: 20172770 DOI: 10.1016/j.dld.2010.01.009]
- Rafaelsen SR, Jakobsen A. Contrast-enhanced ultrasound vs multidetector-computed tomography for detecting liver metastases in colorectal cancer: a prospective, blinded, patient-by-patient analysis. *Colorectal Dis* 2011; 13: 420-425 [PMID: 20412096 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2010.02288.x]
- Arita J, Ono Y, Takahashi M, Inoue Y, Takahashi Y, Saiura A. Usefulness of contrast-enhanced intraoperative ultrasound in identifying disappearing liver metastases from colorectal carcinoma after chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2014; 21 Suppl 3: S390-S397 [PMID: 24570378 DOI: 10.1245/s10434-014-3576-y]
- Tana C, Iannetti G, D'Alessandro P, Tana M, Mezzetti A, Schiavone C. Pitfalls of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the diagnosis of splenic sarcoidosis. *J Ultrasound* 2013; 16: 75-80 [PMID: 24294346 DOI: 10.1007/s40477-013-0013-1]
- Trenker C, Kunsch S, Michl P, Wissniowski TT, Goerg K, Goerg C. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in hepatic lymphoma: retrospective evaluation in 38 cases. *Ultraschall Med* 2014; 35: 142-148 [PMID: 23888426 DOI: 10.1055/s-0033-1350179]
- Wu J, Yang W, Yin S, Wu J, Wu W, Yan K, Chen M. Role of contrast-enhanced ultrasonography in percutaneous radiofrequency ablation of liver metastases and efficacy evaluation. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 143-154 [PMID: 23592894 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2013.01.02]
- Cabassa P, Bipat S, Longaretti L, Morone M, Maroldi R. Liver metastases: Sulphur hexafluoride-enhanced ultrasonography for lesion detection: a systematic review. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1561-1567 [PMID: 20800958 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.06.004]
- Andreano A, Meneghel E, Bovo G, Ippolito D, Salvioni A, Filice C, Sironi S, Meloni MF. Contrast-enhanced ultrasound in planning thermal ablation of liver metastases: Should the hypervascular halo be included in the ablation volume?. *J Ultrasound* 2010; 13: 158-163 [PMID: 23397004 DOI: 10.1016/j.jus.2010.10.009]
- 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
- 姬军军, 王兴华, 康卫华. 乏血供肝转移瘤超声造影与CT增强扫描的对比研究. 中国中西医结合影像学杂志 2012; 10: 120-122
- Jung EM, Ross CJ, Rennert J, Scherer MN, Farkas S, von Breitenbuch P, Schnitzbauer AA, Piso P, Lamby P, Menzel C, Schreyer AG, Feuerbach S, Schlitt HJ, Loss M. Characterization of microvascularization of liver tumor lesions with high resolution linear ultrasound and contrast enhanced ultrasound (CEUS) during surgery: First results. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010; 46: 89-99 [PMID: 21135485 DOI: 10.3233/CH-2010-1336]
- Guibal A, Lefort T, Chardon L, Benslama N, Mulé S, Pilleul F, Lombard-Bohas C, Bridal L, Chayvialle JA, Lucidarme O, Denys A, Walter T. Contrast-enhanced ultrasound after devascularisation of neuroendocrine liver metastases: functional and morphological evaluation. *Eur Radiol* 2013; 23: 805-815 [PMID: 23001579 DOI: 10.1007/s00330-012-2646-4]
- Wege AK, Schardt K, Schaefer S, Kroemer A, Brockhoff G, Jung EM. High resolution ultrasound including elastography and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for early detection and characterization of liver lesions in the humanized tumor mouse model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012; 52: 93-106 [PMID: 22975935 DOI: 10.3233/CH-2012-1587]

■名词解释

滋养血管: 指的是滋养某组织的主要血管, 虽然有动脉血管具有运输营养、滋养组织的功能, 但是不是所有的组织都通过大动脉供养, 而是通过动脉的若干分支供养, 动脉可以分为大动脉、中动脉、小动脉和微动脉等等, 各自承担了不同的责任, 某些动脉集中起来主要供养某一组织, 那么就是该组织的滋养血管.

■ 同行评价

本研究选题尚可, 内容真实, 有较好的学术价值.

- 17 Lefort T, Pilleul F, Mulé S, Bridal SL, Frouin F, Lombard-Bohas C, Walter T, Lucidarme O, Guibal A. Correlation and agreement between contrast-enhanced ultrasonography and perfusion computed tomography for assessment of liver metastases from endocrine tumors: normalization enhances correlation. *Ultrasound Med Biol* 2012; 38: 953-961 [PMID: 22475696 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.02.002]
- 18 Norlén O, Nilsson A, Krause J, Stålberg P, Hellman P, Sundin A. 11C-5-hydroxytryptophan positron emission tomography after radiofrequency ablation of neuroendocrine tumor liver metastases. *Nucl Med Biol* 2012; 39: 883-890 [PMID: 22381780 DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2011.12.013]
- 19 Salvatore V, Borghi A, Piscaglia F. Contrast-enhanced ultrasound for liver imaging: recent advances. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 2236-2252 [PMID: 22352777]
- 20 郑艳玲, 殷晓煜, 徐辉雄, 谢晓燕, 徐作峰, 刘广健, 吕明德. 超声造影评价肝脏转移瘤血供的价值: 与增强CT的对比研究. *中国超声医学杂志* 2011; 27: 543-545
- 21 De Toni EN, Gallmeier E, Auernhammer CJ, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound for surveillance of choroidal carcinoma patients: features of liver metastasis arising several years after treatment of the primary tumor. *Case Rep Oncol* 2011; 4: 336-342 [PMID: 21769292 DOI: 10.1159/000329453]
- 22 Correias JM, Low G, Needleman L, Robbin ML, Cosgrove D, Sidhu PS, Harvey CJ, Albrecht T, Jakobsen JA, Brabrand K, Jenett M, Bates J, Claudon M, Leen E. Contrast enhanced ultrasound in the detection of liver metastases: a prospective multi-centre dose testing study using a perfluorobutane microbubble contrast agent (NC100100). *Eur Radiol* 2011; 21: 1739-1746 [PMID: 21479856 DOI: 10.1007/s00330-011-2114-6]
- 23 Dănilă M, Popescu A, Sirli R, Sporea I, Martie A, Sendroiu M. Contrast enhanced ultrasound (CEUS) in the evaluation of liver metastases. *Med Ultrason* 2010; 12: 233-237 [PMID: 21203602]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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.

地佐辛对ERCP术患者镇痛、镇静效果及安全性

朱 茵, 覃 华, 李德民, 王 波, 张志成, 赵 秋

朱茵, 覃华, 李德民, 王波, 张志成, 赵秋, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
朱茵, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由赵秋、覃华及朱茵设计; 研究过程由朱茵、覃华、王波、李德民及张志成操作完成; 文献检索、数据分析由朱茵与覃华完成; 本论文写作由朱茵与覃华完成。

通讯作者: 覃华, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。
drqinhua@163.com

电话: 027-83663334

收稿日期: 2014-12-13 修回日期: 2015-01-12

接受日期: 2015-01-15 在线出版日期: 2015-03-18

Analgesic, sedative effects and safety of dezocine in patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Han Zhu, Hua Qin, De-Min Li, Bo Wang, Zhi-Cheng Zhang, Qiu Zhao

Han Zhu, Hua Qin, De-Min Li, Bo Wang, Zhi-Cheng Zhang, Qiu Zhao, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Hua Qin, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. drqinhua@163.com

Received: 2014-12-13 Revised: 2015-01-12

Accepted: 2015-01-15 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To evaluate the analgesic, sedative effects and safety of intramuscular dezocine in patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: From July 2013 to June 2014, 140

patients undergoing ERCP at our hospital were randomly divided into either a dezocine group ($n = 70$) or a demerol group ($n = 70$). Patients of the dezocine group were injected with 5 mg dezocine intramuscularly 30 min before ERCP, while the demerol group was given demerol 50 mg intramuscularly. The scores of visual analogue scale (VAS) intraoperatively or 30 min, 1, 2, 3, and 6 h postoperatively, Bruggmann comfort scale (BCS) and Ramsay sedation score (RSS) at 30 min, 1, 2, and 3 h postoperatively were analyzed. The incidences of adverse reactions such as abdominal pain, abdominal distention, nausea, vomiting, headache, dizziness, and respiratory depression were recorded. We then evaluated the safety of dezocine and its analgesic and sedative effects in patients undergoing ERCP.

RESULTS: Both groups of patients successfully completed ERCP. Intraoperative VAS score in the dezocine group was significantly lower than that in the demerol group ($P < 0.05$). BCS scores in the dezocine group were significantly higher than those in demerol group at 30 min, 2 and 3 h postoperatively ($P < 0.05$). There was no significant difference in RSS score between the two groups ($P > 0.05$). Administering either 5 mg dezocine or 50 mg demerol 30 min preoperatively had similar analgesic and sedative effects. The incidences of postoperative abdominal pain, abdominal distention, nausea and vomiting in the dezocine group were significantly lower than those in the demerol group ($P < 0.05$). No serious adverse reactions such as headache, dizziness or respiratory depression occurred in either group. The incidence of abdominal distention in the dezocine group was

背景资料

经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是一项微创的诊疗技术,但在ERCP术中患者仍会出现疼痛等不适感。目前我们提倡无痛苦内镜的开展,所以如何安全有效地使用镇痛镇静药物以减轻患者痛苦是临床医师较为关注的问题。

同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

■ 研发前沿

目前关于ERCP术前常用镇痛、镇静药的使用方法及安全性分析有很多临床研究, 其中有的选择单独用药也有联合用药, 如何选择镇静镇痛药物、控制药物剂量及作用时间, 避免不良反应发生是我们亟待解决的问题。

significantly lower than that in the demerol group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Dezocine is safe and effective for analgesia and sedation in the procedure of ERCP, and it is superior to demerol clinically.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Dezocine; Demerol; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Zhu H, Qin H, Li DM, Wang B, Zhang ZC, Zhao Q. Analgesic, sedative effects and safety of dezocine in patients undergoing endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1333-1337 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1333>

摘要

目的: 评价地佐辛对经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术患者的镇痛、镇静效果和安全性。

方法: 将华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科2013-07/2014-06行ERCP术的140例患者随机分为地佐辛组($n = 70$)及杜冷丁组($n = 70$)。ERCP术前30 min, 地佐辛组患者给予地佐辛5 mg肌肉注射; 杜冷丁组患者给予杜冷丁50 mg肌肉注射。分析患者ERCP术中及术后30 min、1、2、3、6 h的疼痛视觉模拟评分(visual analogue scales, VAS评分)、舒适度评分(Bruggermann comfort scale, BCS评分)以及给药后30 min、1、2、3 h的镇静评分(Ramsay评分), 同时观察两组患者腹痛、腹胀、恶心呕吐、头痛头晕、呼吸抑制等不良反应发生率, 评价地佐辛对ERCP术患者的镇痛、镇静效果及其安全性。

结果: 两组患者均顺利完成ERCP检查及治疗, ERCP术中地佐辛组患者VAS评分明显低于杜冷丁组($P < 0.05$); ERCP术后地佐辛组患者BCS评分均高于杜冷丁组(术后30 min、2 h及3 h两组间BCS评分差异均有统计学意义, $P < 0.05$); ERCP术前30 min肌肉注射地佐辛5 mg及杜冷丁50 mg后患者均能安静合作, 两组间Ramsay评分无统计学差异($P > 0.05$)。地佐辛组ERCP术后腹痛、腹胀、恶心呕吐等不良反应发生率均低于杜冷丁组, 两组患者均无头痛头晕、呼吸抑制等严重不良反应, 地佐辛组患者腹胀发生率明显

低于杜冷丁组($P < 0.05$)。

结论: 地佐辛可安全有效地应用于ERCP术患者的镇痛、镇静治疗, 其临床疗效优于杜冷丁。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 地佐辛; 杜冷丁; 内镜逆行胰胆管造影术

核心提示: 地佐辛是一种较新的镇痛药物。我们认为地佐辛可安全有效地应用于经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography)术患者的镇痛、镇静治疗, 其临床疗效优于杜冷丁, 且不良反应发生率低, 患者舒适度高, 满意率高, 值得临床广泛应用。

朱茵, 覃华, 李德民, 王波, 张志成, 赵秋. 地佐辛对ERCP术患者镇痛、镇静效果及安全性. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1333-1337 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1333>

0 引言

经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是诊断胰胆管疾病的金标准, 随着ERCP技术的不断发展, ERCP现已成为胆胰疾病首选的微创治疗措施。虽然ERCP是一项微创的诊疗技术, 但在ERCP检查及治疗术中患者仍会出现腹痛等不适感。随着无痛苦内镜的开展, 部分大型消化内镜中心已经开始进行无痛苦ERCP检查及治疗。由于开展无痛苦ERCP需准备专用的麻醉机, 术中需要麻醉师进行监护, 在基层医院难以普遍推广。地佐辛是一种较新的镇痛药物, 可有效缓解患者疼痛不适, 与其他阿片类药物相比, 它具有起效快、不良反应少等优势。本研究旨在明确地佐辛对ERCP术患者的镇痛、镇静效果及其安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科自2013-07/2014-06行ERCP术患者中140例患者进入本研究, 其中男85例, 女55例, 年龄19-94岁(平均年龄57岁)。患者排除标准: 肾功能不全、肝功能(Child分级)Ⅱ级以上、心功能Ⅲ级及以上、凝血功能异常者、妊娠及哺乳期者、术前有休克表现者、对阿片类

■ 相关报道

国内外较多相关文献报道了地佐辛在各种外科手术操作中的镇静镇痛效果的评估, 也有一部分文献肯定了地佐辛在内镜诊疗中的镇痛作用, 很多医疗机构正在不断探索地佐辛安全使用的剂量与方法, 同时探索他与其他药物联用的方案。

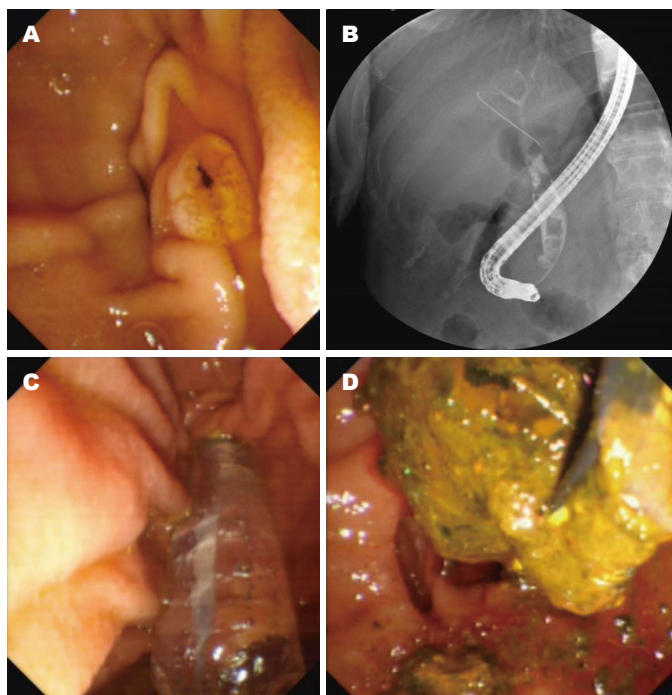


图1 胆总管多发性结石ERCP治疗. A: 十二指肠乳头开口; B: 胆管造影检查: 胆总管内见多发性充盈缺损影; C: 经内镜行十二指肠乳头球囊扩张术; D: 经内镜以取石网篮分次将结石取出. ERCP: 经内镜逆行胰胆管造影.

■创新盘点

随着无痛苦内镜诊疗技术的发展, 镇静镇痛药物在内镜诊疗中的使用越来越普遍, 地佐辛作为一种较新镇痛药物在ERCP术患者中应用较少, 本文系统地评价了地佐辛在ERCP术中应用的价值, 具有一定的临床指导意义.

药物过敏者、酒精成瘾者、意识行为能力部分或完全受限, 无自主决定能力者(不能正确理解镇痛及舒适评分者).

1.2 方法

1.2.1 分组及术前用药: 按随机数字表将140例患者随机分为地佐辛组($n = 70$)及杜冷丁组($n = 70$), 术前30 min两组患者分别给予地佐辛5 mg或杜冷丁50 mg肌肉注射. ERCP术中常规监测患者心电、血压、血氧饱和度及呼吸频率.

1.2.2 观察指标及评分标准: 观察两组患者ERCP术中及术后30 min、1、2、3、6 h疼痛视觉模拟评分(visual analogue scales, VAS); 术后30 min、1、2、3 h伯格曼舒适度评分(Bruggermann comfort scale, BCS); 给药后30 min、1、2、3 h的Ramsay评分. 记录ERCP术中及术后两组患者的腹痛、腹胀、恶心、呕吐、头痛、头晕、呼吸抑制等不良反应的发生率. ERCP术后常规观察患者生命体征, 腹部体征、血淀粉酶及脂肪酶水平.

VAS评分标准: 0分为无痛; 1-3分为轻度疼痛, 患者能忍受; 4-6分为中度疼痛, 疼痛影响睡眠, 尚能忍受; 7-10分为重度疼痛, 疼痛严重影响睡眠, 伴有其他症状, 疼痛难忍. BCS评分标准: 0级为持续疼痛; 1级为安静时无痛, 深呼吸或咳嗽时疼痛加重; 2级为平卧安静时无痛, 深呼吸或咳嗽及转动体位时轻微疼痛; 3级为深呼吸也无痛; 4级为咳嗽时也无痛. Ramsay评分标准: 1分为不安静、烦躁; 2分为安静合作;

3分为嗜睡, 听从指令; 4分为睡眠状态能被唤醒; 5分为呼唤反应迟钝; 6分为深睡, 呼唤不醒.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料采用例数、百分数描述, 计量资料两组间比较采用 t 检验, 计数资料用卡方检验进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

本研究中140例患者均顺利完成ERCP检查及治疗(图1), ERCP操作时间为20-120 min, 术后无出血、穿孔等并发症. 地佐辛组与杜冷丁组患者性别、年龄、ERCP操作时间等一般情况差异均无统计学意义($t = 0.05, 0.17, 1.07, P > 0.05$).

2.1 两组患者ERCP术中及术后30 min、1、2、3、6 h VAS评分结果 ERCP术中两组患者VAS评分平均值均为2分以上, ERCP术后其VAS评分均明显降低, 提示ERCP术中患者可出现轻度腹痛不适, 但患者均能忍受, 术后腹痛不适均可明显缓解. ERCP术中地佐辛组患者VAS评分明显低于杜冷丁组($t = 2.08, P < 0.05$)(图2), 提示地佐辛对ERCP患者术中的镇痛效果明显优于杜冷丁.

2.2 两组患者ERCP术后30 min、1、2、3 h BCS评分结果 ERCP术后地佐辛组患者BCS评分均高于杜冷丁组(术后30 min、2及3 h两组间BCS评分差异均有统计学意义, $t = 2.97, 2.00, 2.25, P < 0.05$)(图3), 提示地佐辛组患者

■应用要点

地佐辛具有起效快、作用时间长、不良反应少等优点, 可安全有效地应用于ERCP术患者的镇痛、镇静治疗, 其临床疗效优于杜冷丁, 且患者舒适度高, 满意率高, 值得临床广泛应用.

名词解释

视觉模拟评分法(VAS): 用于疼痛的评估;
舒适度评分(BCS评分): 应用于疼痛评估;
Ramsay镇静评分: 对用于镇静程度评估。

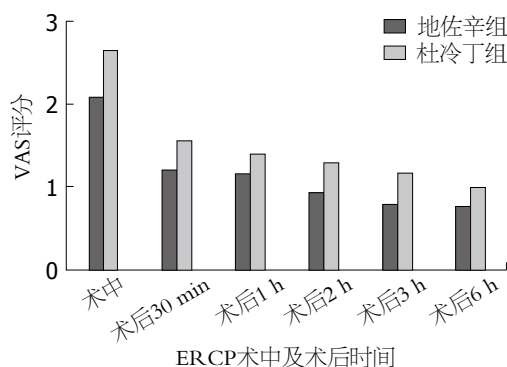


图2 ERCP术中及术后30 min、1、2、3、6 h VAS评分。ERCP: 经内镜逆行胰胆管造影; VAS: 疼痛视觉模拟评分。

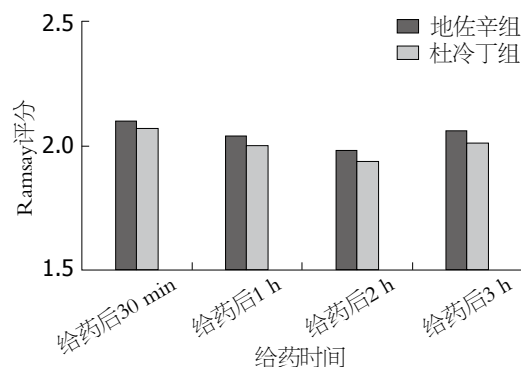


图4 两组患者给药后30 min、1、2、3 h Ramsay评分。

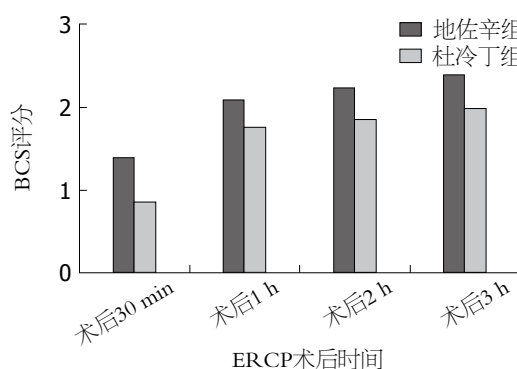


图3 ERCP术后30 min、1、2、3 h BCS评分。ERCP: 经内镜逆行胰胆管造影; BCS: 伯格曼舒适度评分。

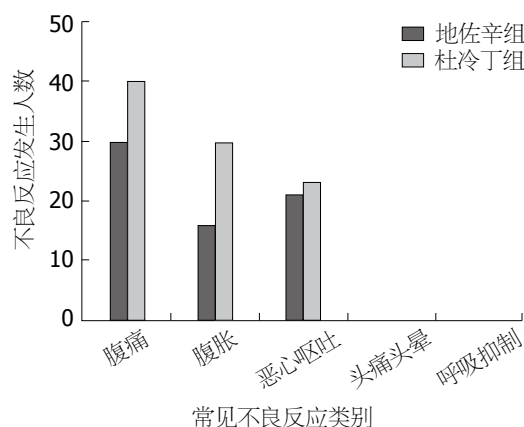


图5 两组患者不良反应发生率。

ERCP术后30 min、2及3 h的舒适度明显优于杜冷丁组。

2.3 两组患者给药后30 min、1、2、3 h Ramsay评分结果 ERCP术前30 min肌肉注射地佐辛5 mg及杜冷丁50 mg后患者均能安静合作, 但两组间Ramsay评分无统计学差异($t = 0.60$ 、 1.00 、 0.77 、 0.69 , $P > 0.05$)(图4)。

2.4 两组患者不良反应发生率结果 地佐辛组ERCP术后腹痛、腹胀、恶心呕吐等不良反应发生率均低于杜冷丁组, 两组患者均无头痛头晕、呼吸抑制等严重不良反应, 地佐辛组患者腹胀发生率明显低于杜冷丁组($\chi^2 = 6.35$, $P < 0.05$)(图5), 提示地佐辛较杜冷丁可更安全地用于ERCP术患者的镇痛及镇静治疗。

3 讨论

随着内镜技术以及相关器械的不断发展, ERCP技术已日臻完善, 现已广泛应用于胆胰疾病的临床诊断及治疗^[1]。由于ERCP具有损伤小、并发症相对较少, 术后恢复快、疗效好、适用范围广等优点^[2], 现已替代部分传统的手

术治疗, 成为胆胰疾病微创治疗的首选方式。虽然ERCP为一项微创治疗措施, 但仍有部分患者因ERCP术中疼痛不能耐受而难以配合操作, 从而导致手术难度加大; 术后因局部疼痛而影响患者术后恢复, 且延长住院时间, 增加住院费用^[3,4]。为减少ERCP术患者的痛苦, 少数大型消化内镜中心已开展无痛苦ERCP检查及治疗。由于开展无痛苦ERCP需要麻醉科医生配合方可顺利完成, 同时还需要专用的麻醉机, 在基层医院难以普遍推广应用。

目前ERCP术前常用镇痛、镇静药包括杜冷丁、吗啡、芬太尼、曲马多、安定、异丙酚等^[5,6], 其中部分药物可因剂量过大而导致呼吸抑制等严重不良作用。地佐辛是人工合成的阿片受体混合激动-拮抗剂, 他主要通过激动 κ 受体产生镇痛作用, 对 μ 受体具有激动和拮抗双重作用, 使呼吸抑制和成瘾的发生率降低, 且地佐辛对 δ 阿片受体活性极弱, 不产生烦躁焦虑感^[7-9]。地佐辛于20世纪70年代在美国开始应用于临床^[10], 近年来因地佐辛不良反应低^[11,12], 镇痛效果好, 安全剂量范围大^[13]、依赖性低等优

势在我国亦广泛应用于临床, 现已有大量临床研究表明地佐辛可安全的用于老年患者^[10,12]. 在美国地佐辛未被列入控制药物^[10], 在我国地佐辛亦未被列入麻醉药品, 自其应用于临床以来, 亦未有成瘾事件的报道^[14]. 已有大量研究^[15-18]表明, 地佐辛的镇痛效果与吗啡类似, 甚至优于吗啡, 也有研究^[13]表明地佐辛起效快, 镇痛作用持续时间长, 对血流动力学及呼吸功能无明显不良影响^[15], 且医生和患者对地佐辛的镇痛满意率高于吗啡^[13,19]. 此外, 亦有研究^[10,20]证实了, 地佐辛联合其他阿片类药物使用可以增加镇痛效果, 减少药物用量, 从而减少不良反应的发生.

本研究发现术前肌肉注射地佐辛5 mg后患者ERCP术中VAS评分明显低于杜冷丁50 mg, 提示地佐辛对ERCP患者术中的镇痛效果明显优于杜冷丁. ERCP术后30 min、2及3 h地佐辛组患者BCS评分均明显高于杜冷丁组, 提示与杜冷丁相比较地佐辛可明显提高患者ERCP术后30 min、2及3 h的舒适度. ERCP术前30 min肌肉注射地佐辛5 mg及杜冷丁50 mg后患者均能安静配合ERCP检查及治疗, 且两组间Ramsay评分差异无统计学意义, 提示地佐辛的镇静效果与杜冷丁类似. ERCP术后腹痛、腹胀、恶心呕吐等不良反应发生率均低于杜冷丁组, 提示地佐辛较杜冷丁可更安全地用于ERCP术患者的镇痛及镇静治疗.

总之, 我们认为地佐辛可安全有效地应用于ERCP术患者的镇痛、镇静治疗, 其临床疗效优于杜冷丁, 且不良反应发生率低, 患者舒适度高, 满意率高, 值得临床广泛应用.

4 参考文献

- 1 Baron TH. Endoscopic management of biliary disorders: diagnostic and therapeutic. *Surg Clin North Am* 2014; 94: 395-411 [PMID: 24679428 DOI: 10.1016/j.suc.2013.12.005]
- 2 王静, 吕瑛, 邹晓平. ERCP术后胰腺炎防治的进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 2399-2405
- 3 徐建文, 王亚娟, 李兴维. 地佐辛与芬太尼用于神经外科患者术后自控静脉镇痛的比较. *齐齐哈尔医学院学报* 2013; 34: 3449-3450
- 4 Kwan V, Devière J. Endoscopy essentials: preparation, sedation, and surveillance. *Endoscopy* 2008; 40: 65-70 [PMID: 18210343 DOI: 10.1055/s-2007-967046]
- 5 Bell GD. Premedication, preparation, and surveillance. *Endoscopy* 2002; 34: 2-12 [PMID: 11778125 DOI: 10.1055/s-2002-19389]

- 6 Jafri SM, Monkemuller K, Lukens FJ. Endoscopy in the elderly: a review of the efficacy and safety of colonoscopy, esophagogastroduodenoscopy, and endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 161-166 [PMID: 20042871 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181c64d64]
- 7 许欣, 杜军. 阿片受体对呼吸的影响. *医学综述* 2013; 19: 2713-2716
- 8 周攀科, 兰志勋. 地佐辛用于术后镇痛的研究进展. *实用医院临床杂志* 2011; 8: 169-172
- 9 Picker MJ. Discriminative stimulus effects of the mixed-opioid agonist/antagonist dezocine: cross-substitution by mu and delta opioid agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 1009-1017 [PMID: 9399970]
- 10 Wang C, Li L, Shen B, Jiang H, Yuan L, Shi D, Zhu J, Guo X, Li H. A multicenter randomized double-blind prospective study of the postoperative patient controlled intravenous analgesia effects of dezocine in elderly patients. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 530-539 [PMID: 24753745]
- 11 岳修勤. 地佐辛与芬太尼应用于术后静脉镇痛的临床效果比较. *中国疼痛医学杂志* 2010; 16: 255
- 12 孙志博, 王吨卫, 韩伟, 田园园. 地佐辛与芬太尼超前镇痛用于老年患者逆行胰胆管造影术的效果比较. *中国老年学杂志* 2012; 32: 4999-5001
- 13 Stambaugh JE, McAdams J. Comparison of intramuscular dezocine with butorphanol and placebo in chronic cancer pain: a method to evaluate analgesia after both single and repeated doses. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 42: 210-219 [PMID: 3301154 DOI: 10.1038/clpt.1987.134]
- 14 Liu R, Huang XP, Yeliseev A, Xi J, Roth BL. Novel molecular targets of dezocine and their clinical implications. *Anesthesiology* 2014; 120: 714-723 [PMID: 24263237 DOI: 10.1097/ALN.000000000000076]
- 15 Rothbard RL, Schreiner BF, Yu PN. Hemodynamic and respiratory effects of dezocine, cirmadol, and morphine. *Clin Pharmacol Ther* 1985; 38: 84-88 [PMID: 3839174 DOI: 10.1038/clpt.1985.139]
- 16 Cohen RI, Edwards WT, Kezer EA, Ferrari DA, Liland AE, Smith ER. Serial intravenous doses of dezocine, morphine, and nalbuphine in the management of postoperative pain for outpatients. *Anesth Analg* 1993; 77: 533-539 [PMID: 8368552 DOI: 10.1213/00000539-199309000-00018]
- 17 O'Brien JJ, Benfield P. Dezocine. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs* 1989; 38: 226-248 [PMID: 2670517]
- 18 Strain EC, Preston KL, Liebson IA, Bigelow GE. Opioid antagonist effects of dezocine in opioid-dependent humans. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 60: 206-217 [PMID: 8823239 DOI: 10.1016/S0009-9236(96)90137-X]
- 19 Pandit UA, Kothary SP, Pandit SK. Intravenous dezocine for postoperative pain: a double-blind, placebo-controlled comparison with morphine. *J Clin Pharmacol* 1986; 26: 275-280 [PMID: 2871049 DOI: 10.1002/j.1552-4604.1986.tb03523.x]
- 20 靳红绪, 张同军, 孙学飞, 王忠义, 李凤丹. 地佐辛复合舒芬太尼用于恶性肿瘤根治术后静脉自控镇痛的临床研究. *中国全科医学* 2013; 16: 264-266

同行评价

本文系统评价了地佐辛在ERCP术中应用的价值, 提示具有良好的镇痛、镇静效果, 同时也较为安全, 可以替代传统的麻醉药品, 具有较好的临床指导意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



全程分期健康教育在内镜逆行性胰胆管造影术患者中的应用效果

王若

■背景资料

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术是临床上治疗胆胰类疾病的重要方式,但大多数患者对ERCP术不了解,易产生负性情绪,影响ERCP的成功率及治疗效果,但患者各个治疗阶段注意的内容不同,因此需对患者进行分期健康教育,以达到最佳的治疗效果。

王若, 河北医科大学第二医院微创外科 河北省石家庄市 050000

王若, 主管护师, 主要从事外科护理研究。

作者贡献分布: 本文主要由王若写作完成。

通讯作者: 王若, 主管护师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院微创外科。

wangruo686@126.com

电话: 0311-85248807

收稿日期: 2014-12-20 修回日期: 2015-01-08

接受日期: 2015-01-12 在线出版日期: 2015-03-18

Clinical effectiveness of whole course staged health education for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Ruo Wang

Ruo Wang, Department of Minimally Invasive Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Ruo Wang, Nurse-in-charge, Department of Minimally Invasive Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. wangruo686@126.com

Received: 2014-12-20 Revised: 2015-01-08

Accepted: 2015-01-12 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To explore the clinical effectiveness of whole course staged health education for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: Forty-eight patients who underwent ERCP treatment from January 2013 to February 2014 at our hospital were selected as

an observation group and given whole course staged health education, and 48 patients who underwent ERCP treatment from October 2011 to December 2012 at our hospital were selected as a control group and given conventional health education. Mood state before and after education, satisfaction to health education, length of hospital stay, and complications were compared for the two groups.

RESULTS: Before the education, the seven mood state dimensions did not differ significantly between the two groups ($P > 0.05$). After the education, fatigue and energy still had no significant difference between the two groups ($P > 0.05$), and the other five dimensions differed significantly ($P < 0.05$). In the observation group, energy and fatigue showed no significant difference before and after intervention ($P > 0.05$), while the other five dimensions differed significantly ($P < 0.05$). In the control group, tension had a significant difference between before and after the education ($P < 0.05$), while other six dimensions had no significant difference ($P > 0.05$). The percentages of patients who were satisfied with health education mode, health education content, nursing service attitude, and communication were also significantly higher in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The rate of complications was significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). Length of hospital stay was significantly shorter in the observation group ($11.2 \text{ d} \pm 3.6 \text{ d}$) than in the control group ($15.3 \text{ d} \pm 4.1 \text{ d}$) ($P < 0.01$).

■同行评议者

白松, 主任医师,
昆明医科大学第
一附属医院

CONCLUSION: Application of whole course staged health education can significantly reduce the length of hospital stay and the incidence of complications and improve patient's satisfaction to health education and patient's mental state in patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Whole course; Health education; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Wang R. Clinical effectiveness of whole course staged health education for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1338-1343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1338.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1338>

摘要

目的: 探讨全程分期健康教育在内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)患者中的应用效果。

方法: 选取2013-01/2014-02在河北医科大学第二医院经ERCP治疗的符合标准的患者48例为观察组, 采用全程分期健康教育; 选取2011-10/2012-12在河北医科大学第二医院经ERCP治疗的符合标准的患者48例为对照组, 采用常规健康教育。评价两组患者教育前后心境状态、对健康教育的满意度、住院时间及并发症发生情况。

结果: 教育前, 心境状态中的7个维度两组差异无统计学意义($P>0.05$); 教育后在疲劳与精力上两组差异无统计学意义($P>0.05$), 在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$); 组内比较, 观察组在精力与疲劳上教育前后差异无统计学意义($P>0.05$), 在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$), 对照组在紧张上教育前后差异有统计学意义($P<0.05$), 在其他6个维度上差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组患者对健康教育方式(95.83%)、健康教育内容(93.75%)、护理服务态度(91.67%)、护患沟通(91.76%)的满意度均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组患者并发症发生情况明显比对照组少, 差异有统计学意义($P<0.05$); 住院时间观察组(11.2 ± 3.6 d), 较对照组(15.3 ± 4.1 d)明显减少, 差异有统计学意义($P<0.01$)。

结论: 应用全程分期健康教育能明显减少ERCP患者的住院时间, 减少患者并发症的发生率, 提高患者对健康教育的满意度, 能明显改善患者的心理状态, 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: 全程分期; 健康教育; 内镜逆行胰胆管造影

核心提示: 本研究结果显示, 教育前, 心境状态中的7个维度两组差异无统计学意义($P>0.05$); 教育后在疲劳与精力上两组差异无统计学意义($P>0.05$), 在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$); 组内比较, 对照组在紧张上教育前后差异有统计学意义($P<0.05$), 在其他6个维度上差异无统计学意义($P>0.05$)。说明全程分期健康教育能明显改善患者的心境, 从而减少负性情绪的发生。

王若. 全程分期健康教育在内镜逆行性胰胆管造影术患者中的应用效果. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1338-1343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1338.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1338>

0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已成为临床治疗胆胰类疾病的重要方式^[1,2], ERCP是在内镜下经十二指肠乳头插管注入造影剂, 从而逆行显示胰胆管的造影技术, 是目前公认的诊断胰胆管疾病的金标准。由于大多数患者对ERCP不了解, 易产生焦虑、恐惧等心理, 影响ERCP的成功率及治疗效果^[3,4]。如何缓解患者的负性情绪已受到医护人员的广泛关注, 再加上患者在接受治疗的同时对服务质量也提出了更高的要求, 常规的健康教育已不能满足患者的需求。为了满足患者个体化的健康需求, 本研究采用全程分期健康教育对ERCP术患者进行护理干预, 取得较好的效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2014-02在河北医科大学第二医院经ERCP治疗的符合标准的患者48例为观察组, 采用全程分期健康教育; 选取2011-10/2012-12在河北医科大学第二医院经ERCP治疗的符合标准的患者48例为对照组, 采用常规健康教育。纳入标准: (1)经ERCP治疗的患者; (2)无其他严重并发症和合并症; (3)无

■ 研究前沿

常规健康教育以相关疾病知识和基础护理为主, 而全程分期健康教育把整个治疗过程分为入院日、术前期、手术中、术后期、出院日和回访期6个时期, 根据不同时期制定相应的健康教育目标和内容以满足患者的需求。

■ 相关报道

临床中对ERCP术患者大多实行常规健康教育,而忽略了患者对各阶段的健康需求。

精神疾病,无严重意识及认知障碍,能清楚表达自己的意愿;(4)自愿参加本研究。研究遵循伦理学原则并经本院伦理委员会同意,患者知情并同意参与,医师对调查保密。排除标准:(1)无法行ERCP治疗的患者;(2)无效问卷。两组患者性别、年龄、职业、文化程度、经济收入、付费方式、婚姻状况、病程、疾病类型等差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性(表1)。

1.2 方法

1.2.1 教育: (1)对照组接受常规健康教育,包括生活指导、基础护理、心理护理、饮食护理、康复锻炼及出院指导等措施,出院后进行问卷调查;(2)观察组采用全程分期健康教育,包括入院日、术前期、手术中、术后期、出院日、回访期。根据不同时期制定相应的健康教育目标和内容(表2)。每次施教后由责任护士根据患者的讲述或通过观察患者的行为改变情况,了解患者对相关知识的掌握程度,使健康教育更加人性化、及时化。

1.2.2 评价: (1)心境测评^[5]: 采用心境状态量表问卷测评(profile of mood states, POMS),包括紧张(6项)、愤怒(7项)、疲劳(5项)、抑郁(6项)、混乱(5项)、精力(6项)及自尊感(5项),共7个维度,40项,每项有5种选择,分别对应0、1、2、3、4分,分值越高,对应的程度越深;(2)比较两组患者对健康教育的满意度,包括健康教育方式、健康教育内容、护理服务态度、护患沟通;(3)比较两组患者住院时间、并发症发生情况(出血、穿孔、腹痛、发热、不适感)。

统计学处理 采用SPSS15.0软件进行统计学分析,计量资料以平均值±标准差表示,采用 t 检验,计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者健康教育前后心境状态比较 教育前,心境状态中的7个维度两组差异无统计学意义($P>0.05$);教育后在疲劳与精力上两组差异无统计学意义($P>0.05$),在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$);组内比较,观察组在精力与疲劳上教育前后差异无统计学意义($P>0.05$),在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$),对照组在紧张上教育前后差异有统计学意义($P<0.05$),在其他6个维度上差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

表 1 两组患者一般资料比较

项目	观察组	对照组	χ^2 值	P 值
性别			0.512	>0.05
男	32	35		
女	16	13		
年龄(岁)			0.654	>0.05
<50	4	5		
50-60	38	39		
>60	6	4		
婚姻			1.121	>0.05
未婚	1	1		
已婚	45	44		
离异或丧偶	2	3		
文化程度			0.896	>0.05
小学及以下	5	6		
中学	28	30		
大专及以上	15	12		
职业			0.932	>0.05
在职	18	15		
离退休	14	18		
无业或个体	16	15		
住院支付方式			0.521	>0.05
公费	5	4		
医保	42	42		
自费	1	2		
月收入(千元)			0.875	>0.05
<2.5	6	7		
2.5-5.0	36	37		
>5.0	6	4		
病程(年)			0.256	>0.05
<2	11	12		
2-4	25	24		
>4	12	12		
疾病类型			0.554	>0.05
胆管结石	9	7		
胆胰肿瘤	7	8		
急慢性胰腺炎	10	10		
化脓性胆管炎	9	10		
胆囊切除术后综合征	11	12		
恶性胆道梗阻	2	1		

2.2 两组患者对健康教育满意度比较 观察组患者对健康教育方式(95.83%)、健康教育内容(93.75%)、护理服务态度(91.67%)、护患沟通(91.76%)的满意度均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)(表4)。

2.3 两组患者住院时间及并发症发生情况比较 观察组患者并发症发生情况明显比对照组少,差异有统计学意义($P<0.05$);住院时间观察组($11.2 \text{ d} \pm 3.6 \text{ d}$),较对照组($15.3 \text{ d} \pm 4.1 \text{ d}$)明显减

表 2 全程分期健康教育目标和内容

时间	健康教育目标	健康教育内容
入院日	(1)使患者尽快适应医院环境 (2)掌握疾病相关知识, 建立遵医行为	(1)介绍医院规章制度, 介绍环境和手术设备及医护人员 (2)患者身体状况、疾病、用药、安全及ERCP知识 (3)告知医院提供的生活物品、住院缴费事项及咨询电话
术前期	(1)减轻焦虑、恐惧情绪 (2)配合做好术前准备和检查 (3)提高术前适应能力	(1)手术相关知识及配合方法, 术前禁食、禁水的目的, 防止手术意外事件发生心理护理, 介绍手术成功病例, 让患者之间相互沟通, 消除患者不良情绪 (2)术前准备和卫生准备 (3)说明术中可能出现的不适症状, 指导患者掌握术中配合知识, 学会腹式呼吸、体位配合
手术中	(1)放松身体, 配合做好手术	(1)由医护人员及患者家属提前陪同患者进入手术室, 给予心理支持 (2)告知患者术中若有不适, 可用手势告知医护人员 (3)如操作时间过长, 及时做好患者及家属的解释安慰工作
术后期	(1)减少术后并发症 (2)对手术有良好的心态 (3)提高术后依从性	(1)嘱患者术后卧床休息8-12 h, 48 h后视病情适当活动 (2)待血、尿淀粉酶正常后无腹痛等症状时可由清淡饮食逐渐过度到低脂饮食, 避免进食辛辣等刺激性食物 (3)遇病情异常能及时报告 (4)告知患者留置鼻胆管引流的目的及意义 (5)术后2-3 d仍需使用抗菌药物, 并向患者解释用药及检查的目的, 消除患者的心理压力
出院日	(1)提高自我护理能力 (2)能按时复诊	(1)自我护理技巧 (2)合理用药 (3)复诊注意事项和咨询电话
回访期	(1)及时提供医护信息 (2)监督自我管理实施情况	(1)督促继续按时复诊 (2)指导护理、康复中出现的問題

ERCP: 内镜逆行胰胆管造影。

表 3 两组干预前后心境状态比较 (mean ± SD)

指标	教育前		组间比较 P值	教育后		组间比较 P值	组内教育前后比较P值	
	观察组	对照组		观察组	对照组		观察组	对照组
紧张	5.23 ± 2.63	5.21 ± 2.82	>0.05	3.02 ± 2.16	4.99 ± 3.13	<0.01	<0.01	<0.01
愤怒	3.17 ± 3.93	3.28 ± 2.89	>0.05	2.13 ± 1.74	3.14 ± 2.19	<0.05	<0.05	>0.05
疲劳	4.39 ± 3.23	4.45 ± 3.36	>0.05	3.47 ± 2.54	4.23 ± 2.39	>0.05	>0.05	>0.05
抑郁	3.67 ± 2.98	3.72 ± 3.13	>0.05	1.98 ± 1.88	2.99 ± 1.98	<0.01	<0.01	>0.05
混乱	4.76 ± 2.27	5.14 ± 2.13	>0.05	3.67 ± 1.89	4.38 ± 2.16	<0.05	<0.01	>0.05
精力	14.13 ± 3.74	13.94 ± 3.76	>0.05	13.38 ± 2.87	13.13 ± 2.24	>0.05	>0.05	>0.05
自尊感	8.38 ± 2.43	8.16 ± 2.44	>0.05	10.26 ± 2.64	8.44 ± 3.46	<0.01	<0.01	>0.05

少, 差异有统计学意义($P<0.01$)(表5)。

3 讨论

随着近年来ERCP术的发展, ERCP治疗胰胆类疾病得到了广大患者的认可, 且ERCP手术较外科手术有创伤小、痛苦少、安全、有效、恢复快等特点^[6,7]。在得知将要进行ERCP手术时, 再加上操作室的环境、内镜的直接刺激及特殊的器械等都容易使大多数患者产生恐惧

心理, 影响十二指肠乳头平滑肌的松弛度, 进而影响ERCP的操作, 因此, 患者术中的配合至关重要。一般患者对胰胆类疾病和ERCP术并不了解, 而疾病引起的疼痛又使患者迫切手术, 并对手术的成功抱有较高的希望。大多数患者都希望在治疗前对自身疾病及ERCP术有一个整体了解, 对治疗过程及结果有心理预期^[8,9]。健康教育是整体护理的重要组成部分, 能有效解决患者的健康问题, 可使患者的不良行为及

■创新盘点

本文探讨了全程分期健康教育在ERCP术患者中的应用效果, 通过分析患者教育前后的心境状态、住院时间及并发症发生情况等指标进行了解实施的优越性。

应用要点

通过本研究分析,为全程分期健康教育在ERCP术患者中的应用提供参考价值,并为护理人员明确了相应的教育内容和目标。

表 4 两组患者对健康教育满意度比较 *n*(%)

分组	健康教育方式	健康教育内容	护理服务态度	护患沟通
观察组	46(95.83)	45(93.75)	44(91.67)	44(91.76)
对照组	35(72.92)	36(75.00)	37(77.08)	37(77.08)
χ^2 值	11.625	10.548	6.235	6.235
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 5 两组患者住院时间及并发症发生情况比较

分组	住院时间(d)	出血 <i>n</i> (%)	穿孔 <i>n</i> (%)	腹痛 <i>n</i> (%)	发热 <i>n</i> (%)	不适感 <i>n</i> (%)
观察组	11.2 ± 3.6	1(2.08)	0(0.00)	2(4.17)	2(4.17)	1(2.08)
对照组	15.3 ± 4.1	4(8.33)	3(6.25)	7(14.58)	8(16.67)	7(14.58)
统计值	-3.625	5.741	8.214	5.214	5.741	6.235
<i>P</i> 值	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01

负性情绪得到改善。传统的护理方法是根据医嘱进行护理,这种护理比较单一,对患者进行健康教育效果不佳^[10]。全程分期健康教育结合患者的实际情况进行教育,根据患者不同阶段的需求进行全面宣教,并使健康教育流程化。一般患者都非常需要获得社会支持和信息支持,而大部分患者都希望了解自身疾病的一些信息以及疾病的治疗方案、医疗费用、对生活的影响以及治疗结果^[11,12]。全程分期健康教育可帮助患者适应环境和现状,解决各个阶段心理上的问题,是护理人员通过运用伦理学、心理学、人际沟通及整体护理等知识,在适当的环境和特定的时间中,解决患者心理健康问题而进行的护理方式。患者的心境及情绪状态对其治疗起着至关重要的作用,患者的心境状态越好、焦虑抑郁程度越轻,对疾病越容易积极应对,心境状态差、焦虑抑郁程度越严重,越容易产生恐惧心理,出现消极应对^[13]。本研究表明,教育前,心境状态中的7个维度两组差异无统计学意义($P>0.05$);教育后在疲劳与精力上两组差异无统计学意义($P>0.05$),在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$);组内比较,观察组在精力与疲劳上教育前后差异无统计学意义($P>0.05$),在其他5个维度上差异有统计学意义($P<0.05$),对照组在紧张上教育前后差异有统计学意义($P<0.05$),在其他6个维度上差异无统计学意义($P>0.05$)。说明全程分期健康教育能明显改善患者的心境,从而减少负性情绪的发生。

大量临床研究^[14,15]表明,积极的教育方式

可明显改善患者的心理状态,提高患者的舒适度,从而提高患者的满意度。本研究结果显示,观察组患者对健康教育方式(95.83%)、健康教育内容(93.75%)、护理服务态度(91.67%)、护患沟通(91.76%)的满意度均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明全程分期健康教育较常规的健康教育方式更能明显提高患者的满意度。全程分期健康教育能使护患明白不同阶段自己的职责,按照整个治疗过程进行教育,可提高护理质量。观察组患者并发症发生情况明显比对照组少,差异有统计学意义($P<0.05$);住院时间观察组(11.2 d ± 3.6 d),较对照组(15.3 d ± 4.1 d)明显减少,差异有统计学意义($P<0.01$)。针对患者不同时期的基本情况及病情给予个体化心理干预,讲解并发症发生的原因,可提高预后效率,减少住院时间及并发症的。

总之,应用全程分期健康教育能明显减少ERCP患者的住院时间,减少患者并发症的发生率,提高患者对健康教育的满意度,能明显改善患者的心理状态,值得临床推广。

4 参考文献

- 1 吴莉君,唐裕芳,李彩玲,聂占国. 健康教育对经内镜逆行性胰胆管造影患者康复的影响. 护理实践与研究 2011; 8: 103-105
- 2 袁伟燕,陆翠华. 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1075-1079
- 3 Zhou W, Li Y, Zhang Q, Li X, Meng W, Zhang L, Zhang H, Zhu K, Zhu X. Risk factors for postendoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a retrospective analysis of 7,168 cases.

- Pancreatology* 2011; 11: 399-405 [PMID: 21894057]
- 4 覃惠庆. 健康教育在ERCP不同文化程度患者中的应用. 齐鲁护理杂志 2011; 5: 120-121
 - 5 魏曾曾, 王维利, 洪静芳. 治疗性沟通系统对胃癌患者围手术期应对方式及心境状态的干预效果研究. 护士进修杂志 2012; 6: 486-489
 - 6 Artifon EL, Chu A, Freeman M, Sakai P, Usmani A, Kumar A. A comparison of the consensus and clinical definitions of pancreatitis with a proposal to redefine post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 530-535 [PMID: 20093992 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181c306c0]
 - 7 吴莉君, 聂占国. 经内镜逆行胰胆管造影术相关并发症及护理. 西北国防医学杂志 2011; 2: 151-153
 - 8 姜东霞. 临床护理路径在内镜逆行胰胆管造影术患者健康教育中的应用. 解放军护理杂志 2012; 2: 74-76
 - 9 韩鸿雁. 临床路径护理在内镜逆行性胰胆管造影和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术中的应用效果. 世界华人消化杂志 2014; 22: 4658-4662
 - 10 Kayashima H, Ikegami T, Ueo H, Tsubokawa N, Matsuura H, Okamoto D, Nakashima A, Okadome K. Inflammatory pseudotumor of the liver in association with spilled gallstones 3 years after laparoscopic cholecystectomy: report of a case. *Asian J Endosc Surg* 2011; 4: 181-184 [PMID: 22776305 DOI: 10.1111/j.1758-5910.2011.00094.x]
 - 11 邵东, 庄耘, 徐馥, 陈建平. 内镜下乳头小切开加球囊扩张术治疗胆总管大结石80例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1057-1059
 - 12 Sahoo MR, Kumar AT, Patnaik A. Randomised study on single stage laparo-endoscopic rendezvous (intra-operative ERCP) procedure versus two stage approach (Pre-operative ERCP followed by laparoscopic cholecystectomy) for the management of cholelithiasis with choledocholithiasis. *J Minim Access Surg* 2014; 10: 139-143 [PMID: 25013330 DOI: 10.4103/0972-9941.134877]
 - 13 Lee JH, Kang DH, Park JH, Kim MD, Yoon KT, Choi CW, Kim HW, Cho M. Endoscopic removal of a bile-duct stone using sphincterotomy and a large-balloon dilator in a patient with situs inversus totalis. *Gut Liver* 2010; 4: 110-113 [PMID: 20479922 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.1.110]
 - 14 范莹. 临床路径护理管理模式在胆管结石患者ERCP EST术中应用的效果评价. 中国实用护理杂志 2014; 30: 34-35
 - 15 Testoni PA, Mariani A, Giussani A, Vailati C, Masci E, Macarri G, Ghezzi L, Familiari L, Giardullo N, Mutignani M, Lombardi G, Talamini G, Spadaccini A, Briglia R, Piazzi L. Risk factors for post-ERCP pancreatitis in high- and low-volume centers and among expert and non-expert operators: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1753-1761 [PMID: 20372116 DOI: 10.1038/ajg.2010.136]

同行评价

本研究从临床角度分析, 切合实际全面阐述了全程分期健康教育的优越性, 重点说明实施全程分期健康教育的必要性和应用效果, 使健康教育更加人性化、及时化。内容尚可, 有一定的临床指导意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



多层螺旋CT灌注成像在急性胰腺炎中的价值

陈 朔, 陶瑞瑞, 李 凯, 刘 轩, 袁 凯, 康海燕, 金 龙, 段 峰, 王志军, 许乙凯

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种常见的急腹症, 微循环障碍在病情发展中起重要作用, 其病情变化较快, 轻重型患者预后情况均不同。因此, 准确评估病情严重程度, 采取早期诊治措施, 才能充分改善患者预后情况。

陈朔, 许乙凯, 南方医院影像中心 广东省广州市 510515
 陈朔, 陶瑞瑞, 李凯, 刘轩, 袁凯, 康海燕, 金龙, 段峰, 王志军, 中国人民解放军总医院介入放射科 北京市 100853
 陈朔, 医师, 主要从事影像医学与核医学的研究。
 作者贡献分布: 本文主要由陈朔、陶瑞瑞、李凯、刘轩、袁凯、康海燕及金龙共同写作完成; 段峰、王志军及许乙凯指导。
 通讯作者: 许乙凯, 教授, 主任医师, 510515, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医院影像中心. schenschen@126.com
 收稿日期: 2014-12-11 修回日期: 2014-12-27
 接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

Value of multi-slice CT perfusion imaging in patients with acute pancreatitis

Suo Chen, Rui-Rui Tao, Kai Li, Xuan Liu, Kai Yuan, Hai-Yan Kang, Long Jin, Feng Duan, Zhi-Jun Wang, Yi-Kai Xu

Suo Chen, Yi-Kai Xu, Nanfang Hospital Medical Image Center, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
 Suo Chen, Rui-Rui Tao, Kai Li, Xuan Liu, Kai Yuan, Hai-Yan Kang, Long Jin, Feng Duan, Zhi-Jun Wang, Department of Interventional Radiology, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
 Correspondence to: Yi-Kai Xu, Professor, Chief Physician, Nanfang Hospital Medical Image Center, 1838 Guangzhou North Road, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. schenschen@126.com
 Received: 2014-12-11 Revised: 2014-12-27
 Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To explore the value of multi-slice computed tomography (CT) perfusion imaging in patients with acute pancreatitis (AP).

METHODS: Thirty patients with severe AP (SAP), 30 patients with mild AP (MAP), and 30 healthy volunteers were included in this study. All subjects underwent multi-slice CT perfusion imaging. The blood flow (BF), blood

volume (BV), time to peak (TTP), permeability surface (PS), time to abdominal pain relief, and hospital stay were compared for different groups.

RESULTS: The levels of BF and BV for the MAP group and SAP group were significantly lower than those for the control group [123.79 mL/(100 mg•min) ± 55.35 mL/(100 mg•min), 63.55 mL/(100 mg•min) ± 36.76 mL/(100 mg•min) vs 214.55 mL/(100 mg•min) ± 98.41 mL/(100 mg•min); 11.35 mL/100 mg ± 5.45 mL/100 mg, 7.43 mL/100 mg ± 2.45 mL/100 mg vs 18.13 mL/100 mg ± 14.56 mL/100 mg, $P < 0.05$]. The levels of PS for the MAP group and SAP group were also significantly lower than that for the control group [26.84 mL/(100 mg•min) ± 10.33 mL/(100 mg•min), 35.66 mL/(100 mg•min) ± 12.45 mL/(100 mg•min) vs 16.48 mL/(100 mg•min) ± 8.67 mL/(100 mg•min), $P < 0.05$]. The levels of BF and BV for the SAP group were significantly lower than those for the MAP group [63.55 mL/(100 mg•min) ± 36.76 mL/(100 mg•min) vs 123.79 mL/(100 mg•min) ± 55.35 mL/(100 mg•min), 7.43 mL/100 mg ± 2.45 mL/100 mg vs 11.35 mL/100 mg ± 5.45 mL/100 mg, $P < 0.05$]. The level of PS for the SAP group was significantly lower than that for the MAP group [35.66 mL/(100 mg•min) ± 12.45 mL/(100 mg•min) vs 26.84 mL/(100 mg•min) ± 10.33 mL/(100 mg•min), $P < 0.05$]. There was no significant difference in the level of TTP between the three groups (140.44/0.1 s ± 23.44/0.1 s vs 142.41/0.1 s ± 13.95/0.1 s vs 146.58/0.1 s ± 29.46/0.1 s, $P > 0.05$), although the time to abdominal pain relief and the hospital stay for the SAP group were longer than those for the MAP group (64.55 h ± 21.35 h vs 11.55 h ± 8.76 h, 78.35 d ±

■同行评议者

梁国刚, 教授, 大连医科大学附属第一医院

46.45 d vs 20.43 d \pm 8.45 d, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Patients with AP have lower pancreatic perfusion, and the disease severity has relation with the levels of BF, BV, and PS. CT perfusion imaging has important clinical value in patients with AP.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Multi-slice spiral CT; CT perfusion imaging; Acute pancreatitis

Chen S, Tao RR, Li K, Liu X, Yuan K, Kang HY, Jin L, Duan F, Wang ZJ, Xu YK. Value of multi-slice CT perfusion imaging in patients with acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1344-1349 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1344>

摘要

目的: 探讨多层螺旋计算机断层扫描(computed tomography, CT)灌注成像在急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)中的应用价值。

方法: 收集南方医院影像中心60例AP患者的临床资料, 按照《中国急性胰腺炎诊治指南规范》分为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)30例(SAP组)和轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)30例(MAP组), 选取30例胰腺健康的健康志愿者作为对照组研究对象, 所有患者均进行多层螺旋CT灌注扫描, 比较3组患者胰腺CT灌注参数: 血流速度(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)、峰值时间(time to peak, TTP)、表面通透性(permeability surface, PS), 以及MAP与SAP组患者临床观测指标(腹痛缓解时间及住院总时间)。

结果: MAP组与SAP组患者BF和BV水平均显著低于正常组[123.79 mL/(100 mg•min) \pm 55.35 mL/(100 mg•min) vs 214.55 mL/(100 mg•min) \pm 98.41 mL/(100 mg•min), 63.55 mL/(100 mg•min) \pm 36.76 mL/(100 mg•min) vs 214.55 mL/(100 mg•min) \pm 98.41 mL/(100 mg•min), 11.35 mL/100 mg \pm 5.45 mL/100 mg vs 18.13 mL/100 mg \pm 14.56 mL/100 mg, 7.43 mL/100 mg \pm 2.45 mL/100 mg vs 18.13 mL/100 mg \pm 14.56 mL/100 mg], PS水平显著高于正常组[26.84 mL/(100 mg•min) \pm 10.33 mL/(100 mg•min) vs 16.48 mL/(100 mg•min) \pm 8.67 mL/(100 mg•min), 35.66

mL/(100 mg•min) \pm 12.45 mL/(100 mg•min) vs 16.48 mL/(100 mg•min) \pm 8.67 mL/(100 mg•min)], 差异具有统计学意义($P < 0.05$); SAP组患者BF和BV水平显著低于MAP组[63.55 mL/(100 mg•min) \pm 36.76 mL/(100 mg•min) vs 123.79 mL/(100 mg•min) \pm 55.35 mL/(100 mg•min), 7.43 mL/100 mg \pm 2.45 mL/100 mg vs 11.35 mL/100 mg \pm 5.45 mL/100 mg], PS水平显著高于MAP组, [35.66 mL/(100 mg•min) \pm 12.45 mL/(100 mg•min) vs 26.84 mL/(100 mg•min) \pm 10.33 mL/(100 mg•min)], 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 三组患者TTP水平比较(140.44/0.1 s \pm 23.44/0.1 s vs 142.41/0.1 s \pm 13.95/0.1 s vs 146.58/0.1 s \pm 29.46/0.1 s), 差异无统计学意义($P > 0.05$); SAP组患者腹痛缓解时间及住院总时间均显著长于MAP组, (64.55 h \pm 21.35 h vs 11.55 h \pm 8.76 h, 78.35 d \pm 46.45 d vs 20.43 d \pm 8.45 d), 差异具有统计学意义($P < 0.05$).

结论: AP患者胰腺血流灌注降低, 病情与BF、BV、PS等指标紧密相关, CT灌注成像在急性胰腺炎病情评估中具有重要的临床价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 多层螺旋CT; 灌注成像; 急性胰腺炎

核心提示: 本研究结果显示, 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)组患者血流速度(blood flow)和血容量(blood volume)水平均显著低于轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)组、正常组, 表面通透性(permeability surface)水平显著高于MAP组、正常组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。主要与MAP和SAP各自的病理改变紧密相关, MAP的病理改变主要为胰腺肿大, SAP病理改变主要是胰腺组织有效的机能血管床减少, 血液循环障碍, 随着病情的进展, MAP早期血流参数将趋于稍低灌。

陈娟, 陶瑞瑞, 李凯, 刘轩, 袁凯, 康海燕, 金龙, 段峰, 王志军, 许乙凯. 多层螺旋CT灌注成像在急性胰腺炎中的价值. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1344-1349 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1344>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种常见的急腹症, 微循环障碍在病情发展中起重要作用, 其病情变化较快, 轻重型患者预后情况均不

■ 研究前沿

目前, APACHE II评分、Ranson评分可辅助AP的临床诊断, 尚无理想的单一急性胰腺炎病情严重程度的评估指标。

■ 相关报道

AP发病机制尚未明确, 相关实验研究证实, 此疾病病理最突出的是以胰腺缺血为主的胰腺微循环障碍。

同^[1]。因此, 准确评估病情严重程度, 采取早期诊治措施, 才能充分改善患者预后情况。目前, APACHE II评分、Ranson评分可辅助AP的临床诊断, 尚无理想的单一急性胰腺炎病情严重程度的评估指标^[2]。计算机断层扫描(computed tomography, CT)灌注成像作为一种新型的功能成像技术, 可准确获取器官灌注绝对值, 对脏器的血流灌注状态作出合理的评价^[3]。为了分析多层螺旋CT灌注成像在AP中的应用价值, 南方医院影像中心进行回顾性分析轻重症急性胰腺炎患者及正常者的灌注参数, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-10/2014-10南方医院影像中心收治的60例AP患者的临床资料。按照《中国急性胰腺炎诊治指南规范》^[4]分为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)30例(SAP组)和轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)30例(MAP组), 选取30例胰腺正常的健康志愿者作为对照组研究对象。所有AP患者均符合《中国急性胰腺炎诊治指南规范》^[4]中急性胰腺炎相关诊断标准。其中SAP组男18例, 女12例, 患者年龄为42-74岁, 平均年龄为51.56岁±5.25岁; MAP组男16例, 女14例, 患者年龄为43-75岁, 平均年龄为52.46岁±5.68岁; 对照组男15例, 女15例, 患者年龄为38-72岁, 平均年龄为48.68岁±5.06岁。3组患者在性别、年龄等一般资料上差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 多层螺旋CT灌注成像: SAP组和MAP组患者入院3 d后, 采取64层螺旋CT进行动态增强扫描, 对照组患者入院当日即进行64层螺旋CT进行动态增强扫描。所有病例均取仰卧位, 常规腹部CT平扫, 层厚、层间距、螺距分别为5、5、1 mm。然后选择胰腺显示最完整的层面作为灌注扫描层面, 扫描厚度28.8 mm。选择BODY PCT模式, 层厚、管电压、管电流分别为2.4 mm、100 kV、120 mA^[5]。对比剂欧乃派克(300 g/L)100 mL, 自动注射速率为5 mL/s, 注射50 mL, 延迟6 s开始扫描。患者扫描前深吸一口气后屏住呼吸, 尽量延长屏气时间, 每1 s扫描1次, 共扫描30 s。灌注扫描结束后, 再注射造影剂50 mL完成常规增强扫描^[6]。最后在CT工作站上通过利用64层螺旋CT自带软件PCT, 进行

图像分析和数据处理, CT灌注图像由同一组(2名)资深放射科医师读片。

1.2.2 观察指标: 比较3组患者胰腺CT灌注参数: 血流速度(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)、峰值时间(time to peak, TTP)、表面通透性(permeability surface, PS), 以及MAP与SAP组患者临床观测指标(腹痛缓解时间及住院总时间)。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料结果用mean±SD表示, 治疗前后及组间比较用 t 检验, 计数资料以构成比表示, 用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者的胰腺CT灌注参数比较 MAP组与SAP组患者BF和BV水平均显著低于正常组, PS水平显著高于正常组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); SAP组患者BF和BV水平显著低于MAP组, PS水平显著高于MAP组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 3组患者TTP水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

2.2 3组患者CT灌注图像比较 对照组胰腺边界清楚均匀, 各灌注图示胰头、胰体、胰尾部血流灌注丰富、均匀等特征(图1)。MAP组和SAP组患者平扫及增强示胰腺头颈部液体积聚, BF、BV图示灌注降低, PS升高趋势, 平均通过时间(mean transit time, MTT)指标无明显差异(图2, 3)。

2.3 MAP与SAP组患者临床观测指标比较 SAP组患者腹痛缓解时间及住院总时间均显著长于MAP组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

AP是消化系统常见疾病, 是由胰酶消化自身胰腺及其周围组织所引起的化学性炎症, 其死亡率约5%, 尤其是多系统器官衰竭者高达47%^[7]。AP发病机制尚未明确, 相关实验研究证实, 此疾病病理最突出的是以胰腺缺血为主的胰腺微循环障碍^[8]。AP患者胰腺微循环障碍主要表现为: 微血管痉挛、微血管通透性变化、组织缺血的变化和缺血后再灌注、血液流变学的变化、大量氧自由基损伤微循环、炎症介质的释放及对胰腺微循环的影响等^[9]。因此, 改善胰腺微循环障碍已成为AP治疗中的关键。根据急性胰腺炎严重程度, 可分为轻

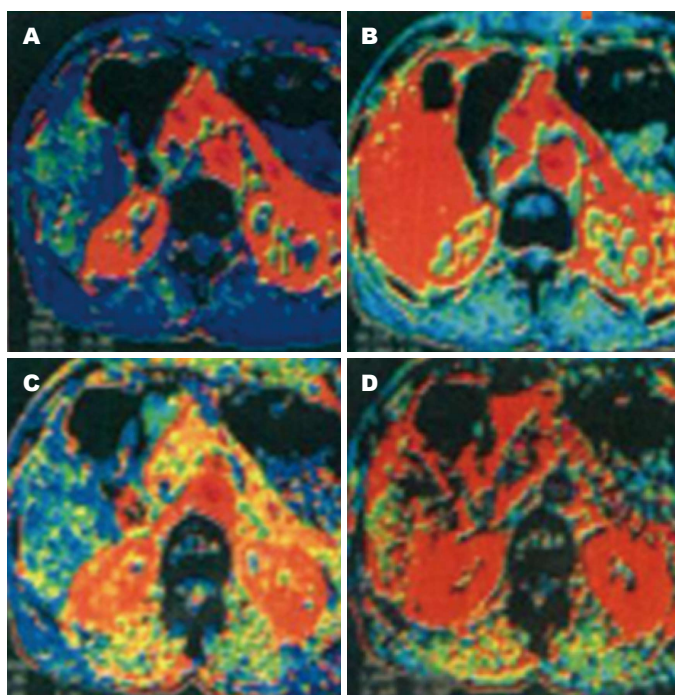


图 1 对照组患者CT灌注图像. A: BF; B: BV; C: MTT; D: PS. BF: 血流速度; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性.

应用要点
CT灌注成像作为一种新型的功能成像技术, 可准确获取器官灌注绝对值, 对脏器的血流灌注状态作出合理的评价.

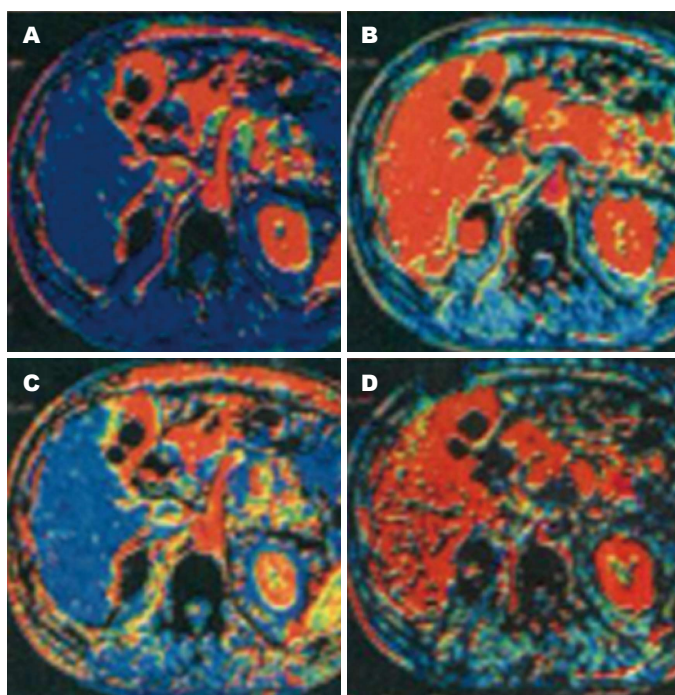


图 2 轻型急性胰腺炎组患者CT灌注图像. A: BF; B: BV; C: MTT; D: PS. BF: 血流速度; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性.

型急性胰腺炎、重型急性胰腺炎. 多层CT显示轻型急性胰腺炎胰腺增大, 密度轻度降低, 边缘欠光滑, 坏死区不明显, 出现少量胰周积液^[10]. 重型急性胰腺炎占总病例的30%左右, 多层CT显示为实质内腺泡、胰腺周围脂肪组织大片坏死, 且伴随不同程度的血管坏死出血, 早期改变血液动力学改变, 少数患者可有腹水.

CT灌注成像通过静脉团注对比剂后, 进行动态扫描选定层面, 以获取该层面内每一像素

的时间-密度曲线, 然后利用不同的数学模型计算出BF、BV、PS、TTP等灌注参数, 并通过色阶赋值形成灌注影像, 以明确器官及病变的血流灌注特征^[11]. 64层螺旋CT扫描胰腺, 具有速度快、灌注范围广等特征, 从不同的角度观察胰腺各部位灌注情况, 随意重建后可选择性删除运动伪影较大的图像, 确保对计算结果无明显影响^[12]. 另外, 64层螺旋CT具有二维、三维校正功能, 可避免移动影响, 确保较高的计算准确性; 与普通CT对比, 多层CT扫描更敏

同行评价

本研究选题新颖, 设计科学, 结果实用, 有较好的临床价值.

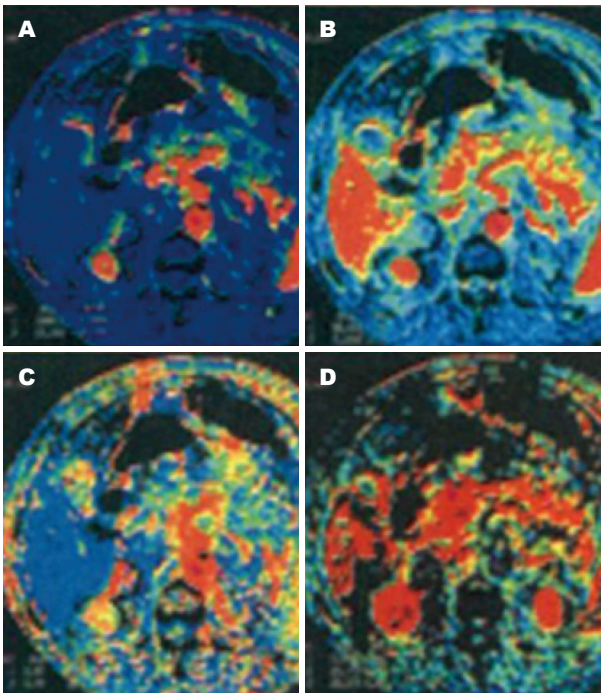


图 3 重症急性胰腺炎组患者CT灌注图像. A: BF; B: BV; C: MTT; D: PS. BF: 血流速度; BV: 血容量; MTT: 平均通过时间; PS: 表面通透性.

表 1 3组患者的胰腺CT灌注参数比较 (n = 30, mean ± SD)

分组	BF[mL/(100 mg•min)]	BV(mL/100 mg)	TTP(0.1 s)	PS[mL/(100 mg•min)]
正常组	214.55 ± 98.41	18.13 ± 14.56	140.44 ± 23.44	16.48 ± 8.67
MAP组	123.79 ± 55.35 ^a	11.35 ± 5.45 ^a	142.41 ± 13.95	26.84 ± 10.33 ^a
SAP组	63.55 ± 36.76 ^{ac}	7.43 ± 2.45 ^{ac}	146.58 ± 29.46	35.66 ± 12.45 ^{ac}

^aP<0.05 vs 正常组; ^cP<0.05 vs MAP组. SAP: 重症急性胰腺炎; MAP: 轻型急性胰腺炎; BF: 血流速度; BV: 血容量; TTP: 峰值时间; PS: 表面通透性.

表 2 MAP与SAP组患者临床观测指标比较 (n = 30, mean ± SD)

分组	腹痛缓解时间(h)	住院总时间(d)
SAP组	64.55 ± 21.35 ^a	78.35 ± 46.45 ^a
MAP组	11.55 ± 8.76	20.43 ± 8.45

^aP<0.05 vs MAP组. SAP: 重症急性胰腺炎; MAP: 轻型急性胰腺炎.

感, 精确显示胰腺血管、胰周积液、肾前筋膜增厚等, 可全面评估AP的坏死程度、并发症及预后情况^[13].
本研究结果显示, SAP组患者BF和BV水平均显著低于MAP组、正常组, PS水平显著高于MAP组、正常组, 差异具有统计学意义(P<0.05). 主要与MAP和SAP各自的病理改变紧密相关, MAP的病理改变主要为胰腺肿大, SAP病理改变主要是胰腺组织有效的机能血

管床减少, 血液循环障碍, 随着病情的进展, MAP早期血流参数将趋于稍低灌^[14]. 表明灌注参数BF、BV等指标可客观评估AP患者病情严重程度, 此研究结果在Jin等^[15]研究中得到了肯定. SAP组、MAP组、正常组的TTP水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 而SAP的PS增高. 提示炎症介质的作用影响到胰腺组织血管内皮细胞收缩, 加剧内皮细胞的损伤, 血管通透性随着血管内流体静压力、组织胶体渗透压升高而增加^[16]. 由于AP严重程度、血流动力学改变各不相同, 患者预后情况也明显不同. 本研究中, SAP组患者腹痛缓解时间及住院总时间均显著长于MAP组, 差异具有统计学意义(P<0.05).
总之, 在AP病情评估中应用CT灌注成像技术, 可有效显示患者胰腺灌注变化特点, 且BF、BV与病情评估指标住院时间存在相关性, 为患者的临床诊治提供充分的依据.

4 参考文献

- 1 陈婧华, 陈垦, 王晖. 急性胰腺炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2478-2483
- 2 安利香, 侯晓英, 韩洁. 急性胰腺炎的影像学诊断现状. 中国医药导报 2012; 9: 177-178
- 3 张忠胜, 崔志宏, 孙昊, 巩若箴. 多层螺旋CT灌注成像技术的临床应用和进展. 医学影像学杂志 2010; 20: 1067-1069
- 4 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中国实用内科杂志 2013; 33: 530-535
- 5 Lagares A, Millán JM, Ramos A, Alén JA, Gallego JH. Perfusion computed tomography in a dural arteriovenous fistula presenting with focal signs: vascular congestion as a cause of reversible neurologic dysfunction. *Neurosurgery* 2010; 66: E226-E227; discussion E227 [PMID: 20023531 DOI: 10.1227/01.NEU.0000361996.27921.6C]
- 6 毕纯龙, 郭启勇. 多层螺旋CT灌注成像在胰腺病变诊断中的临床应用. 中国临床医学影像杂志 2007; 18: 897-899
- 7 许爱平, 李淑德. 重症急性胰腺炎治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 213-216
- 8 Arabul M, Celik M, Aslan O, Torun S, Beyazit Y, Alper E, Kandemir A, Ünsal B. Hepcidin as a predictor of disease severity in acute pancreatitis: a single center prospective study. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 595-600 [PMID: 23665668 DOI: 10.5754/hge12770]
- 9 陆娜, 廖治河, 强金伟, 郭启勇. 急性胰腺炎CT灌注成像. 中国临床医学影像杂志 2008; 19: 715-717
- 10 王芳军, 陈卫昌, 郭亮, 方向明. 急性胰腺炎多层螺旋CT灌注成像的应用价值. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3958-3962
- 11 蒋洪涛, 陈柱, 肖恩华. CT灌注成像原理及其在急性胰腺炎中的临床应用. 中国CT和MRI杂志 2014; 12: 109-111
- 12 Graziani R, Mautone S, Ambrosetti MC, Manfredi R, Re TJ, Calculli L, Frulloni L, Pozzi Mucelli R. Autoimmune pancreatitis: multidetector-row computed tomography (MDCT) and magnetic resonance (MR) findings in the Italian experience. *Radiol Med* 2014; 119: 558-571 [PMID: 24638911 DOI: 10.1007/s11547-013-0373-9]
- 13 乔远罡. MSCT诊断急性胰腺炎的价值分析. 实用预防医学 2009; 16: 502-503
- 14 征锦, 邵娟, 施斌斌, 叶靖. 多层螺旋CT灌注成像对重症急性胰腺炎的临床应用研究. 医学影像学杂志 2010; 20: 80-82
- 15 Jin T, Lin ZQ, Xue P, Huang ZX, Li ZY, Yang XN, Guo J, Xia Q. [The value of different scoring systems for computed tomography in predicting pancreatic pseudocyst in severe acute pancreatitis]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2013; 44: 970-973 [PMID: 24490514]
- 16 Graziani R, Frulloni L, Mantovani W, Ambrosetti MC, Mautone S, Re TJ, Dal Bo C, Manfredi R, Mucelli RP. Autoimmune pancreatitis and non-necrotizing acute pancreatitis: computed tomography pattern. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 759-766 [PMID: 22546245 DOI: 10.1016/j.dld.2012.03.013]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



中药注射液联合生长抑素对轻、中度急性胰腺炎血淀粉酶的干预作用及疗效评估

刘路培

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)可导致其他脏器功能受累,根据其症状的严重程度通常分为轻、中、重度胰腺炎3种类型,前两者存在自限性,一般预后较好,而重度胰腺炎往往起病急、进展迅速,且多伴发其他病症,病死率较高。

刘路培, 柳州市人民医院急诊科 广西壮族自治区柳州市 545006

刘路培, 主治医师, 主要从事急诊外科研究。

作者贡献分布: 本文由刘路培完成。

通讯作者: 刘路培, 主治医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院急诊科。peipeiluyisheng@163.com
电话: 0772-2662000

收稿日期: 2014-12-18 修回日期: 2015-01-11

接受日期: 2015-01-16 在线出版日期: 2015-03-18

Danshen injection combined with somatostatin for treatment of mild or moderate acute pancreatitis: Curative effect and impact on serum amylase levels

Lu-Pei Liu

Lu-Pei Liu, Department of Emergency Medicine, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Lu-Pei Liu, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Liuzhou People's Hospital, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. peipeiluyisheng@163.com

Received: 2014-12-18 Revised: 2015-01-11

Accepted: 2015-01-16 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the curative effect of Danshen injection combined with somatostatin in the treatment of mild or moderate acute pancreatitis (AP), and the impact on serum amylase levels.

METHODS: From May 2013 to May 2014, 68 mild or moderate AP patients treated at our

hospital were randomly divided into two groups: a control group and a study group. The control group was given somatostatin alone, while the study group was given Danshen injection on the basis of somatostatin. The curative effect and the improvement of serum amylase levels were compared for the two groups.

RESULTS: After treatment, the total curative effect was significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$). Before treatment, the levels of serum amylase between the two groups were similar. After treatment, serum levels of amylase declined in both groups, and the decline was more significant in the study group ($P < 0.05$). Both groups had adverse symptoms during the treatment. The rate of adverse symptoms was significantly lower in the study group than in the control group (5.9% vs 20.6%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Danshen injection combined with somatostatin is effective and safe in the treatment of AP, and the combination therapy can also reduce serum amylase levels effectively.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Danshen injection; Somatostatin; Acute pancreatitis; Serum amylase

Liu LP. Danshen injection combined with somatostatin for treatment of mild or moderate acute pancreatitis: Curative effect and impact on serum amylase levels. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1350-1353

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1350.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1350>

摘要

目的: 探讨临床对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者实施中药注射液配合生长抑素治疗的疗效及其对血淀粉酶的影响。

方法: 选取2013-05/2014-05来柳州市人民医院治疗的AP患者共68例, 随机将其等分成2组, 对照组给予单纯生长抑素用药, 观察组增加丹参注射液治疗, 评估2组治疗后的疗效与血淀粉酶改善情况。

结果: 治疗后, 观察组可取得91.2%的临床总疗效, 要显著性高于对照组的76.5%($P<0.05$)。治疗前, 2组的血淀粉酶水平对比相仿($P>0.05$), 经治疗后均出现改善, 且观察组相比对照组下降更明显($P<0.05$)。2组治疗期间均有不良症状发生, 观察组是5.9%, 与对照组的20.6%相比更低($P<0.05$)。

结论: 对AP患者实施丹参注射液配合生长抑素进行治疗, 疗效更显著, 安全性更佳, 可有效降低血淀粉酶水平。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 丹参注射液; 生长抑素; 急性胰腺炎; 血淀粉酶

核心提示: 本研究表明, 观察组经丹参注射液配合生长抑素治疗后, 其临床总疗效相比对照组更高, 血淀粉酶的改善效果更理想, 且用药安全性要显著性高于对照组(均 $P<0.05$), 说明此联合方案对治疗急性胰腺炎(acute pancreatitis)有可行意义, 且安全性可靠, 对高龄与体弱患者更具适用性, 结果与相关报道一致。

刘路培. 中药注射液联合生长抑素对轻、中度急性胰腺炎血淀粉酶的干预作用及疗效评估. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1350-1353 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1350.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1350>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化内科病症中相对常见的一种, 其主要表现为胰腺的急性与炎性发作, 可导致其他脏器功能同时受累。根据症状程度划分, 本病通常有轻、中、

重度胰腺炎3种类型, 前两者存在自限性, 一般预后较好, 而后者往往有起病急、进展迅速和合并症多等特点, 临床病死率很高^[1]。本研究对柳州市人民医院34例轻中度AP患者采取丹参注射液配合生长抑素治疗, 同时设立对照组分析, 总结此联用方案对本病的治疗价值与经验, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组68例AP病例均由柳州市人民医院2013-05/2014-05期间收录并治疗, 其中男37例, 女31例, 年龄段24-67岁, 平均年龄43.2岁 \pm 4.9岁; 所选患者均与《中国急性胰腺炎诊治指南》中的相关判断标准相符合^[1], 排除存在心内科严重合并症、精神障碍、造血系统病变及药物过敏体质者, 根据随机数表法将患者等分成2组, 组间的一般数据相对比差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 确诊后, 对患者提供吸氧、禁食、抗感染、解痉止痛、胃肠减压以及纠正酸碱与水电解质失衡等常规治疗, 同时依据用药方案, 对2组患者进行如下施治。

对照组(单纯生长抑素方案): 初始剂量250 μ g, 以静脉注射方式给药, 此后再给予生长抑素持续24 h静脉泵注, 剂量3 mg, 速度250 μ g/h, 泵注前将其与0.9%生理盐水50 mL混合, 连续用药5 d。

观察组(生长抑素+丹参注射液方案): 生长抑素的用法用量同对照组, 复方丹参注射液每次剂量20 mL, 以静脉滴注方式给药, 滴注前将其与0.9%生理盐水250 mL混合, 1次/d, 疗程与对照组相同。

1.2.2 疗效标准^[2]: 观察患者用药前后的血淀粉酶水平, 同时统计不良症状发生例数。临床疗效: (1)治愈。用药5 d后基本无症状和体征, 经实验室检查提示血淀粉酶等指标均正常; (2)显效。用药5 d后基本无症状和体征, 经实验室检查各项指标均明显改善; (3)有效。用药5 d后症状及体征有明显好转, 且实验室检查各项指标有所改善; (4)无效。用药5 d后症状及体征无改善或加重。

统计学处理 采取SPSS19.0版本的统计源软件处理实验数据, 由 χ^2 和 t 分别对计数与计量资料进行检验, 组间数据由[n(%)]和mean \pm SD

■ 研发前沿

AP早期配合应用中医药疗法, 可获得更高的治愈率, 但目前临床上尚无统一的中医药治疗标准及方法, 期待在今后能有新的突破。

■ 相关报道

朱虹等对30例AP患者采用复方丹参注射液联合生长抑素治疗, 研究结果表明联合治疗对缓解AP患者腹痛、发热等症状更有效, 临床总有效率可达90.0%, 并且用药3 d后即可有效改善血淀粉酶与血钙水平, 相比单用生长抑素组起效更快, 疗效更显著。

应用要点

中药注射液联合生长抑素在轻中度急性胰腺炎的治疗方面具有较大优势,可明显减轻患者腹痛呕吐等症状,缩短病程,使血淀粉酶较快恢复到正常水平。

表 1 两组的临床总疗效对比 (n = 34)

分组	治愈	显效	有效	无效	总疗效n(%)
观察组	11	15	5	3	31(91.2)
对照组	6	10	10	8	26(76.5)

表 2 两组的血淀粉酶干预情况对比 (n = 34, U/L)

分组	用药前	用药后
观察组	612.84 ± 63.29	128.55 ± 22.74
对照组	608.53 ± 68.31	157.26 ± 25.28

描述,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床总疗效 治疗后,观察组可取得91.2%的临床总疗效,要显著性高于对照组的76.5%,差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 血淀粉酶干预情况 治疗前,2组的血淀粉酶水平对比相仿($P>0.05$),经治疗后均出现改善,且观察组相比对照组下降更明显($P<0.05$)(表2)。

2.3 用药安全性 治疗期间,2组患者均有不良症状发生,其中观察组共2例,包括面色潮红、头晕各1例,发生率是5.9%,对照组共7例,包括面色潮红、头晕和恶心各有3例、2例和2例,发生率是20.6%,可见观察组的用药安全性相比对照组更理想($P<0.05$)。

3 讨论

AP是目前危害人类生理健康的一种常见急腹症,其虽有轻重度之分,但临床主要以轻症胰腺炎常见,其患病率在AP中约占80%^[3-5]。目前医学界尚未明确其致病机制^[6],但绝大多数学者认为胰腺自身消化异常是造成本病发作的首要原因,诸如饮酒过量、暴饮暴食、手术创伤和胆结石等,均可能导致胰腺消化系紊乱,从而诱发本病^[7,8]。生长抑素是一种14-氨基酸类激素,其能够降低胰腺组织中普环化酶的活性,抑制乙酰胆碱的分泌,并阻断炎症因子的释放,对治疗本病有重要作用^[9-11]。而丹参注射液是经丹参提取而成的一种中药制剂,具有活血散瘀、清心止痛的功效。现代医学证实,丹参富含脂溶性与水溶性成分,其能够改善机体微循环系统,并起到抗血小板凝集、降低血液黏稠度与预防胰腺缺血或坏死的作用。通过二

者联用,可起到增强药效、尽早解除症状的作用^[12,13]。

朱虹等^[14]对30例AP患者联合上述两种药物治疗,提示其对缓解腹痛、发热等症状更有效,临床总有效率可达90.0%,并且用药3 d后即可有效改善血淀粉酶与血钙水平,相比单用生长抑素组起效更快,疗效更显著。本研究表明,观察组经丹参注射液配合生长抑素治疗后,其临床总疗效相比对照组更高,血淀粉酶的改善效果更理想,且用药安全性要显著性高于对照组(均 $P<0.05$),说明此联合方案对治疗AP有可行意义,且安全性可靠,对高龄与体弱患者更具适用性,结果与相关报道一致^[14,15]。

总之,对AP患者实施丹参注射液配合生长抑素进行治疗,疗效更显著,可有效降低血淀粉酶水平,且安全性更佳,值得加强普及。

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,《中华胰腺病杂志》编辑委员会,《中华消化杂志》编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013,上海). 中国实用内科杂志 2013; 33: 530-535
- 2 中华中医药学会脾胃病分会. 急性胰腺炎中医诊疗专家共识意见. 中华中医药杂志(原中国医药学报) 2013; 28: 1826-1831
- 3 张杰伟,曾仕平,庄桂凤,李淑萍,张全鹏. 复方丹参联合清胰汤、生长抑素治疗急性胰腺炎的疗效观察. 重庆医学 2012; 41: 1751-1752
- 4 王小华. 复方丹参注射液联合奥曲肽治疗急性胰腺炎临床疗效分析. 吉林医学 2012; 33: 3816-3818
- 5 冯春,张艳杰,孙永锋. 生长抑素联合丹红注射液治疗急性胰腺炎的疗效观察. 中国伤残医学 2012; 20: 38-39
- 6 王先坤,李培武,晏波,王秉钧. 生长抑素联合加味大黄承气汤治疗重症急性胰腺炎. 中国实验方剂学杂志 2014; 20: 224-227
- 7 姜新林. 生长抑素联合复方丹参注射液治疗重症急性胰腺炎20例临床观察. 南通大学学报(医学版) 2010; 30: 211-212
- 8 魏丹,王安萍. 丙氨酰谷氨酰胺联合血必净注射液治疗重症急性胰腺炎38例. 西部中医药 2014; 27: 106-108
- 9 张云忠,陈楠. 生长抑素治疗急性胰腺炎临床疗效观察. 中国实用医药 2011; 6: 181-182
- 10 杨烁. 应用生长抑素治疗急性胰腺炎的临床对比研究. 中国医药指南 2009; 7: 66-67
- 11 张国顺,马利转,张超,王玉兰,徐晓平. 生长抑素联合丹参治疗乙型肝炎肝硬化合并急性胰腺炎的临床研究. 现代预防医学 2011; 38: 3095-3096, 3102

名词解释

轻度急性胰腺炎:具备AP的临床表现和生物化学改变,不伴有器官功能衰竭及局部或全身并发症,通常在1-2 wk内恢复,病死率极低。

- 12 黄修仁, 陈江宁. 生大黄联合生长抑素治疗急性胰腺炎临床观察. 浙江中西医结合杂志 2013; 23: 653-655
- 13 陈敏瑜. 泮托拉唑联合生长抑素治疗急性胰腺炎的临床价值分析. 中国医学工程 2013; 21: 183

- 14 朱虹, 廖江涛. 复方丹参注射液联合生长抑素治疗急性胰腺炎的疗效观察. 中外医学研究 2011; 9: 1-3
- 15 方瑜洁, 徐俊丽. 生长抑素联合复方丹参注射液治疗重症急性胰腺炎的疗效观察. 临床和实验医学杂志 2014; 13: 811-813

同行评价
本研究设计合理, 内容实用, 具有一定的临床价值.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



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, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 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.

胰腺实性假乳头状瘤的诊断和治疗

杨彩虹, 江 华

■背景资料

胰腺实性假乳头状瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas, SPTP)是一种少见的胰腺肿瘤,其发病率占胰腺肿瘤的1%-3%。世界卫生组织(World Health Organization)将其明确为胰腺交界性或恶性潜能不能确定的肿瘤,其组织来源尚未明确。

杨彩虹, 安徽省第二人民医院消化内科 安徽省合肥市 230011

江华, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853

杨彩虹, 硕士, 主要从事消化系统病的临床研究。

作者贡献分布: 杨彩虹与江华对此文所作贡献均等; 此课题设计、研究过程、数据分析及论文写作均由杨彩虹完成; 江华指导。

通讯作者: 江华, 副主任医师, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院消化内科。xinghy@nlc.gov.cn
电话: 010-66887329

收稿日期: 2014-12-20 修回日期: 2015-01-12

接受日期: 2015-01-23 在线出版日期: 2015-03-18

Diagnosis and treatment of solid pseudopapillary tumor of the pancreas

Cai-Hong Yang, Hua Jiang

Cai-Hong Yang, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230011, Anhui Province, China

Hua Jiang, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Correspondence to: Hua Jiang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. xinghy@nlc.gov.cn

Received: 2014-12-20 Revised: 2015-01-12

Accepted: 2015-01-23 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To summarize the experience of diagnosis and treatment of solid pseudopapillary tumor of the pancreas (SPTP).

METHODS: Clinical data for 134 SPTP patients admitted to Chinese PLA General Hospital from February 2002 to July 2013 were retrospectively analyzed.

RESULTS: The median age of the patients

(116 females and 18 males) was 29.7 years (range 9-71 years). The tumor was located in the pancreatic head in 40 patients, in the pancreatic neck in 17 patients, in the pancreatic body and tail in 64 patients. The size of the lesions was large, and the median diameter of tumors was 6.0 cm (1.5-21.0 cm). Clinical presentation included a palpable abdominal mass in 21 patients, abdominal pain in 50 patients. Forty-nine patients were asymptomatic, and their tumors were found incidentally on abdominal sonographic examination for other reasons. Low-echo solid and solid-cystic masses were found in the pancreas by ultrasonic examinations. Computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) found low-density masses in the pancreas. After dynamic contrast-enhanced scanning, the solid parts of the lesion showed progressive enhancement and the cystic parts of the lesion showed no enhancement. One hundred and twenty-six patients were treated by surgery. Of 89 patients who were followed, 4 died of tumor relapse and metastasis and the condition of one patient who did not undergo operation progressed, while no evidence of relapse or metastasis was found in other patients.

CONCLUSION: SPTP occurs more frequently in young females and is potentially malignant. There is no characteristic clinical presentation. Preoperative diagnosis of SPTP depends on imaging study such as CT and MRI. Surgical resection is the first choice of treatment and is associated with a satisfactory prognosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■同行评议者

夏时海, 教授, 主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

Key Words: Solid pseudopapillary tumor of pancreas; Clinical characteristics; Therapy

Yang CH, Jiang H. Diagnosis and treatment of solid pseudopapillary tumor of the pancreas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1354-1358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1354.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1354>

摘要

目的: 总结胰腺实性假乳头状瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas, SPTP)的诊断和治疗经验。

方法: 回顾性分析中国人民解放军总医院2002-02/2013-07诊治的134例SPTP病例的临床资料。

结果: 女116例, 男18例, 中位年龄29岁; 肿瘤位于胰头40例(占29.85%), 胰体尾及胰尾部64例(47.76%), 颈部17例(12.69%); 肿瘤体积较大, 中位长径6.0 cm; 21例(15.67%)因触及上腹包块就诊, 上腹部隐痛不适50例(37.31%), 49例无症状(36.57%)。超声表现为胰腺低回声实性或囊实性占位。计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)发现胰腺低密度占位性病变, 增强扫描实性部分渐进性强化, 强化程度低于正常胰腺, 囊性成分不强化。126例行手术治疗。随访89例, 4例复发转移死亡, 1例未行手术治疗的患者病情较前进展, 其余均未发现肿瘤复发转移。

结论: SPTP好发于年轻女性, 具有恶性潜能, 其临床表现缺乏特异性, 术前诊断主要依赖影像学检查, 手术切除是首选治疗方法, 预后好。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺实性假乳头状瘤; 临床特点; 治疗

核心提示: 术前诊断主要依靠影像学检查, 本文通过回顾性分析, 总结了胰腺实性假乳头状瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas)影像学检查的特点: 瘤体大、边界清, 具有明显的占位效应, 表现为邻近器官的推挤移位。胰胆管扩张极少见, 钙化是其特征之一。

杨彩虹, 江华. 胰腺实性假乳头状瘤的诊断和治疗. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1354-1358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1354.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1354>

0 引言

胰腺实性假乳头状瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas, SPTP)是一种少见的低度恶性胰腺肿瘤, 多数肿瘤能被完整切除而治愈, 预后好。因此术前正确诊断具有重要意义。本文回顾性分析134例SPTP的病例资料, 旨在提高对本病的认识。

1 材料和方法

1.1 材料 收集中国人民解放军总医院2002-02/2013-07经病理证实、资料完整的SPTP患者134例的临床资料。

1.2 方法 回顾性分析患者的一般情况、临床表现、影像学[超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)]、实验室检查、治疗方式、病理(术前超声引导下细针穿刺、术中冰冻、术后大体、镜下及免疫组织化学)、预后等资料。

统计学处理 统计分析采用SPSS16.0软件操作。计数资料采用连续性校正 χ^2 检验; 正态性分布检验采用W检验(Shapiro-Wilk); 非正态性分布计量资料采用秩和检验。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 一般情况: 134例经病理确诊。平均29.7岁±13.5岁, 中位年龄29岁。男18例, 中位年龄39.5岁; 女116例, 中位年龄26岁, 男女比例1:6.44。男性发病年龄明显高于女性($Z = -2.811, P = 0.005 < 0.05$)。良性SPTP 107例, 中位年龄29岁; 恶性SPTP 27例, 中位年龄27岁, 良、恶性患者发病年龄比较差异无统计学意义($Z = -0.125, P = 0.901 > 0.05$)。恶性患者中女性23例(占女性患者的19.8%), 中位年龄23岁; 男性4例(占男性患者的22.22%), 中位年龄53岁。男女患者发生恶性SPTP的概率差异无统计学意义(经连续性校正的 χ^2 检验, $\chi^2 = 0.007, P = 0.939 > 0.05$)。男性良性SPTP中位年龄37岁, 恶性53岁, 两者比较差异无统计学意义($Z = -1.490, P = 0.136 > 0.05$)。女性良性SPTP平均年龄27岁、恶性23岁, 两者比较差异无统计学意义($Z = -0.617, P = 0.537 > 0.05$)。

2.2 临床表现 有症状者85例, 包括腹痛不适50例, 腹部包块21例, 其他14例(腹泻4例, 黄疸4

■ 研究前沿

SPTP是一种少见的低度恶性胰腺肿瘤, 多数肿瘤能被完整切除而治愈, 近年来对于SPTP的报道逐渐增多。但术前诊断准确率低, 因此如何提高术前诊断准确率指导手术治疗是临床亟待解决的问题。

■ 相关报道

SPTP属于低度恶性肿瘤或交界性肿瘤, 生长缓慢, 手术切除是最有效的治疗方法, 即使局部复发或远处转移, 再次手术远期疗效也较好。

■创新盘点

本研究中就影像学检对术前判断SPTP良恶性进行例探讨, 得出肿瘤大小与肿瘤的良恶性无关, 有无钙化及胰胆管扩张对于术前肿瘤的良恶性鉴别可能有一定意义。

例, 腰背部不适3例, 黄疸、黑便1例, 发作性心悸、抽搐1例, 心悸、出汗、意识障碍1例; 无明显临床症状体检发现胰腺占位49例。

2.3 实验室检查 5例转氨酶升高, 范围为44.3-586.0 U/L, 4例胆红素升高, 总胆红素为28.0-255.6 $\mu\text{mol/L}$; CA199升高3例, AFP升高1例, CEA均正常。

2.4 影像学检查

2.4.1 彩色超声: 共63例, 2例诊断为SPTP(诊断符合率3.2%), 其他诊断61例(1例误诊为胰腺囊腺瘤, 60例诊断为胰腺囊实性占位)。彩色超声具有以下特点: (1)肿瘤形态较规则, 边界较清楚; (2)60例呈不均质低回声实性或囊实性占位, 3例呈中等或稍偏强回声; (3)32例肿瘤可探及点状血流信号; (4)6例瘤内及周边可见钙化; (5)均未提示胰、胆管扩张。

2.4.2 CT: 共114例, 29例诊断为SPTP(诊断符合率25.44%), 其他诊断85例(6例误诊为胰腺囊腺瘤; 3例误诊为胰腺癌; 78例诊断为胰腺囊实性占位)。该114例病例中良性87例, 恶性27例。25例以囊性结构为主, 21例以实性结构为主, 68例为囊实性混合结构。CT具有以下特点: (1)瘤体较大, 且多为单发, 仅1例为两处包块; (2)平扫病变为圆形或类圆形低密度囊实性肿块影, 94例边界较清楚(均为良性SPTP), 20例局部边界不清(均为恶性SPTP); 增强后病变囊性部分无强化, 实性部分动脉期轻度强化, 门脉期和延迟期呈中度强化, 强化程度低于正常胰腺; (3)所有肿瘤均有包膜, 43例瘤内钙化, 良性SPTP钙化40例(40/87), 恶性SPTP钙化3例(3/27), 良性SPTP较恶性SPTP发生钙化的概率明显增高(经连续性校正的 χ^2 检验, $\chi^2 = 9.230$, $P = 0.002 < 0.05$); (4)胰、胆管扩张6例。1例为良性SPTP, 其余5例均为恶性SPTP[良性SPTP胰胆管扩张概率为1/87, 恶性患者胰胆管扩张概率为5/27, 两者比较差异有统计学意义(经连续性校正的 χ^2 检验, $\chi^2 = 9.227$, $P = 0.002 < 0.05$)]; (5)7例发现肝脏囊实性转移灶。

2.4.3 MRI: 共30例, 7例诊断为SPTP(诊断符合率23.33%), 23例诊断为胰腺囊实性占位。MRI具有以下特点: (1)30例均为囊实性相间信号混杂。实性部分T1加权成像(T1 weighted, T1WI)呈不均匀中低信号, T2加权成像(T2 weighted, T2WI)呈不均匀中高信号; 囊性部分则为均匀高信号。动态增强实性部分进行性不均匀强

化, 程度低于正常胰腺组织。囊性部分T1WI呈低信号T2WI呈明显高信号, 无强化; (2)包膜T1WI、T2WI均呈低信号, 增强扫描包膜均见强化; 6例见钙化, T1WI、T2WI呈更低信号; (3)均未见胰胆管扩张、狭窄。

2.5 治疗

2.5.1 手术治疗: 胰腺病变完整切除125例, 包块肝转移病变一并切除2例。病变常见的部位为胰头及胰体尾部, 肿瘤位于胰头部(包括钩突)40例(占29.85%)、胰体尾及胰尾部64例(47.76%)、颈部17例(12.69%)、腹膜后2例(1.49%)。主要采取手术方式为肿瘤局部切除40例; 胰十二指肠切除及保留幽门的胰十二指肠切除18例; 胰体尾切除18例; 肿瘤切除或胰腺节段切除+胰肠或胰胃吻合15例; 胰体尾联合脾脏切除12例。姑息性手术治疗2例(1例行病变部分切除, 1例部分切除同时术中射频消融)。

2.5.2 非手术治疗: 非手术治疗3例, 均为伴肝转移者, 分别予全身化疗、射频消融及胰腺动脉化疗栓塞。

2.6 病理

2.6.1 术前超声引导下细针穿刺病理检查: 共7例, 5例(71.42%)确诊为SPTP, 1例误诊为胰岛细胞瘤, 1例误诊为神经内分泌肿瘤。

2.6.2 术中冰冻: 共22例, 11例(50.0%)确诊为SPTP; 6例考虑SPTP或神经内分泌肿瘤; 1例误诊为胰岛细胞瘤; 1例考虑胰岛细胞瘤或SPTP; 3例考虑为内分泌肿瘤。

2.6.3 大体: 肿瘤多为单发, 仅1例为两处包块。肿瘤长径1.5-21.0 cm, 中位长径6.0 cm, 无症状者肿瘤中位长径4.0 cm, 明显小于有症状者7.0 cm($Z = -3.964$, $P = 0.000 < 0.05$)。恶性者肿瘤中位长径6.0 cm, 良性肿瘤中位长径6.5 cm, 比较差异无统计学意义($Z = -0.986$, $P = 0.324 > 0.05$)。胰腺肿瘤及3例肝转移瘤切面囊实性, 囊性区红灰褐色混杂, 内壁粗糙, 实性区灰黄及灰红色较软, 多具有完整包膜。24例肿瘤与周围组织不同程度的黏连, 其中9例侵犯包膜及周围胰腺组织; 5例侵犯肠系膜血管及门静脉血管; 4例累及胰腺实质并神经血管受累; 4例侵及十二指肠壁; 1例累及大网膜; 1例侵犯胆管壁; 1例侵犯十二指肠及胆管; 1例侵犯结肠脾曲; 1例侵犯肝门淋巴结。

2.6.4 镜下特征: 多数肿瘤细胞与正常胰腺之间

■应用要点

本文通过回顾性研究, 总结了SPTP临床特征: 发于年轻女性少见的具有恶性潜能的胰腺肿瘤, 临床表现缺乏特异性, 术前诊断主要依靠影像学检查、病理诊断可确诊, 组织形态学检查鉴别困难时, 可联合应用免疫标记检查。

有较厚的纤维分隔伴有胶原沉积, 并多见局灶性钙化。肿瘤细胞形态较一致温和, 圆形或卵圆形, 胞浆浅淡或透明状, 核分裂极少, 无核沟, 核仁不明显。可形成复层分支状的假乳头样结构。

2.6.5 免疫组织化学: 神经细胞黏附因子(CD56)阳性88例(88/90), 神经内肽酶(CD10)阳性83例(83/100), 突触素Syn阳性57例(57/101), 嗜铬粒蛋白CgA阳性14例(14/95), 波形蛋白Vimentin阳性44例(44/52)。

2.7 主要并发症 术后发生胰漏16例, 9例发生于单纯肿瘤切除; 3例发生于胰体尾切除; 2例发生于保留幽门的胰十二指肠切除; 1例发生于胰腺中段切除+胰肠吻合术; 1例发生于肿瘤切除+胰肠吻合术。其中1例引流术后9 mo后行胰肠吻合术, 其余均行腹腔穿刺引流后顺利拔管。

2.8 预后 大多患者预后良好, 获得电话随访89例, 82例随访期间未发现肿瘤复发、转移。死亡4例, 均为恶性SPTP, 3例死于术后转移(术后分别存活26、34及48 mo), 1例术后死于其他疾病。1例伴肝转移的SPTP行肝动脉及胰腺动脉化疗栓塞带瘤存活已26 mo; 1例术后复发放弃再手术带瘤生存4年, 但瘤体增大; 1例未治疗者病情较前进展。

3 讨论

SPTP是一种少见的胰腺肿瘤。1996年世界卫生组织将其正式命名为实性假乳头状瘤, 对于有明确神经周围侵犯、血管侵犯或侵犯深入至周围组织的称为实性假乳头状瘤^[1]。

既往研究^[2,3]显示SPTP多发于青年女性, 平均发病年龄29岁。与本研究相符。本研究中男性中位发病年龄39.5岁, 女性26岁, 男性发病年龄明显高于女性。Machado等^[4]研究发现老年和男性患者SPTP更具有恶性倾向。但本研究提示男、女性患者发生恶性SPTP的概率相同, 且男性良、恶性SPTP患者的发病年龄比较差异无统计学意义。因此在临床工作中无论男女老少SPTP均需警惕有恶性可能。

该病无特异性临床症状, 早期因瘤体较小多无症状, 往往随瘤体增大产生胃肠道压迫症状, 逐出现腹痛不适等非特异性消化系症状, 或多在体检时偶然发现。本研究中有症状患者肿瘤长径明显大于无症状者, 提示肿瘤越大越易出现临床症状。

SPTP血清学检查无特异性, 术前诊断主要依据影像学检查, 增强CT和MRI是最为常用的

手段, 多能准确定位, 主要位于胰腺, 以胰腺体尾、头及颈部发病率最高, 偶发于腹膜后。表现为胰腺单发囊实性占位, 边界清, 动脉期实质呈轻度强化, 门脉期明显强化, 但强化程度低于正常胰腺, 囊性部分增强前后扫描均呈低密度。瘤体较大则有明显的占位效应, 表现为邻近器官的推挤移位, 胰胆管扩张极少见。

尽管该病影像学有相对特征性的表现, 但本研究中诊断符合率仍较低, 考虑与以下因素相关: (1)SPTP的发病率低, 影像学及临床医生对该病的认识不够; (2)SPTP有时难与其他胰腺囊实性病变(胰腺囊腺瘤、胰腺癌等)鉴别。本研究中误诊为胰腺囊腺瘤者均为囊性成分为主的SPTP。误诊为胰腺癌的4例患者均系恶性SPTP, CT检查除胰腺病变外, 同时伴有肝脏或肾上腺等转移表现或伴脾脏等周围脏器受侵及胰胆管扩张表现。

对于肿瘤的良恶性术前影像学诊断仍存在较大争议。既往有研究^[5]显示肿瘤>5 cm更具有恶性倾向; 也有研究^[6]显示肿瘤大小与肿瘤的良恶性无明显关系, 本研究中良恶性者肿瘤中位长径无差异。有研究^[7]显示胰腺病变钙化是良性SPTP的特征性表现, 本研究中良性SPTP钙化明显高于恶性SPTP, 提示SPTP伴钙化者良性可能性大。另本研究中6例提示胰胆管扩张, 除1例胰体尾病变远端胰管轻度扩张系良性SPTP外, 其余5例均为恶性SPTP。提示SPTP伴胰胆管扩张者恶性可能性大。但由于本研究样本量仍较少, 对于术前影像学表现与肿瘤良恶性关系仍需多中心、大样本研究以明确。

据以上特点仍不能鉴别的需病理组织学检查确诊, 包括术前超声引导下穿刺活检、术中快速冰冻及术后大标本病理检查。本组中术前超声引导下穿刺活检确诊率(71.42%), 比影像学检查确诊率(26.12%)高。但对于术前胰腺穿刺活检的价值及风险目前尚存在较多的争议。本组术中冰冻确诊率仅50%。术前细针穿刺及术中冰冻对SPTP的诊断虽有一定帮助, 但由于其自身的局限性常使病理医生不能做出准确诊断。Lam等^[8]报道8例患者, 术后4例经石蜡切片仍误诊为非功能性胰岛细胞瘤, 可见术后亦有不能正确诊断的可能。SPTP在组织形态学上极易与胰腺腺泡细胞癌(acinar cell carcinoma, ACC)和胰腺神经内分泌肿瘤

■名词解释

胰腺实性假乳头状瘤(SPTP): 是一种好发于年轻女性少见的具有恶性潜能的胰腺肿瘤, 其临床表现、影像学、实验室、检查缺乏特异性, 病理诊断可确诊。手术切除是首选治疗方法, 预后好。

同行评价

文章是临床总结, 为SPTP的临床诊断提供借鉴及指导, 内容合理, 数据可靠, 具有临床价值和指导意义。

(neuron endocrine tumor, NET)等相混淆, 多需借助分子标记物检测加以鉴别^[9], 如: CD10、CD56、Vimentin在SPTP中强阳性表达, 而在胰腺NET或ACC中则罕有表达^[10]; SPTP缺乏CgA的表达。以上标志物的检测在胰腺SPTP与其他神经内分泌肿瘤的鉴别诊断中可发挥重要作用。

SPTP属于低度恶性肿瘤或交界性肿瘤, 生长缓慢, 手术切除是最有效的治疗方法^[11], 肿瘤局部切除适用于位于胰腺表面包膜完整, 未侵犯邻近器官者; 位于胰头者多采取胰十二指肠切除; 位于胰腺颈、体部者采用胰腺中段切除+胰肠吻合术; 位于胰体尾部者, 无明显周围侵犯可采取保留脾的胰体尾切除术; 若与脾黏连较重, 可连同脾一并切除; 对于不能完整切除的病例, 实施肿瘤部分切除或+局部射频消融治疗, 也可以获得较长的生存时间。术后主要并发症为胰漏, 多见于行单纯肿瘤切除术者, 可能与剝除肿瘤后创面较大、细小胰管受损有关。本病预后良好, 即使局部复发或远处转移, 再次手术远期疗效也较好^[12,13]。对于肝转移灶, 可采用肝叶切除^[14]或肿瘤剝除术及肝动脉栓塞化疗^[15]。本组5例术后复发, 再次手术切除包括肝转移灶切除, 随访未见复发或转移。对于无法手术切除的SPTP目前无共识性的治疗。本组中1例SPTP伴全身多处转移先后予化疗、介入及放疗, 均未见明显好转; 1例伴肝转移SPTP行肝动脉、胰腺动脉化疗栓塞, 截至随访日期带瘤存活26 mo, 仍需长期随访以观疗效。

总之, SPTP是一种好发于青年女性的具恶性潜能的肿瘤, 无特异性临床表现, 影像学检查具有一定的特征性, 病理检查可确诊, 手术切除是本病的首选治疗, 预后较好。

4 参考文献

- Kim CW, Han DJ, Kim J, Kim YH, Park JB, Kim SC. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas: can malignancy be predicted? *Surgery* 2011; 149: 625-634 [PMID: 21300390 DOI: 10.1016/j.surg.2010.11.005]
- 井方方, 赵君慧, 郭洋, 毛志成, 杜孕金措. 国内胰腺实性假乳头状瘤1180例临床荟萃分析. *中华胰腺病杂志* 2013; 2: 98-102

- Ren Z, Zhang P, Zhang X, Liu B. Solid pseudopapillary neoplasms of the pancreas: clinicopathologic features and surgical treatment of 19 cases. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 6889-6897 [PMID: 25400772]
- Machado MC, Machado MA, Bacchella T, Jukemura J, Almeida JL, Cunha JE. Solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas: distinct patterns of onset, diagnosis, and prognosis for male versus female patients. *Surgery* 2008; 143: 29-34 [PMID: 18154930 DOI: 10.1016/j.surg.2007.07.030]
- Kang CM, Kim HG, Kim KS, Choi JS, Lee WJ, Kim BR. Laparoscopic distal pancreatectomy for solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas-report of two cases. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1053-1056 [PMID: 17629037]
- 胡元国, 王成, 邵峰, 邱陆军, 黄强. 胰腺实性假乳头状瘤的诊治分析. *肝胆外科杂志* 2013; 8: 270-272
- 朱珍, 梁宗辉, 廖娅芳, 周仲文, 郝思介, 金忱, 冯晓源. 胰腺实性假乳头状瘤的临床和MDCT研究. *放射学实践* 2013; 8: 861-864
- Lam KY, Lo CY, Fan ST. Pancreatic solid-cystic-papillary tumor: clinicopathologic features in eight patients from Hong Kong and review of the literature. *World J Surg* 1999; 23: 1045-1050 [PMID: 10512945 DOI: 10.1007/s002689900621]
- 易敏, 王嵘, 王建国, 周世英, 张淑坤, 刘红明. 胰腺实性-假乳头状瘤临床病理观察14例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3155-3159
- Notohara K, Hamazaki S, Tsukayama C, Nakamoto S, Kawabata K, Mizobuchi K, Sakamoto K, Okada S. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: immunohistochemical localization of neuroendocrine markers and CD10. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 1361-1371 [PMID: 11023097 DOI: 10.1097/0000478-200010000-00005]
- 刘桂杰, 李学华, 王力, 李洪光, 刘志恒. 胰腺实性假乳头状瘤的临床特征及手术治疗. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3457-3459
- Yagci A, Yakan S, Coskun A, Erkan N, Yildirim M, Yalcin E, Postaci H. Diagnosis and treatment of solid pseudopapillary tumor of the pancreas: experience of one single institution from Turkey. *World J Surg Oncol* 2013; 11: 308 [PMID: 24289652 DOI: 10.1186/1477-7819-11-308]
- Campanile M, Nicolas A, LeBel S, Delarue A, Guys JM, de Lagausie P. Frantz's tumor: is mutilating surgery always justified in young patients? *Surg Oncol* 2011; 20: 121-125 [PMID: 20106656 DOI: 10.1016/j.suronc.2009.12.003]
- Serrano PE, Serra S, Al-Ali H, Gallinger S, Greig PD, McGilvray ID, Moulton CA, Wei AC, Cleary SP. Risk factors associated with recurrence in patients with solid pseudopapillary tumors of the pancreas. *JOP* 2014; 15: 561-568 [PMID: 25435571 DOI: 10.6092/1590-8577/2423]
- Shimizu M, Matsumoto T, Hirokawa M, Monobe Y, Iwamoto S, Tsunoda T, Manabe T. Solid-pseudopapillary carcinoma of the pancreas. *Pathol Int* 1999; 49: 231-234 [PMID: 10338079]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



内质网应激对溃疡性结肠炎患者炎性因子表达的影响

李楠, 王雪明, 姜丽君, 张萌, 李娜, 魏真真, 郑楠, 赵亚娇

李楠, 王雪明, 姜丽君, 张萌, 李娜, 魏真真, 郑楠, 赵亚娇, 中国人民解放军第309医院消化科 北京市 100091
 李楠, 主任医师, 主要从事溃疡性结肠炎蛋白组学及免疫学机制的研究。

北京市自然科学基金资助项目, No. 7132175

作者贡献分布: 此课题由李楠与王雪明设计; 研究过程由李楠、姜丽君、张萌及李娜操作完成; 数据分析整理由李楠、魏真真、郑楠及赵亚娇完成; 本论文写作由李楠完成。

通讯作者: 李楠, 主任医师, 博士生导师, 100091, 北京市海淀区黑山扈路甲17号, 中国人民解放军第309医院消化科。
 xhk309@126.com

电话: 010-55473165

收稿日期: 2014-11-26 修回日期: 2015-01-26

接受日期: 2015-01-29 在线出版日期: 2015-03-18

Influence of endoplasmic reticulum stress on T cell function and expression of inflammatory cytokines in ulcerative colitis

Nan Li, Xue-Ming Wang, Li-Jun Jiang, Meng Zhang, Na Li, Zhen-Zhen Wei, Nan Zheng, Ya-Jiao Zhao

Nan Li, Xue-Ming Wang, Li-Jun Jiang, Meng Zhang, Na Li, Zhen-Zhen Wei, Nan Zheng, Ya-Jiao Zhao, Department of Gastroenterology, the 309th Hospital of PLA, Beijing 100091, China

Supported by: Natural Science Foundation of Beijing, No. 7132175

Correspondence to: Nan Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 309th Hospital of PLA, Jia 17 Heishanhu Road, Haidian District, Beijing 100091, China. xhk309@126.com

Received: 2014-11-26 Revised: 2015-01-26

Accepted: 2015-01-29 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To demonstrate the regulatory effect of endoplasmic reticulum stress (ERS) on T lymphocyte function and the pathogenesis of ulcerative colitis (UC) by stimulating peripheral

blood mononuclear cells of UC patients with thapsigargin (TG) and measuring the splicing of X-box binding protein 1 (XBP1) and changes of cytokine expression.

METHODS: Primary T lymphocytes were seeded in 12-well plates and stimulated with TG for 12 h. The cells were collected and lysed for mRNA analysis of cytokine expression and XBP1 splicing. All subjects were from Department of Gastroenterology of Chinese PLA 309th Hospital from May 2002 to March 2013, and UC was diagnosed according to the diagnostic standard for UC which was formulated in 2007 in Jinan. Peripheral blood mononuclear cells were isolated, seeded in 12-well plates and stimulated with phytohemagglutinin (PHA), TG, or PHA + TG, respectively. The expression of interleukin-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), and IL-7 α was analyzed by quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR), and the splicing of XBP1 was detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: XBP splicing was detected when peripheral blood mononuclear cells were stimulated with PHA and TG, alone or in combination, both in UC patients and healthy adults, and XBP splicing was more significant in cells from UC patients treated with PHA plus TG. Increased levels of IL-2, IFN- γ , and IL-17 α could be observed both in UC patients and healthy adults when peripheral blood mononuclear cells were stimulated with PHA plus TG, and the increase was more significant in the UC group.

CONCLUSION: Compared to health subjects,

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 目前病因未明, 多数学者将其归因为自身免疫性疾病。内质网作为机体的细胞器, 在蛋白的合成成熟运输及维持钙的稳态方面起着重要的作用, 进而影响蛋白的折叠、质量控制及转运调节。体内、外任何条件改变是内质网功能受到影响, 导致蛋白质的加工受阻, 大量折叠蛋白蓄积于内质网中, 使得内质网功能障碍, 从而导致机体的免疫系统、与炎症及压力相关的通道及氧化应激通路的功能均受到影响, 引起机体产生一些慢性代谢性疾病及自身免疫性疾病, 如2型糖尿病、脂肪肝、神经性病变、各种肿瘤及炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 等。这为我们探索UC的发病机制提供新思路。

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

■ 研究前沿

文献显示肌醇需求酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)/X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)信号通路能通过维持肠道黏膜屏障完整维持肠道潘氏细胞数目、促进肠道内细胞因子分泌等方面保护肠道黏膜,减少肠道炎症的发生。但目前内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)对T淋巴细胞的影响及UC患者对ERS的相应变化尚无文献报道。那么,XBP1是否通过调节获得性免疫来影响UC的发生就成为我们关注的问题。

UC patients are more sensitive to ERS in terms of increased XBP 1 splicing and up-regulation of inflammatory cytokines such as IL-2, IFN- γ and IL-17 α .

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoplasmic reticulum stress; Ulcerative colitis; X-box binding protein 1

Li N, Wang XM, Jiang LJ, Zhang M, Li N, Wei ZZ, Zheng N, Zhao YJ. Influence of endoplasmic reticulum stress on T cell function and expression of inflammatory cytokines in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1359-1368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1359>

摘要

目的: 通过对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者外周血单个核细胞进行内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)刺激,比较X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)剪切形式(XBP1 splicing, XBP1s)及炎性细胞因子表达水平变化,探讨UC患者对ERS反应的变化。

方法: 通过实时聚合酶链反应(real time-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测XBP1s, 实时定量聚合酶链反应(quantitative-polymerase chain reaction, Q-PCR)检测白介素-2(interleukin-2, IL-2)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、IL-17 α 表达变化。比较UC之间差异并进行相关分析。

结果: (1)用植物凝集素(phytohemagglutinin, PHA)及毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)单独及联合刺激正常人及UC患者外周血单个核细胞后XBP1均发生剪切,联合刺激时剪切形势较明显;(2)分别PHA与TG、联合刺激正常人及UC患者外周血单个核细胞,发现联合刺激组IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 表达水平增高。

结论: 在ERS状态下,正常人群及UC患者的T淋巴细胞均可通过XBP1s所介导的信号通路对ERS发生响应,激活炎性细胞因子表达,加重炎性发生,与正常人相比,UC患者外周血单个核细胞对ERS作用更为敏感。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内质网应激; 溃疡性结肠炎; X-盒结合蛋白1

核心提示: 人T淋巴细胞能通过X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)的剪切反应对内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)产生影响,促进 γ 干扰素(interferon- γ)、白介素(interleukin, IL)-17 α 、IL-2等细胞因子的分泌,并且溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)患者的外周血单个核细胞对ERS作用更为敏感,且患者的T淋巴细胞可以通过肌醇需求酶1(inositol-requiring enzyme 1)/XBP1通路对ERS做出响应,激活体内获得性免疫促进细胞因子的表达,在炎症的发生、发展过程中起重要作用。

李楠, 王雪明, 姜丽君, 张萌, 李娜, 魏真真, 郑楠, 赵亚娇. 内质网应激对溃疡性结肠炎患者炎性因子表达的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1359-1368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1359>

0 引言

内质网作为重要细胞器,能够调控蛋白质合成、折叠及促进胆固醇、类固醇等多种脂质合成。在多种生理或病理的状态下,如未折叠蛋白的增加、错误折叠蛋白的生成、钙离子的调节紊乱以及细胞内氧化还原状态改变都能引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)^[1]发生,ERS通过蛋白未折叠反应(unfolded protein response, UPR)来修复应激引起的细胞损伤,恢复细胞正常功能。

肌醇需求酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)/X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)是ERS过程中重要的信号通路之一,他可以通过减少蛋白合成、促进蛋白降解、增加伴侣分子生成,减缓ERS发生,使细胞功能恢复正常,最终使受损细胞得以修复。在ERS条件下,IRE1/XBP1通路可以激活c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)^[2,3]相关的信号通路,促进细胞因子及生物趋化因子的释放,通过激活天然免疫系统对机体起到调控作用。各国学者们从Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)^[4]、细胞因子的改变及机体免疫系统等角度研究,阐述炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制,IRE1/XBP1信号通路能通过维持肠道黏膜屏障完整维持肠道潘氏细胞数目、促进肠道内细胞因子分泌等方面保护肠道黏膜,减少肠道炎症的发生^[5-7]。但目

前ERS对T淋巴细胞的影响及UC患者对ERS的相应变化尚无文献报道. 那么, XBP1是否通过调节获得性免疫来影响UC的发生就成为我们关注的问题.

1 材料和方法

1.1 材料 正常对照组18例, 年龄为25-55岁(平均40岁), 男13例, 女5例, 选自2012-05/2013-03在总参谋部医院消化科体检均排除UC诊断标准的健康志愿者. 所有研究对象均排除高血压、冠心病、脑血管意外等心脑血管疾病, 糖尿病、甲状腺功能衰退等内分泌代谢疾病, 肝、肾、胰腺疾病, 缺氧相关性疾病, 炎症、肿瘤、应激反应等. UC组21例, 年龄为23-54岁(平均39岁), 男16例, 女5例, 选自2012-05/2013-03在总参谋部总医院消化科、西苑医院级朝阳医院西院治疗的UC患者, 按照2007年在济南制定的: “我国对UC诊断治疗规范达成共识意见” 均诊断为中重度UC, 患者资料如表1. 低温高速离心机(德国Eppendorf公司); 干式恒温仪(杭州奥盛生物技术公司); DNA扩散仪(美国PE公司); 实时定量PCR仪(德国Eppendorf公司); 聚丙烯酰胺凝胶电泳及电转仪(美国Boi-Rad公司); 倒置荧光显微镜(日本Nikon公司); CO₂培养箱(美国Thenno公司); 台式高速离心机(德国Eppendorf公司); 台式低温高速离心机(德国Eppendorf公司); 漩涡振荡器(北京同正生物技术有限公司); 超低温水箱(中国海尔电器公司); 化学发光仪(美国DLR公司); 温度模块控制仪(德国Eppendorf公司); 纯水器(美国Millipore公司); 紫外分光光度计(美国Pharmacia公司); 琼脂糖凝胶电泳槽(北京六一设备厂); 氯仿、异丙醇、无水乙醇(北京化工厂); Concanavalin A(ConA)(美国Sigma公司); Phytohemagglutinin(PHA)(美国Sigma公司); Thapsigargin(TG)(美国Sigma公司); RPMI 1640培养基(北京钮因华信公司); FBS(美国Gibco公司); RNAiso Plus(日本Takara公司); RAN反转录试剂盒(日本Takara公司); Real-time试剂盒(日本Takara公司); SYBR(康为试剂公司); 琼脂糖(GENE公司); Goodview(赛百盛基因技术公司); 淋巴细胞分层液(美国Sigma公司).

1.2 方法

1.2.1 细胞分离及原代培养: 人外周血单个核细胞的分离培养: 采取人外周肝素钠抗凝静脉血

4-6 mL, 用RPMI 1640培养基稀释2倍, 取15 mL离心管, 分别加入与外周血等量的淋巴细胞分离液, 将已稀释好的外周血缓慢加入离心管中, 使其悬浮于淋巴细胞分离液上, 2000 r/min离心20 min, 缓慢吸取人淋巴细胞分离液之上的细胞层, 即为单个核细胞, 加入RPMI 1640完全培养液的离心管中(注意尽量将细胞吸净, 避免将其下层液体吸入), 1500 r/min离心5 min, 弃上清, 清洗细胞2次, 弃上清, 细胞计数, 调整细胞密度为 5×10^8 个/L, 于37 °C、50 mL/L CO₂的CO₂培养箱中培养.

1.2.2 人外周血单个核细胞的分组和处理: (1) 将所提取的正常人和UC患者外周血单个核细胞悬液分别铺于12孔板中, 每孔加1 mL细胞悬液, 细胞密度调整为 5×10^8 个/L; (2) 实验分两大组, 分别正常人外周血单个核细胞及UC患者外周血单个核细胞; 每组各自分4小组, 分别为空白对照组、PHA刺激组、TG刺激组及PHA+TG刺激组, 每组3个复孔, 实验重复3次; (3) 配制PHA和TG工作液, 用RPMI 1640培养液稀释PHA及TG, 将1 mg/mL的PHA稀释成250 μg/mL; 将1 mmol/L的TG稀释成100 nmol/L; (4) 空白组不加任何药物; PHA刺激组加入20 μL的PHA稀释液(刺激终浓度为5 μg/mL); TG刺激组加入30 μL的TG稀释液(刺激终浓度300 nmol/L); PHA+TG刺激组同时加入20 μL的PHA稀释液和30 μL的TG稀释液, 37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中培养12 h后收集细胞, 提取RNA待用.

1.2.3 实时荧光定量PCR(real-time fluorescence quantification PCR, qRT-PCR): 总RNA提取: (1) 细胞处理后吸取细胞悬液, 1000 r/min、5 min离心, 小心去除上清, 每瓶加入0.4 mL TRIzol, 用吸管吹打置于1.5 mL EP管中, 室温静置5 min; (2) 加入0.1 mL氯仿, 剧烈振荡EP管15 s, 室温静置5 min, 12000 g, 4 °C, 离心15 min, 取上层水相置于一新的EP管; (3) 加入0.3 mL异丙醇, 轻微震荡15 s, 室温静置5 min, 12000 g, 4 °C离心10 min, 留沉淀; (4) 加入0.5 mL 75%乙醇, 涡旋混匀, 12000 g, 4 °C, 离心5 min, 留沉淀; (5) 超净台中室温晾5-10 min至半干, 加入适量灭菌DEPC水, 57 °C, 水溶10 min, 使RNA充分溶解; (6) 取2 μL溶解好的RNA, 用灭菌DEPC水2:1稀释, 用分光光度计测定RNA浓度及纯度, 比值在1.7-2.0之间, 将所提取的

■ 相关报道

国内外文献从Toll样受体、细胞因子的改变及机体免疫系统角度研究, 阐述UC的发病机制. 提示IRE1/XBP1信号通路能通过维持肠道黏膜屏障完整维持肠道潘氏细胞数目、促进肠道内细胞因子分泌等方面保护肠道黏膜, 减少肠道炎症的发生. 但目前ERS对T淋巴细胞的影响及UC患者对ERS的相应变化尚无文献报道.

■ 创新盘点

目前ERS对T淋巴细胞的影响及UC患者对ERS的相应变化尚无文献报道。那么, XBP1是否通过调节获得性免疫来影响UC的发生就成为我们关注的问题。经过我们研究发现在ERS状态下, 正常人群及UC患者的T淋巴细胞均可通过XBPIs所介导的信号通路对ERS发生响应, 激活炎性细胞因子表达, 加重炎症发生, 与正常人相比, UC患者外周血单个核细胞对ERS作用更为敏感。

表 1 溃疡性结肠炎患者临床资料

编号	性别	年龄(岁)	肠镜诊断	病理表现
1	男	25	重度, 急性期	急慢性炎
2	男	52	重度, 急性期	急慢性炎
3	女	48	中重度, 急性期	急慢性炎
4	男	43	中重度, 缓解期	慢性炎
5	女	57	中度, 急性期	慢性炎
6	男	50	中度, 急性期	慢性炎
7	男	42	中度, 缓解期	慢性炎
8	男	23	中度, 急性期	急慢性炎
9	男	41	中重度, 急性期	急慢性炎
10	男	23	中度, 急性期	急性炎
11	男	45	中重度, 急性期	急慢性炎
12	男	35	重度, 缓解期	急慢性炎
13	男	47	重度, 急性期	急慢性炎
14	男	33	中重度, 缓解期	慢性炎
15	女	56	中度, 缓解期	慢性炎
16	男	51	中度, 急性期	慢性炎
17	男	40	中度, 缓解期	急性炎
18	男	22	中度, 急性期	急慢性炎
19	男	39	中重度, 缓解期	慢性炎
20	男	27	中度, 急性期	急性炎
21	男	43	中重度, 缓解期	急性炎

RNA保存在-70℃以备反转录用。

逆转录PCR(reverse transcription PCR, RT-PCR): (1)RT反应体系共10 μL, 5×primerScript Buffer 2 μL, Random6 (100 μmol)0.5 μL, PrimerScript RT Enzyme Mix 0.5 μL, Oligo dT Primer(50 μmol)0.5 μL, 总RNA 2 μg, 灭菌DEPC水加至终体积为10 μL; (2)RT反应条件: RT反应体系于37℃反应15 min, 85℃ 5 s终止逆转录, 4℃保存。

QRT-PCR: (1)按下列组份配制PCR反应液(在冰上进行, 避光): SYBR Premix Ex Taq™(2×) 12.5 μL, PCR Forward Primer 1 μL, PCR Reverse Primer 1 μL, DNA模板2.0 μL, dH₂O(灭菌蒸馏水)9.5 μL, 总体积25 μL; (2)添加PCR扩增用模板; (3)使用qRT-PCR扩增仪, 采用两步法进行PCR扩增, 标准程序如下: Stage 1: 预变性, Reps: 1 95℃ 30 s; Stage 2: PCR反应, Reps: 45 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 45/20 circle; (4)实验结果分析: 反应结束后确认qRT-PCR的扩增曲线和融解曲线, 进行PCR定量时制作标准曲线等。引物序列(表2)。

1.2.4 半定量RT-PCR: 总RNA提取: (1)细胞处理后每瓶加入0.4 mL TRIzol, 用吸管吹打置

于1.5 mL EP管中, 室温静置5 min; (2)加入0.1 mL氯仿, 剧烈震荡EP管15 s, 室温静置5 min, 12000 g, 4℃, 离心15 min, 取上层水相置于一新的EP管; (3)加入0.3 mL异丙醇, 轻微振荡15 s, 室温静置10 min, 12000 g, 4℃, 离心10 min, 留沉淀; (4)加入0.5 mL 75%乙醇, 涡旋混匀, 12000 g, 4℃, 离心5 min, 留沉淀; (5)超净台中室温晾5-10 min至半干, 加入适量灭菌DEPC水, 57℃, 水溶10 min, 使RNA充分溶解; (6)将2 μL溶解好的RNA, 溶于98 μL的DEPC水中, 用分光光度计测定RNA浓度及纯度, 比值在1.7-2.0之间, 将RNA保存于-70℃冰箱, 以备反转录用。

逆转录(RT): (1)RT反应体系共10 μL, 5×PrimerScript Buffer 2 μL, Random 6 (100 μmol) 0.5 μL, PrimerScript RT Enzyme Mix 0.5 μL, Oligo dT Primer(50 μmol)0.5 μL, 总RNA 2 μg, 灭菌DEPC水加至终体积为10 μL; (2)RT反应条件: RT反应体系于37℃反应15 min, 85℃ 5 s终止逆转录, 4℃保存。

普通PCR: (1)按下列组份配制PCR反应液(在冰上进行, 避光): Tag Mixture(2×) 15 μL, PCR Forward Primer 2 μL, PCR Reverse Primer

表 2 人的细胞因子引物序列

引物名称(Human)	序列	
IL-2	Fowerd	5'-AAGTTTACATGCCCAAGAAGG-3'
	Reverse	5'-AAGTGAAAGTTTTGCTTTGAGCTA-3'
IFN- γ	Fowerd	5'-AGGGAAGCGAAAAAGGAGTCA-3'
	Reverse	5'-GGACAACCATTACTGGGATGCT-3'
IL-17 α	Fowerd	5'-GAGCCCCAAAAGCAAGAGGAA-3'
	Reverse	5'-TGCGGGCATACGGTTTCATC-3'
IL-4	Fowerd	5'-GCCAAGACCCCTTCGAGAAAT-3'
	Reverse	5'-CCGTCCTGTTATCTGCCTCC-3'
GAPDH	Fowerd	5'-TGTGGGCATCAATGGATTGG-3'
	Reverse	5'-ACACCATGTTATTCCGGGTCAAT-3'

IL: 白介素; IFN- γ : γ 干扰素; GAPDH: 磷酸甘油醛脱氢酶.

表 3 XBP1引物序列

引物名称	序列	
Human XBP1	Fowerd	5'-AAACAGAGTAGCAGCTCAGACTGC-3'
	Reverse	5'-TCCTTCTGGGTAGACCTCTGGGAG-3'
Mouse XBP1	Fowerd	5'-AAACAGAGTAGCAGCGCAGACTGC-3'
	Reverse	5'-TCCTTCTGGGTAGACCTCTGGGAG-3'

XBP1: X-盒结合蛋白1.



图 1 经PHA、TG诱导刺激性结肠炎患者外周血单个核细胞后检测XBP1的剪切形式. PHA和TG联合刺激组刺激结肠炎患者外周血单个核细胞后, XBP1的剪切形式较空白对照组、PHA及TG单独刺激组明显增强. 1: Marker; 2: Ctrl; 3: PHA; 4: TG; 5: PHA+TG. Ctrl: 对照; PHA: 植物血凝素; TG: 毒胡萝卜素; XBP1: X-盒结合蛋白1; GAPDH: 磷酸甘油醛脱氢酶.

2 μ L, cDNA模板4 μ L, dH₂O(灭菌蒸馏水)11 μ L, Total 35 μ L; (2)添加0.2 mL的EP管中进行扩增; (3)使用PCR扩增仪, 采用两步法进行PCR扩增, 标准程序如下: Stage 1: 预变性→Reps: 1 95 $^{\circ}$ C 30 s→63 $^{\circ}$ C 30 s→72 $^{\circ}$ C 30 s→Stage 2: 终延伸→Reps: 1→72 $^{\circ}$ C 30 min→45/20 circles; (4)配置3%的琼脂糖胶50 mL加5 μ L的Goodview, 待胶固定备用; (5)将PCR后的产物加入琼脂糖凝胶槽中行电泳观察不同组间

XBP1剪切情况, 引物序列(表3).

统计学处理 实验数据以mean \pm SD表示, 用统计软件Graphpad Prism 5.0进行作图. 用t-test进行显著性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 ERS状态下, UC患者外周血单个核细胞XBP1的剪切及炎症细胞因子的表达 对人T淋巴细胞刺激激活, 诱导内质网效应产生的角度证实T淋巴细胞可以通过XBP1对ERS产生效应, 即在ERS状态下, 可以通过XBP1应激适应性免疫系统, 使其对ERS产生应答, 促进炎症因子表达.

2.2 ERS状态下, 活化的UC患者外周单个血细胞XBP1的剪切情况 UC患者外周血单个核细胞提取、刺激、实验分组、分别为空白对照(Ctrl)组、PHA刺激组(刺激组浓度为5 μ g/mL)、TG刺激组12 h后收集细胞, 检测XBP1的剪切情况, 结果如图1所示, 经溃疡性结肠炎患者外周血单个核细胞PHA和TG联合刺激组XBP1s的表达量明显增高.

应用要点

ERS状态下获得性免疫能够被激活, 促进炎症因子表达, 加重自身免疫疾病发生. UC被认为是自身免疫性疾病, 通过对该病患者外周血淋巴细胞的研究发现, 与正常健康人群相比, UC患者外周血淋巴细胞对ERS作用更为敏感, 且其淋巴细胞能够通过XBP1对ERS做出响应, 激活体内获得性免疫促进白介素(interleukin, IL)-2、IL-17 α 、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)等细胞因子的表达. 这可能是UC的发病机制之一, 如果阻断该途径可能成为治疗UC的方法之一.

名词解释

内质网应激(ERS): 内质网内环境的稳定是实现内质网功能的基本条件, 因此内质网具有极强的内稳态体系, 但仍然有很多因素可导致内质网功能的内稳态失衡, 形成ERS。例如缺血再灌注损伤、氧化应激、同型半胱氨酸等化学物质处理、细胞内蛋白质合成过快以至于超过蛋白折叠能力、内质网钙代谢紊乱、卵磷脂合成障碍等多种物理、化学或遗传因素等均可引发ERS。

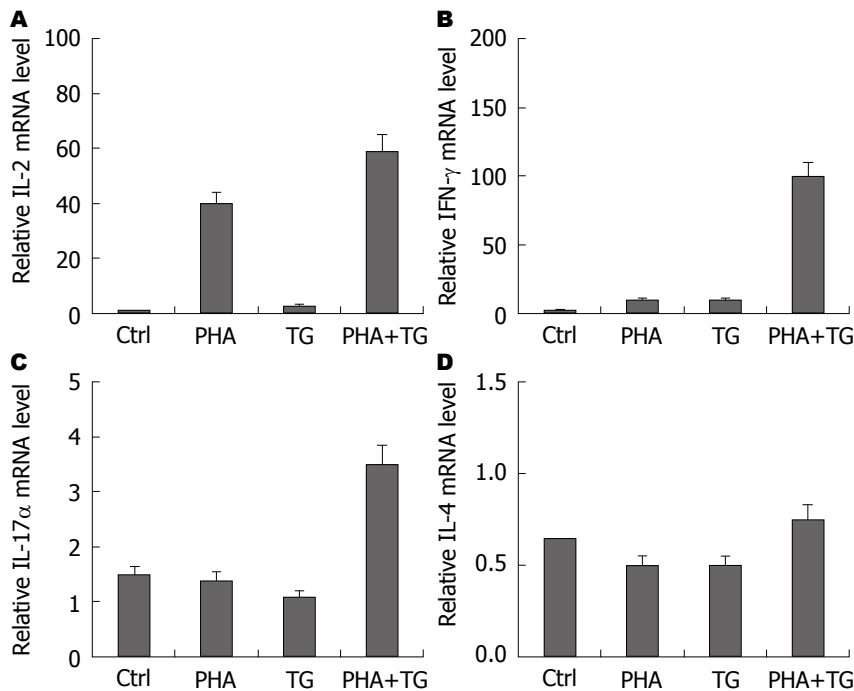


图2 经PHA与TG刺激UC患者外周血单个核细胞后检测IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 的表达情况。用TG、PHA+TG联合刺激后UC患者外周血单个核细胞中IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 的mRNA表达明显增高, IL-4未见明显变化。A: IL-2; B: IFN- γ ; C: IL-17 α ; D: IL-4。PHA: 植物血凝素; TG: 毒胡萝卜素; IL: 白介素; IFN- γ : γ 干扰素; UC: 溃疡性结肠炎。

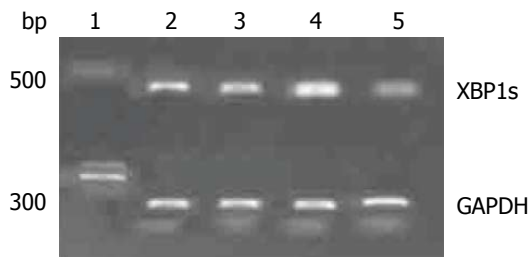


图3 经PHA、TG诱导刺激正常人群外周血单个核细胞后检测XBP1的剪切形式。经PHA、TG诱导刺激成长人群外周血单个核细胞后, 各组间XBP1s未见明显差异。1: Marker; 2: Ctrl; 3: PHA; 4: TG; 5: PHA+TG。Ctrl: 对照; PHA: 植物血凝素; TG: 毒胡萝卜素; XBP1: X-盒结合蛋白1; GAPDH: 磷酸甘油醛脱氢酶。

2.3 ERS条件下, 活化的UC患者外周血单个核细胞炎症细胞因子的表达情况 用PHA、TG刺激活化UC患者外周血单个核细胞分别为空白对照(Ctrl)组、PHA刺激组(刺激浓度为5 μ g/mL)、TG刺激组(刺激终浓度300 nmol/L)及PHA+TG刺激组, 刺激12 h后收集细胞, 检查白介素-2(interleukin-2, IL-2)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、IL-17 α 、IL-4等细胞因子的表达情况, 如图2所示, 经PHA及TG联合刺激后IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 的表达量明显增高。

2.4 ERS状态下XBP1剪切形式的变化情况 为了研究健康对照组与UC患者外周血单个核细胞在ERS状态下XBP1剪切形式的变化情况, 我们进一步抽取正常人群的外周血进行。

首先, 我们抽取正常人群的外周血, 提取单个核细胞, 并用PHA、TG单独联合刺激, 实验分四组, 分别为空白对照(Ctrl)组、PHA刺激组(刺激浓度为5 μ g/mL)、TG刺激组(刺激终浓度300 nmol/L)及PHA+TG刺激组, 刺激12 h后收集细胞, 检测XBP1的剪切情况, 结果如图3所示, 经PHA和TG联合刺激XBP1s见明显变化。

2.5 ERS状态下炎症细胞因子的表达间的差异 为了研究在ERS状态下, 经刺激后的健康对照组与UC患者的外周血单个核细胞炎症细胞因子的表达差异, 我们进行以下实验。实验分两大组, 分别正常人外周血单个核细胞及UC患者外周血单个核细胞; 每组各自分4小组, 分别为空白对照(Ctrl)组、PHA刺激组(刺激终浓度为5 μ g/mL)、TG刺激组(刺激终浓度300 nmol/L)及PHA+TG刺激组, 刺激12 h后收集细胞, 检测IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 等细胞因子的表达情况。如图4所示, 经PHA及TG联合溃疡性结肠炎患者中IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 的表达量较正常人明显增高。

经上述实验证实, 用PHA刺激正常人及

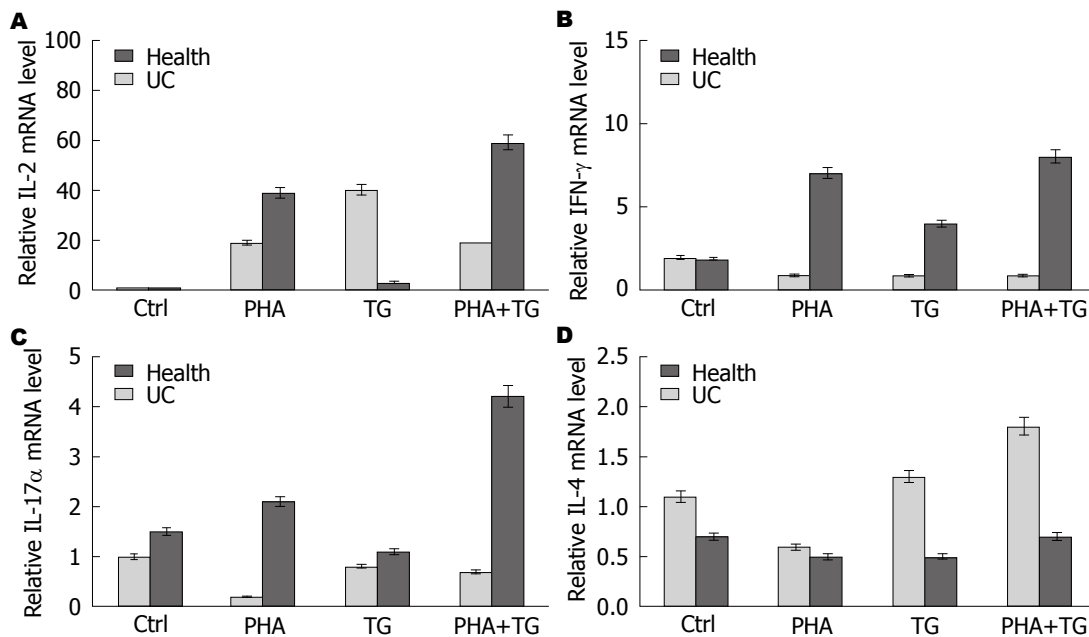


图4 经PHA、TG刺激正常健康人群与UC患者外周血单个核细胞中IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 的表达情况比较. 用TG、PHA+TG联合刺激后正常人和UC患者外周血单个核细胞中的mRNA表达量均有变化, 但患者IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 等细胞因子表达量较正常人高. A: IL-2; B: IFN- γ ; C: IL-17 α ; D: IL-4. PHA: 植物血凝素; TG: 毒胡萝卜素; IL: 白介素; IFN- γ : γ 干扰素; UC: 溃疡性结肠炎.

UC患者外周血单个核细胞使其中的T淋巴细胞激活, 给予TG刺激, 使其处于ERS状态下, 经PHA和TG联合刺激UC患者外周血单个核细胞后, XBP1的剪切形式较空白对照组、PHA及TG单独刺激组明显增强, 但正常人群XBP1s未见明显差异, 同时检测发现用PHA与TG联合刺激后正常人和UC患者外周血单个核细胞后, 正常健康人群IL-2、IFN- γ 、IL-17 α 表达无明显变化, 但溃疡性结肠炎患者细胞因子的表达量较正常人增高, 均有统计学意义. 说明在同样的ERS刺激下, UC患者的T淋巴细胞对ERS更加敏感, 同时UC患者可表达更多的促炎因子, 加剧炎症反应的发生.

3 讨论

IBD(包括UC及克罗恩病)是发生与肠道的一种慢性非特异性疾病, 目前病因未明, 多数学者将其归因为自身免疫性疾病. 由于其病因未明导致该病的诊断率低、治疗效果差、预后不佳, 成为临床诊治的难题. 内质网作为机体的细胞器, 在蛋白的合成成熟运输及维持钙的稳态方面起着重要的作用, 进而影响蛋白的折叠、质量控制及转运调节. 体内、外任何条件改变是内质网功能受到影响, 导致蛋白质的加工受阻, 大量折叠蛋白

蓄积于内质网中, 使得内质网功能障碍. 为了缓解内质网的压力, 与ERS通路中3个重要信号分子蛋白激酶R样内质网激酶(PERK-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、转录激活因子-6(activating transcription factor 6, ATF6)、IRE1结合的分子伴侣结合免疫球蛋白(binding immunoglobulin protein, BiP)与上述3个分子解离, BiP直接作用于折叠蛋白, 促进会折叠蛋白发生折叠, 协助蛋白合成并将加工完成的蛋白质输入内质网, 发挥蛋白的正常生理功能, 同时解除了内质网的压力, 是内质网的功能恢复正常. 如果内质网众位折叠蛋白继续大量产生, 压力持续负荷增大, 使得PERK、ATF6、IRE1 3条通路被激活, 他们通过减少蛋白的合成、促进蛋白降解、增加伴侣分子的生成而减缓ERS的发生, 使细胞功能恢复正常, 但若内质网中的压力负荷仍未解除, 最终将导致细胞的凋亡. 在ERS发生的过程中, 机体的免疫系统、与炎症及压力相关的通道及氧化应激通路的功能均会受到影响, 从而引起机体产生一些慢性代谢性疾病及自身免疫性疾病, 如2型糖尿病、脂肪肝、神经性病变、各种肿瘤及IBD^[8]等. 这为我们探索UC的发病机制提供新思路.

目前已经有实验证明, 在ERS状态下,

IRE1/XBP1通路可以通过TLR激活机体的天然免疫系统^[4]。在巨噬细胞中, XBP1的活化一方面可以通过TLR促进外周血单个核细胞NADPH氧化酶-2(mononuclear cells NADPH oxidase-2, NOX2)的诱导实现^[9]; 另一方面可以通过激活ROR系统^[10]而引起XBP1的活化, 最终激活κ基因结合核因子(nuclear factor-κB, NF-κB)、JNK等信号通路^[2,11,12], 并促进IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等细胞因子的分泌, 并在免疫反应发生的早期作用^[9]。我们通过实验发现, 在ERS状态下, 人T淋巴细胞激活后XBP1s的表达明显增高, 并促进IL-2、IFN-γ、IL-17α的表达, 加重炎症发生。进一步实验发现, 与未被激活T淋巴细胞相比, 激活的T淋巴细胞用TG刺激后检测XBP1s表达明显增强。XBP1s是XBP1的活性形式, 当IRE1/XBP1信号通路被激活后XBP1s将明显增强。与单独激活的T淋巴细胞相比, 激活剂与TG协同刺激T淋巴细胞后IL-2、IFN-γ、IL-17α细胞因子的mRNA水平表达量明显增加。以上结果说明集体活化T淋巴细胞功能通过XBP1对ERS产生影响, 即在ERS状态下, XBP1不仅能够激活天然免疫反应^[13], 同时可以激活机体获得性免疫并释放细胞因子。获得性免疫作为免疫系统中最为重要的部分之一, 在机体产生免疫应答过程中起关键作用, 参与影响多种自身免疫性疾病的发生、发展及影响其预后。以往研究发现IBD的发病与自身免疫关系最为密切, 已证实TLR家族通过15天然免疫及CD4⁺CD25⁺调节T细胞^[14]通过适应性免疫分别在IBD发病过程中起着重要的调节作用, 发现一些细胞因子如TNFα、IL-17α、IL-23、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-β在IBD的发病过程中起重要作用, 但是仍无法阐明IBD的解释清楚。本实验对内质网三条通道中的关键分子进行检测, 发现在严重性患者肠道上皮黏膜中IRE1/XBP1及ATF6的表达量较正常对照明显增加而PERK表达量降低^[15], 这就表明IBD患者肠道中有ERS的发生, 但其具体机体尚不清楚。

我们的实验室针对ERS可激活UC患者获得性免疫系统, 而对UC的发生发展起作用而展开。我们通过采取UC患者外周血, 分离其单个核细胞并用PHA刺激使T淋巴细胞激活, 同时给予TG刺激检测XBP1剪切情况, 发现在ERS

状态下UC患者被激活的T淋巴细胞中发现XBP1发生明显剪切, 且剪切形式较未刺激及PHA、TG单独刺激时明显增强。我们同时对处理后各组细胞的细胞因子进行检测, 发现经诱导激活剂PHA与TG共同刺激到UC患者外周血单个核细胞IL-2、IFN-γ及IL-17α的mRNA水平的表达量明显增加。我们还将健康人群的外周血单个核细胞提取后给予PHA、TG分别及联合刺激, 发现经过PHA和TG联合刺激后IL-2、IFN-γ、IL-17α表达量及XBP1剪切形式有所增加; 但与UC患者相比其各组细胞因子的表达量明显减低, 且XBP1剪切形式表达减弱。由此, 我们认为UC患者的外周血单个细胞对ERS作用更为敏感。在ERS状态下, 激活的UC患者感到外周血单个核细胞中XBP1s表达更明显, 并可以激活体内获得性免疫促进IL-2、IFN-γ、IL-17α等细胞因子表达, 加重UC的发生。

通过我们的实验还发现用TG刺激激活T淋巴细胞及UC患者外周血单个核细胞IL-2、IFN-γ、IL-17α的表达均有明显增加, 但IL-14的表达量无明显变化。机体T细胞中存在T辅助细胞(helper T cells, Th), 他分为Th1与Th2两型, 而IL-2及IFN-γ是由Th1型细胞表达的, IL-4由Th2细胞表达, 正常情况下Th1与Th2之间存在动态平衡。通过我们的实验可以看出, IL-2、IFN-γ、IL-17α的表达增加, IL-4未见明显变化, 说明在ERS状态下淋巴细胞向Th1方向发生漂移, 而Th1细胞主要介导细胞免疫反应^[16], 参与诱发器官特异性自身免疫病的发生。进一步说明机体处于ERS状态下更易发生自身免疫病。这可能是UC发生的一个重要机制。通过我们实验发现在ERS条件下, UC患者淋巴细胞中IL-2、IFN-γ、IL-17α表达均增加, IL-4表达量无明显变化。说明UC患者淋巴细胞向Th1方向发生了漂移, 而在正常健康人中无此现象, 这也与文献报道的活动期UC患者淋巴细胞向Th1漂移相一致^[17]。

IL-17α是由Th17细胞亚群分泌释放的一种细胞因子, 是一种促进炎症发生的细胞因子, 常在自身免疫性疾病及感染性疾病中发挥作用^[18]。有文献报道UC发生过程中IL-17α表达量明显增加^[19]。我们用TG刺激正常人及UC患者活化的外周血单个细胞, 发现与正常人相比, UC患者淋巴细胞经刺激后IL-17α表达量增加。

且经PHA与TG联合刺激的UC患者的淋巴细胞IL-17 α 的表达量较PHA单独刺激时明显增加。我们用TG刺激激活的人T淋巴细胞时IL-17 α 的表达量均明显增加, 说明在ERS可以使激活的T淋巴细胞表达IL-17 α , 加重炎症发生。我们用TG刺激激活的UC患者淋巴细胞IL-17 α , 表达水平明显高于PHA、TG单独刺激, 说明UC患者对ERS更加敏感。

在ERS状态下, 活化的人T淋巴细胞能够通过XBP1对ERS产生影响并促进炎症细胞因子的表达且淋巴细胞向Th1方向漂移。因此, 本文认为ERS状态下获得性免疫能够被激活, 促进炎症因子表达, 加重自身免疫疾病发生。UC被认为是自身免疫性疾病, 通过对该病患者外周血淋巴细胞的研究发现, 与正常健康人群相比, UC患者外周血淋巴细胞对ERS作用更为敏感, 且其淋巴细胞能够通过XBP1对ERS做出响应, 激活体内获得性免疫促进IL-2、IL-17 α 、IFN- γ 等细胞因子的表达。这可能是UC的发病机制之一, 如果阻断该途径可能成为治疗溃疡性结肠炎的方法之一, 尚需进一步实验证实。

总之, 本研究发现人T淋巴细胞能通过XBP1的剪切反应对ERS产生影响, 促进IFN- γ 、IL-17 α 、IL-2等细胞因子的分泌, 并且发现UC患者的外周血单个核细胞对ERS作用更为敏感, 且患者的T淋巴细胞可以通过IRE1/XBP1通路对ERS做出响应, 激活体内获得性免疫促进细胞因子的表达, 在炎症的发生、发展过程中起重要作用。

4 参考文献

- 1 祝筱梅, 姚咏明, 盛志勇. 内质网应激与急性损伤后免疫反应. 生理科学进展 2009; 40: 51-54
- 2 Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, Ron D. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* 2000; 287: 664-666 [PMID: 10650002 DOI: 10.1126/science.287.5453.664]
- 3 Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A, Ichijo H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev* 2002; 16: 1345-1355 [PMID: 12050113 DOI: 10.1101/gad.992302]
- 4 Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature* 2008; 454: 455-462 [PMID: 18650916 DOI: 10.1038/nature07203]
- 5 Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EE, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, Blumberg RS. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* 2008; 134: 743-756 [PMID: 18775308 DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.021]
- 6 Keshav S, Lawson L, Chung LP, Stein M, Perry VH, Gordon S. Tumor necrosis factor mRNA localized to Paneth cells of normal murine intestinal epithelium by in situ hybridization. *J Exp Med* 1990; 171: 327-332 [PMID: 2404082]
- 7 Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennarz JK, Kishi C, Kc W, Carrero JA, Hunt S, Stone CD, Brunt EM, Xavier RJ, Sleckman BP, Li E, Mizushima N, Stappenbeck TS, Virgin HW. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature* 2008; 456: 259-263 [PMID: 18849966 DOI: 10.1038/nature07416]
- 8 Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 2010; 140: 900-917 [PMID: 20303879 DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.034]
- 9 Martinon F, Chen X, Lee AH, Glimcher LH. TLR activation of the transcription factor XBP1 regulates innate immune responses in macrophages. *Nat Immunol* 2010; 11: 411-418 [PMID: 20351694 DOI: 10.1038/ni.1857]
- 10 Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal* 2007; 9: 2277-2293 [PMID: 17979528 DOI: 10.1089/ars.2007.1782]
- 11 Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol* 2007; 19: 24-32 [PMID: 17275323 DOI: 10.1016/j.smim.2006.12.004]
- 12 Hu P, Han Z, Couvillon AD, Kaufman RJ, Exton JH. Autocrine tumor necrosis factor alpha links endoplasmic reticulum stress to the membrane death receptor pathway through IRE1 α -mediated NF-kappaB activation and down-regulation of TRAF2 expression. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 3071-3084 [PMID: 16581782 DOI: 10.1128/MCB.26.8.3071-3084.2006]
- 13 Siddique I, Khan I. Mechanism of regulation of Na-H exchanger in inflammatory bowel disease: role of TLR-4 signaling mechanism. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1656-1662 [PMID: 21221801 DOI: 10.1007/s10620-010-1524-7]
- 14 Kanai T, Kawamura T, Dohi T, Makita S, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M. TH1/TH2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4⁺CD45RB^{high} T lymphocytes into nude mice. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 89-99 [PMID: 16432372 DOI: 10.1097/01.MIB.0000197237.21387.mL]
- 15 Tréton X, Pédruzzi E, Cazals-Hatem D, Grodet A, Panis Y, Groyer A, Moreau R, Bouhnik Y, Daniel F, Ogier-Denis E. Altered endoplasmic reticulum stress affects translation in inactive colon tissue from patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1024-1035 [PMID: 21699776 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.033]
- 16 陈英全, 陈万般. 活动期溃疡性结肠炎患者TH1/TH2平衡的特点与药物调节. 海南医学院学报 2010; 16: 429-434
- 17 Olsen T, Rismo R, Cui G, Goll R, Christiansen

- I, Florholmen J. TH1 and TH17 interactions in untreated inflamed mucosa of inflammatory bowel disease, and their potential to mediate the inflammation. *Cytokine* 2011; 56: 633-640 [PMID: 21945121 DOI: 10.1016/j.cyto.2011.08.036]
- 18 周明欢, 李学峰, 卢放根. TH17细胞与炎症性肠病. 实用医学杂志 2009; 22: 3731-3732
- 19 刘献民, 牟万宏. TH17细胞及其细胞因子在炎症性肠病免疫调节中的研究进展. 实用医学杂志 2011; 14: 680-682

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



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》2013-2014 年电子版合订本正式发布

本刊讯 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569) 2013-2014年电子版合订本在百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc)网站已正式发布, 可以免费下载使用. 请作者和读者访问*WCJD*电子版合订本, 见: <http://www.wjgnet.com/bpg/e-boundjournals.htm>. (郭鹏)

贵阳地区儿童感染幽门螺杆菌的分离培养及耐药性检测

王菲, 朱莉, 熊妍, 蔡廷娜, 蒋勇, 陈峥宏

王菲, 蔡廷娜, 蒋勇, 陈峥宏, 贵阳医学院微生物学教研室
 贵州省贵阳市 550004
 朱莉, 熊妍, 贵阳市儿童医院消化内科 贵州省贵阳市
 550004

王菲, 副教授, 从事幽门螺杆菌的致病性及耐药性的相关研究。
 国家自然科学基金资助项目, No. 81460314

贵州省卫生厅基金资助项目, No. gzwkj2011-1-017

作者贡献分布: 此课题由陈峥宏与王菲设计; 临床标本由朱莉
 与熊妍提供; 研究过程由王菲、蔡廷娜及蒋勇操作完成; 本论
 文写作由陈峥宏指导, 王菲完成。

通讯作者: 陈峥宏, 教授, 研究生导师, 550004, 贵州省贵阳市
 花溪区大学城, 贵阳医学院微生物学教研室。

joeanchenhan@hotmail.com

电话: 0851-88174015

收稿日期: 2015-01-04 修回日期: 2015-01-26

接受日期: 2015-01-30 在线出版日期: 2015-03-18

Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* clinical isolates from children in Guiyang area

Fei Wang, Li Zhu, Yan Xiong, Ting-Na Qi, Yong Jiang, Zheng-Hong Chen

Fei Wang, Ting-Na Qi, Yong Jiang, Zheng-Hong Chen, Department of Microbiology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
 Li Zhu, Yan Xiong, Department of Gastrointestinal Medicine, Guiyang Children's Hospital, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81460314; Science Foundation of Health and Family Planning Commission of Guizhou Province, No. gzwkj2011-1-017

Correspondence to: Zheng-Hong Chen, Professor, Department of Microbiology, Guiyang Medical College, University City, Huaxi District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. joeanchenhan@hotmail.com

Received: 2015-01-04 Revised: 2015-01-26

Accepted: 2015-01-30 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To investigate the antibiotic resistance

of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) clinical isolates from children in Guiyang area.

METHODS: *H. pylori* strains were isolated from children who underwent gastroduodenoscopy at Guiyang Children's Hospital from October 2011 to June 2014, and were further incubated in microaerobic condition. The susceptibility of *H. pylori* to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and levofloxacin was tested by the breakpoint method.

RESULTS: A total of 63 *H. pylori* strains were isolated from 434 children. Sixty isolates were drug resistant, and only 3 were sensitive strains. Of all isolates, 57.1% were resistant to metronidazole, 85.7% resistant to clarithromycin, 38.1% to amoxicillin and 90.5% to levofloxacin. The dual, triple and quadruple resistance percentages were 90.5% (57/63), 57.1% (36/63) and 38.1% (24/63), respectively.

CONCLUSION: Resistance rate against amoxicillin is lower than those against other antibiotics. Resistance rate to levofloxacin is higher. Multi-drug resistance is serious in Guiyang area.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotic sensitivity testing; Resistance

Wang F, Zhu L, Xiong Y, Qi TN, Jiang Y, Chen ZH. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* clinical isolates from children in Guiyang area. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1369-1373 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1369>

■背景资料

儿童幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染率和耐药率均逐年上升, 根治的理想对策是依据体外药敏结果选择敏感药物治疗。但该菌培养条件苛刻、耗时长, 药敏试验尚未常规开展, 因此本文对本地 63 株儿童菌株进行了药敏检测和耐药性分析, 对选择抗生素进行治疗有指导意义。

■同行评议者

崔清波, 副教授, 副主任医师, 哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

■ 研发前沿

*H. pylori*感染根治率降低和易复发的主要原因是细菌耐药性变异和持留, 耐药性变异和持留是本领域的研究热点和重点之一。该菌耐药性变异主要与基因突变和/或药物外排有关。该菌耐药性变异的快速检测方法是亟待解决的问题。

摘要

目的: 了解贵阳地区儿童感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)临床分离株对常用抗*H. pylori*抗生素甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林等的体外敏感性, 以指导临床用药根除*H. pylori*感染。

方法: 收集2011-10/2014-06贵阳市儿童医院行胃镜检查的患儿胃黏膜标本进行*H. pylori*分离培养, 对分离鉴定后的菌株采用界值法进行甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星的敏感性试验。

结果: 从434例患儿胃黏膜中培养出*H. pylori* 63株(14.5%), 63例*H. pylori*菌株中3株为敏感菌株, 60株为耐药菌株, 其对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林、左氧氟沙星的耐药率分别为57.1%、85.7%、38.1%、90.5%。二重、三重、四重耐药率分别为90.5%(57/63)、57.1%(36/63)、38.1%(24/63)。

结论: 贵阳地区儿童感染*H. pylori*对阿莫西林敏感性高于对其他常用药物的敏感性; 对左氧氟沙星和克拉霉素的耐药率较高, 并且多重耐药率较高。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 药敏试验; 耐药性

核心提示: 本文结果提示贵阳地区儿童感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对阿莫西林敏感性高于对其他常用药物的敏感性; 对左氧氟沙星和克拉霉素的耐药率较高, 并且多重耐药率较高。根据*H. pylori*药敏试验结果或本地菌株耐药性监测结果, 选择敏感抗生素治疗可有效提高根治率。

王菲, 朱莉, 熊妍, 慕廷娜, 蒋勇, 陈峥宏. 贵阳地区儿童感染幽门螺杆菌的分离培养及耐药性检测. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1369-1373 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1369>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病菌, 与胃癌和胃淋巴瘤的发生密切相关。资料显示, 我国儿童*H. pylori*感染率为25%-64%, 而且呈现逐年上升的趋势^[1,2]。在儿童期对该菌的根除有助于

降低消化性溃疡的发生及降低胃癌的发病率。儿童感染*H. pylori*难以自行清除, 理想的对策是依据体外药敏试验结果或某一地区*H. pylori*对抗生素的耐药资料有针对性地选择敏感药物治疗。目前, 贵阳地区仍缺乏儿童*H. pylori*耐药情况的资料, 本研究对贵州省贵阳地区上消化道疾病患儿*H. pylori*感染流行情况及耐药性进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料 *H. pylori*菌株NCTC 11637, 获赠于中国疾病预防控制中心传染病预防控制所。研究对象及*H. pylori*临床菌株来源: 2011-10/2014-05因消化系不适到贵阳儿童医院消化科内镜室胃镜检查的434例患儿, 其中男性患儿226例, 女性患儿208例, 年龄分布为0-15岁。取胃黏膜标本进行*H. pylori*菌株的分离培养。哥伦比亚培养基(上海博微生物科技有限公司, 批号100724), *H. pylori*添加剂(英国, OXOID), MH培养基(杭州天和微生物试剂, 批号110105), 克拉霉素(中国食品药品检定研究院, 批号130558-200902), 左氧氟沙星(中国食品药品检定研究院130455-201005), 阿莫西林(中国食品药品检定研究院130450-200705), 克拉霉素(中国食品药品检定研究所130558-200902), 微需氧产气袋(日本, 三菱化学株式会社), 厌氧罐(日本, 三菱化学株式会社)。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*的分离培养: 无菌操作, 将活检胃黏膜组织剪碎迅速接种于哥伦比亚血琼脂培养基, 微需氧环境(5%CO₂、10%O₂、85%N₂)中, 37℃培养4-6 d。将疑似菌株经革兰染色初步鉴定后划线分离培养, 挑取可疑单菌落传代培养后, 获得117株*H. pylori*疑似菌株。

1.2.2 *H. pylori*的鉴定: 可疑细菌经革兰染色、快速尿素酶试验鉴定后, 进一步采用细菌基因组DNA抽提试剂盒, 分别提取各菌株的染色体DNA, 采用16S rDNA PCR扩增^[3]进行鉴定。将*H. pylori*阳性菌株于绵羊血中-80℃保存。

1.2.3 *H. pylori*的药物敏感性检测: 参考文献[4], 制备甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林和左氧氟沙星的含药界值平板。取1 mL不同浓度的抗生素加入9 mL MH血培养基(含10%脱纤维羊血)中, 倾注平板。取5 μL菌液(浓度为6×10⁸ CFU/mL)接种于含药的MH血琼脂平板上, 同时取

■ 相关报道

各地儿童*H. pylori*对抗生素的敏感性有一定差别, 并且与成人菌株亦有所不同。如毕红燕等报道贵州69株成人菌株耐药情况与本文结果差别较大, 表现为儿童菌株对克拉霉素耐药率较高, 但对阿莫西林的敏感性均较其他抗生素高。

表 1 儿童 *H. pylori* 临床分离株检出率比较

年龄 (岁)	性别				疾病类型							
	男		女		浅表性胃炎		十二指肠炎		溃疡病		浅表性胃炎伴糜烂	
	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)	<i>n</i>	阳性 <i>n</i> (%)
<1	6	0(0.0)	3	0(0.0)	5	0(0.0)	3	0(0.0)	1	0(0.0)	0	0(0.0)
2	9	1(11.1)	7	1(14.3)	7	0(0.0)	5	1(10.0)	3	1(33.3)	1	0(0.0)
3	13	1(7.7)	14	0(0.0)	12	1(8.3)	9	0(0.0)	4	0(0.0)	2	0(0.0)
4	19	0(0.0)	13	1(3.1)	13	0(0.0)	14	1(7.1)	1	0(0.0)	4	0(0.0)
5	18	1(5.6)	20	2(10.0)	15	1(6.7)	16	2(12.5)	5	0(0.0)	2	0(0.0)
6	29	4(13.8)	27	3(11.1)	22	1(4.5)	25	3(12.0)	5	2(40.0)	4	1(25.0)
7	27	4(14.8)	22	4(18.2)	20	2(10.0)	24	4(16.7)	2	0(0.0)	3	2(66.7)
8	33	8(24.2)	30	5(16.7)	29	6(20.7)	26	5(19.2)	4	1(25.0)	4	1(25.0)
9	14	3(21.4)	17	6(35.3)	13	3(23.1)	15	5(33.3)	3	1(33.3)	0	0(0.0)
10	21	5(23.8)	24	4(16.7)	20	3(15.0)	19	4(21.1)	3	1(33.3)	3	1(33.3)
11	11	2(18.2)	9	2(22.2)	7	1(14.3)	9	2(22.2)	1	0(0.0)	3	1(33.3)
12	9	2(22.2)	5	0(0.0)	9	2(22.2)	4	0(0.0)	0	0(0.0)	1	0(0.0)
13	8	1(12.5)	9	2(22.2)	6	1(16.7)	10	2(20.0)	1	0(0.0)	0	0(0.0)
14	7	0(0.0)	5	1(10.0)	5	0(0.0)	6	1(16.7)	1	0(0.0)	0	0(0.0)
15	2	0(0.0)	3	0(0.0)	1	0(0.0)	3	0(0.0)	0	0(0.0)	1	0(0.0)

H. pylori: 幽门螺杆菌.

5 μL菌液接种于不含药的MH血琼脂平板上为对照. 以敏感菌株*H. pylori* NCTC 11637对培养基及试验条件进行质控. 微需氧环境, 37 °C培养96 h观察结果. 甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林和左氧氟沙星的耐药判断标准: 左氧氟沙星的MIC≥1 μg/mL判为耐药, 克拉霉素的MIC≥1 μg/mL判为耐药, 阿莫西林的MIC≥1 μg/mL判为耐药, 而甲硝唑的MIC≥32 μg/mL判为耐药.

1.2.4 收集患儿的临床资料: 包括患儿的性别、年龄、疾病情况及胃镜检查结果等.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理, 采用 χ^2 检验, 对耐药结果和临床资料进行比较, 检验水准 $\alpha = 0.05$. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 贵阳地区儿童*H. pylori*的感染情况

2.1.1 *H. pylori*分离培养和鉴定结果: 434例临床标本共分离出117株革兰阴性螺旋状或弯曲状、尿素酶试验阳性的细菌, 经16S rDNA的PCR鉴定, 其中有63株为*H. pylori*阳性菌株.

2.1.2 贵阳地区儿童*H. pylori*的感染与性别及疾病的相关性: 贵阳地区儿童*H. pylori*的平均感染率为14.5%, 其中0-3岁的感染率为5.8%、

4-6岁为8.7%、7-9岁为21%、10-12岁为19%、13-15岁为11.8%, 其中7-12岁的感染率明显较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 其中男童为14.1%、女童为14.9%, 性别间差异无统计学意义($P > 0.05$); 浅表性胃炎的分离率为11.4%、十二指肠炎为15.9%、消化性溃疡为17.6%、浅表性胃炎伴糜烂为21.4%, 疾病间的差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1).

2.2 儿童*H. pylori*对4种抗生素的耐药情况 采用琼脂稀释界值法, 对63例*H. pylori*临床分离株进行4种常用抗菌药物的药物敏感性实验, 结果显示左氧氟沙星的耐药率为90.5%; 克拉霉素的耐药率为85.7%; 甲硝唑的耐药率为57.1%; 阿莫西林的耐药率为38.1%(表2).

2.3 *H. pylori*对两种及两种以上抗生素的耐药情况 63例*H. pylori*临床分离株中, 57株同时对克拉霉素和左氧氟沙星耐药, 二重耐药高达90.5%(57/63); 36株同时对甲硝唑、左氧氟沙星和克拉霉素耐药, 三重耐药为57.1%(36/63); 亦有24株同时对四种药物都耐药, 四重耐药率为38.1%(24/63)(表3).

3 讨论

儿童*H. pylori*感染是导致小儿胃炎和消化性溃疡的主要原因, 许多成年期的感染往往起始于

■创新盘点

贵阳地区儿童感染*H. pylori*对阿莫西林敏感性高于对其他常用药物的敏感性; 对左氧氟沙星和克拉霉素的耐药率较高, 并且多重耐药率较高.

■应用要点

本文结果为贵阳地区临床医生治疗儿童感染*H. pylori*药物的选择提供了参考.

■名词解释

细菌耐药性: 指细菌对某种抗菌药物(抗生素或消毒剂)的相对抵抗性。一般是指细菌与药物多次接触后, 对药物的敏感性下降甚至消失, 致使药物对耐药菌的疗效降低或无效。

表 2 儿童*H. pylori*临床分离株药敏试验结果

抗生素	菌株数(<i>n</i>)	敏感株(<i>n</i>)	耐药株(<i>n</i>)	耐药率(%)
甲硝唑	63	27	36	57.1
阿莫西林	63	39	24	38.1
左氧氟沙星	63	6	57	90.5
克拉霉素	63	9	54	85.7

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 3 儿童*H. pylori*临床分离株对抗生素的交叉耐药

抗生素	耐药株	耐药率(%)
甲硝唑 + 左氧氟沙星	42	66.7
甲硝唑 + 克拉霉素	35	55.6
甲硝唑 + 阿莫西林	24	38.1
克拉霉素 + 左氧氟沙星	57	90.5
克拉霉素 + 阿莫西林	30	47.6
左氧氟沙星 + 阿莫西林	29	46.0
甲硝唑 + 左氧氟沙星 + 克拉霉素	36	57.1
甲硝唑 + 阿莫西林 + 克拉霉素	23	36.5
左氧氟沙星 + 克拉霉素 + 阿莫西林	31	49.2
甲硝唑 + 左氧氟沙星 + 克拉霉素 + 阿莫西林	24	38.1

H. pylori: 幽门螺杆菌.

儿童期. 研究^[5-7]发现, *H. pylori*的感染率受地理位置及社会经济和卫生条件的影响, 目前在发达国家儿童*H. pylori*感染率为5%-15%, 我国儿童*H. pylori*的感染率为25%-64%. 本次检测的434例罹患胃炎和消化性溃疡儿童胃黏膜样本中*H. pylori*的检出率为14.5%, 男女性别间检出率差异无统计学意义. 其中7-12岁的检出率明显高于其他年龄组, 这可能与学龄儿童饮食不当, 喜食零食及不良的卫生习惯等使胃肠功能降低, 为*H. pylori*定植胃肠黏膜提供了条件. 儿童感染*H. pylori*后应该及早诊断和早期干预治疗, 否则将会严重影响儿童生长发育, 亦可降低成人消化性疾病的发生率.

治疗*H. pylori*感染常采用以抗菌药物为主的三联疗法. 目前儿科根治*H. pylori*的推荐药物为阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑. 根据文献报道, *H. pylori*对大环内酯类、甲硝唑的耐药较多, 阿莫西林较少^[8-10].

克拉霉素是大环内酯类药物, 在胃内低pH值环境下仍有较好的稳定性和杀菌作用, 其抑菌机制主要是抑制细菌的蛋白质合成, 是目前最有效的抗*H. pylori*药物. 此次研究, 克拉霉素

的耐药率为85.7%, 远高于其他国家和地区^[11,12], 也较本课题组从成人患者分离菌株的耐药率高^[13], 考虑儿科疾病治疗过程中广泛使用阿奇霉素, 而阿奇霉素也属于大环内酯类药物, 与克拉霉素之间存在很强的交叉耐药. 根据文献报道, 既往有大环内酯类应用史的患者, 在进行*H. pylori*根治时, 克拉霉素的耐药率可上升.

甲硝唑的耐药机制较为复杂, 与*rdaA*、*fraA*和*fdxB*基因突变, 导致所编码的酶突变有关. 儿童中*H. pylori*对甲硝唑的耐药率为7%-100%, 并且根据地域不同而不同, 在发达国家较低, 而在发展中国家明显升高, 并呈现逐年升高的趋势^[14,15]. 此次研究中对甲硝唑耐药率为57.1%, 与国内外报道大致相同.

儿童中对阿莫西林的耐药率为0%-18%^[16], 其耐药机制目前认为与β-内酰胺酶无关, 而与青霉素结合蛋白(penicillin binding protein, PBP)有关. 本次检测的63株*H. pylori*对阿莫西林的耐药率相对较低, 为38.1%, 仍可将其作为根治本地儿童*H. pylori*感染的首选药物.

目前, <14岁儿童很少使用喹诺酮类药物, 但此次研究中发现*H. pylori*对左氧氟沙星具有

较高的耐药率. 有分析认为, *H. pylori* 感染有家族聚集性, 儿童感染的喹诺酮耐药菌株来源于成人的可能性较大.

此外, 本研究中分离到的 *H. pylori* 耐药菌株中, 二重耐药高达90.5%, 三重耐药为57.1%, 四重耐药率为38.1%. 敏感菌株仅有3株, 均是从急性胃炎患儿体内分离, 考虑随着抗菌药物的广泛应用, 耐药菌株不断产生, 并且为根除治疗 *H. pylori* 感染造成困难.

总之, 儿童中对克拉霉素、甲硝唑和左氧氟沙星耐药率高. 因此, 在进行 *H. pylori* 根治中, 若出现根治不顺利, 应考虑到耐药菌株的出现. 在有条件的情况下, 进行细菌培养及药敏试验, 在药敏结果的指导下选择对 *H. pylori* 敏感的抗生素.

4 参考文献

- 1 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 265-270
- 2 Kusters JG. Recent developments in *Helicobacter pylori* vaccination. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2001; (234): 15-21 [PMID: 11768556]
- 3 吴晓娟, 陈峥宏, 王菲. PCR扩增16S rDNA在幽门螺杆菌感染诊断中的运用. 现代检验医学杂志 2010; 25: 76-78
- 4 Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 280-322 [PMID: 17428887 DOI: 10.1128/CMR.00033-06]
- 5 Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, Van der Merwe S, Vaz Coelho LG, Fock KM, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S, Goh KL, Wong BC, Krabshuis JH, 杜颖, 丛衍群, 戴宁. 世界胃肠病学组织(WGO-OMGE)临床指南-发展中国家幽门螺杆菌感染. 胃肠病学 2007; 12: 40-58
- 6 Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, Benoliel J, Santos A, Cabral J, Lopes AI, Ramalho PM, Monteiro L. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* Infection in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter* 2011; 16: 363-372 [PMID: 21923682 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00858.x]
- 7 Kang MJ, Song EJ, Kim BY, Kim DJ, Park JH. *Helicobacter pylori* induces vascular endothelial growth factor production in gastric epithelial cells through hypoxia-inducible factor-1 α -dependent pathway. *Helicobacter* 2014; 19: 476-483 [PMID: 25231285 DOI: 10.1111/hel.12169]
- 8 胡伏莲. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告. 临床药物治疗杂志 2008; 6: 13-18
- 9 黄德强, 罗凌玉, 丁志刚, 吕农华, 朱振华, 谢勇, 廖晚珍, 王崇文. 204例幽门螺杆菌耐药情况的分析. 江西医学院学报 2008; 48: 84-86
- 10 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781 [PMID: 17170018]
- 11 Elitsur Y, Yahav J. *Helicobacter pylori* infection in pediatrics. *Helicobacter* 2005; 10 Suppl 1: 47-53 [PMID: 16178971]
- 12 Moder KA, Lauer F, König W, König B. Rapid screening of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* by pyrosequencing. *J Med Microbiol* 2007; 56: 1370-1376 [PMID: 17893176]
- 13 毕红燕, 陈峥宏, 慕廷娜, 王菲, 毕雅坤, 王琼. 质子泵抑制剂与抗生素的联合抗菌作用. 世界华人消化杂志 2014; 22: 3547-3551
- 14 Daugule I, Rowland M. *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter* 2008; 13 Suppl 1: 41-46 [PMID: 18783521 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2008.00632.x]
- 15 Kindermann A, Lopes AI. *Helicobacter pylori* infection in pediatrics. *Helicobacter* 2009; 14 Suppl 1: 52-57 [PMID: 19712169 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00700.x]
- 16 颜伟慧, 陈洁. 儿童中幽门螺杆菌对阿莫西林耐药性和耐药机制的研究进展. 国际儿科学杂志 2006; 33: 129-131

同行评价

本文提供了贵阳近年63株儿童 *H. pylori* 的药物敏感性资料, 为临床用药提供了实验依据, 但也敲响警钟, 需合理使用抗生素, 减缓细菌耐药变异速度, 避免多耐药菌甚至超级细菌的产生.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病的诊治护理1例

王超鹏, 刘素琴

背景资料

溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病临床罕见, 该病进展迅速、损害严重, 由于其临床表现及病理特点无特异性, 造成早期诊断困难, 应引起广大医护人员重视。

王超鹏, 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京市 100053
刘素琴, 中国中医科学院广安门医院特需门诊 北京市 100053

作者贡献分布: 本文选题设计、病例提供及审校由刘素琴完成; 文献资料搜集由王超鹏完成; 写作由王超鹏完成。

通讯作者: 刘素琴, 副主任护师, 100053, 北京市宣武区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院特需门诊。

liusuqin1114@163.com

电话: 010-88001092

收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-11-07

接受日期: 2014-11-18 在线出版日期: 2015-03-18

Treatment and nursing of a case of ulcerative colitis complicated with gangrenous pyoderma

Chao-Peng Wang, Su-Qin Liu

Chao-Peng Wang, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Su-Qin Liu, Department of Special Outpatient Service, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Correspondence to: Su-Qin Liu, Associate Chief Nurse, Department of Special Outpatient Service, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang, Xuanwu District, Beijing 100053, China. liusuqin1114@163.com

Received: 2014-08-28 Revised: 2014-11-07

Accepted: 2014-11-18 Published online: 2015-03-18

Abstract

Ulcerative colitis (UC) with gangrenous pyoderma has been rarely reported. We report a case of a man who was hospitalized because of anal fistula. We found pus and blood covering the surgeon's gloves out of the anus during operation. There existed some postoperative complications, including fever, bloody purulent stool and expanding belly cankers. The patient

was diagnosed with UC by enteroscopy and rectal biopsy, and gangrenous pyoderma by skin pathology with clinical features later. After 44 d of nursing and mesalazine and hormone therapy, the patient's condition improved and belly cankers tended to heal. UC with gangrenous pyoderma has no specific clinical manifestations and pathological changes, which is difficult to diagnose early. More importantly, the disease progresses rapidly and has severe damage, and the medical staff should pay more attention.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gangrenous pyoderma; Anal fistula; Ulcerative colitis; Treatment; Nursing

Wang CP, Liu SQ. Treatment and nursing of a case of ulcerative colitis complicated with gangrenous pyoderma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1374-1378 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1374.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1374>

摘要

溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病临床较为罕见。现报道1例男性患者, 由门诊以肛瘘收入院, 行肛瘘术中发现指套染有脓血, 术后出现发热、脓血便、腹部溃疡面迅速扩大, 行电子结肠镜检查并取活检诊断为溃疡性结肠炎, 取皮肤组织病理并综合临床表现诊断为坏疽性脓皮病, 经创面护理、美沙拉嗪及激素治疗44 d后腹部溃疡面趋于愈合, 病情好转出院。由于溃疡性结肠炎并发的坏疽性脓皮病其临床表现及病理变化无特异性, 导致早期诊断较为困难, 且该病进展迅速、损害严重, 应引起广大医护人员重视。

同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 坏疽性脓皮病; 肛瘘; 溃疡性结肠炎; 治疗; 护理

核心提示: 溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病临床较为罕见, 病因尚不明确, 诊断方式尚无特异性理化指标, 治疗方面存在争议, 导致临床处理棘手, 本文通过详细病例报道并综合国内外文献, 为进一步临床研究及处理提供依据.

王超鹏, 刘素琴. 溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病的诊治护理1例. 世界华人消化杂志 2015; 23(8): 1374-1378 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1374.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i8.1374>

0 引言

坏疽性脓皮病(pyoderma gangrenosum, PG)是一种发生于皮肤的罕见的非感染性炎症疾病, 因其临床及病理学表现无特异性, 故极易漏诊误诊. 中国中医科学院广安门医院近期收治1例, 现将其临床资料及病理等报道如下.

1 病例报告

男, 78岁, 以“肛瘘”于2013-10-24收入院, 入院后于患者右侧小腹部可见一新鲜溃疡面, 约1 cm×1 cm, 底部脓性渗出, 边缘红晕明显, 左侧小腹部可见一黄豆大小红色丘疹(图1). 血常规示: 白细胞 $8.69 \times 10^9/L$, 中性粒细胞比例84.6%, C反应蛋白77 mg/L, 糖化血红蛋白6.5%, 血生化、肝炎病毒系列、梅毒筛查试验、人类免疫缺陷病毒抗原抗体检测、抗核抗体谱、抗中性粒细胞胞浆抗体、人类白细胞抗原B27(human leukocyte antigen-B27, HLA-B27)均为阴性, 考虑感染可能性大, 行抗炎治疗, 行创面清洁换药并联合应用莫匹罗星乳膏护理, 病情进展如表1. 2013-10-28行肛瘘切开术, 术中肛门指检发现指套染血伴脓液. 术后第3天患者发热, 体温最高39℃, 不欲饮食, 大便日行8-9次, 量少伴脓血, 两侧溃疡面继续扩大, 中央坏死, 色鲜红, 有脓栓, 渗出明显, 外周皮下空腔形成, 充满脓液, 边缘结黑痂(图2), 头部可见4块新鲜溃疡. 血常规白细胞 $13.07 \times 10^9/L$ 、中性细胞比率85.0%, C反应蛋白143 mg/L; 动态红细胞沉降率30 mm/h; 血培养及溃疡面脓培养均为(-). 电子结肠镜示: 直肠内多处隆起性病变, 黏膜表面血管纹理不清,

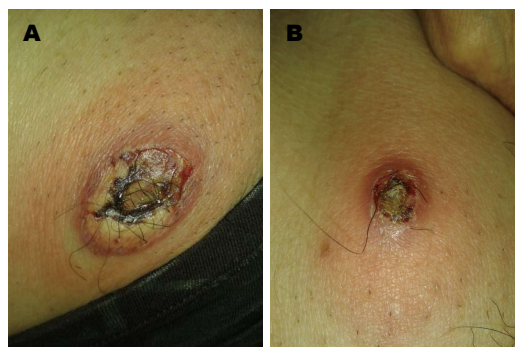


图1 入院时小腹部皮损. A: 右侧小腹部; B: 左侧小腹部.

无坏死糜烂(图3). 直肠组织病理镜检: 送检小块黏膜活检组织呈重度慢性炎伴活动性, 腺体数量减少, 局灶溃疡形成, 局灶糜烂渗出, 部分腺上皮异型增生不能确定, 部分血管壁可见以中性粒细胞为主的炎细胞浸润伴管壁均匀红染, 不排除血管炎改变(图4). 直肠组织免疫组织化学示: AE1/AE3(残存腺上皮细胞+), CEA monoclonal(残存腺上皮细胞+, 炎细胞非特异性着色), CD3(散在+), CD20(散在+), CD68(散在+), p53(-), Syn(神经内分泌细胞、神经节细胞+), CgA(神经内分泌细胞、神经节细胞+). 皮肤病理: 镜检: 送检标本可见皮肤黏膜组织, 多量以中性粒细胞为主的混合性炎细胞浸润(图4). 免疫组织化学染色示: AE1/AE3(散在细胞+), CD3(灶状+), CD20(-), CD30(-), CD68(组织细胞+). 结合临床特点考虑诊断为: 溃疡性结肠炎, 并发PG. 予美沙拉嗪肠溶片2 g/d、强的松片30 mg/d治疗, 皮肤溃疡予常规外科换药, 外周以龙珠软膏箍围溃疡面. 3 d后患者纳食好转, 体温正常, 大便次数减少, 创面分泌物明显减少, 未见继续扩大, 溃疡面变浅, 边缘黑痂逐渐脱落, 外周红晕减轻(图5A), 复查血常规示: 白细胞 $6.79 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞比率80.9%, C反应蛋白37 mg/L. 后溃疡面逐渐缩小, 大便次数日行2-3次, 无脓血及黏液, 强的松片约每2 wk减5 mg, 出院时左侧溃疡面约3 cm×2 cm, 右侧溃疡面约2 cm×1.5 cm(图5B), 一年后随访可见创面愈合良好, 未见复发(图5C).

2 讨论

本例患者最初以“肛瘘”收治入院, 术中肛门指检发现指套染血并伴有脓液, 怀疑合并有其他内科疾病, 详询病史患者大便并无明显异常改变, 仅偶有腹部疼痛. 急查肠镜示直肠内多处隆起性病变, 高度怀疑为溃疡性

■研究前沿

坏疽性脓皮病的病因尚不明确, 最新研究显示可能与T细胞异常免疫应答及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)过度表达有关, 而且该病治疗方式存在争议, 针对该病的病因学及治疗学等方面研究已成为临床研究中的一大热点.

■相关报道

Reguiat等研究发现炎症性肠病合并的坏疽性脓皮病可能与TNF- α 的过度表达相关, 其应用生物制剂抗TNF- α 抗体等治疗该病取得较好疗效, 但长期疗效及安全性有待进一步研究.

■ 创新亮点

本文通过详实的临床报道,说明溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病的临床特点、病情变化及治疗方法,并综合国内外文献阐明该病最新研究进展及常见治疗方式,对该病的临床诊治及进一步深入研究有一定的借鉴意义。

表 1 病情进展

时间	创面大小	白细胞($\times 10^9/L$)	中性粒细胞比率(%)	治疗方案
入院第1天	左: 1 cm \times 1 cm; 右: 0.5 cm \times 0.5 cm	8.69	84.6	莫匹罗星乳膏外敷
入院第7天	左: 4 cm \times 4 cm; 右: 2 cm \times 2 cm	13.07	85.0	莫匹罗星乳膏外敷; 头孢西丁钠、丁胺卡那霉素交替静滴
入院第15天	左: 10 cm \times 8 cm; 右: 6 cm \times 6 cm	10.53	84.6	美沙拉嗪肠溶片 2 g/d、强的松片 30 mg/d治疗
入院第35天	左: 8 cm \times 7 cm; 右: 5 cm \times 5 cm	6.79	80.9	美沙拉嗪肠溶片 2 g/d、强的松片 25 mg/d治疗
入院第56天	左: 3 cm \times 2 cm; 右: 2 cm \times 1.5 cm	3.72	75.3	美沙拉嗪肠溶片 2 g/d、强的松片 15 mg/d治疗

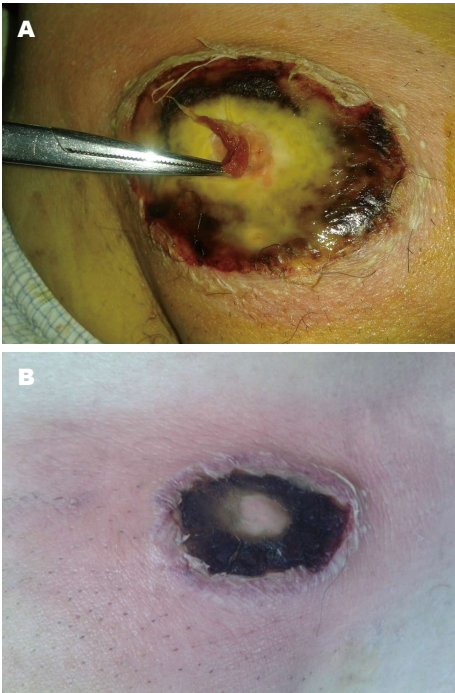


图 2 发病7 d小腹部皮损。A: 右侧小腹部; B: 左侧小腹部。

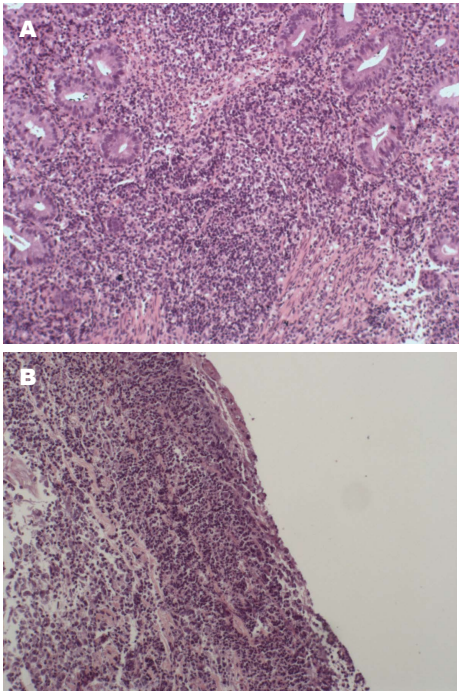


图 4 病理图片($\times 40$)。A: 直肠组织病理; B: 皮肤病理。



图 3 电子结肠镜下直肠黏膜。

■ 应用要点

本文通过完善的临床报道说明溃疡性结肠炎并发坏疽性脓皮病的诊疗过程,并综合最新国内外文献说明该病研究进展,不仅为临床上诊治该病提供依据,亦为针对该病的进一步深入研究打下基础。

形组织送病理。最终结合患者临床表现、肠镜、直肠及皮肤组织病理诊断为溃疡性结肠炎并发肛瘘及PG。

自从1930年Brunsting等^[1]报道4例溃疡性结肠炎患者并发PG以来, PG作为一罕见的非感染性炎症疾病, 散见于世界各地病案报道中, 但尚无大型临床研究。PG病因不明确, 多数学者认为该病为免疫介导的溃疡性皮肤病, 常合并有全身系统的疾病(如炎症性肠病、风湿性疾病、恶性血液系统疾病等)^[2-6], 另外外伤、注射、手术、蚊虫叮咬等皮肤的损伤亦可诱发本病^[7]。但是Powell等^[8]回顾性研究86例PG患者发现该病与炎症性肠病等并无密切联系。最新研究结果显示, 该病可能与T细胞异常免

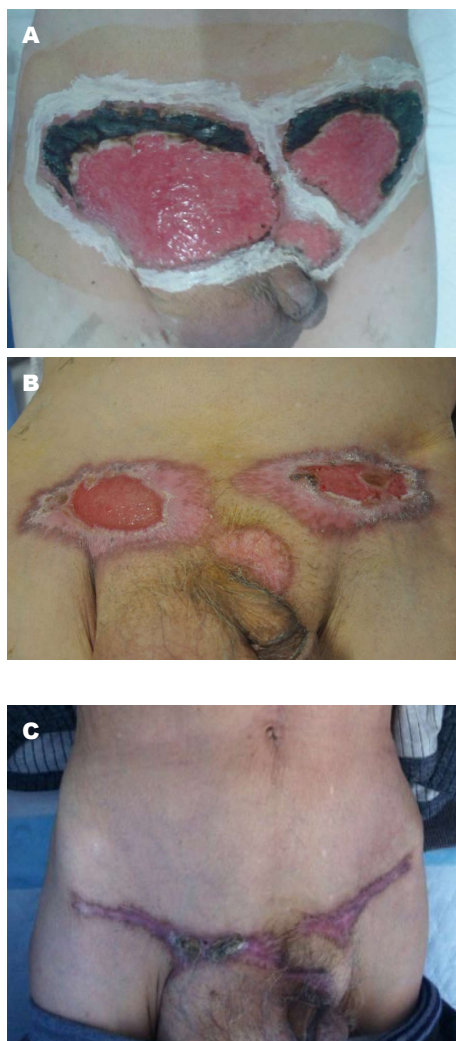


图 5 经治疗皮损变化。A: 发病15 d, 应用激素第3天; B: 发病56 d, 应用激素第44天; C: 发病1年后随访。

疫应答和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)的过度表达有关^[9]。

PG好发于下肢、躯干与面部皮肤, 且常为多发性^[10], 皮损可见脓疱型、大疱型、溃疡型、增生型4种形态, 虽然每种形态临床表现及组织病理学各不相同, 但他们常可同时出现, 其中以溃疡型最为常见^[10-12]。皮损初起时常可见一较小脓疱并伴有外周炎症浸润, 中心多于24-72 h内溃破坏死, 坏死边界以每日2 cm速度向外周迅速扩展, 创面为脓性及血性渗出, 外周形成结痂。该病实验室检查及组织病理学均无明显特异性, 因此其诊断主要依靠病史及临床表现。

治疗方面, Reichrath等^[6]提出PG的一线治疗方案为糖皮质激素[0.5-1.0 mg/(kg·d)]或环孢素[5 mg/(kg·d)]。美沙拉嗪等氨基水杨酸制剂对于溃疡性结肠炎并发的PG亦有显著疗效^[13]。最

近有研究^[14-16]发现对激素及免疫抑制剂不敏感的PG可选择性应用抗TNF- α 抗体英夫利西单, 或以大剂量免疫球蛋白冲击治疗[0.4 mg/(kg·d)]。对于单纯的局部性较为表浅的溃疡面可做局部性治疗, 如应用皮质类固醇软膏、免疫抑制剂或病灶内注射激素、高压氧疗等, 以减轻创面的疼痛、预防继发性感染的发生及促进创面愈合^[6]。

该病初期阶段常表现为体表脓肿及溃疡, 并伴有发热及白细胞升高、血沉增快, 极易误诊为皮肤感染。若诊断不明确, 处理易选择脓肿切开、通畅引流并结合应用抗生素, 但此时抗感染和清创治疗并不能控制病情, 甚至有学者认为越积极切开引流或清创溃疡反而使得病情加快发展, 故疾病未被药物充分控制时, 溃疡局部不宜行手术治疗^[6,17]。近年坏疽性脓皮病可见陆续地报道, 该病治疗的关键在于及时正确地诊断, 广大医师应警惕该病, 防止漏误诊。

■名词解释

免疫应答(IR): 指机体免疫系统受抗原刺激后, 淋巴细胞特异性识别抗原分子, 发生活化、增生分化, 进而表现出一定生物学效应的全过程(正免疫应答), 或者失去活化潜能, 出现无能、凋亡的现象。

3 参考文献

- Brunsting LA, Goeckerman WH, O'Leary PA. Pyoderma gangrenosum: clinical and experimental observations in five cases occurring in adults. *Arch Dermatol Syphilol* 1930; 22: 655-680 [DOI: 10.1001/archderm.1930.01440160053009]
- Richetta AG, Maiani E, Carboni V, Carlomagno V, Cimillo M, Mattozzi C, Calvieri S. [Pyoderma gangrenosum: case series]. *Clin Ter* 2007; 158: 325-329 [PMID: 17953284]
- La Marca S, Toussoun G, Ho Quoc C, Sebban H, Delay E. Pyoderma gangrenosum: an exceptional complication of venous access device. *J Vasc Access* 2014; 15: 321-324 [PMID: 24190068 DOI: 10.5301/jva.5000181]
- Uchino M, Ikeuchi H, Matsuoka H, Bando T, Takahashi Y, Takesue Y, Matsumoto T, Tomita N. Clinical features and management of parastomal pyoderma gangrenosum in inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 85: 295-301 [PMID: 22584791 DOI: 10.1159/000336719]
- Al Ghazal P, Herberger K, Schaller J, Strölin A, Hoff NP, Goerge T, Roth H, Rabe E, Karrer S, Renner R, Maschke J, Horn T, Hepp J, Eming S, Wollina U, Zutt M, Sick I, Splieth B, Dill D, Klode J, Dissemmond J. Associated factors and comorbidities in patients with pyoderma gangrenosum in Germany: a retrospective multicentric analysis in 259 patients. *Orphanet J Rare Dis* 2013; 8: 136 [PMID: 24010984 DOI: 10.1186/1750-1172-8-136]
- Reichrath J, Bens G, Bonowitz A, Tilgen W. Treatment recommendations for pyoderma gangrenosum: an evidence-based review of the literature based on more than 350 patients. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 273-283 [PMID: 16021123 DOI: 10.1016/j.jaad.2004.10.006]

同行评价

文章病例报告详实, 并综合国内外最新研究进展进行充分讨论, 总结结论明朗, 提出该罕见疾病的研究前沿, 为进一步深入研究提供依据, 有一定的参考价值。

- 7 Ahmadi S, Powell FC. Pyoderma gangrenosum: uncommon presentations. *Clin Dermatol* 2005; 23: 612-620 [PMID: 16325070 DOI: 10.1016/j.clindermatol.2005.01.014]
- 8 Powell FC, Schroeter AL, Su WP, Perry HO. Pyoderma gangrenosum: a review of 86 patients. *Q J Med* 1985; 55: 173-186 [PMID: 3889978]
- 9 Reguiaï Z, Grange F. The role of anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in Pyoderma gangrenosum associated with inflammatory bowel disease. *Am J Clin Dermatol* 2007; 8: 67-77 [PMID: 17428111]
- 10 Ruocco E, Sangiuliano S, Gravina AG, Miranda A, Nicoletti G. Pyoderma gangrenosum: an updated review. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 1008-1017 [PMID: 19470075 DOI: 10.1111/j.1468-3083.2009.03199.x]
- 11 Kotzampassakis N, Ksontini R. Pyoderma gangrenosum after inguinal hernia repair. *Hernia* 2012; 16: 345-347 [PMID: 21086145 DOI: 10.1007/s10029-010-0752-2]
- 12 Brooklyn T, Dunnill G, Probert C. Diagnosis and treatment of pyoderma gangrenosum. *BMJ* 2006; 333: 181-184 [PMID: 16858047 DOI: 10.1136/bmj.333.7560.181]
- 13 Lee JI, Park HJ, Lee JY, Cho BK. A case of pyoderma gangrenosum with ulcerative colitis treated with mesalazine. *Ann Dermatol* 2010; 22: 422-425 [PMID: 21165212 DOI: 10.5021/ad.2010.22.4.422]
- 14 Del Giacco SR, Firinu D, Lorrai MM, Serusi L, Meleddu R, Barca MP, Peralta M, Manconi PE. Idiopathic pyoderma gangrenosum: successful resolution with infliximab therapy and pro-inflammatory cytokines assessment. *Acta Derm Venereol* 2012; 92: 439-440 [PMID: 22392509 DOI: 10.2340/00015555-1301]
- 15 Hayashi H, Kuwabara C, Tarumi K, Makino E, Fujimoto W. Successful treatment with infliximab for refractory pyoderma gangrenosum associated with inflammatory bowel disease. *J Dermatol* 2012; 39: 576-578 [PMID: 21958000 DOI: 10.1111/j.1346-8138.2011.01346.x]
- 16 de Zwaan SE, Iland HJ, Damian DL. Treatment of refractory pyoderma gangrenosum with intravenous immunoglobulin. *Australas J Dermatol* 2009; 50: 56-59 [PMID: 19178495 DOI: 10.1111/j.1440-0960.2008.00506.x]
- 17 马朝来, 张同琳. 坏疽性脓皮病三例诊治分析. *中华外科杂志* 2007; 45: 1479-1481

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



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442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, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OA最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版43种临床医学OA期刊, 其中英文版42种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》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

■ 《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。

的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误,外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则:(1)有对等词者,直接采用原有英语词,如中风stroke,发热fever;(2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词,如八法eight principal methods;(3)英语中没有对等词或相应词者,宜用汉语拼音,如阴yin,阳yang,阴阳学说yinyangology,人中renzhong,气功qigong;汉语拼音要以词为单位分写,如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸),guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv,肌肉注射im,腹腔注射ip,皮下注射sc,脑室注射icv,动脉注射ia,口服po,灌胃ig。s(秒)不能写成S,kg不能写成Kg,mL不能写成ML,lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq,pH不能写PH或P^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*-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,℃),*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},*Vd*,*T*_{1/2},*CI*等。基因符号通常用小写斜体,如*ras*,*c-myc*;基因产物用大写正体,如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准,GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体,*r*小写正体,下角标);“原子量”应改为相对原子质量,即*A_r*(*A*大写斜体,*r*小写正体,下角标);也可采用原子质量,其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出,如37.6℃±1.2℃,45.6岁±24岁,56.4 d±0.5 d。3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg),RBC数用1×10¹²/L,WBC数用1×10⁹/L,WBC构成比用0.00表示,Hb用g/L。*M_r*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示,不明确者用g/L表示。1 M硫酸,改为1 mol/L硫酸,1 N硫酸,改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm,宽6 cm,高4 cm,应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示,例如,血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L,免疫球蛋白用mg/L;葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物;胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、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 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P 。在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD,平均数±标准误为mean±SE。统计学显著性用 $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值,则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$;第三套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 等。

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定,作为汉语词素者采用汉字数字,如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等。统计学数字采用阿拉伯数字,如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等。测量的数据不能超过其测量仪器的精密度,例如6347意指6000分之一的精密度。任何一个数字,只允许最后一位有误差,前面的位数不应有误差。在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差,一般以SD的1/3来定位数,例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g,平均数波动在百位数,故应写成3.6 kg±0.4 kg,过多的位数并无意义。又如8.4 cm±0.27 cm,其SD/3 = 0.09 cm,达小数点后第2位,故平均数也应补到小数点后第2位。有效位数以后的数字是无效的,应该舍。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→23.5→24。年月日采用全数字表达法,请按国家标准GB/T 7408-94书写。如1985年4月12日,可写作1985-04-12;1985年4月,写作1985-04;从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止,写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00;从1985年4月12日起至1985年6月15日止,写作1985-04-12/06-16,上午8时写作08:00,下午4时半写作16:30。百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100,百分数到个位;101≤分母≤1000,百分数到小数点后1位;余类推。小数点前后的阿拉伯数字,每3位间空1/4阿拉伯数字距离,如1486800.475 65。完整的阿拉伯数字不移行!

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

3 稿件格式

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

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

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

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

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

■ 《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: wjcd@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。

陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成。

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名、职称、机构的名称与文章一同在脚注出版。格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不

良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

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出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把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,须经得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。

《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://gicasymp.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.aihcc.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.aihcc.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/>

白雪 副主任医师
中国人民解放军解放军北京军区总医院普通外科

陈茂伟 教授
广西医科大学第一附属医院

程英升 教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科

杜雅菊 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

冯志杰 教授
河北医科大学第二医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

康春博 副主任医师
航天中心医院

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科

梁国刚 教授
大连医科大学附属第一医院

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

陆斌 副教授
中国人民解放军第二军医大学

吕农华 教授
南昌大学第一附属医院

马丽娜 主任医师
首都医科大学附属北京佑安医院

沈琳 副教授
北京大学临床肿瘤学院

孙星 副主任医师
上海交通大学附属第一人民医院

王德盛 教授
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王明荣 研究员
中国医学科学院肿瘤医院

文彬 研究员
广州中医药大学脾胃研究所

姚定康 教授
中国人民解放军第二军医大学附属长征医院内科

于则利 教授
首都医科大学附属北京同仁医院

禹正杨 副教授
南华大学附属第一医院

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院

张力为 教授
新疆医科大学第一附属医院

张宗明 教授
首都医科大学北京电力医院普外科

郑建明 教授
中国人民解放军第二军医大学附属长海医院

郑丽端 教授
华中科技大学同济医学附属协和医院

周建奖 教授
贵阳医学院分子生物学重点实验室

《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:

2012年1月





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

