

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2015 年 8 月 8 日 第 23 卷 第 22 期 (Volume 23 Number 22)



22 / 2015

ISSN 1009-3079



《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506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70位、广东省40位、江苏省31位、辽宁省29位、陕西省26位、黑龙江省24位、山东省20位、湖北省16位、吉林省15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、四川省11位、河北省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8位、重庆市6位、海南省4位、河南省4位、甘肃省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
纪小龙教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
柏愚副教授
蔡全才副教授
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
度必光教授
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
郑敏副教授
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
陈凛教授
陈龙奇主任医师
陈汝福教授
陈钟教授
程树群副教授
仇毓东教授
崔清波副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁义涛教授
杜顺达副教授
傅红副教授
傅晓辉副教授
高毅主任医师
葛海燕教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
胡安斌教授
黄成副主任医师
姜卫东教授
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
郑建勇副教授
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱建伟教授
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈茂伟教授
丁惠国教授
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
兰英华副教授
林潮双主任医师
刘纯杰研究员
刘正稳教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
宣世英教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师

张明辉主任医师
张一教授
赵秀英副教授
周陶友副教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

白彬主任医师

管樑主任医师
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授

消化内镜及介入治疗学

李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
钟良主任医师
诸葛宇征主任医师

消化中西医结合学

陈泽雄主任医师
杜业勤主任医师
唐文富教授
王学美研究员
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

曾柱教授
陈敬贤教授
崔莲花教授
邓安梅教授
邓庆副研究员
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
郭俊明教授
郭长江研究员
黄河副教授
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
阴赧宏研究员
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
郭会敏主管护师
郭巧珍主管护师
赫玲玲主任护师
黄砚萍副主任护师
惠娜主管护师
吉建华副主任护师
江丽萍副主任护师
江萍主任护师
金凤娟副主任护师
金爽主任护师
靳雁副主任护师
孔德玲副主任护师
李金娜主任护师
李俊玲主任护师
李卡副主任护师

李丽副主任护师
李连红主任护师
李琬主任护师
李敏香副主任护师
李雯副主任护师
李秀芬副主任护师
李淳副主任护师
廖培娇副主任护师
刘慧萍主任护师
刘永宁副主任护师
龙晓英主任护师
卢根娣主任护师
罗凝香副主任护师
马久红副主任护师
马燕兰主任护师
孟志新副主任护师
潘爱红副主任护师
潘玉凤副主任护师
齐向秀主管护师
齐艳副主任护师
乔晓斐副主任护师
乔筱玲副主任护师
任珍主任护师
史铁英主任护师
宋江美副主任护师
宋艳燕副主任护师
孙丽娟主任护师
孙莉副主任护师
孙晓美副主任护师
唐碧云副主任护师
陶然主管护师
滕莉副主任护师
田银娣主管护师
王春英主任护师
王红副主任护师
王家香主任护师
王晓春副主任护师
王宇副主任护师
王玉娟主任护师
韦键主管护师
席惠君副主任护师
谢晓芬主管护师
许璧瑜副主任护师
薛海燕副主任护师
薛素梅主任护师
杨会副主任护师
杨云英主任护师
姚丽文副主任护师
叶海丹副主任护师
尹安春主任护师
俞静娟主任护师
袁晓青副主任护师
张彩云主任护师
张洁副主任护师
张丽副主任护师
张丽燕主管护师
张琳琳副教授
张敏副主任护师
张善红副主任护师
赵艳伟副主任护师
郑粉善副主任护师
郑思琳主任护师
郑雪梅副主任护师
周文琴副主任护师
周霞霞副教授
朱秀琴副主任护师
朱颖副主任护师

目次

2015年8月8日 第23卷 第22期 (总第498期)

述评

- 3495 抗病毒药物对乙型肝炎病毒cccDNA水平的影响

钱峰, 李明, 朱传武

- 3505 砷暴露肝纤维化的发生机制

吴君

基础研究

- 3510 脂多糖诱导的M1型巨噬细胞中Pim-1的动态表达

肖明亚, 申月明, 曾亚, 黄倩倩, 许婧枫, 徐美华

临床研究

- 3517 婚育因素对中国女性食管鳞状细胞癌患者的生存影响

张冬云, 刘冉, 库建伟, 刘安丽, 赵学科, 张朋, 王静, 李寅, 吴红芳, 王立东

- 3526 c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达及其临床意义

李向阳, 卢文杰, 朱琼琼

- 3532 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子蛋白表达水平与乙型肝炎病毒慢性感染后疾病进展的相关性

叶娇娇, 马双双, 郜玉峰, 沈玉君, 沈玉先

- 3538 CD68和CD11c在肝细胞癌中的表达及临床意义

束青华, 葛勇胜, 许戈良, 马金良, 莫卫东, 余继海, 张传海, 刘文斌

- 3548 microRNA-34a在结肠癌组织中的表达及临床意义

卢书明, 张竹青, 徐梦杳, 宋波, 刘丽娜, 李岩, 李春艳

文献综述

- 3554 肝脏缺血再灌注损伤的研究进展

李伟男, 彭慈军, 舒德军, 梅永, 李雄雄, 谢万桃

- 3560 肝硬化合并细菌感染易感性机制的研究进展

李莹, 韩涛

- 3567 长链非编码RNA在结直肠癌中的表达与调控机制

姜鹤宇, 邹健, 于晓峰

- 3576 合理应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究进展

王君辅, 张平峰, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪

研究快报

- 3582 芍药苷通过调节Caspase3活性及核因子
- κ
- B信号通路诱导HepG2肝癌细胞凋亡

白春阳, 王红雷

- 3587 牛磺胆酸钠转运蛋白在肝癌大鼠肝组织中的表达状况

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明

- 3592 表皮生长因子对胰岛素-PI3K信号通路的影响及机制

胡先福, 叶火旺, 信思易, 何济满, 郭文

临床经验

- 3597 生物电阻抗分析在胃癌患者放疗期间营养评估中的应用

丁慧萍, 汪琼, 吴焱, 钱泳, 凌轶群

- 3604 联合检测甲胎蛋白和高尔基体蛋白73(ELISA法)对原发性肝癌诊断价值的Meta分析

王俊岭, 李萍, 江智龙, 杨秋辉, 李斯, 刘丹

- 3614 急诊腹腔镜手术治疗胆总管结石合并轻、中度急性胆管炎的疗效

李颖, 朱斌, 李丹, 任宇, 王岩, 宫轲, 路夷平, 阿民布和, 张能维

- 3620 腹腔镜与开腹胆总管探查术治疗胆总管结石的临床效果比较

尹碧辉

- 3624 前列地尔联合腹腔灌洗治疗高脂血症性重症胰腺炎的临床疗效

吴林, 孔晓霞, 郑永平

- 3629 DcR3、CA19-9联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值

杨健, 张旭, 张立峰, 朱东明, 张子祥, 张逸, 李德春, 周健

- 3634 二氧化碳应用于结肠息肉高频电凝电切术的临床效果

王颖, 苏连明, 刘丽, 宋彬彬, 陈爱东

- 3638 个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响

冯秀娟, 蔡惠芳, 唐学萍

- 3643 回顾性分析经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂104例

魏巍, 李保琴, 李荣先, 彭昕

- 3648 中老年消化系肿瘤患者血清C反应蛋白与各肿瘤标志物联合检测的临床意义

邱杰, 唐合兰, 李静, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏

附录

I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知

I 2015年国内国际会议预告

志谢

I 志谢世界华人消化杂志编委

消 息

- 3504 《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
3531 《世界华人消化杂志》正文要求
3547 《世界华人消化杂志》外文字符标准
3575 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
3619 《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)
3628 《世界华人消化杂志》修回稿须知
3633 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 朱传武, 教授, 主任医师, 博士生导师, 215007, 江苏省苏州市西二路2号, 苏州市第五人民医院肝病科. 现任传染科大科主任, 江苏省医学会感染病学分会委员兼学术秘书, 苏州市医学会肝病专业委员会主任委员. 担任世界华人消化杂志等多种期刊编委. 多年来一直从事病毒性肝炎的临床和基础研究, 获得10多项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表研究论文60余篇. 先后获得过苏州市劳动模范、江苏省先进工作者和全国五一劳动奖章等荣誉.

本期责任人

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2015-08-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部

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 22 August 8, 2015

EDITORIAL

- 3495 Impact of antiviral agents on levels of hepatitis B virus covalently closed circular DNA

Qian F, Li M, Zhu CW

- 3505 Mechanisms of arsenic induced liver fibrosis

Wu J

BASIC RESEARCH

- 3510 Expression of Pim-1 in classically activated macrophages induced with lipopolysaccharides

Xiao MY, Shen YM, Zeng Y, Huang QQ, Xu JF, Xu MH

CLINICAL RESEARCH

- 3517 Effects of reproductive and menstrual factors on survival of women with esophageal squamous cell carcinoma

Zhang DY, Liu R, Ku JW, Liu AL, Zhao XK, Zhang P, Wang J, Li Y, Wu HF, Wang LD

- 3526 Clinical significance of expression of c-Cbl and Cbl-b in gastric cancer

Li XY, Lu WJ, Zhu QQ

- 3532 Association between expression level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protein and disease progression in patients with chronic hepatitis B virus infection

Ye JJ, Ma SS, Gao YF, Shen YJ, Shen YX

- 3538 Clinical significance of expression of CD68 and CD11c in hepatocellular carcinoma

Shu QH, Ge YS, Xu GL, Ma JL, Jia WD, Yu JH, Zhang CH, Liu WB

- 3548 Clinical significance of expression of microRNA-34a in human colon cancer

Lu SM, Zhang ZQ, Xu MY, Song B, Liu LN, Li Y, Li CY

REVIEW

- 3554 Progress in research of liver ischemia-reperfusion injury

Li WN, Peng CJ, Shu DJ, Mei Y, Li XX, Xie WT

- 3560 Mechanisms of susceptibility to bacterial infections in cirrhotic patients

Li Y, Han T

- 3567 Expression and regulation of long non-coding RNAs in colorectal cancer

Jiang HY, Zou J, Yu XF

- 3576 Reasonable application of rectal washout in surgery for rectal cancer: Influence on prognosis and recurrence

Wang JF, Zhang PF, Xie Y, Hu L, Li CR, Li HL

RAPID COMMUNICATION

- 3582 Paeoniflorin induces HepG2 cell apoptosis by regulating Caspase3 activation and nuclear factor kappa B signaling pathway
Bai CY, Wang HL
- 3587 Sodium/taurocholate cotransporting polypeptide expression in hepatocellular carcinoma in rats
Zhang MY, Wang JP, Xia XM
- 3592 Effect of epidermal growth factor on insulin-PI3K signaling pathway and potential mechanism involved
Hu XF, Ye HW, Xin SY, He JM, Guo W

CLINICAL PRACTICE

- 3597 Validity of bioelectrical impedance analysis to assess nutritional status in patients with gastric cancer during radiotherapy
Ding HP, Wang Q, Wu Y, Qian Y, Ling YQ
- 3604 Diagnostic value of alpha-fetoprotein combined with Golgi protein 73 in primary hepatic carcinoma: A meta-analysis
Wang JL, Li P, Jiang ZL, Yang QH, Li S, Liu D
- 3614 Efficacy of laparoscopic common bile duct exploration combined with laparoscopic cholecystectomy for treatment of common bile duct stones with mild to moderate acute cholangitis
Li Y, Zhu B, Li D, Ren Y, Wang Y, Gong K, Lu YP, Amin BH, Zhang NW
- 3620 Efficacy of laparoscopic vs open common bile duct exploration in patients with choledocholithiasis
Yin BH
- 3624 Alprostadil combined with peritoneal lavage therapy for treatment of hyperlipidemic severe acute pancreatitis
Wu L, Kong XX, Zheng YP
- 3629 Clinical value of combined detection of serum decoy receptor 3 and CA19-9 in diagnosis of pancreatic cancer
Yang J, Zhang X, Zhang LF, Zhu DM, Zhang ZX, Zhang Y, Li DC, Zhou J
- 3634 Clinical effects of application of carbon dioxide in high-frequency electrocoagulation resection of colonic polyps
Wang Y, Su LM, Liu L, Song BB, Chen AD
- 3638 Impact of individualized psychological nursing intervention on quality of life and personality in colonic cancer patients on postoperative chemotherapy
Feng XJ, Cai HF, Tang XP
- 3643 Comparison of transabdominal and transperineal procedures for complete rectal prolapse: Analysis of 104 cases
Wei W, Li BQ, Li RX, Peng X
- 3648 Diagnostic value of combined detection of serum C-reactive protein and tumor markers in elderly patients with gastrointestinal tumors
Qiu J, Tang HL, Li J, Yan W, Ge SJ, Yang CM

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 23 Number 22 August 8, 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*, Chuan-Wu Zhu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, 2 Xier Road, Suzhou 215007, Jiangsu 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: *Ming-Xi Yu* Proof Editor: *Peng Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

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

PUBLISHER

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

PRODUCTION CENTER

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

PRINT SUBSCRIPTION

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

COPYRIGHT

© 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.

抗病毒药物对乙型肝炎病毒cccDNA水平的影响

钱峰, 李明, 朱传武

钱峰, 李明, 朱传武, 苏州市第五人民医院肝病科 江苏省苏州市 215007

朱传武, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事病毒性肝炎的临床免疫学和分子生物学的研究。

作者贡献分布: 本文文献检索、撰写由钱峰与李明完成; 文章选题、指导、修改及审校由朱传武完成。

通讯作者: 朱传武, 教授, 主任医师, 博士生导师, 215007, 江苏省苏州市西二路2号, 苏州市第五人民医院肝病科。
zhuchw@126.com

电话: 0512-65180193 传真: 021-65291020

收稿日期: 2015-04-13 修回日期: 2015-04-24

接受日期: 2015-05-07 在线出版日期: 2015-08-08

Impact of antiviral agents on levels of hepatitis B virus covalently closed circular DNA

Feng Qian, Ming Li, Chuan-Wu Zhu

Feng Qian, Ming Li, Chuan-Wu Zhu, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Chuan-Wu Zhu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, 2 Xier Road, Suzhou 215007, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Received: 2015-04-13 Revised: 2015-04-24

Accepted: 2015-05-07 Published online: 2015-08-08

Abstract

Chronic hepatitis caused by hepatitis B virus (HBV) infection remains an incurable disease at present, which is mainly because the approved antiviral agents, such as interferon-alpha and nucleos(t)ide analogues, cannot effectively eradicate intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA (cccDNA). And thus a suboptimal efficacy of antiviral agents and relapse after therapy occur very commonly. Therefore, novel drugs and treatment strategies

remain to be developed on the basis of further theoretical and clinical research of HBV infection to achieve the ultimate goal of eradication of HBV cccDNA in the future. In this paper, we discuss multiple agents and therapeutic regimens influencing cccDNA levels, in order to help clinicians comprehensively understand the present situation in the research of the clearance of HBV cccDNA.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Antiviral agent; Impact; Hepatitis B virus; Covalently closed circular DNA

Qian F, Li M, Zhu CW. Impact of antiviral agents on levels of hepatitis B virus covalently closed circular DNA. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3495-3504
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3495.aspx>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3495>

摘要

慢性乙型肝炎目前还是不能治愈的疾病, 主要原因是由于干扰素和核苷(酸)类似物等抗病毒药物不能有效清除肝细胞内乙型肝炎病毒共价闭环状DNA(hepatitis B virus covalently closed circular DNA, HBV cccDNA), 导致药物疗效不佳或治疗后复发。因此, 进一步加强对HBV感染的基础和临床研究, 以清除肝细胞内HBV cccDNA为目标开发新药和探讨治疗策略是今后肝病研究领域的重要课题。本文从细胞、动物和临床研究水平, 将近年来开展的影响HBV cccDNA水平的多种药物和治疗方案进行综述, 旨在为临床医师较为全面地了解清除HBV cccDNA的研究现状提供参考。

背景资料

慢性乙型肝炎经久不愈, 目前尚缺乏特异有效的根治办法, 主要是因为乙型肝炎病毒共价闭环状DNA(hepatitis B virus covalently closed circular DNA, HBV cccDNA)在肝细胞内长期存在, 目前的抗病毒药物, 不论是干扰素(interferon, IFN)还是核苷(酸)类似物, 均不能有效清除cccDNA, 导致抗病毒药物疗效有限, 或者发生停药后复发。

同行评议者

陈泽雄, 主任医师, 中山大学附属第一医院中医科

■ 研发前沿

现有的抗病毒药物难以治愈慢性HBV感染, 了解近年来在抑制HBV cccDNA方面开展的工作, 加强基础和临床研究, 开发多靶点、多靶点的抗病毒新药, 探索更加有效的治疗策略, 是目前肝脏病学领域的重要课题。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抗病毒药物; 影响; 乙型肝炎病毒; 共价闭环环状DNA

核心提示: 本文对国内外肝病学界近年来在细胞、动物和临床方面围绕清除肝细胞核内乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)共价闭环环状DNA(covalently closed circular DNA)开展的工作进行了比较全面的综述, 为临床医师了解根治HBV感染的研究现状提供参考。

钱峰, 李明, 朱传武. 抗病毒药物对乙型肝炎病毒cccDNA水平的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3495-3504 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3495.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3495>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染人体后进入肝细胞, 在细胞质中脱去核壳, 形成HBV部分双链松弛环状DNA(relaxed circular DNA, rcDNA)分子。随后HBV rcDNA进入细胞核中, 由宿主DNA聚合酶进行DNA修复, 进而在拓扑异构酶的作用下形成具有超螺旋结构的共价闭环环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)分子。HBV cccDNA是病毒前基因组RNA(pregenome RNA, pgRNA)转录的原始模板, 是建立HBV感染状态和维持病毒反复复制的分子基础。成人感染HBV后绝大部分(90%-95%)呈急性自限性过程, 宿主在清除血液中完整病毒颗粒、肝细胞内HBV rcDNA的同时, 也清除了HBV cccDNA, 患者因而获得了临床痊愈。而在慢性HBV感染过程中, 即使在有效抗病毒药物治疗下, 患者获得了血清HBV DNA抑制, 甚至获得了HBeAg血清学转换, 但停药以后病毒复发的现象非常常见^[1-3]。其主要原因是由于肝细胞核内的HBV cccDNA以微型染色体形式存在, 非常稳定, 难以被清除。因此, 抗病毒治疗需以清除肝细胞核内的HBV cccDNA为终极目标^[4], 只有这样才能彻底治愈乙型肝炎。近年来, 随着国内外肝病学界进一步加强对慢性HBV感染的研究, 大家对根治慢性乙型肝炎的愿望愈来愈强烈。本文从细胞、动物和临床研究水平就抗病毒药物对HBV cccDNA的影响作一述评, 以期为临床医师了解清除HBV cccDNA的研究现状提供参考。

1 影响HBV cccDNA的细胞水平研究

1.1 干扰素对HBV cccDNA的影响 干扰素- α (interferon alpha, IFN- α)是慢性乙型肝炎抗病毒治疗的重要药物之一, 其具有免疫促进作用, 同时也有一定的直接抗病毒活性, 因此具有双重抗病毒作用。目前普遍认为IFN- α 对HBV cccDNA不具有直接的作用。Lucifora等^[5]以IFN- α 处理HBV感染的dHepaRG细胞, 发现随IFN- α 处理时间的延长, dHepaRG细胞内cccDNA的水平显著下降, 在IFN- α 处理10 d后, 细胞内cccDNA下降了80%。他们用IFN- α 处理HBV感染的原代人肝细胞后也获得了同样的效应。进一步研究发现, IFN- α 能促进原代人肝细胞上载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽样3A(apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide-like 3A, APOBEC3A)的表达。APOBEC3A是APOBEC3家族的一员, 是一种DNA胞苷脱氨酶, 通过胞苷的广泛脱氨基作用引起外源DNA的破坏, 因而具有抗病毒效应^[6,7]。在本研究中, IFN- α 诱导的细胞cccDNA下降, 在处理后的观察期间其效应是持续的, 没有出现cccDNA反弹的现象。因此, APOBEC3A表达的增加可能是IFN- α 降解cccDNA的一种机制, 而且这种作用对宿主细胞DNA不产生影响。在慢性乙型肝炎抗病毒治疗中, Lucifora等^[5]的研究为我们重新认识和利用IFN的作用提供了新的探索空间。

抑制HBV cccDNA的转录也是根治HBV感染的重要一环。Belloni等^[8]用IFN- α 处理HepG2细胞后, HBV复制受到抑制, 发现其原因是由于cccDNA转录pgRNA和亚基因组RNA(PreS/S RNAs等)受到了抑制。在感染HBV的人原代肝细胞uPA/SCID小鼠活体研究中, IFN- α 处理后小鼠体内HBV水平显著下降, pgRNA和亚基因组RNAs也显著受到抑制。研究发现其机制是IFN- α 使多梳抑制复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2)的一些辅助抑制因子和成分获得持续补充, 引起与cccDNA结合的组蛋白尾端的一些特定赖氨酸残基发生去乙酰化或者发生甲基化, 导致cccDNA转录pgRNA和亚基因组RNAs显著下降。另外, IFN- α 也减少了转录因子STAT1和STAT2与cccDNA的结合。研究揭示, IFN- α 可以介导HBV cccDNA的转录抑制, 这有助于在分子机制上开发新的抗病毒治疗靶点。Liu等^[9]在

鸭HBV(duck HBV, DHBV)感染的鸡肝癌细胞系中, 也证实IFN- α 使与cccDNA结合的组蛋白上第9位和第27位赖氨酸乙酰化减少, 导致持久和显著的cccDNA转录抑制。另外, 在重组杆状病毒-HBV/HepG2细胞系培养中, IFN- γ 可以抑制HBV DNA的复制, 拉米夫定(lamivudine, LMV)与IFN- γ 联合处理没有增加额外的抑制效应, 但与LMV单独应用比较, 以LMV处理2 d后再序贯应用IFN- γ 处理6 d, HBV cccDNA池下降了72%。结果提示这种序贯处理具有一定的应用前景^[10]。

1.2 胞苷脱氨酶及其相关分子对HBV cccDNA的影响 Lucifora等^[5]在研究IFN- α 对HBV cccDNA影响的同时, 他们还研究了淋巴毒素- β 受体激活与cccDNA降解的关系。以淋巴毒素- β 受体激动剂处理HBV感染的dHepaRG细胞, 12 d以后dHepaRG细胞内cccDNA大约下降了90%。进一步研究揭示, 淋巴毒素- β 受体的激活显著上调了dHepaRG和原代人肝细胞表达APOBEC3B, 以及引起少量APOBEC3G的表达。淋巴毒素- β 受体激活以剂量依赖性方式诱导APOBEC3B的表达, 其表达的水平在连续处理期间稳定增加。在dHepaRG细胞中抑制APOBEC3B基因表达以后, cccDNA的脱氨基作用也随之减少。因此, 在淋巴毒素- β 受体激活后, 细胞产生的APOBEC3B胞苷脱氨酶起到了降解HBV cccDNA的作用^[11]。一项研究^[7]也显示, 在HBV持续携带者和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者中, APOBEC3B等位基因缺失的频率显著高于正常人, 表明APOBEC3B表达异常对乙型肝炎患者是不利的。

在DHBV的细胞研究中, 激活诱导胞苷脱氨酶(activation-induced cytidine deaminase, AID)的过度表达可以引起DHBV cccDNA链上C到U的转换, 导致cccDNA水平下降, 这主要依赖于尿嘧啶-DNA糖基化酶(uracil-DNA glycosylase, UNG)的作用。UNG是一个宿主核因子, 可以去除尿嘧啶化DNA链上的尿嘧啶碱基, 启动碱基切除修复(base excision repair, BER), 使DNA得到修复或剪切。因此, 通过胞苷脱氨基和尿嘧啶剪切的AID/UNG途径可以触发cccDNA的降解^[12]。

1.3 RNA干扰对HBV cccDNA的影响 RNA干扰技术为抗HBV治疗开辟了一个新的途径。Li等^[13,14]研究了HepG2.2.15细胞中针对HBV核

定位信号(nuclear localization signal, NLS)区的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)的作用。发现siRNA显著抑制了HBV cccDNA的复制, 联合应用3种针对NLS区不同位点的siRNAs, 具有更强的抑制作用。结果提示, 以HBV NLS区作为siRNA的靶位具有抗HBV治疗的潜能。Xin等^[15]构建重组质粒psil-HBV并转染到HepG2.2.15细胞中, 同样发现联合应用siRNA具有显著的抗HBV效应, cccDNA的扩增得到显著抑制。在HepG2.2.15细胞中, 联合应用针对HBV cccDNA和X蛋白的siRNAs可以获得类似的cccDNA抑制效应^[16]。

与siRNA相比, 载体介导的短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)能够诱导持续的RNA干扰。Kim等^[17]构建2种针对HBx蛋白的shRNA(sh1580 and sh1685), 克隆到HIV质粒U6启动子的下游, 形成一个慢病毒载体。将含有shRNAs的慢病毒载体转染到HepAD38细胞中, 发现sh1580和sh1685对HBV cccDNA的抑制率分别达到19.7%和25.5%。研究提示, 针对HBx的shRNA能够有效降低HBV cccDNA的水平。

siRNA除了在转录后水平调节基因的表达以外, 也可以引起转录基因的沉默, 这主要是通过RNA干扰介导的异染色质形成和RNA指导的DNA甲基化(RNA-directed DNA methylation, RdDM)而实现的。Park等^[18]将针对HBx蛋白的shRNA用慢病毒载体转染到人肝癌细胞HepAD38中, 发现shRNA诱导的CpG甲基化显著高于对照组(31.3% vs 12.8%), 且在发生CpG甲基化的细胞克隆中有半数以上均定位于shRNA针对的目标序列附近。甲基化诱导的转录抑制在体外转录实验中也得到证实。因此, 通过对HBV cccDNA的修饰, 即通过RdDM作用, 可以实现对cccDNA的转录调节。

1.4 核酶及其他DNA切割酶对HBV cccDNA的影响 较早的研究^[19,20]表明, 锌指蛋白可以抑制单纯疱疹病毒和DHBV的转录。Cradick等^[21]设计了多对针对HBV cccDNA不同区域的锌指核酶(zinc-finger nucleases, ZFNs), 这些ZFNs含有序列非依赖性限制酶FokI的切割结构域, 并且与锌指蛋白结构域串联融合, 特异地结合新的DNA序列。将构建好的ZFNs载体与含有HBV基因组的质粒共转染到Huh7细胞中, 在培养3 d以后, 26%的靶质粒被切割为线性DNA, 10%的靶质粒被切割成尾尾相接的DNA, 这种尾尾相

■ 相关报道

本文对抗病毒药物在影响HBV cccDNA水平方面的研究做了比较全面和系统的介绍, 目前在此方面的相关报道主要涉及到一些具体的体外或体内研究。

■ 创新盘点

文章总结了近年来从基础到临床在抑制HBV cccDNA方面开展的研究, IFN和核苷(酸)类似物能够降低患者肝内cccDNA的水平, 但IFN具有直接降解cccDNA的作用; 胞苷脱氨酶、RNA干扰、核酶及其他DNA切割酶、一些小分子化合物等在降解和抑制cccDNA方面具有进一步的开发潜能, 现有抗病毒药物的治疗策略对cccDNA的影响也值得进一步研究。

接的连环体不能产生功能性的病毒, 线性DNA也无转录活性。研究结果首次表明, 应用针对HBV cccDNA的ZFNs对治疗慢性乙型肝炎具有开发研究的价值。Weber等^[22]最近设计了针对HBV基因组P、C和X基因区的3个ZFNs, 将这些HBV特异性的ZFNs与自我互补腺相关病毒(self-complementary adeno-associated virus, scAAV)构建成载体并转染到HepAD38细胞中, 以检验ZFNs的抗HBV活性。结果显示, 这些ZFNs有效地切割了HBV靶点, 其中针对P区的ZFN导致HBV DNA复制被完全抑制, 不能产生感染性病毒颗粒, 此种效应在1次处理后可以维持2 wk。3个ZFNs均具有高度的特异性, 通过高通量测序仅见微量的靶外切割。研究表明, HBV特异性ZFNs能够有效抑制HBV DNA和cccDNA的复制, 对根治HBV感染具有应用前景。

转录激活因子样效应核酶(transcription activator-like effector nucleases, TALENs)是一种新开发的核酶, 能够切割序列特异性DNA靶位, 因此具有使HBV cccDNA失能的作用。Bloom等^[23]设计了针对HBV基因组S和C基因序列的TALENs, 发现在HepG2.2.15细胞中TALENs有效地切割了HBV cccDNA靶位, 抑制了病毒复制, 其中针对S基因的TALEN使cccDNA发生定性变异率达到35%。研究证明, 靶向核酶技术可以介导HBV cccDNA的裂解。在类似的研究中, 构建针对HBV DNA保守序列的TALENs, 发现在转染全长单股线性HBV DNA的Huh7细胞中, TALENs的表达显著降低了HBeAg、HBsAg、HBcAg和pgRNA的水平, cccDNA的水平也显著下降, 因此TALENs可以特异性地使HBV基因组失活。并且, TALENs使受到HBV抑制的IFN刺激应答元件指导的转录得到恢复, 与IFN- α 联合应用可以提高抗病毒效应^[24]。因此, 研究也提示TALENs与IFN- α 具有潜在的协同抗病毒效应。除了ZFNs和TALENs以外, CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/CRISPR-associated(Cas)系统是源自细菌和古生菌免疫系统的一个新的基因组编码工具, 为宿主抵抗外来病毒或质粒入侵提供保护^[25-27]。CRISPR/Cas9系统包含2个短RNAs和1个DNA核酸内切酶Cas9, 短RNAs复合体指引Cas9 DNA核酸内切酶切割目标DNA序列。Lin等^[28]设计了8个针对基因A型HBV的引导RNAs, 构

建了HBV特异性的CRISPR/Cas9系统。在转染了HBV表达载体的Huh7细胞中, 该系统显著降低了HBV核心和表面蛋白的产生。经过筛选, RNA P1和RNA XCp是所设计的8个引导RNAs中最为有效的, 其中针对HBV保守序列的引导RNA XCp可以作用于HBV的不同基因型。研究表明, CRISPR/Cas9系统能够降解HBV cccDNA, 具有根除HBV感染的潜能。

另外, Schiffer等^[29]以数学模型的方法设计了针对HBV cccDNA的切割酶, 其作用的过程也是将表达切割酶的基因导入病毒载体再转染到肝细胞中。模型模拟显示, 病毒载体进入靶细胞的效率高, 体液免疫只能有限清除病毒载体, 酶和DNA靶位具有很强的结合力, 因此对cccDNA的破坏水平很高。但是, 在DNA切割酶不能有效控制cccDNA复制的情况下, 切割酶的初始耐药可能会发生。模型预测显示, 如果针对cccDNA不同序列的多个切割酶联合应用, 或者将不同的切割酶序贯应用, 则可以预防产生多酶耐药。

1.5 其他研究 Cai等^[30]在85000多种化合物中筛选出2种结构相关的双取代磺胺类药物(disubstituted sulfonamides, DSS), 目前称为CCC-0975和CCC-0346。在细胞培养中以很低的浓度即开始起效, 证实他们具有作为cccDNA抑制剂的作用。进一步研究其作用机制, 发现DSS化合物既不直接抑制HBV DNA的复制, 也不降低病毒聚合酶的活性, 同时, 也不促进cccDNA和rcDNA在肝内的降解。其机制是干预rcDNA向cccDNA的转化, 最终导致HBV cccDNA及rcDNA水平降低。在鸭HBV感染的原代鸭肝细胞培养中, CCC-0975能够减少cccDNA的生物合成。这项研究首次证实了小分子化合物对HBV cccDNA的作用。因此, 作为根除HBV cccDNA的药物, DSS化合物具有进一步验证的价值。

在利用免疫细胞清除HBV cccDNA的研究方面, 有学者设计了针对HBV表面蛋白的嵌合型T细胞受体, 并用以表达在原代人T细胞上, 因此这种受体具有抗体的特异性。该受体包含一个针对HBV表面蛋白的单链抗体片段和共刺激CD28分子。当这种嵌合型受体以反转录方法导入并表达于细胞表面的时候, 能够使原代人T细胞识别产生HBsAg的肝细胞, 释放IFN- γ 和白介素-2, 导致HBV复制的肝细胞

溶解. 在与HBV感染的原代人肝细胞共同培养的过程中, 这种设计的抗原特异性T细胞能够选择性清除HBV感染的肝细胞, 并最终根除所有cccDNA阳性的靶细胞^[31]. 研究结果提示, 利用这种加工改造的T细胞进行过继免疫, 可能为清除HBV cccDNA提供一种新的治疗方法. 当然, T细胞治疗也会引起肝细胞损伤, 如果将来这种治疗方法得以进一步研究和开发, 尚需进行大量的临床前研究.

2 影响HBV cccDNA的动物水平研究

2.1 RNA干扰对HBV cccDNA的影响 在HBV转基因鼠模型的研究中, 实验结果显示siRNA显著抑制了HBV cccDNA的扩增, 对病毒复制和抗原表达具有较好的抑制效应^[32]. Li等^[33]设计了3个针对HBV不同位点的siRNAs, 在HBV转基因鼠的实验研究中发现3个siRNAs均有显著的抗病毒活性, siRNAs特异性地抑制HBsAg表达和HBV DNA复制, 并呈剂量依赖性关系. siRNAs联合应用比单独使用具有更强的病毒抑制效应, 联合使用后对鼠血清中HBsAg和HBeAg的抑制率均达到96%以上, 肝组织中HBsAg阳性细胞减少了91%, 病毒mRNA和DNA的抑制水平分别是对照组的90.0%和87.7%. 研究结果表明, 在HBV转基因鼠中, siRNA的应用可以干扰cccDNA的功能, 联合应用可以介导更强的病毒抑制作用.

2.2 核酶及其他DNA切割酶对HBV cccDNA的影响 Bloom等^[23]除了在细胞水平证实TALENs具有对HBV cccDNA的抑制效应以外, 在HBV复制的鼠模型活体研究中也同样发现TALENs对病毒复制的抑制作用. Lin等^[28]对CRISPR/Cas9系统在动物水平的抗病毒活性也进行了验证. 将HBV表达载体与CRISPR/Cas9双表达载体共同注射到C57BL/6系小鼠尾静脉中, 发现在注射HBV特异性引导RNA P1和RNA XCp以后, 小鼠血清HBsAg水平显著下降, 肝内HBV表达载体的水平也显著下降. 采用T7E1分析法进一步证实, 这种对靶序列的特异性切割是由CRISPR/Cas9系统完成的; 对注射引导RNA P1的小鼠取肝内HBV DNA进行克隆测序, 也证明HBV基因组的破坏是CRISPR/Cas9系统作用的结果. 研究提示, CRISPR/Cas9系统可以切割HBV基因组表达模板, 促进cccDNA的清除.

2.3 胞苷脱氨酶及其他研究 Kitamura等^[34]

在DHBV复制模型中研究了胞苷脱氨酶对cccDNA的作用. DHBV DNA测序分析表明, cccDNA中G到A或C到T的累积变异主要见于表达APOBEC3G的细胞, 并且在UNG被抑制后这种变异的增加更为显著. cccDNA的高变异在基因P区产生了很多终止密码, 抑制UNG也提高了APOBEC3G抑制病毒复制的作用. 在长期培养中, rcDNA、pgRNA和分泌性病毒颗粒相关的DNA水平均下降. 如果APOBEC3G的催化位点发生变异, 抑制UNG则不能提高APOBEC3G介导的病毒抑制作用. 转染研究表明, 既抑制UNG又促进APOBEC3G表达, 可以显著降低cccDNA的复制能力.

Menne等^[35]在土拨鼠肝炎模型中研究了小分子Toll样受体7(Toll-like receptor 7, TLR7)激动剂GS-9620对土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)的影响. 在对GS-9620的药代动力学、药效动力学和耐受性进行评估后, 给予WHV慢性感染的土拨鼠应用GS-9620或安慰剂处理4-8 wk. 结果显示, 在GS-9620处理后, 土拨鼠血清病毒DNA、肝脏WHV cccDNA和WHV RNA的水平获得了快速、显著和持续的下降, WHV表面抗原也消失, 其中血清病毒DNA下降的最大均值达到6.2 log10, 并且有一组动物在GS-9620处理后诱导了持续的表面抗体应答. HCC的发病率在安慰剂对照组是71%, 而在获得持续性病毒学应答的GS-9620处理组中, HCC的发病率仅为8%. 同时, GS-9620引起可逆性的血清肝脏酶学升高, 血小板减少, 诱导了肝内CD8⁺ T细胞, NK细胞、B细胞和IFN应答等免疫学反应. 因此, 该研究提示TLR7激动剂GS-9620在HBV感染患者中具有开发研究的价值.

另外, 在慢性HBV感染中, 免疫介导的细胞损伤和代偿性肝细胞再生有利于cccDNA的下降, 并选择出无cccDNA的肝细胞生长. 有学者研究了肝脏再生对活体内cccDNA稳定性和活性的影响. 使用uPA/SCID小鼠动物模型, 从高病毒血症的uPA/SCID嵌合型小鼠体内分离感染了绒毛猴HBV(woolly monkey HBV, WM-HBV)的原代树鼯肝细胞(primary tupaia hepatocytes, PTH), 将其移植到20只uPA受体鼠. 发现WM-HBV感染的肝细胞被移植到受体鼠以后, 细胞在80 d内平均增加了3.8倍, 病毒体(包括rcDNA和cccDNA)的产生减少了

应用要点

以目前抗病毒药物为基础, 探索更加优化的治疗策略, 进一步降低患者肝内HBV cccDNA的水平, 甚至在部分患者体内达到清除cccDNA的目标. 同时, 随着基础研究的深入, 为阻断HBV cccDNA的形成或转录开发多环节、多靶点的药物提供可能.

■名词解释

乙型肝炎病毒共价闭环状DNA (HBV cccDNA): 是嗜肝DNA病毒HBV基因组的复制中间体, 长期存在于肝细胞核中, 是病毒前基因组RNA和部分基因mRNA合成的原始模板, 在HBV复制过程中起关键作用, 其长期存在和复制是HBV慢性感染的最主要原因。

75%, 病毒pgRNA和HBcAg水平表达降低。特别是在PTH再生期间, 每个细胞cccDNA平均下降2 log值。分析其原因, 一方面是由于子代细胞cccDNA池被稀释, 另一方面是由于肝内cccDNA载量下降了0.5 log值。肝内病毒DNA在研究末期仍然持续存在, 最主要的原因还是由于cccDNA未被清除, 而不是由于存在整合型病毒。研究^[36]结果表明, 在肝脏再生过程中, 肝细胞分裂可以引起cccDNA池不稳定, 导致大多数感染病毒的肝细胞发生cccDNA清除。临床上, 部分慢性乙型肝炎患者在发病中伴随着肝细胞的坏死和再生, 在没有抗病毒的情况下, 或者在适时采用抗病毒药物治疗以后, 获得了HBsAg的消失或血清学转换, 也可能存在上述机制的作用。

3 影响HBV cccDNA的临床研究

3.1 核苷(酸)类似物单药治疗对HBV cccDNA的影响 Yuen等^[37]较早研究了LMV治疗对患者HBV cccDNA的影响。在LMV治疗1年期间, 82例患者血清HBV cccDNA在24 wk和52 wk分别下降了2.21 log₁₀和2.12 log₁₀拷贝/mL, 而安慰剂对照组仅分别下降0.31 log₁₀和0.2 log₁₀拷贝/mL。发生LMV耐药的患者cccDNA的下降显著低于无耐药患者。在一项包括LMV、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil, ADV)、恩替卡韦(entecavir, ETV)、替比夫定和克来夫定治疗的研究中, 124例患者接受了1年的抗病毒治疗, 肝内总HBV DNA下降2 log₁₀拷贝/细胞, cccDNA下降1 log₁₀拷贝/细胞, 其中5例患者cccDNA不可测出^[38]。对于抗病毒治疗获得病毒学应答的患者, 肝内cccDNA水平随着治疗时间的延长而进一步降低, 病毒学应答持续35 mo以上、血清抗-HBe阳性持续30 mo以上者, 有超过60%以上的病例肝内cccDNA水平低于检测下限^[39]。

在ETV 3期临床研究的部分患者中, 接受ETV治疗48 wk以后, 肝内HBV cccDNA下降1 log₁₀, 治疗后cccDNA是肝内HBV DNA存在的主要形式^[40], 因此也成为治疗后患者病毒复发的主要原因。类似的研究也显示, 在LMV治疗52 wk后肝内HBV DNA, 包括cccDNA均降低, 肝内cccDNA与总HBV DNA的比值较治疗前显著增加, 也提示cccDNA是治疗后肝内病毒存在的主要方式^[41]。有学者^[42]发现, 在ADV治疗12 wk以后, 患者肝内总HBV DNA和

cccDNA显著下降, 而随着病毒水平的降低, 患者也获得了抗病毒免疫的部分恢复。

抗病毒药物的强度对HBV cccDNA水平的影响也是令人关注的, 一项研究^[43]比较了ETV和ADV治疗对患者肝内cccDNA的影响。治疗48 wk时, 两组患者肝内cccDNA水平均轻度下降, 与安慰剂对照组比较均无统计学差异。但多因素回归分析提示, 治疗引起的cccDNA下降与肝脏Knodell坏死炎症程度和Ishak纤维化程度的改善密切相关。因此, 尽管ETV或者ADV治疗1年不足以根除cccDNA, 但通过长期抗病毒治疗在获得肝脏组织学改善以后, 则有利于抑制肝内cccDNA。

Ruan等^[44]比较了急性乙型肝炎和接受抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者肝内HBV cccDNA的变化。急性乙型肝炎患者肝内cccDNA的中位水平是0.002拷贝/细胞, 显著低于慢性乙型肝炎患者的水平。慢性乙型肝炎抗病毒治疗取得病毒学应答和HBsAg消失的患者肝内cccDNA的中位水平为0.012拷贝/细胞, 比原发性治疗失败的患者(4.18拷贝/细胞)显著为低, 但与仅获得病毒学应答患者比较无统计学差别(0.039拷贝/细胞)。进一步分析表明, 肝内cccDNA的水平与血清ALT、HBeAg和肝内总HBV DNA水平呈正相关关系, 而与血清HBV DNA和HBsAg水平无显著相关关系。该研究结果提示, 即使在急性乙型肝炎和抗病毒治疗取得HBsAg阴转的慢性乙型肝炎患者中, 肝内也仍然存在HBV cccDNA。最近的一项研究^[45]也得出类似的结果。在ETV治疗的120例HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者中, 有20例在治疗前后均进行了肝脏活检。治疗48 wk时, 肝内HBV cccDNA的中位水平从基线的 5.1×10^6 拷贝/mL降至 2.4×10^3 拷贝/mL, cccDNA虽有显著下降, 但均未被清除。

从总体上看, 在核苷(酸)类似物治疗48 wk时患者肝内cccDNA下降的程度是有限的, 要获得更好的疗效, 在不发生耐药的情况下, 长期的治疗是必需的, 这样可能会最大限度地耗竭cccDNA池的储量。

3.2 IFN及其与核苷(酸)类似物联合治疗对HBV cccDNA的影响 陆海英等^[46]研究了71例接受LMV, IFN- α 单药治疗或LMV-IFN- α 序贯治疗患者肝内HBV cccDNA的变化。治疗结束时, LMV-IFN- α 序贯、LMV和IFN- α 治疗的患者肝内cccDNA水平分别为3.4 log₁₀, 3.8 log₁₀和

5.0 log10, 均显著低于治疗前的基线水平. 出现HBeAg血清学转换的患者, 肝内cccDNA下降的幅度显著大于HBeAg未消失的患者(3.0 log10 vs 1.6 log10). 抗病毒治疗患者肝内cccDNA的变化与HBV基因型无关. 并且发现, 治疗12 wk时取得病毒学应答的患者肝内cccDNA下降的中位水平为1.1 log10, 而无病毒学应答者下降了0.5 log10, 两者存在显著统计学差异, 提示治疗12 wk的病毒学应答对肝内cccDNA的下降具有预测价值^[47].

在26例接受聚乙二醇IFN- α 2b(PEG-IFN- α 2b)和ADV联合治疗的患者中, 治疗48 wk时肝内总HBV DNA和cccDNA中位水平分别下降了2.2 log10和2.4 log10, 发生HBeAg消失的患者肝内cccDNA水平比未消失患者更低, HBsAg阳性肝细胞数量明显减少, 其中4例患者发生了HBsAg血清学转换^[48]. 结果表明, 联合治疗可以显著降低肝内cccDNA, 因而有利于患者获得HBsAg的阴转. 在17例接受PEG-IFN- α 2b和ETV联合治疗的患者中, 治疗48 wk时, 肝内cccDNA均值下降到1.4 log拷贝/ μ g. 11例未发生病毒学复发的患者中, 治疗结束时绝大多数患者cccDNA水平很低, 只有2例cccDNA水平高于4.5 log拷贝/ μ g, 而所有复发的患者肝内cccDNA水平均较高^[49]. 该研究也提示, 联合治疗有利于降低慢性乙型肝炎患者肝内cccDNA水平. 因此, 对现有的抗病毒药物在治疗策略上进行进一步探讨, 对提高慢性乙型肝炎临床治愈率有非常重要的现实意义.

4 结论

应用现有的抗病毒药物, 以及参考目前国内外各个肝病指南推荐的抗病毒治疗方案, 在很大程度上难以有效清除HBV cccDNA. IFN除了已知的作用机制以外, 随着对其开展的进一步探讨, 发现IFN还具有直接降解HBV cccDNA的作用^[50]. 因此, 针对患者的免疫学水平, 病毒学状况, 以及可能正在实施的抗病毒方案, 研究新的IFN治疗策略, 包括更合适的时机, 药物的剂量、疗程, 与核苷(酸)类似物的序贯或联合治疗等等, 可能会在现有药物的基础上使患者获得更高的HBsAg消失率或血清转换率, 进一步提高患者的临床治愈率. 而核苷(酸)类似物主要是病毒DNA聚合酶抑制剂, 只是干预细胞浆内pgRNA反转录形成病毒负链DNA和以负链为模板合成正链DNA的过程. 治疗期间引

起cccDNA的降低主要是子代病毒量的减少, 导致rcDNA也相应减少, 最终导致cccDNA补充不足. 另外, 抗病毒治疗获得的肝脏组织学改善引起cccDNA池的不稳定, 使很多感染了病毒的肝细胞发生cccDNA被清除. 因此, 核苷(酸)类似物治疗导致的cccDNA下降是一个间接的过程, 长期有效的治疗可能具有耗竭HBV cccDNA的作用.

除了目前被批准上市的抗病毒药物以外, 开发新的能清除HBV cccDNA的药物是患者和医生的共同期待. 通过上述在细胞、动物和临床上开展的研究, 让我们对今后治愈慢性乙型肝炎抱有很大的信心. 从理论上说, 在HBV复制环节上, 从HBV脱去外膜进入肝细胞, 在细胞浆中脱去核膜成为rcDNA并进入细胞核, cccDNA的形成及其转录, pgRNA的合成与装配, 到子代病毒的装配与释放等等, 如果能够在这些HBV复制环节和靶点上再多开发一些有效的药物, 我们将会更多的措施应对目前的困局. 当然, 对于治愈HBV感染来说, 最重要的还是要考虑到cccDNA的因素. 鉴于cccDNA是在细胞核内形成的, 因此, 清除cccDNA的药物最好能够在细胞核内cccDNA形成的各个环节上发挥作用. 但对于cccDNA分子在细胞核内形成的一些关键环节, 目前还不十分清楚, 诸如rcDNA分子是如何通过核转位从细胞浆进入细胞核的? rcDNA在细胞核内是如何去掉负链的末端蛋白和正链寡RNA帽的? 部分互补的rcDNA是如何启动缺口修复程序的? 修补的DNA聚合酶是来自病毒自身还是宿主的? cccDNA是利用病毒自身还是宿主的解旋酶、拓扑异构酶等从环状双链分子进一步折叠形成超螺旋cccDNA分子的等. 今后, 在深入开展对HBV分子生物学研究的基础上, 通过新药研发和进一步的临床研究, 彻底清除HBV cccDNA, 治愈乙型肝炎的目标是完全可能实现的.

同行评价

本文能结合目前国内外乙型肝炎领域的治疗难点和热点立项, 对近年来国内外开展的影响HBV cccDNA水平的多种药物和治疗方案进行了综合分析, 为专业人员全面地了解清除HBV cccDNA的研究现状提供有价值的参考. 文章的撰写思路清晰, 层次分明, 逻辑性强.

5 参考文献

- Chen TM, Chang CC, Huang PT, Wen CF, Lin CC. Performance of risk estimation for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B (REACH-B) score in classifying treatment eligibility under 2012 Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) guideline for chronic hepatitis B patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 243-251 [PMID: 23171385 DOI: 10.1111/apt.12144]
- Koh C, Zhao X, Samala N, Sakiani S, Liang TJ,

- Talwalkar JA. AASLD clinical practice guidelines: a critical review of scientific evidence and evolving recommendations. *Hepatology* 2013; 58: 2142-2152 [PMID: 23775835 DOI: 10.1002/hep.26578]
- 3 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]
- 4 Levrero M, Pollicino T, Petersen J, Belloni L, Raimondo G, Dandri M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2009; 51: 581-592 [PMID: 19616338 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.022]
- 5 Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, Zhang K, Stadler D, Cheng X, Sprinzl MF, Koppensteiner H, Makowska Z, Volz T, Remouchamps C, Chou WM, Thasler WE, Hüser N, Durantel D, Liang TJ, Münk C, Heim MH, Browning JL, Dejardin E, Dandri M, Schindler M, Heikenwalder M, Protzer U. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 2014; 343: 1221-1228 [PMID: 24557838 DOI: 10.1126/science.1243462]
- 6 Narvaiza I, Linfesty DC, Greener BN, Hakata Y, Pintel DJ, Logue E, Landau NR, Weitzman MD. Deaminase-independent inhibition of parvoviruses by the APOBEC3A cytidine deaminase. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000439 [PMID: 19461882 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000439]
- 7 Stenglein MD, Burns MB, Li M, Lengyel J, Harris RS. APOBEC3 proteins mediate the clearance of foreign DNA from human cells. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 222-229 [PMID: 20062055 DOI: 10.1038/nmsb.1744]
- 8 Belloni L, Allweiss L, Guerrieri F, Pediconi N, Volz T, Pollicino T, Petersen J, Raimondo G, Dandri M, Levrero M. IFN- α inhibits HBV transcription and replication in cell culture and in humanized mice by targeting the epigenetic regulation of the nuclear cccDNA minichromosome. *J Clin Invest* 2012; 122: 529-537 [PMID: 22251702 DOI: 10.1172/JCI58847]
- 9 Liu F, Campagna M, Qi Y, Zhao X, Guo F, Xu C, Li S, Li W, Block TM, Chang J, Guo JT. Alpha-interferon suppresses hepadnavirus transcription by altering epigenetic modification of cccDNA minichromosomes. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003613 [PMID: 24068929 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003613]
- 10 Parvez MK, Sehgal D, Sarin SK, Basir SF, Jameel S. Inhibition of hepatitis B virus DNA replicative intermediate forms by recombinant interferon-gamma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3006-3014 [PMID: 16718779]
- 11 Zhang T, Cai J, Chang J, Yu D, Wu C, Yan T, Zhai K, Bi X, Zhao H, Xu J, Tan W, Qu C, Lin D. Evidence of associations of APOBEC3B gene deletion with susceptibility to persistent HBV infection and hepatocellular carcinoma. *Hum Mol Genet* 2013; 22: 1262-1269 [PMID: 23213177 DOI: 10.1093/hmg/dd513]
- 12 Chowdhury S, Kitamura K, Simadu M, Koura M, Muramatsu M. Concerted action of activation-induced cytidine deaminase and uracil-DNA glycosylase reduces covalently closed circular DNA of duck hepatitis B virus. *FEBS Lett* 2013; 587: 3148-3152 [PMID: 23954625 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.07.055]
- 13 Li GQ, Gu HX, Li D, Xu WZ. Inhibition of Hepatitis B virus cccDNA replication by siRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 355: 404-408 [PMID: 17300745]
- 14 Li GQ, Yu DM, Lu J, Chen SL, Zhao JY, Wang YC. Study of the efficacy of combination therapy of SiRNAs in HepG2.2.15 cells. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 570-574 [PMID: 21661433]
- 15 Xin XM, Li GQ, Jin YY, Zhuang M, Li D. Combination of small interfering RNAs mediates greater suppression on hepatitis B virus cccDNA in HepG2.2.15 cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3849-3854 [PMID: 18609708]
- 16 Xie Q, Zhang S, Wang W, Li YM, Du T, Su XL, Wei YQ, Deng HX. Inhibition of hepatitis B virus gene expression by small interfering RNAs targeting cccDNA and X antigen. *Acta Virol* 2012; 56: 49-55 [PMID: 22404609]
- 17 Kim JW, Lee SH, Park YS, Jeong SH, Kim N, Lee DH. [Inhibition of in vitro hepatitis B virus replication by lentivirus-mediated short-hairpin RNA against HBx]. *Korean J Hepatol* 2009; 15: 15-24 [PMID: 19346782 DOI: 10.3350/kjhep.2009.15.1.15]
- 18 Park HK, Min BY, Kim NY, Jang ES, Shin CM, Park YS, Hwang JH, Jeong SH, Kim N, Lee DH, Kim JW. Short hairpin RNA induces methylation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 436: 152-155 [PMID: 23727428 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.108]
- 19 Papworth M, Moore M, Isalan M, Minczuk M, Choo Y, Klug A. Inhibition of herpes simplex virus 1 gene expression by designer zinc-finger transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 1621-1626 [PMID: 12574501]
- 20 Zimmerman KA, Fischer KP, Joyce MA, Tyrrell DL. Zinc finger proteins designed to specifically target duck hepatitis B virus covalently closed circular DNA inhibit viral transcription in tissue culture. *J Virol* 2008; 82: 8013-8021 [PMID: 18524822 DOI: 10.1128/JVI.00366-08]
- 21 Cradick TJ, Keck K, Bradshaw S, Jamieson AC, McCaffrey AP. Zinc-finger nucleases as a novel therapeutic strategy for targeting hepatitis B virus DNAs. *Mol Ther* 2010; 18: 947-954 [PMID: 20160705 DOI: 10.1038/mt.2010.20]
- 22 Weber ND, Stone D, Sedlak RH, De Silva Feelixge HS, Roychoudhury P, Schiffer JT, Aubert M, Jerome KR. AAV-mediated delivery of zinc finger nucleases targeting hepatitis B virus inhibits active replication. *PLoS One* 2014; 9: e97579 [PMID: 24827459 DOI: 10.1371/journal.pone.0097579]
- 23 Bloom K, Ely A, Mussolino C, Cathomen T, Arbuthnot P. Inactivation of hepatitis B virus replication in cultured cells and in vivo with engineered transcription activator-like effector nucleases. *Mol Ther* 2013; 21: 1889-1897 [PMID: 23883864 DOI: 10.1038/mt.2013.170]
- 24 Chen J, Zhang W, Lin J, Wang F, Wu M, Chen C, Zheng Y, Peng X, Li J, Yuan Z. An efficient antiviral strategy for targeting hepatitis B virus genome using transcription activator-like effector nucleases. *Mol Ther* 2014; 22: 303-311 [PMID: 24557838 DOI: 10.1126/science.1243462]

- 24025750 DOI: 10.1038/mt.2013.212]
- 25 Bhaya D, Davison M, Barrangou R. CRISPR-Cas systems in bacteria and archaea: versatile small RNAs for adaptive defense and regulation. *Annu Rev Genet* 2011; 45: 273-297 [PMID: 22060043 DOI: 10.1146/annurev-genet-110410-132430]
 - 26 Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, Brouns SJ, Charpentier E, Horvath P, Moineau S, Mojica FJ, Wolf YI, Yakunin AF, van der Oost J, Koonin EV. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 467-477 [PMID: 21552286 DOI: 10.1038/nrmicro2577]
 - 27 Wiedenheft B, Sternberg SH, Doudna JA. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. *Nature* 2012; 482: 331-338 [PMID: 22337052 DOI: 10.1038/nature10886]
 - 28 Lin SR, Yang HC, Kuo YT, Liu CJ, Yang TY, Sung KC, Lin YY, Wang HY, Wang CC, Shen YC, Wu FY, Kao JH, Chen DS, Chen PJ. The CRISPR/Cas9 System Facilitates Clearance of the Intrahepatic HBV Templates In Vivo. *Mol Ther Nucleic Acids* 2014; 3: e186 [PMID: 25137139 DOI: 10.1038/mtna.2014.38]
 - 29 Schiffer JT, Swan DA, Stone D, Jerome KR. Predictors of hepatitis B cure using gene therapy to deliver DNA cleavage enzymes: a mathematical modeling approach. *PLoS Comput Biol* 2013; 9: e1003131 [PMID: 23861664 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003131]
 - 30 Cai D, Mills C, Yu W, Yan R, Aldrich CE, Saputelli JR, Mason WS, Xu X, Guo JT, Block TM, Cuconati A, Guo H. Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 4277-4288 [PMID: 22644022 DOI: 10.1128/AAC.00473-12]
 - 31 Bohne F, Chmielewski M, Ebert G, Wiegmann K, Kürschner T, Schulze A, Urban S, Krönke M, Abken H, Protzer U. T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes. *Gastroenterology* 2008; 134: 239-247 [PMID: 18166356 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.002]
 - 32 Li G, Jiang G, Lu J, Chen S, Cui L, Jiao J, Wang Y. Inhibition of hepatitis B virus cccDNA by siRNA in transgenic mice. *Cell Biochem Biophys* 2014; 69: 649-654 [PMID: 24569930 DOI: 10.1007/s12013-014-9847-1]
 - 33 Li G, Fu L, Jiang J, Ping Y, Huang Y, Wang Y. siRNA combinations mediate greater suppression of hepatitis B virus replication in mice. *Cell Biochem Biophys* 2014; 69: 641-647 [PMID: 24549857 DOI: 10.1007/s12013-014-9846-2]
 - 34 Kitamura K, Wang Z, Chowdhury S, Simadu M, Koura M, Muramatsu M. Uracil DNA glycosylase counteracts APOBEC3G-induced hypermutation of hepatitis B viral genomes: excision repair of covalently closed circular DNA. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003361 [PMID: 23696735 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003361]
 - 35 Menne S, Tumas DB, Liu KH, Thampi L, AlDeghaither D, Baldwin BH, Bellezza CA, Cote PJ, Zheng J, Halcomb R, Fosdick A, Fletcher SP, Daffis S, Li L, Yue P, Wolfgang GH, Tennant BC. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2015; 62: 1237-1245 [PMID: 25559326 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.026]
 - 36 Lutgehetmann M, Volz T, Köpke A, Broja T, Tigges E, Lohse AW, Fuchs E, Murray JM, Petersen J, Dandri M. In vivo proliferation of hepadnavirus-infected hepatocytes induces loss of covalently closed circular DNA in mice. *Hepatology* 2010; 52: 16-24 [PMID: 20578126 DOI: 10.1002/hep.23611]
 - 37 Yuen MF, Wong DK, Sum SS, Yuan HJ, Yuen JC, Chan AO, Wong BC, Lai CL. Effect of lamivudine therapy on the serum covalently closed-circular (ccc) DNA of chronic hepatitis B infection. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1099-1103 [PMID: 15842584]
 - 38 Wong DK, Seto WK, Fung J, Ip P, Huang FY, Lai CL, Yuen MF. Reduction of hepatitis B surface antigen and covalently closed circular DNA by nucleos(t)ide analogues of different potency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1004-1010.e1 [PMID: 23376799 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.01.026]
 - 39 李菲菲, 任万华, 丁贵航, 石军, 韩国庆. 肝组织 cccDNA水平与血清病毒学应答后治疗时间的关系. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 167-170
 - 40 Bourne EJ, Dienstag JL, Lopez VA, Sander TJ, Longlet JM, Hall JG, Kwiatkowski RW, Wright T, Lai CL, Condreay LD. Quantitative analysis of HBV cccDNA from clinical specimens: correlation with clinical and virological response during antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2007; 14: 55-63 [PMID: 17212645]
 - 41 Wong DK, Yuen MF, Ngai VW, Fung J, Lai CL. One-year entecavir or lamivudine therapy results in reduction of hepatitis B virus intrahepatic covalently closed circular DNA levels. *Antivir Ther* 2006; 11: 909-916 [PMID: 17302253]
 - 42 Zheng Q, Zhu YY, Chen J, Liu YR, You J, Dong J, Zeng DW, Gao LY, Chen LH, Jiang JJ. Decline in intrahepatic cccDNA and increase in immune cell reactivity after 12 weeks of antiviral treatment were associated with HBeAg loss. *J Viral Hepat* 2014; 21: 909-916 [PMID: 24888640 DOI: 10.1111/jvh.12261]
 - 43 Cheng PN, Liu WC, Tsai HW, Wu IC, Chang TT, Young KC. Association of intrahepatic cccDNA reduction with the improvement of liver histology in chronic hepatitis B patients receiving oral antiviral agents. *J Med Virol* 2011; 83: 602-607 [PMID: 21328373 DOI: 10.1002/jmv.22014]
 - 44 Ruan P, Zhou B, Dai X, Sun Z, Guo X, Huang J, Gong Z. Predictive value of intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA and total DNA in patients with acute hepatitis B and patients with chronic hepatitis B receiving anti-viral treatment. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1135-1141 [PMID: 24566465 DOI: 10.3892/mmr.2014.1972]
 - 45 Shi M, Sun WL, Hua YY, Han B, Shi L. Effects of entecavir on hepatitis B virus covalently closed circular DNA in hepatitis B e antigen-positive patients with hepatitis B. *PLoS One* 2015; 10: e0117741 [PMID: 25647607 DOI: 10.1371/journal.pone.0117741]
 - 46 陆海英, 庄立伟, 于岩岩, 斯崇文, 李俊. 抗病毒药物对肝组织乙型肝炎病毒共价闭环环状DNA的影响. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 198-202
 - 47 Lu HY, Zhuang LW, Yu YY, Si CW. Virological response to antiviral therapy at week 12 indicates a great reduction of intrahepatic hepatitis B virus

- DNA and cccDNA in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients. *J Viral Hepat* 2010; 17 Suppl 1: 59-65 [PMID: 20586935]
- 48 Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, Volz T, Buggisch P, Zollner B, Longerich T, Schirmacher P, Metzler F, Zankel M, Fischer C, Currie G, Brosgart C, Petersen J. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 675-684 [PMID: 16941693]
- 49 Hagiwara S, Kudo M, Osaki Y, Matsuo H, Inuzuka T, Matsumoto A, Tanaka E, Sakurai T, Ueshima K, Inoue T, Yada N, Nishida N. Impact of peginterferon alpha-2b and entecavir hydrate combination therapy on persistent viral suppression in patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2013; 85: 987-995 [PMID: 23588724 DOI: 10.1002/jmv.23564]
- 50 Ding S, Robek MD. Cytidine deamination and cccDNA degradation: A new approach for curing HBV? *Hepatology* 2014; 60: 2118-2121 [PMID: 25142126 DOI: 10.1002/hep.27386]

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%。

砷暴露肝纤维化的发生机制

吴君

吴君, 贵阳医学院附属白云医院肝炎实验室 贵州省贵阳市 550058

吴君, 主任医师, 主要从事肝病防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30471592

作者贡献分布: 本文由吴君独立完成。

通讯作者: 吴君, 主任医师, 550058, 贵州省贵阳市刚玉街108号, 贵阳医学院附属白云医院肝炎实验室. wuwuj@21cn.com
电话: 0851-6774146

收稿日期: 2015-04-17 修回日期: 2015-04-30

接受日期: 2015-05-07 在线出版日期: 2015-08-08

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Arsenic; Hepatic fibrosis; Mechanism

Wu J. Mechanisms of arsenic induced liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3505-3509
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3505.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3505>

背景资料

近年来砷对肝脏的危害性及其致病机制的研究逐渐得到国内外学者的关注, 随着砷暴露动物模型的成功建立, 对砷致肝纤维化发生相关分子生物学方面的深入研究尚有很多工作要做。

Mechanisms of arsenic induced liver fibrosis

Jun Wu

Jun Wu, Laboratory of Liver Diseases, Affiliated Baiyun Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550058, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30471592

Correspondence to: Jun Wu, Chief Physician, Laboratory of Liver Diseases, Baiyun Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 108 Gangyu Road, Guiyang 550058, Guizhou Province, China. wuwuj@21cn.com
Received: 2015-04-17 Revised: 2015-04-30
Accepted: 2015-05-07 Published online: 2015-08-08

Abstract

Arsenic exposure may cause liver injury, fibrosis and cirrhosis, and the main pathological changes include swelling, degeneration and necrosis of hepatocytes, inflammatory cell infiltration in portal area and different degrees of fibrosis. The mechanisms by which arsenic causes liver fibrosis are complicated. Many kinds of cytokines which are closely related to oxidative stress injury, inflammation and liver fibrosis participate in the development and progression of arsenic induced liver fibrosis.

摘要

砷暴露可以引起肝损伤、肝纤维化和肝硬化, 主要病理改变为肝细胞肿胀、变性、坏死及汇管区炎性细胞浸润和不同程度的纤维化。砷致肝纤维化的机制是多方面的, 氧化应激损伤、炎症反应及肝纤维化形成相关的多种细胞因子参与了砷暴露肝纤维化的发生发展。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 砷; 肝纤维化; 机制

核心提示: 本文详实地描述了近年来砷暴露致肝纤维化发生机制的一些进展, 包括氧化应激、促炎因子、促肝纤维化因子的相互作用及肝星状细胞(hepatic stellate cell)激活。

吴君. 砷暴露肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3505-3509 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3505.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3505>

0 引言

众所周知, 砷是一种环境毒物和已知的人类致

同行评议者

高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交通大学医学院九院周浦分院

■ 研发前沿

砷致肝纤维化发生的机制涉及到多种细胞因子的参与, 阐明砷本身毒性及活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)诱导产生的多种促炎因子、促纤维化因子在肝纤维化发生中的相互作用, 可能为肝纤维化靶点治疗提供方向。

癌物, 慢性砷中毒的主要表现为皮肤改变和某些周围神经系统症状, 以及对多器官系统的影响。90年代后期, 由于国内外大量研究证实^[1-4]长期砷暴露可以导致肝损伤、肝纤维化、肝硬化, 甚至肝癌, 砷暴露所致肝脏病变的研究越来越受到重视, 尤其近7-8年来对砷暴露致肝纤维化的机制研究取得了许多新的进展^[5,6]。本文评述了砷致肝纤维化的临床、病理改变、动物模型及发生机制的研究进展, 尤其阐明砷本身毒性及活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)诱导产生的多种促炎因子、促纤维化因子在肝纤维化发生中的相互作用。

1 砷暴露致肝脏损害的临床及病理改变

高砷水和高砷燃煤型砷中毒病区人群流行病学调查均发现^[1-4]慢性砷中毒患者普遍存在慢性肝脏损害, 后期可发展肝纤维化、肝硬化、肝癌。对燃煤型砷中毒病区慢性砷中毒死因调查显示^[7,8], 肝硬化腹水患者死亡较为显著, 占整个死亡人数的28.57%, 癌症年死亡构成中肝癌占第2位, 表明高砷对肝脏有明显的损害。

砷暴露致肝脏损害患者的临床表现有乏力、纳差、慢性消化不良、腹痛、肝肿大并或伴有门脉高压等, 血清转氨酶升高或不升高。肝脏活检组织病理^[9,10]早期主要表现为肝细胞及细胞器的肿胀、变性(空泡化变性, 脂肪变性, 嗜酸性变性), 肝细胞点状或灶状坏死, 汇管区炎性细胞浸润; 中、晚期则以不同程度的肝细胞坏死及纤维增生为著。

多项动物实验研究^[11-13]表明长期砷暴露可以引起动物肝脏损害, 肝脏病理学改变与人类相似, 光镜下观察肝组织出现不同程度的肝细胞损伤, 如肝细胞空泡化变性、脂肪变性、嗜酸性变性、坏死及汇管区炎性细胞浸润和纤维化; 电镜观察发现, 染砷组肝细胞内有脂滴, 线粒体肿胀, 膜破坏, 粗面内质网肿胀、脱颗粒。

2 砷暴露肝纤维化动物模型建立

尽管国内外学者在10多年前就开始了砷致肝脏损害人群及动物实验研究, 但由于人体实验涉及伦理, 且缺乏成熟的砷暴露肝纤维化动物模型, 针对长期砷暴露引起肝纤维化的发生机制的研究报道甚少。较早Santra等^[14]用含砷浓度3.2 mg/L的水给鼠饮用, 6 mo后发现肝细胞膜的损伤, 15 mo可见少许纤维化。也有学者^[15]用较高浓度单纯砷水或加复合高脂低蛋白饮

食灌胃染毒大鼠, 12 wk可见肝纤维化形成, 但对鼠的创伤及毒性较大, 鼠耐受差, 也不符合人群自由饮用高砷水致肝脏损害的暴露方式。

2009年作者所在团队采用自由饮用高砷水暴露, 成功建立了砷暴露肝纤维化动物(大鼠、小鼠)模型^[16,17]。小鼠饮用高砷水(300 mg/L)暴露3 mo, 肝细胞水样变、点状或灶性坏死及炎性细胞浸润。随着暴露时间的延长, 肝组织病理损伤逐渐加重, 6 mo显示少量的纤维化, 10 mo时表现肝细胞广泛变性, 不同程度的点状、灶状、碎片状坏死及炎性细胞浸润, 并有不同程度的肝细胞再生及纤维增生; Masson染色显示汇管区及中央静脉区纤维条索状增生。大鼠饮用高砷水(100 mg/L)暴露1 mo后, 肝组织HE染色就显示有肝细胞广泛水样变、点状坏死和炎性细胞浸润; 造模3、4 mo时肝组织电镜、光镜HE染色和Masson染色均显示汇管区及中央静脉区纤维增生, 呈条索状增生。上述两个模型造模时间较短, 出现肝损害的时间早, 鼠耐受性好。

随后Ghatak等^[18]研究也显示砷暴露12 mo, 小鼠肝脏表现出了脂肪变性、纤维化等较为严重的病理。李媛媛等^[19]发现, 砷暴露6 mo大鼠肝纤维组织增生纤维隔形成比3 mo多, 呈剂量反应关系, 雌雄大鼠肝纤维组织增生无差异。

3 砷暴露肝纤维化的发生机制

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)激活^[20]是肝纤维化的中心环节, 各种病因所致肝细胞受损后, 释放各种炎症因子及细胞因子, 启动多条信号转导通路促进HSC的激活、增殖及转化, 合成大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 并抑制其降解, 从而引起ECM在肝脏内过度沉积, 最终导致肝纤维化。

研究显示, 有多种细胞因子参与了砷暴露肝纤维化的发生发展。

3.1 ECM合成与降解失调 肝纤维化的实质是以I型胶原(collagen I, COL-I)和III型胶原(collagen III, COL-III)为主的ECM合成和降解失衡, 导致ECM在肝脏中过多沉积^[20]。肝脏ECM的代谢主要由基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinases, MMPs)及基质金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)的调节^[21-25], MMPs促进ECM的降解, 而TIMPs通过抑制MMPs活性阻止ECM的

■ 相关报道

目前国外多集中在短期砷暴露时甲基化、氧化损伤、DNA损伤等对肝脏影响的研究, 砷致慢性肝损伤, 尤其是肝纤维化机制方面的研究报道较少。

降解, MMPs和TIMPs之间的动态平衡在肝纤维化的形成与逆转过程中发挥了极其重要的作用。

实验研究^[26-29]显示, 砷暴露可导致小鼠肝组织中COL- I mRNA、COL-III mRNA、TIMP-1 mRNA、TIMP-2 mRNA水平增高, 而MMP-2 mRNA、MMP-8 mRNA、MMP-9 mRNA水平下降, ECM在肝组织中过度沉积, 形成肝纤维化。

广义的ECM成分包括COL、非胶原糖蛋白(如纤维连接蛋白、层黏连蛋白等)和蛋白多糖(如透明质酸等), 相关血清生物标志物已用于临床评价肝纤维化的指标。砷中毒慢性肝损伤患者血清中层黏连蛋白、透明质酸、III型前胶原氨基端前肽, COL-IV的水平明显高于对照组, 差异有显著意义^[10,30]。

3.2 氧化应激损伤 目前研究^[31]认为, 砷及其代谢产物能够诱发ROS的产生, 同时抑制抗氧化酶的活力及耗竭抗氧化物质, 使机体的氧化/抗氧化系统平衡失调, 引发脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO), 损伤细胞的DNA和酶蛋白分子结构, 导致疾病的发生。砷引发的氧化应激, 可能造成机体多种细胞和分子通路的变化, 包括信号通路和转录因子活性的异常^[32]。

肝脏是砷在体内的主要代谢场所, 长期砷暴露产生ROS攻击肝细胞, 受损的肝细胞又可产生大量新的ROS, 通过促发LPO链式反应, 激活枯否(Kupffer)细胞、淋巴细胞等释放和表达多种细胞因子, 攻击HSC使其活化, 产生各种ECM在肝内沉积^[18,33]。

此外, 砷暴露导致的肝脏抗氧化系统发生变化, 是砷致肝脏损伤、肝纤维化形成的另一重要机制。机体会动员体内的抗氧化物质来清除自由基, 这一过程需要消耗肝内谷胱甘肽(glutathione, GSH), 同时ROS可使机体的多种抗氧化酶活性降低^[34]。大量研究^[6,10,14,27,35-39]显示, 砷暴露肝损伤、肝纤维化肝组织中GSH、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平明显降低, 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)mRNA、谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferases, GST-Pi)mRNA、金属硫蛋白-1(mouse metallothionein-1, MT-1)mRNA和MT-2 mRNA的表达降低, 肝组织中LPO及代谢产物丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)水平增加, 提示氧化应激参与了砷致肝

损伤、肝纤维化的发生。

3.3 炎症反应 肝组织中有大量的Kupffer细胞, 被认为是炎症反应的效应细胞, 当肝细胞受到各种损伤因素刺激时, Kupffer细胞大量增殖并释放大量炎症因子和炎症介质, 如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1(interleukin 1, IL-1)、IL-6、IL-8、环氧化酶-2(cyclooxygenase 2, COX-2)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、巨噬细胞炎症蛋白-2(macrophage inflammatory protein, MIP-2)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等, 进一步可激活核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)促进或抑制多种促炎细胞因子和抗炎因子的表达及转录, 进而加重肝细胞损害^[40,41]。

砷本身的毒性及其诱导的ROS可刺激Kupffer细胞释放多种炎症因子和炎症介质, 导致肝脏损伤。多项研究显示^[27,29,42,43], 砷暴露肝纤维化鼠肝组织中促炎因子TNF- α 、IL-6、NF- κ B、COX-2、MIP-2、MCP-1表达均增高, 而对NF- κ B有负向调控作用的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)表达降低。长期砷暴露, 慢性炎症持续存在, TNF- α 等多种细胞因子激活并启动HSC向肌成纤维细胞转化, 肌成纤维细胞分泌的胶原、非胶原等多种ECM会在肝内过量沉积^[44], 导致大量纤维增生, 可能是砷致慢性肝炎、肝纤维化的基本机制之一。

3.4 肝纤维化形成相关细胞因子的作用 肝细胞炎症损伤过程中所产生的多种促炎因子和促纤维化因子, 可启动多种信号转导介导HSC活化、增殖和凋亡, 是肝纤维化形成的关键^[45]。促纤维化因子如转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是目前发现的最强促HSC活化的细胞因子; 血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是已知的促进HSC增殖的细胞因子; 激活素A(activin A, ACTA)属于TGF- β 超家族成员, 可以促进HSC分泌I型胶原, 可以增强TGF- β 1的作用^[46,47]。研究^[27,48,49]证实, 砷暴露肝纤维化鼠肝组织中TGF- β 1 mRNA、ACTA mRNA、PDGF mRNA表达增高, 与肝组织中COL- I mRNA、COL-III mRNA的水平呈正相关。

与HSC活化相关的信号途径主要有

■创新亮点

本文总结分析了近几年砷致肝纤维化机制方面研究的进展, 为进一步深入研究及药物靶点治疗提供了线索。

■应用要点

砷诱导的氧化应激、炎症反应通过释放大量的炎症因子和炎症介质影响肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化及转化, 是肝纤维化形成的关键, 这为进一步对激活HSC相关通路的深入研究提供了思路。

■名词解释

砷暴露: 砷是一种环境毒物和已知的人类致癌物, 广泛分布于水、土壤、空气中, 人类可以通过饮水、呼吸等途径接触砷化物。在饮水型和燃煤型高砷地区, 长期砷暴露接触过量的砷可对人类的多器官、多系统造成损害。

TGF- β /Smad通路, TGF- β 可通过激活下游Smad信号转导, 将TGF- β 信号从胞浆向胞核转位聚集, 调控靶基因的转录活化^[50]。而微小RNA(microRNA, miRNA)能在转录后或翻译水平负调控靶基因的表达, 能通过包括TGF- β /Smad通路在内的多种信号转导通路影响HSC活化、增殖和凋亡^[18]。詹洁等^[51]研究发现, 砷诱导的肝纤维化大鼠肝匀浆中透明质酸(hyaluronic acid, HA)、TGF- β 1水平和肝组织中miRNA-21表达均显著高于空白对照组, 而肝组织中Smad7 mRNA及蛋白质的表达均显著低于空白对照组。提示长期砷暴露, 可引起肝脏miRNA-21上调, 抑制Smad7的表达, 使TGF- β 1反馈性表达增多, 进而通过其介导的细胞信号转导, 刺激HA等ECM合成增加, 可能是砷所致大鼠肝纤维化的发病机制之一。

4 结论

砷致肝纤维化的机制是多方面的, 砷本身毒性及ROS诱导产生的多种促炎因子和促纤维化因子相互作用, 促使HSC活化及转化, 合成大量的ECM, 并抑制其降解, 引起ECM在肝内过度沉积, 最终导致肝纤维化。

5 参考文献

- Jomova K, Jenisova Z, Feszterova M, Baros S, Liska J, Hudecova D, Rhodes CJ, Valko M. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *J Appl Toxicol* 2011; 31: 95-107 [PMID: 21321970 DOI: 10.1002/jat.1649]
- Liu J, Zheng B, Aposhian HV, Zhou Y, Chen ML, Zhang A, Waalkes MP. Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 119-122 [PMID: 11836136]
- 杨大平, 张爱华, 黄晓欣, 郭渝成, 王松, 郭乔楠. 燃煤型砷中毒人体肝损伤临床研究. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 89
- Santra A, Das Gupta J, De BK, Roy B, Guha Mazumder DN. Hepatic manifestations in chronic arsenic toxicity. *Indian J Gastroenterol* 1999; 18: 152-155 [PMID: 10531716]
- 吴君, 罗天永, 张韵, 蒋玲, 欧兵, 梁耀东, 陆爽. 砷对肝脏毒性及发生机制. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2326-2336
- 刘洋, 吴君. 砷在肝脏中的代谢及其生化指标影响的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3524-3529
- 李达圣, 安冬, 曾正, 朱爱华, 张锐智. 贵州燃煤型砷中毒病人患恶性肿瘤死亡观察. *中国地方病学杂志* 2004; 23: 42-45
- 周运书, 杜辉, 程明亮, 刘杰, 张信江, 许玲. 燃煤型砷中毒病人死因的调查. *中国地方病学杂志* 2002; 21: 484-486
- 吴君, 陆彤, 程明亮. 汉丹肝乐胶囊对贵州地区20例砷暴露肝损伤患者的治疗作用. *中国地方病学杂志*

- 2006; 25: 86-89
- 何云, 张爱华, 杨大平, 王建宾, 韦小瑜, 黄晓欣. 银杏叶片治疗燃煤型砷中毒慢性肝损害的作用及其机制研究. *中国地方病学杂志* 2005; 24: 210-213
- 杨瑾, 李金有, 孙天佑, 刘志艳. 亚慢性砷中毒大鼠血脂谱变化特征及机制研究. *中国地方病学杂志* 2003; 22: 107-110
- Xie Y, Trouba KJ, Liu J, Waalkes MP, Germolec DR. Biokinetics and subchronic toxic effects of oral arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid, and dimethylarsinic acid in v-Ha-ras transgenic (Tg.AC) mice. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 1255-1263 [PMID: 15345372]
- Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Protective role of taurine against arsenic-induced mitochondria-dependent hepatic apoptosis via the inhibition of PKCdelta-JNK pathway. *PLoS One* 2010; 5: e12602 [PMID: 20830294 DOI: 10.1371/journal.pone.0012602]
- Santra A, Maiti A, Das S, Lahiri S, Charkaborty SK, Mazumder DN. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000; 38: 395-405 [PMID: 10930056]
- 朱建华, 王翔扑. 砷中毒性肝内砷结合物的实验研究. *湖南医学* 1997; 14: 90-91
- 吴君, 程明亮, 李玲, 李诚秀, 蒋玲, 张韵, 欧兵. 砷致小鼠肝纤维化模型的建立. *中华医学杂志* 2009; 89: 1455-1459
- 闫超, 吴君, 刘芙蓉, 张莉莎. 水砷暴露大鼠肝损伤和肝纤维化模型的建立. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 862-866
- Ghatak S, Biswas A, Dhali GK, Chowdhury A, Boyer JL, Santra A. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011; 251: 59-69 [PMID: 21134390 DOI: 10.1016/j.taap.2010.11.016]
- 李媛媛, 高彦辉, 赵雨军, 冯红旗, 张微, 王骋, 王静, 孙殿军. 砷暴露致大鼠肝脏损伤的病理形态学研究. *中国地方病学杂志* 2011; 30: 68-69
- 曾宪一, 王洁, 张艳琼, 吴江峰. 肝星状细胞相关信号与miRNA相互调控的研究进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 1-7
- Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830]
- 朱跃科, 王宝恩, 申凤俊, 王爱民, 贾继东, 马红. 肝纤维化过程中胶原、基质金属蛋白酶及其抑制因子表达的动态变化及相互关系. *中华肝脏病学杂志* 2004; 12: 612-615
- Roderfeld M, Hemmann S, Roeb E. Mechanisms of fibrinolysis in chronic liver injury (with special emphasis on MMPs and TIMPs). *Z Gastroenterol* 2007; 45: 25-33 [PMID: 17236118]
- Benyon RC, Iredale JP, Goddard S, Winwood PJ, Arthur MJ. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver. *Gastroenterology* 1996; 110: 821-831 [PMID: 8608892 DOI: 10.1053/gast.1996.v110]
- Zhou X, Murphy FR, Gehdu N, Zhang J, Iredale JP, Benyon RC. Engagement of alphavbeta3 integrin regulates proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 23996-24006 [PMID: 15044441]
- 欧兵, 吴君, 李铃, 张韵, 蒋玲, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 基质金属蛋白抑制因子-1 mRNA在饮水砷暴露肝

- 损伤小鼠肝组织中的表达. 中国地方病学杂志 2007; 26: 603-606
- 27 Wu J, Liu J, Waalkes MP, Cheng ML, Li L, Li CX, Yang Q. High dietary fat exacerbates arsenic-induced liver fibrosis in mice. *Exp Biol Med* (Maywood) 2008; 233: 377-384 [PMID: 18296743 DOI: 10.3181/0710-RM-269]
 - 28 欧兵, 吴君, 李铃, 张韵, 蒋玲, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 促肝纤维化因子在水砷暴露小鼠肝组织中的表达. 中国公共卫生杂志 2008; 24: 254-256
 - 29 李玲, 吴君, 蒋玲, 欧兵, 张韵, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 不同价态饮水砷暴露对小鼠肝脏的损伤作用. 第二军医大学学报 2008; 29: 499-503
 - 30 张爱华, 李军, 杨大平, 蒋宪瑶, 洪峰, 黄晓欣, 任渝江. 燃煤型砷中毒肝损害生物标志物筛选及其临床意义. 毒理学杂志 2005; 19: 293-294
 - 31 Hughes MF, Beck BD, Chen Y, Lewis AS, Thomas DJ. Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicol Sci* 2011; 123: 305-332 [PMID: 21750349 DOI: 10.1093/toxsci/kfr184]
 - 32 Flora SJ. Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 257-281 [PMID: 21554949 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.008]
 - 33 周小倩, 何云, 吴君. 砷中毒所致氧化应激与肝脏损伤. 中国地方病学杂志 2007; 26: 114-116
 - 34 Flora SJ, Chouhan S, Kannan GM, Mittal M, Swamkar H. Combined administration of taurine and monoisoamyl DMSA protects arsenic induced oxidative injury in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2008; 1: 39-45 [PMID: 19794907]
 - 35 Xie Y, Liu J, Liu Y, Klaassen CD, Waalkes MP. Toxicokinetic and genomic analysis of chronic arsenic exposure in multidrug-resistance *mdr1a/1b*(-/-) double knockout mice. *Mol Cell Biochem* 2004; 255: 11-18 [PMID: 14971641]
 - 36 蒋玲, 李铃, 吴君, 欧兵, 张韵, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 氧化应激在慢性水砷暴露小鼠肝损伤中的作用. 中国公共卫生杂志 2008; 24: 593-595
 - 37 张韵, 吴君, 李铃, 欧兵, 蒋玲, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 金属硫蛋白基因在长期水砷暴露小鼠肝组织中的表达. 环境与健康杂志 2007; 24: 755-758
 - 38 蒋玲, 陆爽, 吴君. 砷对肝脏的毒性及氧化损伤. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2334-2336
 - 39 王一帆, 程明亮, 吴君. 复方中药制剂对砷暴露大鼠肝脏损伤的保护研究. 当代医学 2014; 20: 18-19
 - 40 Suyavaran A, Ramamurthy C, Mareeswaran R, Subastri A, Lokeswara Rao P, Thirunavukkarasu C. TNF- α suppression by glutathione preconditioning attenuates hepatic ischemia reperfusion injury in young and aged rats. *Inflamm Res* 2015; 64: 71-81 [PMID: 25420731 DOI: 10.1007/s00011-014-0785-6]
 - 41 Yue S, Hu B, Wang Z, Yue Z, Wang F, Zhao Y, Yang Z, Shen M. Salvia miltiorrhiza compounds protect the liver from acute injury by regulation of p38 and NF κ B signaling in Kupffer cells. *Pharm Biol* 2014; 52: 1278-1285 [PMID: 25026357 DOI: 10.3109/13880209.2014.889720]
 - 42 张韵, 吴君, 李铃, 欧兵, 蒋玲, 李诚秀, 程明亮, 杨勤. 促炎症因子基因表达与长期水砷暴露小鼠肝损伤的关系. 中国地方病学杂志 2008; 27: 15-18
 - 43 刘洋, 吴君, 闫超, 刘芙蓉. PPAR- γ 、NF- κ B的表达与砷暴露致大鼠肝纤维化的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3848-3856
 - 44 De Minicis S, Brenner DA. NOX in liver fibrosis. *Arch Biochem Biophys* 2007; 462: 266-272 [PMID: 17531188]
 - 45 卢丽莎, 罗纯, 陈泽雄. 肝纤维化发生机制研究进展. 中国医药指南 2012; 10: 49-50
 - 46 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
 - 47 Silva RN, Bueno PG, Avó LR, Nonaka KO, Selistre-Araújo HS, Leal AM. Effect of physical training on liver expression of activin A and follistatin in a nonalcoholic fatty liver disease model in rats. *Braz J Med Biol Res* 2014; 47: 746-752 [PMID: 25075578]
 - 48 刘芙蓉, 吴君, 闫超, 张莉莎. 砷暴露与大鼠肝脏损伤及激活素A, 转化生长因子- β 1的相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17: 747-752
 - 49 欧兵, 吴君, 程明亮. 血小板衍生生长因子和I型胶原在饮水砷暴露小鼠肝组织中的表达. 中国地方病学杂志 2009; 28: 390-394
 - 50 汪美凤, 平键. 肝星状细胞主要信号转导通路与肝纤维化的关系. 实用肝脏病杂志 2010; 13: 446-447
 - 51 詹洁, 吴君, 赵雪珂. miRNA-21和Smad7在砷暴露肝纤维化大鼠肝组织中的表达及药物干预. 世界华人消化杂志 2014; 22: 5249-5257

同符评价

本研究从动物实验、组织细胞学及分子生物学方面, 阐明砷本身毒性及ROS诱导产生的多种促炎因子、促纤维化因子在肝纤维化发生中的相互作用, 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)生成过多, 降解减少, 可能为肝纤维化靶点治疗提供方向. 综述紧扣多发病和常见病肝纤维化主题, 参考文献较新, 值得广大临床医师及基础研究者阅读.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



脂多糖诱导的M1型巨噬细胞中Pim-1的动态表达

肖明亚, 申月明, 曾亚, 黄倩倩, 许婧枫, 徐美华

■背景资料

Pim-1能调控免疫细胞功能及核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等免疫-炎症因子的释放, 且由于Pim-1激酶独特结构, 使得Pim-1小分子抑制剂有高度选择性, 不会产生明显不良反应, 并能改善对免疫调节剂的抵抗, 在治疗免疫-炎症性疾病方面显示出巨大的潜力。

肖明亚, 长沙市第八医院消化科 湖南省长沙市 410001
 申月明, 曾亚, 长沙市中心医院消化科 湖南省长沙市 410004
 黄倩倩, 许婧枫, 徐美华, 中南大学湘雅医院消化科 湖南省长沙市 410008
 肖明亚, 住院医师, 主要从事炎症性肠病的研究与临床研究。
 国家自然科学基金资助项目, No. 81200277
 2012年度湖南省医药卫生科研计划基金资助项目, No. B2012-133
 作者贡献分布: 肖明亚与申月明对此文所作贡献均等; 此课题由申月明、曾亚及徐美华设计; 研究过程由肖明亚操作完成; 研究所用试剂及分析工具由申月明提供; 数据分析由肖明亚、黄倩倩及许婧枫操作完成; 论文写作由肖明亚完成。
 通讯作者: 徐美华, 副教授, 410008, 湖南省长沙市开福区湘雅路87号, 中南大学湘雅医院消化科. meihuaxu2001@163.com
 电话: 0731-4327909
 收稿日期: 2015-03-29 修回日期: 2015-06-14
 接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To explore the expression of Pim-1 mRNA and protein during the activation of macrophage and to assess whether inhibition of four key signaling molecules phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), P38 mitogen-activated protein kinase (P38MAPK), Janus kinase 2 (JAK2), and ERK kinase (MEK1/2) may influence the expression of Pim-1 protein.

METHODS: Pim-1 mRNA and protein expression was examined by real-time PCR and Western blot, respectively, in macrophage cells treated with lipopolysaccharides (LPS) for 0, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 h. After macrophage cells were treated with inhibitor of PI3K (LY294002), P38MAPK (SB203580), MEK1/2 (AG490) or JAK2 (AG490), LPS induced up-regulation of Pim-1 expression was examined by Western blot.

RESULTS: Expression of Pim-1 changed with the time of LPS treatment. Pim-1 mRNA and protein expression was rapidly induced after LPS treatment for 1 h. Pim-1 mRNA expression reached the peak at 2 h (six-fold of the basal level), and fell back to the basal level at 12 h. Pim-1 expression was on the constant rise from 1 h to 8 h, and dropped to the basic level at 12 h. All inhibitors of the four key signaling molecules down-regulated LPS induced expression of Pim-1 protein.

CONCLUSION: Up-regulation of Pim-1 is an early event of classical activation of macrophages. Inhibitors for PI3K, P38MAPK, JAK2 and

Expression of Pim-1 in classically activated macrophages induced with lipopolysaccharides

Ming-Ya Xiao, Yue-Ming Shen, Ya Zeng, Qian-Qian Huang, Jing-Feng Xu, Mei-Hua Xu

Ming-Ya Xiao, Department of Gastroenterology, the 8th Hospital of Changsha, Changsha 410001, Hu'nan Province, China
 Yue-Ming Shen, Ya Zeng, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Changsha, Changsha 410004, Hu'nan Province, China
 Qian-Qian Huang, Jing-Feng Xu, Mei-Hua Xu, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hu'nan Province, China
 Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81200277; Medical and Health Technology Research Program of Hu'nan Province, No. B2012-133
 Correspondence to: Mei-Hua Xu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital, Central South University, 87 Xiangya Road, Kaifu District, Changsha 410008, Hu'nan Province, China. meihuaxu2001@163.com
 Received: 2015-03-29 Revised: 2015-06-14

■同行评议者

郭潮潭, 教授, 研究员, 浙江省医学科学院

MEK1/2 suppress Pim-1 protein expression. Pim-1 may be the downstream signal molecule of PI3K, P38MAPK, JAK2 and MEK1/2 signalling pathway.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pim-1; Signal pathway; Macrophages

Xiao MY, Shen YM, Zeng Y, Huang QQ, Xu JF, Xu MH. Expression of Pim-1 in classically activated macrophages induced with lipopolysaccharides. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3510-3516 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3510.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3510>

摘要

目的: 探讨巨噬细胞活化过程中Pim-1的动态表达及抑制磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), P38丝裂原活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinase, P38MAPK), Janus家族酪氨酸激酶2(Janus kinase 2, JAK2), 细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK1/2)信号关键分子后Pim-1的表达情况。

方法: 利用q-RT PCR、Western blot技术检测经脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)处理后0、1、2、4、8、12、24 h巨噬细胞中Pim-1 mRNA及蛋白的动态表达及PI3K、P38MAPK、JAK2及MEK1/2抑制剂对Pim-1蛋白表达的影响。

结果: 巨噬细胞中Pim-1的表达随LPS不同作用时间而改变, Pim-1 mRNA表达在LPS刺激后2 h达到高峰, 为基础值6倍, 12 h后Pim-1 mRNA表达回落至基础水平, LPS刺激1-8 h内Pim-1蛋白表达水平增高, 12 h后Pim-1蛋白表达回落至基础水平; PI3K、P38MAPK、JAK2及MEK1/2抑制剂均能下调巨噬细胞中Pim-1蛋白水平。

结论: Pim-1 mRNA、Pim-1蛋白的表达是巨噬细胞活化过程中的早期事件; PI3K、P38MAPK、JAK2及MEK1/2抑制剂均影响巨噬细胞中Pim-1的表达, 提示Pim-1为相关信号通路的下游分子。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键字: Pim-1; 信号通路; 巨噬细胞

核心提示: Pim-1参与细胞生存、增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、药物抵抗等病理生理过程。本实验组前期实验发现Pim-1能调节巨噬细胞功能、干扰炎症反应, 但巨噬细胞激活过程中Pim-1表达情况的研究尚未见报道, 巨噬细胞中调控Pim-1激酶表达信号转导途径的尚不明确。

肖明亚, 申月明, 曾亚, 黄倩倩, 许婧枫, 徐美华. 脂多糖诱导的M1型巨噬细胞中Pim-1的动态表达. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3510-3516 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3510.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3510>

0 引言

巨噬细胞(macrophage)起源于骨髓粒-单系祖细胞, 具有免疫防御、免疫调节、免疫监视等多种作用, 是机体免疫的重要组成部分。巨噬细胞分为M1型即经典活化的巨噬细胞和M2型即替代性活化的巨噬细胞, 二者是巨噬细胞一系列功能变化的两个极端状态^[1], 在炎症反应过程中, 巨噬细胞被激活为M1型巨噬细胞启动炎症反应, M1型巨噬细胞不恰当地激活、促炎因子和趋化因子过度产生可导致机体损伤, 与肾小球肾炎、炎症肠病、类风湿关节炎等多种疾病相关^[2], 因此研究巨噬细胞激活过程中调节其功能的关键分子将极大地帮助我们认识这一生物学过程并对免疫炎症疾病的干预和治疗具有重要的意义。

原癌基因*Pim-1*是从MoMuLV小鼠淋巴瘤中分离出的一个频繁活化基因, *Pim-1*基因编码的Pim-1蛋白属于丝氨酸/苏氨酸激酶, 亦属于钙/钙调蛋白调节激酶。Pim-1激酶在多细胞生物中高度保守、广泛表达, 与细胞生存、增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、药物抵抗等过程有关^[3]。本实验组前期实验发现在炎症性肠病起病过程中Pim-1的表达与肠道炎症程度呈正相关, 体外实验中脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的M1型巨噬细胞具有与体内极化的巨噬细胞相似的表型和功能, 使用Pim-1抑制剂阻断Pim-1信号能干扰LPS诱导的巨噬细胞活化、削弱炎症反应, 提示Pim-1在LPS诱导的巨噬细胞功能改变中发挥重要调节作用^[4]。为进一步探讨Pim-1表达与巨噬细胞激活关系以及巨噬细胞中调控Pim-1表达的信号转导途径, 本实验利用LPS诱导小鼠巨噬细胞活化, 以*Pim-1*基因及蛋白表达水

■ 研究前沿

Pim-1在肿瘤诊断、预后判断中有着重要的作用, Pim-1信号应用于临床治疗是近年来研究的热点。Pim-1小分子抑制剂SGI-1776已进入临床试验阶段, 对慢性淋巴细胞白血病和前列腺癌细胞具有显著的细胞毒性效应, 但免疫炎症性疾病中Pim-1的研究还需进一步深入。

■ 相关报道

Krumenacker等报道pre-TNB2淋巴细胞中Prolactin介导的Pim-1表达与Janus家族酪氨酸激酶2(Janus kinase2, JAK2)信号有关, Buckley等报道Prolactin可通过Ras丝裂原活化蛋白激酶(Ras mitogen-activated protein kinase, Ras-MAPK)和磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)信号途径使Pim-1启动子的PRL受体激活, 从而介导Pim-1的表达, 而不完全依赖于JAK2/信号转导和转录活化因子(signal transducers and activator of transcription, STAT)信号。Block等发现胰腺癌细胞株Panc-1中, IL-6/JAK/STAT3信号传导途径介导Pim-1表达, 抑制STAT3可以诱导丝裂原活化蛋白激酶激酶1/2(mitogen-activated protein kinase kinase 1/2, ERK1/2)磷酸化介导Pim-1蛋白水平上调。

平与LPS作用时间为切入点, 观察小鼠巨噬细胞活化过程中Pim-1的动态表达情况; 进一步利用信号关键分子抑制剂如磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、P38丝裂原活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinase, P38MAPK)、Janus家族酪氨酸激酶2(Janus kinase 2, JAK2)剂及丝裂原活化蛋白激酶激酶1/2(mitogen-activated protein kinase kinase 1/2, ERK1/2)抑制剂, 初步探讨巨噬细胞中可能调控Pim-1表达的信号转导通路。

1 材料和方法

1.1 材料 健康6-8 wk昆明种小鼠, 购自中南大学湘雅医学院实验动物中心[许可证号: SCXK(湘)2009-0004], 实验前禁食12 h, 可自由饮水, 所有实验操作根据湘雅医学院动物伦理委员会指导进行。小鼠脱颈处死后750 mL/L乙醇浸泡5 min, 腹腔内注射无血清DMEM培养基5 mL, 轻柔腹壁, 静置5 min, 收集腹腔液, 1000 r/min, 5 min离心收集细胞。含10%血清DMEM培养液重悬细胞, 调整小鼠腹腔巨噬细胞浓度至 1.0×10^6 /mL待用。DMEM高糖培养基购自HyClone公司; LPS购自Sigma公司; TRIzol购自Invitrogen公司; Pim-1、GADPH引物购自上海生工生物工程公司; 兔抗Pim-1多克隆抗体(ab85898)购自abcam公司; 兔抗GADPH多克隆抗体购自杭州贤至生物科技有限公司; LY294002(PI3K抑制剂)、SB203580(p38MAPK抑制剂)、AG490(JAK抑制剂)、U0126(MEK1/2抑制剂)购自碧云天生物技术有限公司。上述信号分子抑制剂由DMSO溶解, 各抑制剂中DMSO终浓度均为0.1%。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 将小鼠腹腔巨噬细胞用DMEM培养基(其中含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素及100 mg/L链霉素)培养于37℃、50 mL/L CO₂环境, 需要药物处理的细胞于贴壁24-48 h加入相应剂量药物, 在选定的时间点收集细胞样品进行检测。

1.2.2 诱导干预: 在小鼠腹腔巨噬细胞培养液中分别加入LPS, LPS最终浓度为1 μg/mL, 分别在LPS干预1、2、4、8、12、24 h后收集细胞, 以未做处理细胞为对照, 进行Pim-1 mRNA及蛋白检测。

1.2.3 不同信号通路抑制剂对LPS诱导活化的巨

噬细胞中Pim-1表达的影响: 在巨噬细胞培养液中分别加入LY294002(PI3K抑制剂, 终浓度为30 μmol/L)、SB203580(p38MAPK抑制剂, 终浓度为10 μmol/L)、AG490(JAK抑制剂, 终浓度为100 μmol/L)、U0126(MEK1/2抑制剂, 终浓度为20 μmol/L)、DMSO(终浓度为0.1%), 以未做处理细胞为对照组。各组细胞预处理1 h后, 然后加入终浓度为1 μg/mL的LPS处理2 h, 收集各组细胞, 进行Pim-1蛋白检测。

1.2.4 提取总RNA及q-RT PCR分析: 根据TOKARA公司提供的说明书, 使用TRIzol试剂, 辅以氯仿、异丙醇和750 mL/L乙醇提取已处理的小鼠腹腔巨噬细胞总RNA。用紫外分光光度计测定溶解后的RNA浓度, 取1 μg反转录为cDNA, 采用q-RT PCR技术定量相关基因的转录水平。设计的扩增引物序列: Pim-1引物序列: Sense: 5'-GGAAGTGGTCCTGTTGAAGAAG-3', Antisense: 5'-CTCCTCGTTCGGTGATAAAGTC-3'; GADPH引物序列: Sense: 5'-GGTGAAGGT CGGTGTGAACG-3', Antisense: 5'-CTCGCTCC TGGAAGATGGTG-3'。反应条件如下: 95℃预变性30 s, 95℃变性5 s, 60℃退火34 s, 40个循环, 实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法对数据进行统计学分析。

1.2.5 免疫印迹法检测Pim-1的表达: 细胞用RIPA裂解液于冰上裂解30 min, 离心(12000 g 10 min, 4℃)取上清, 测定蛋白浓度, 将蛋白与上样缓冲液混匀制成样品, 100℃加热10 min。制备10%分离胶和5%浓缩胶, 上样总蛋白为50 μg, 加入电泳缓冲液, 80 V电泳30 min, 待进入分离胶后改为120 V约1.5 h, 电转移蛋白至PVDF膜上(300 mA, 2 h), 5%脱脂奶粉封闭60 min后加入一抗(Pim-1一抗稀释比1:1500, GADPH一抗稀释比1:1000), 4℃孵育过夜, TBST(TBS+0.05%Tween-20)洗膜3次, 每次15 min, 然后加入二抗, 室温孵育1 h, TBST洗膜3次, 每次15 min, 然后进行化学发光测定, 显影结果使用Photoshop软件进行分析。

统计学处理 SPSS19.0统计软件处理实验数据, 计量资料采用mean±SD表示, 采用单因素方差分析比较各组资料间的差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS诱导活化的巨噬细胞中Pim-1 mRNA动

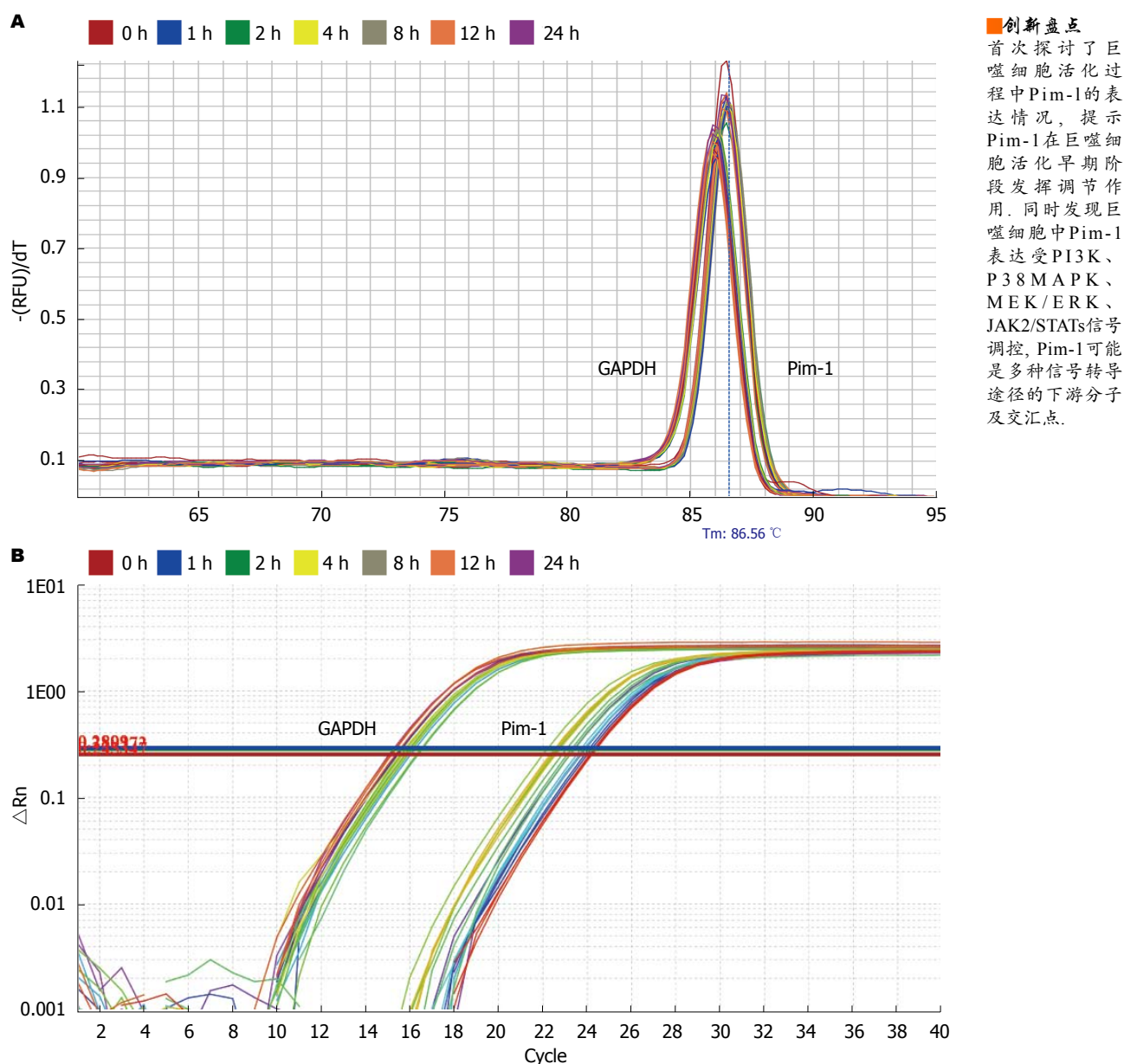


图 1 Pim-1、GAPDH扩增曲线及溶解曲线. A: 溶解曲线; B: 扩增曲线.

态表达 以GAPDH为内参, 应用q-RT PCR技术对小鼠腹腔巨噬细胞RNA样本中Pim-1 RNA含量进行了检测. 对照组、LPS(1 μ g/mL)处理1、2、4、8、12、24 h组, Pim-1 mRNA相对表达量分别为 0.914 ± 0.171 、 3.922 ± 0.614 、 6.000 ± 0.434 、 3.405 ± 0.588 、 1.936 ± 0.248 、 1.231 ± 0.310 、 1.244 ± 0.277 . LPS刺激后巨噬细胞中Pim-1 mRNA表达水平迅速上调, 1、2、4、8 h组Pim-1 mRNA表达较对照组上调, 2 h达到高峰($P < 0.05$). LPS作用12 h后Pim-1 mRNA表达回到基础水平(图1).

2.2 LPS诱导活化的巨噬细胞中Pim-1蛋白动态表达 Western blot结果显示: 对照组, LPS处理1、

2、4、8、12、24 h组Pim-1/GAPDH光密度扫描比值分别为 0.876 ± 0.098 、 1.130 ± 0.114 、 1.232 ± 0.0882 、 1.148 ± 0.112 、 1.127 ± 0.053 、 1.061 ± 0.193 、 0.923 ± 0.124 . LPS刺激后巨噬细胞中Pim-1蛋白表达水平迅速上调, LPS刺激1、2、4、8 h组Pim-1蛋白表达增多($P < 0.05$), LPS作用12 h后Pim-1蛋白表达回到基础水平(图2).

2.3 特异性信号阻断剂对巨噬细胞中Pim-1表达的影响 Western blot结果显示: 空白组、DMSO组、PI3K抑制剂组、P38抑制剂组、MEK1/2抑制剂组、JAK抑制剂组中Pim-1/GAPDH光密度扫描比值分别为 1.344 ± 0.177 、 1.209 ± 0.148 、 0.961 ± 0.258 、 $0.743 \pm$

应用要点

本文研究了Pim-1表达与巨噬细胞活化的关系及巨噬细胞中调控Pim-1表达的信号分子, 为进一步研究Pim-1在炎症反应中的作用机制提供了基础, 为后续利用Pim-1信号作为新的抗炎靶点提供了铺垫。

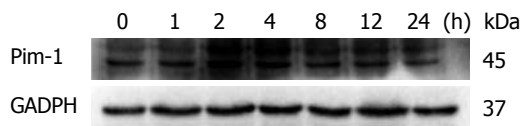


图2 活化的巨噬细胞中Pim-1蛋白表达。

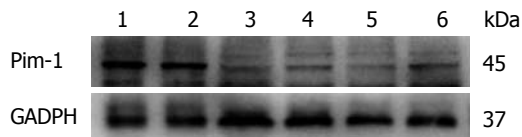


图3 信号分子抑制剂对巨噬细胞中Pim-1蛋白的影响。1: 对照组; 2: DMSO组; 3: PI3K抑制剂组; 4: P38MAPK抑制剂组; 5: MEK1/2抑制剂组; 6: JAK2抑制剂组。PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; P38MAPK: P38丝裂原活化蛋白激酶; JAK2: Janus家族酪氨酸激酶2; ERK1/2: 丝裂原活化蛋白激酶1/2。

0.081、 0.759 ± 0.141 、 0.854 ± 0.060 。PI3K抑制剂组、P38抑制剂组、MEK1/2抑制剂组及JAK抑制剂组中巨噬细胞中Pim-1蛋白表达与对照组相比, 差别具有统计学意义($P < 0.05$)(图3)。

3 讨论

活化的巨噬细胞是多种功能的统一体, 是固有免疫的重要组成部分。在体外培养条件下LPS诱导产生的M1型巨噬细胞中诱生型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达水平及活性均显著增加, 信号转导和转录活化因子1(signal transducers and activator of transcription 1, STAT1)、激活蛋白-1(active protein-1, AP-1)和核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)等转录因子活化, 促使促炎性细胞因子白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等大量表达及释放, 具有与体内极化的巨噬细胞相似的表型和功能, 诱发炎症反应、介导细胞免疫和组织损伤^[5,6]。

Pim-1基因编码的分子量为44和33 kDa的Pim-1蛋白, 属于丝/苏氨酸激酶, 亦属于钙离子/钙调蛋白调节激酶, 前者半衰期约1 h, 后者半衰期约为10 min。Pim-1激酶的表达亦受到许多细胞因子的调控, 如受体酪氨酸激酶FLT3、热休克蛋白90、热休克蛋白70、eIF-4E等^[3]。本实验中在LPS刺激1 h后即可检测Pim-1 mRNA表达增高, 高峰出现在1-2 h, 为对照组的6倍且持续至少8 h。与Zhu等^[7]在B淋巴细胞研究的Pim-1时程变化的结果相似, Zhu等利用抗CD40抗体

刺激B淋巴细胞, 细胞中Pim-1 mRNA 30 min即可检测到表达上调, 并至少持续4 h, 峰值在加CD40后的30-60 min达高峰, 是对照的4.5倍。外源性刺激物作用后的胸腺母细胞、嗜铬细胞瘤细胞及脑组织中Pim-1 mRNA也与本实验有相似变化趋势^[8,9]。Pim-1 mRNA水平在加入LPS刺激后迅速上升, 符合其即刻早期基因^[8-10]的特点。LPS刺激能迅速诱导巨噬细胞中Pim-1蛋白表达, LPS刺激1 h即可检测到Pim-1蛋白水平增高, 其蛋白水平升高至少持续8 h, 在12 h后蛋白表达回落至基础水平。Pim-1激酶活性的增加主要是由于Pim-1蛋白含量的增加而非特异性Pim-1活性的增加^[11,12], 提示巨噬细胞活化过程中Pim-1激酶活性增加。我们前期试验发现Pim-1抑制剂组肠组织中p-NF- κ B、P65、iNOS表达与对照组相比明显下降, 且小鼠腹泻血便症状减轻, 肠组织病理学损伤减轻^[13], 本实验Pim-1 mRNA及蛋白在LPS刺激后迅速表达上调, 且高峰出现早, 表明Pim-1主要在巨噬细胞活化的早期阶段发挥其调节作用。

既往淋巴瘤细胞及胸腺母细胞中的研究^[10,14]发现Pim-1 mRNA的表达与蛋白表达平行。本实验中小鼠巨噬细胞在LPS刺激2 h后Pim-1 mRNA达到高峰, Pim-1激酶维持增高水平, 12 h后Pim-1 mRNA及蛋白即回落至基础水平, Pim-1蛋白表与Pim-1 mRNA的表达相比较并未发现有明显的滞后。

Pim-1在巨噬细胞功能调控中发挥了重要作用, 我们前期试验中体内体外实验验证阻断Pim-1能显著抑制巨噬细胞及结肠组织中NF- κ B P65、iNOS、TNF- α 的表达, 调控巨噬细胞功能。有研究^[15,16]报道: 抑制JAK2负性调控LPS刺激后小鼠巨噬细胞Raw64.7中炎症介质iNOS、IL-1、IL-6、TNF- α 的产生, 且IL-6的减少与JAK2、IKK β 抑制有关, 与ERK/MEK、P38、PI3K抑制剂无关。目前研究认为Pim家族的诱导表达与JAK/STAT的激活关系密切, 尤其是JAK2/STAT5a的激活在细胞因子/生长因子诱导Pim-1表达的过程中发挥重要作用。Pim-1基因启动子上ISFR/GAS序列能直接与活化的STAT3/STAT5结合而上调Pim-1基因表达^[17,18]。本实验中干扰JAK2/STATs信号转导通路抑制Pim-1表达与Krumenacker等^[19]在小鼠pre-TNB2淋巴细胞中研究结果一致。Pim-1可能是JAK2信号的下游分子, JAK2/STAT信号转

导途径介导Pim-1及其相关分子表达, 继而调控巨噬细胞的分化及功能。

Pim-1的表达还受其他多种信号传导通路调控, 且在不同遗传背景及微环境下调控Pim-1表达的信号通路存在显著差异^[20]。MAPK在真核细胞中普遍表达, 巨噬细胞中MAPK活化是致炎因子产生的关键, MAPK亚家族成员P38-MAPK、MEK/ERK活化的标志是其磷酸化形式表达量的增多。既往研究提示, 1 μg/mL LPS可诱导巨噬细胞中P38、ERK立即表达, LPS刺激30 min后p-P38、p-ERK蛋白水平达到高峰^[21], 比本实验中Pim-1蛋白表达高峰更早出现。Tu等^[22]、Willert等^[23]报道P38-MAPK、MEK/ERK正向调控Pim-1表达, 与本实验中P38MAPK、MEK1/2信号转导通路调控Pim-1表达结果一致。Pim-1和Akt激酶是体内调节细胞生长增殖以及新陈代谢的两大主要激酶, 研究^[24]表明Pim-1是Akt信号的下游分子, Pim-1介导PI3k/Akt的多种生物学功能。Jin等^[25]研究发现选择性I类PI3K抑制剂GDC-0941能通过抑制Pim-1表达水平, 与本实验中PI3K信号转导通路调控Pim-1表达结果一致。

在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)病变肠道黏膜中, 大量聚集的巨噬细胞不仅是主要的抗原提呈细胞, 决定T细胞免疫反应类型, 还能介导炎症反应、分泌多种炎症活性物质, 在IBD发生发展中发挥重要作用^[26]。随着生活条件及诊疗水平的提高, IBD发病率在全球呈上升趋势^[27]。目前尚无有效治愈该疾病的方法, 当前IBD治疗以5-氨基水杨酸类和糖皮质激素等传统药物为主, 但其有效率低, 不良反应不容忽视。随着对IBD发病机制深入研究, 以IBD免疫和炎症反应过程的不同环节为靶点的生物治疗成为研究的热点。本实验组研究发现Pim-1能调控巨噬细胞功能, 巨噬细胞中Pim-1的表达受ERK、P38MAPK、PI3K、JAK2/STATs等多种信号的调控, 且巨噬细胞中Pim-1的表达调控并不完全依赖于其中某一信号转导途径, Pim-1可能是多种炎症相关信号途径的下游分子及交汇点。既往实验发现敲除Pim-1基因或抑制Pim-1激酶活性对Pim-1高表达的异常细胞有致死性作用, 而对正常细胞及个体生长没有明显的影响^[28], 且能改善对免疫调节剂的抵抗^[29]。综合研究提示Pim-1有望成为IBD治疗靶点。Pim-1小分子抑制剂SGI-1776

已进入临床试验阶段, 对慢性淋巴细胞白血病和前列腺癌细胞具有显著的细胞毒性效应。尽管目前还没有Pim-1激酶抑制剂治疗炎症性肠病的临床试验, 但是这些研究成果为开发治疗IBD新靶点药物提供了思路。

4 参考文献

- Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity* 2010; 32: 593-604 [PMID: 20510870 DOI: 10.1016/j.immuni.2010.05.007]
- Singh A, Talekar M, Raikar A, Amiji M. Macrophage-targeted delivery systems for nucleic acid therapy of inflammatory diseases. *J Control Release* 2014; 190: 515-530 [PMID: 24747762 DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.04.021]
- Blanco-Aparicio C, Carnero A. Pim kinases in cancer: diagnostic, prognostic and treatment opportunities. *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 629-643 [PMID: 23041228 DOI: 10.1016/j.bcp.2012.09.018]
- Shen YM, Zhao Y, Zeng Y, Yan L, Chen BL, Leng AM, Mu YB, Zhang GY. Inhibition of Pim-1 kinase ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1822-1831 [PMID: 22466098 DOI: 10.1007/s10620-012-2106-7]
- Stout RD, Jiang C, Matta B, Tietzel I, Watkins SK, Suttles J. Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. *J Immunol* 2005; 175: 342-349 [PMID: 15972667]
- Vogel SN, Marshall ST, Rosenstreich DL. Analysis of the effects of lipopolysaccharide on macrophages: differential phagocytic responses of C3H/HeN and C3H/HeJ macrophages in vitro. *Infect Immun* 1979; 25: 328-336 [PMID: 478638]
- Zhu N, Ramirez LM, Lee RL, Magnuson NS, Bishop GA, Gold MR. CD40 signaling in B cells regulates the expression of the Pim-1 kinase via the NF-kappa B pathway. *J Immunol* 2002; 168: 744-754 [PMID: 11777968]
- Feldman JD, Vician L, Crispino M, Tocco G, Baudry M, Herschman HR. Seizure activity induces PIM-1 expression in brain. *J Neurosci Res* 1998; 53: 502-509 [PMID: 9710271]
- Liu W, Feldman JD, Machado HB, Vician LJ, Herschman HR. Expression of depolarization-induced immediate early gene proteins in PC12 cells. *J Neurosci Res* 2003; 72: 670-678 [PMID: 12774307 DOI: 10.1002/jnr.10626]
- Buckley AR, Buckley DJ, Leff MA, Hoover DS, Magnuson NS. Rapid induction of pim-1 expression by prolactin and interleukin-2 in rat Nb2 lymphoma cells. *Endocrinology* 1995; 136: 5252-5259 [PMID: 7588268 DOI: 10.1210/endo.136.12.7588268]
- Swords R, Kelly K, Carew J, Nawrocki S, Mahalingam D, Sarantopoulos J, Bearss D, Giles F. The Pim kinases: new targets for drug development. *Curr Drug Targets* 2011; 12: 2059-2066 [PMID: 21777193]
- Xu D, Allsop SA, Witherspoon SM, Snider JL, Yeh JJ, Fiordalisi JJ, White CD, Williams D, Cox AD, Baines AT. The oncogenic kinase Pim-1 is modulated by K-Ras signaling and mediates transformed growth and radioresistance in human pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Carcinogenesis* 2011;

■名词解释

早期即刻基因: 静息细胞中在生长因子、神经递质等胞外信号刺激后立即表达的且表达不被蛋白合成抑制剂阻止、不需要重新合成蛋白质的基因。

同行评价

本文具有一定程度的创新性, 对临床控制炎症有指导性意义.

- 32: 488-495 [PMID: 21262926 DOI: 10.1093/carcin/bgr007]
- 13 申月明, 曾亚, 刘霆. Pim-1在炎症性肠病小鼠结肠组织中的表达研究. 现代生物医学进展 2012; 12: 6838-6841
- 14 Rohwer F, Todd S, McGuire KL. The effect of IL-2 treatment on transcriptional attenuation in proto-oncogenes pim-1 and c-myc in human thymic blast cells. *J Immunol* 1996; 157: 643-649 [PMID: 8752912]
- 15 Lee C, Oh JI, Park J, Choi JH, Bae EK, Lee HJ, Jung WJ, Lee DS, Ahn KS, Yoon SS. TNF α mediated IL-6 secretion is regulated by JAK/STAT pathway but not by MEK phosphorylation and AKT phosphorylation in U266 multiple myeloma cells. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 580135 [PMID: 24151609 DOI: 10.1155/2013/580135]
- 16 Kou X, Qi S, Dai W, Luo L, Yin Z. Arctigenin inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS expression in RAW264.7 cells through suppressing JAK-STAT signal pathway. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1095-1102 [PMID: 21426947 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.03.005]
- 17 Wang Z, Bhattacharya N, Weaver M, Petersen K, Meyer M, Gapter L, Magnuson NS. Pim-1: a serine/threonine kinase with a role in cell survival, proliferation, differentiation and tumorigenesis. *J Vet Sci* 2001; 2: 167-179 [PMID: 12441685]
- 18 Paukku K, Silvennoinen O. STATs as critical mediators of signal transduction and transcription: lessons learned from STAT5. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 435-455 [PMID: 15561601 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2004.09.001]
- 19 Krumenacker JS, Narang VS, Buckley DJ, Buckley AR. Prolactin signaling to pim-1 expression: a role for phosphatidylinositol 3-kinase. *J Neuroimmunol* 2001; 113: 249-259 [PMID: 11164909]
- 20 Moser KM, Kidikoro Y, Marsh J, Sgroi V. Biologic half-life and organ distribution of radiolabeled human PiM and PiZ alpha-1-antitrypsin in the dog. *J Lab Clin Med* 1978; 91: 214-222 [PMID: 304468]
- 21 Han J, Lee JD, Bibbs L, Ulevitch RJ. A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells. *Science* 1994; 265: 808-811 [PMID: 7914033]
- 22 Tu ML, Wang HQ, Sun XD, Chen LJ, Peng XC, Yuan YH, Li RM, Ruan XZ, Li DS, Xu YJ, Ke ZJ. Pim-1 is up-regulated by shear stress and is involved in shear stress-induced proliferation of rat mesenchymal stem cells. *Life Sci* 2011; 88: 233-238 [PMID: 21147132 DOI: 10.1016/j.lfs.2010.12.001]
- 23 Willert M, Augstein A, Poitz DM, Schmeisser A, Strasser RH, Braun-Dullaeus RC. Transcriptional regulation of Pim-1 kinase in vascular smooth muscle cells and its role for proliferation. *Basic Res Cardiol* 2010; 105: 267-277 [PMID: 19711112 DOI: 10.1007/s00395-009-0055-x]
- 24 Sussman MA. Mitochondrial integrity: preservation through Akt/Pim-1 kinase signaling in the cardiomyocyte. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2009; 7: 929-938 [PMID: 19673671 DOI: 10.1586/erc.09.48]
- 25 Jin L, Tabe Y, Lu H, Borthakur G, Miida T, Kantarjian H, Andreeff M, Konopleva M. Mechanisms of apoptosis induction by simultaneous inhibition of PI3K and FLT3-ITD in AML cells in the hypoxic bone marrow microenvironment. *Cancer Lett* 2013; 329: 45-58 [PMID: 23036488 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.09.020]
- 26 Heinsbroek SE, Gordon S. The role of macrophages in inflammatory bowel diseases. *Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e14 [PMID: 19439108 DOI: 10.1017/S1462399409001069]
- 27 Fumery M, Dauchet L, Vignal C, Gower-Rousseau C. [Epidemiology, risk factors and factors associated with disabling course in inflammatory bowel disease]. *Rev Prat* 2014; 64: 1210-1215 [PMID: 25638856]
- 28 Laird PW, van der Lugt NM, Clarke A, Domen J, Linders K, McWhir J, Berns A, Hooper M. In vivo analysis of Pim-1 deficiency. *Nucleic Acids Res* 1993; 21: 4750-4755 [PMID: 8233823]
- 29 Fox CJ, Hammerman PS, Thompson CB. The Pim kinases control rapamycin-resistant T cell survival and activation. *J Exp Med* 2005; 201: 259-266 [PMID: 15642745 DOI: 10.1084/jem.20042020]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



婚育因素对中国女性食管鳞状细胞癌患者的生存影响

张冬云, 刘冉, 库建伟, 刘安丽, 赵学科, 张朋, 王静, 李寅, 吴红芳, 王立东

张冬云, 刘安丽, 王静, 李寅, 吴红芳, 南阳医学高等专科学校基础医学部病理教研室 河南省南阳市 473061

刘冉, 南阳医学高等专科学校第一附属医院肿瘤内科 河南省南阳市 473061

库建伟, 南阳医学高等专科学校第二附属医院肿瘤内科 河南省南阳市 473061

赵学科, 张朋, 王立东, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省食管癌重点开放实验室 河南省郑州市 450052

张冬云, 讲师, 主要从事食管癌和贲门癌发病机制和防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. U1301227

作者贡献分布: 张冬云、刘冉、库建伟、刘安丽、赵学科、张朋、王静、李寅、吴红芳及王立东对此文所作贡献均等; 此课题由王立东与张冬云设计; 研究过程由张冬云、刘冉、刘安丽、库建伟、赵学科、张朋、王静、李寅及吴红芳操作完成; 数据分析由张冬云、赵学科及张朋完成; 本论文写作由张冬云、刘冉、刘安丽、库建伟、赵学科、张朋、王静、李寅、吴红芳及王立东完成。

通讯作者: 王立东, 教授, 博士生导师, 450052, 河南省郑州市大学路40号, 郑州大学第一附属医院消化内科, 河南省食管癌重点开放实验室。ldwang@zzu.edu.cn
电话: 0371-66658335

收稿日期: 2015-05-11 修回日期: 2015-06-03

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Effects of reproductive and menstrual factors on survival of women with esophageal squamous cell carcinoma

Dong-Yun Zhang, Ran Liu, Jian-Wei Ku, An-Li Liu, Xue-Ke Zhao, Peng Zhang, Jing Wang, Yin Li, Hong-Fang Wu, Li-Dong Wang

Dong-Yun Zhang, An-Li Liu, Jing Wang, Yin Li, Hong-Fang Wu, Department of Pathology, School of Basic Medicine, Nanyang Medical College, Nanyang 473061, He'nan Province, China

Ran Liu, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473061, He'nan Province, China

Jian-Wei Ku, Department of Medical Oncology, the Second Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473061, He'nan Province, China

Xue-Ke Zhao, Peng Zhang, Li-Dong Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of

Zhengzhou University; He'nan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. U1301227

Correspondence to: Li-Dong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; He'nan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research, 40 Daxue Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. ldwang@zzu.edu.cn

Received: 2015-05-11 Revised: 2015-06-03

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To determine the effects of reproductive and menstrual factors on the survival of women with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: A total of 12041 Chinese women with ESCC were enrolled in this study, and their median age was 61 years. All patients' information was retrieved from the esophageal cancer database of Henan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research based on the records of reproduction and menstrual history. The menopausal status was categorized as pre-, peri- and post-menopausal. Questionnaire, home interview and/or telephone were performed for survival follow-up. Cox proportional hazards regression models were used for analysis of relative risks (RRs) and 95% confidence intervals (95% CIs) to determine the effects of reproductive and menstrual factors on ESCC survival.

RESULTS: Survival analysis demonstrated that patients with increased number of pregnancy had a longer survival (RR = 1.49, 95% CI: 1.16-1.92); the prolonged survival remained in patients from the high incidence area (RR = 1.41,

背景资料

食管癌男性高发于女性, 且女性患者预后好于男性。国内外相关研究均提示女性激素在食管癌的发生、发展中起一定作用。能影响女性激素水平的婚育因素除了与癌症发病风险有关外, 是否影响中国女性食管癌患者预后, 至今尚无定论。

同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

■ 研发前沿

目前国内外关于此方面研究多是通过分析婚育因素与消化系统肿瘤发病风险关系及采用激素替代疗法来对比分析患者发病风险有无差异, 很少涉及更深层次的分子水平机制的探讨。下一步研究中应从细胞水平、分子水平探讨婚育因素参与改善女性患者预后的机制所在, 以加深对食管癌分子学机制的了解。

95%CI: 1.03-1.86) and in patients with a negative family history (RR = 1.21, 95%CI: 1.04-1.41). Pre-menopausal patients had a longer survival than peri- and postmenopausal patients ($P = 0.00$); this remained in patients from the high incidence area (RR for post- vs pre-menopausal, 0.73, 95%CI: 0.62-0.86) and in patients with a negative family history (RR = 0.70, 95%CI: 0.58-0.85).

CONCLUSION: Increasing number of pregnancy and premenopausal status may be favorable factors for ESCC survival in Chinese women with ESCC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Reproductive; Menopausal status; Women; Survival

Zhang DY, Liu R, Ku JW, Liu AL, Zhao XK, Zhang P, Wang J, Li Y, Wu HF, Wang LD. Effects of reproductive and menstrual factors on survival of women with esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3517-3525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3517.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3517>

摘要

目的: 探讨婚育因素对中国女性食管鳞状细胞癌患者术后生存预后影响。

方法: 12041例女性食管癌患者信息均来自河南省食管癌重点开放实验室食管癌数据库, 患者均经组织病理学证实为食管鳞状细胞癌且有翔实婚育史记录及完整临床病理资料。通过调查问卷、家访、电话问询方式进行患者生存随访。Kaplan-Meier生存曲线及Cox生存分析模型分析不同婚育因素对女性食管鳞癌患者预后影响。

结果: 校正年龄、职业、吸烟、饮酒、体质指数和肿瘤病理分期等可能混杂因素后Cox多因素生存分析显示怀孕次数多女性预后较好(RR = 1.49, 95%CI: 1.16-1.92), 分层分析发现该生存优势也存在于高发区女性(RR = 1.41, 95%CI: 1.03-1.86)及食管癌家族史阴性女性(RR = 1.21, 95%CI: 1.04-1.41)。绝经前期女性预后明显优于围绝经期和绝经后期女性患者($P = 0.00$), 尤其是来自于高发区(RR = 0.73, 95%CI: 0.62-0.86)和家族史阴性绝经前期女性(RR = 0.70, 95%CI: 0.58-0.85)。

结论: 怀孕次数和经期状态可能是中国女性食管鳞癌患者术后预后影响因素, 怀孕次数多女性及绝经前期女性患者术后预后较好。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管鳞状细胞癌; 婚育因素; 经期状态; 女性; 生存

核心提示: 本研究首次报道了婚育因素对中国女性食管鳞癌患者生存预后的影响, Cox多因素生存分析结果显示经期状态和怀孕次数与女性食管癌患者预后相关, 绝经前期女性、怀孕次数多女性食管鳞癌患者术后预后较好。

张冬云, 刘冉, 库建伟, 刘安丽, 赵学科, 张朋, 王静, 李寅, 吴红芳, 王立东. 婚育因素对中国女性食管鳞状细胞癌患者的生存影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3517-3525 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3517.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3517>

0 引言

中国是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国家之一, 男性高发于女性, 且主要组织学类型为食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)^[1]。令人惊奇的是, 女性ESCC患者预后好于男性^[2]。国外关于食管癌^[3,4]和其他癌症研究^[5-7]也发现了癌症患者预后存在有性别间生存差异, 这提示除了吸烟、饮酒外, 男女间性激素不同可能在癌症发生、发展及预后中起一定作用。研究发现高水平雌激素、孕激素浓度能降低上消化道肿瘤(头、颈、食管、胃)发生率^[8]。我们实验室以前研究^[9,10]也显示出女性激素在食管癌发展中的保护作用及部分解释了食管癌发病率男性高于女性。

女性一生中, 经期状态、初潮年龄、怀孕次数、生产次数、初次生育孩子年龄等婚育因素会影响女性体内性激素水平。越来越多研究证据显示婚育因素与癌症发病风险相关, 诸如食管癌^[11-15]、胃癌^[16,17]及胃贲门交接部腺癌^[18]。但这些能影响女性体内激素水平的婚育因素除了与癌症发病风险有关外, 是否影响女性食管癌患者预后, 至今国内研究尚无定论。本研究主要是通过来自中国食管癌高、低发区的大样本人群研究, 探讨婚育因素对中国女性食管癌患者术后是否存在生存预后影响。

1 材料和方法

1.1 材料 从河南省食管癌重点开放实验室已建立的生存随访食管癌资料库中, 根据生存随访结果及翔实的婚育史记录, 最终12041例女性ESCC患者进入最终分析。依据经期状态划分标准, 其中绝经前期女性患者539例(4.5%), 中位诊断年龄42岁; 围绝经期患者2527例(20.9%), 中位诊断年龄52岁; 绝经后期患者8975例(74.6%), 中位诊断年龄64岁。中位生存时间分别为12.3、9.0和4.8年。

1.2 方法

1.2.1 人群生存随访、临床信息复核: 通过对河南省安阳市、林州市、河北省磁县、山西省长治市、四川省盐亭县及广东南澳岛等中国食管癌高发区及部分低发区进行食管癌现场流行病学调查, 确定食管患者, 进行入户问卷调查和生存随访, 记录患者一般资料(年龄, 性别, 家族史, 治疗医院等)、婚育因素(初潮年龄、初次生育年龄、怀孕次数、生孩子数目等)。随访截止时间为2013-12-15。同时到相应治疗医院对患者临床病理资料(以病理诊断为准)包括患者确诊时间、病理诊断、组织类型、分化程度、TNM分期、淋巴结转移、治疗情况(外科手术、化疗、放疗)等进行复核, 未找到原始住院记录者, 不进入最终分析。该研究已通过郑州大学第一临床学院医学研究伦理委员会批准。

1.2.2 经期状态划分标准: 本研究是基于大样本量回顾性研究, 无法得到所有患者绝经年龄, 参考国际上关于经期状态划分标准^[19], 结合中国女性一生中雌激素水平变化实际情况^[20,21], 我们依据患者首次确诊年龄划分为绝经前期、围绝经期和绝经后期。其中绝经前期: 患者首次确诊年龄 ≤ 45 岁; 围绝经期: 患者首次确诊年龄46-55岁; 绝经后期: 患者首次确诊年龄 ≥ 56 岁。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件处理数据, 组间比较采用 χ^2 检验, Kaplan-Meier生存分析、Cox多因素回归模型分析婚育因素与患者生存时间关系, 检验标准取 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素生存分析 K-M生存分析显示绝经前期女性患者预后依次优于围绝经期、绝经后

期女性患者($P = 0.00$)。高发区、低发区的绝经前期女性, 家族史阳性、家族史阴性的绝经前期女性均显示出了这种生存优势($P = 0.00$ 、 0.00 、 0.00 、 0.00)(图1)。

2.2 Cox多因素生存分析

2.2.1 依据经期状态对女性患者进行Cox多因素生存分析: 表1显示在对所有女性ESCC患者校正年龄、职业、吸烟、饮酒、体质指数和肿瘤病理分期等可能混杂因素后, Cox多因素生存分析显示怀孕次数多女性预后好于怀孕次数少女性(≥ 6 次 $vs \leq 2$ 次)(RR = 1.49, 95%CI: 1.16-1.92)。绝经年龄(≥ 56 岁 $vs \leq 45$ 岁)(RR = 1.21, 95%CI: 0.93-1.56), 初潮年龄(≥ 17 岁 $vs \leq 14$ 岁)(RR = 1.03, 95%CI: 0.92-1.14), 生产孩子数目(≥ 6 个 $vs \leq 2$ 个)(RR = 1.09, 95%CI: 0.85-1.34)与女性ESCC患者预后无关。对绝经前期女性来说, 初次生育年龄早者预后好(≥ 25 岁 $vs \leq 20$ 岁)(RR = 0.51, 95%CI: 0.27-0.95), 围绝经期和绝经后期女性不显示这种生存优势(≥ 25 岁 $vs \leq 20$ 岁)(RR = 0.91、1.11, 95%CI: 0.70-1.17、0.95-1.33)。

2.2.2 依据食管癌高、低发区对女性患者进行Cox多因素分层分析: 表2中可以看出与绝经前期女性ESCC患者相比, 食管癌高发区绝经后期女性患者预后差于绝经前期和围绝经期女性患者(RR = 0.73; 95%CI: 0.62-0.86)。同时还发现在Cox多因素分层分析中虽然下述结果没有达到统计学意义, 但组内比较显示高发区怀孕次数多(≥ 6 次 $vs \leq 2$ 次)(RR = 1.41, 95%CI: 1.03-1.86)、生产孩子数目多(≥ 6 个 $vs \leq 2$ 个)(RR = 1.22; 95%CI: 1.04-1.43)及初次生育年龄早(RR = 0.78, 95%CI: 0.79-1.01)女性, 预后相对较好。低发区的女性ESCC患者术后不存在这种生存优势(RR = 1.44、0.99、0.83; 95%CI: 0.92-2.44、0.52-1.36、0.63-1.13)。

2.2.3 依据食管癌患者家族史阳性、阴性对女性患者进行Cox多因素分层分析: 表3显示食管癌家族史阴性的女性患者中, 绝经后期女性预后差(RR = 0.70, 95%CI: 0.58-0.85), 怀孕次数多女性预后较好(RR = 1.21, 95%CI: 1.04-1.41); 在家族史阳性女性ESCC患者中, 生产孩子多者预后较好(RR = 1.30, 95%CI: 1.02-1.66)。

3 讨论

本研究结果显示绝经前期女性预后好于围绝

■ 相关报道

关于婚育因素与消化系统肿瘤发病风险关系的研究, 国内外已有诸多报道。Green等报道经期状态和绝经年龄与食管癌、胃癌发病风险相关; Cronin-Fenton等研究有哺乳史的女性, 食管癌和胃-贲门交接部腺癌发病风险降低; Yu等报道绝经年龄晚, 有哺乳史者食管癌发病风险下降; Chen等研究发现初次生育年龄晚者, 食管鳞癌发病风险增高。由于种族差异及样本来源、样本量大小、实验设计等的不同, 研究结果不尽一致。但这也显示当前世界范围的肿瘤研究领域里众多科研工作开始关注性激素与肿瘤发生、发展关系。

■ 创新盘点

目前国内外开展的此方面研究多是关于婚育因素与消化系统肿瘤发病风险关系研究, 鲜少涉及婚育因素与生存关系研究, 更不要说对患者进行进一步的多因素生存分层分析研究. 本研究通过对12014例中国女性食管鳞癌患者进行生存分析研究, 揭示婚育因素与中国女性食管鳞癌患者预后相关.

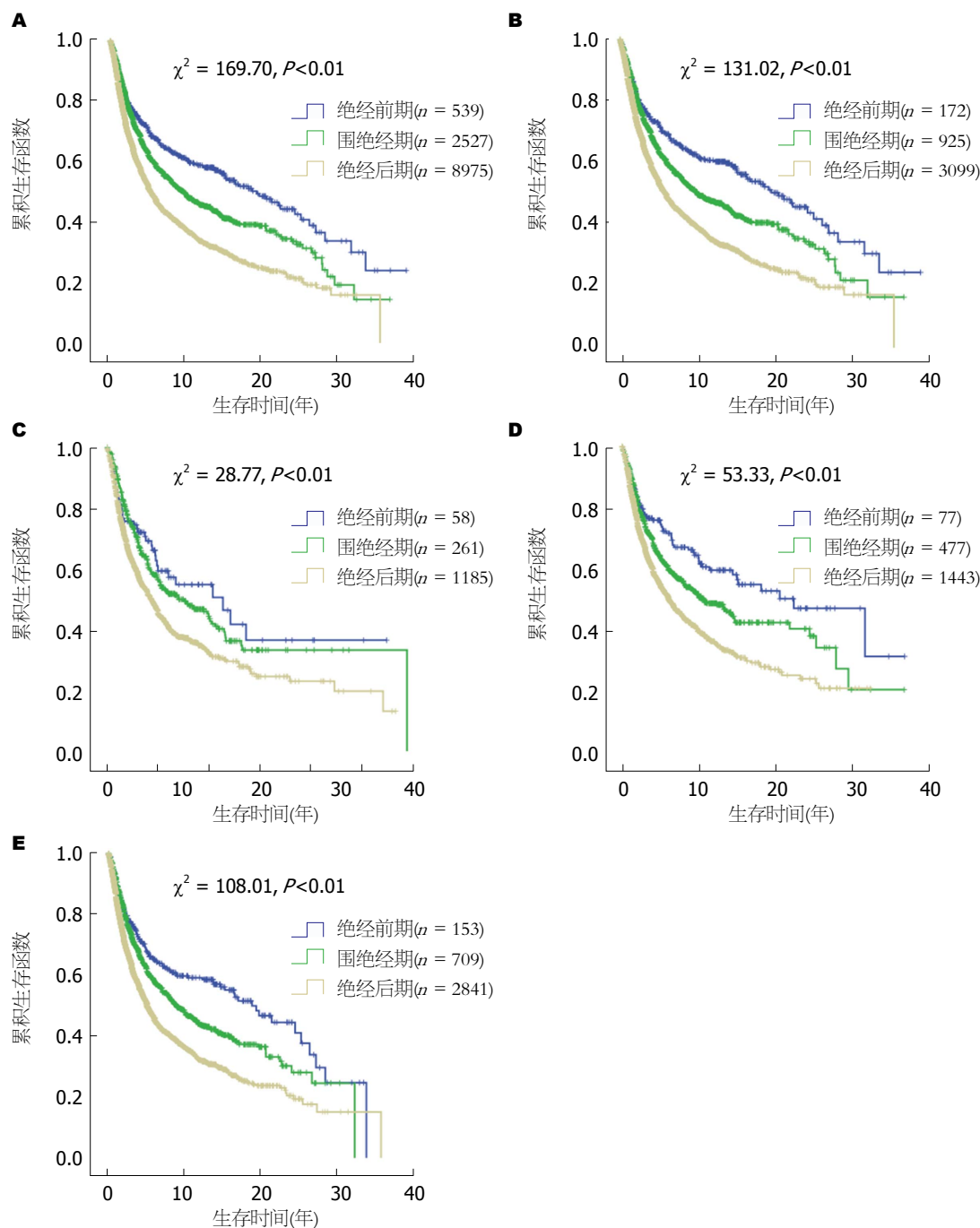


图1 依据经期状态对女性食管鳞癌患者进行K-M生存分析. A: 总女性; B: 高发区女性; C: 低发区女性; D: 食管癌家族史阳性; E: 食管癌家族史阴性.

经期和绝经后期女性, 这也进一步提示女性体内性激素水平及浓度的不同可能对不同经期状态女性食管癌术后的生存差异起一定作用. 女性一生中, 绝经前期体内性激素浓度维持高水平, 经历周期性波动后(围绝经期), 降低到一个较低水平状态(绝经后期)^[22]. 采用激素治疗的绝经后期女性, 与未采用激素治疗的绝经后期女性相比, 食管癌发病风险明显降低^[23].

关于婚育因素与消化系统肿瘤发病风险关

系研究^[13], 国外已有诸多报道. 英国一项研究显示经期状态和绝经年龄与食管癌、胃癌发病风险相关; 美国等研究显示有哺乳史的女性, 食管癌和胃-贲门交接部腺癌发病风险降低^[18,24], 来自意大利及瑞典的研究也显示生产孩子多者食管鳞癌发病风险下降^[15,25]. 但是, 瑞典另外一项病例-对照研究却发现女性生育史与食管腺癌发病风险无关^[26]. 先不探究出现这种不一致结果的原因, 但就由于种族的差异及所发生

表 1 依据绝经状态对女性ESCC患者进行Cox生存分析

危险因素	绝经前期(n = 230)					围绝经期(n = 1186)					绝经后期(n = 4284)				
	n	RR	95%CI	χ^2 值	P值	n	RR	95%CI	χ^2 值	P值	n	RR	95%CI	χ^2 值	P值
初潮年龄(岁)															
≤14	56		ref	1.84	0.18	284		ref	0.16	0.69	1134		ref	1.49	0.21
15-16	86	1.68	0.87-3.27			385	1.02	0.83-1.31			1535	1.04	0.92-1.13		
≥17	88	1.71	0.97-3.01			517	1.07	0.87-1.32			1615	1.01	0.91-1.13		
初次生育年龄(岁)				0.06	0.81				0.75	0.38				4.79	0.03
≤20	13		ref			112		ref			993		ref		
21-22	78	0.91	0.26-2.85			343	0.95	0.71-1.45			1546	0.91	0.74-1.09		
23-24	91	0.72	0.34-1.49			437	1.01	0.64-1.38			1308	0.99	0.83-1.16		
≥25	48	0.51	0.27-0.95			294	0.91	0.70-1.17			437	1.11	0.95-1.33		
怀孕次数(次)				0.15	0.71				2.69	0.01				1.37	0.24
1-2	89		ref			320		ref			522		ref		
3	66	0.91	0.21-3.11			351	1.51	0.99-2.11			851	1.24	0.79-1.92		
4	41	1.53	0.38-6.11			253	1.36	0.98-1.86			1041	1.34	0.97-1.84		
5	17	1.42	0.33-5.31			141	0.98	0.71-1.39			871	1.10	0.87-1.34		
≥6	17	1.97	0.44-8.07			121	0.84	0.56-1.25			999	1.11	0.91-1.36		
绝经年龄(岁)				0.01	0.91				0.46	0.51				0.39	0.47
≤45	176		ref			209		ref			666		ref		
46-55	47	1.04	0.23-4.64			962	1.48	0.59-3.66			3491	1.07	0.83-1.41		
≥56	7	1.24	0.27-5.73			15	1.35	0.55-3.32			127	1.17	0.91-1.52		
生产孩子数目(个)				0.14	0.71				0.38	0.54				1.01	0.04
1-2	112		ref			403		ref			604		ref		
3	77	0.79	0.12-5.14			429	1.12	0.54-2.28			969	1.31	1.10-1.55		
4	32	0.39	0.31-2.81			221	0.75	0.43-1.39			1157	1.17	1.01-1.35		
5	2	0.56	0.09-3.32			86	0.85	0.58-1.65			819	1.30	1.13-1.49		
≥6	7	1.04	0.06-3.79			47	0.59	0.32-1.12			735	1.28	1.11-1.47		

Cox生存分析时还纳入了年龄、种族、职业、吸烟、饮酒、体质指数、病理分期等可疑干扰因素。CI: 可信区间; ref: 参照; RR: 相对危险度; ESCC: 食管鳞状细胞癌。

应用要点

多因素生存分析显示绝经前期女性及怀孕次数多女性食管鳞癌患者预后较好, 推测雌激素可能对女性患食管癌后具有一定的保护作用, 进一步寻找雌激素作用机制, 这在一定程度上为我国女性食管癌患者的二级预防及内分泌治疗提供了可靠的理论依据。

■名词解释

食管癌患者肿瘤家族史阳性: 连续三代内发生≥2例ESCC(或其他上消化系统肿瘤)的家庭; 食管癌患者肿瘤家族史阴性: 系指连续三代内发生≤1例ESCC(或其他上消化系统肿瘤)的家庭。

表 2 依据食管癌高发区和低发区对女性ESCC患者进行Cox生存分析

危险因素	高发区 (n = 4196)					低发区 (n = 1504)				
	n	RR	95%CI	χ ² 值	P值	n	RR	95%CI	χ ² 值	P值
经期状态				15.37	0.00				0.11	0.74
绝经前期	172		ref			58		ref		
围绝经期	925	0.72	0.56–1.15			261	0.68	0.33–1.43		
绝经后期	3099	0.73	0.62–0.86			1185	0.88	0.64–1.21		
初潮年龄(岁)				0.91	0.34				1.87	0.07
≤14	835		ref			639		ref		
15–16	1536	0.95	0.84–1.07			470	1.16	0.98–1.39		
≥17	1825	1.05	0.95–1.17			395	0.92	0.75–1.15		
初次生育年龄(岁)				1.57	0.21				1.56	0.14
≤20	822		ref			296		ref		
21–22	1499	0.78	0.79–1.01			468	0.83	0.63–1.13		
23–24	1327	0.89	0.66–0.91			509	0.97	0.72–1.21		
≥25	548	1.01	0.89–1.15			231	0.99	0.77–1.29		
怀孕次数(次)				2.67	0.10				1.61	0.21
1–2	662		ref			269		ref		
3	922	1.18	0.83–1.69			346	1.44	0.66–3.14		
4	968	1.06	0.86–1.30			367	1.75	0.89–3.23		
5	768	1.11	0.87–1.41			261	1.20	0.76–1.89		
≥6	876	1.41	1.03–1.86			261	1.44	0.92–2.44		
绝经年龄(岁)				0.29	0.58				0.02	0.27
≤45	808		ref			243		ref		
46–55	3274	1.11	0.81–1.51			1226	0.99	0.59–1.68		
≥56	114	1.21	0.90–1.64			35	0.97	0.59–1.59		
生产孩子数目(个)				0.03	0.86				0.51	0.48
1–2	817		ref			302		ref		
3	1100	1.42	1.20–1.69			375	0.89	0.62–1.82		
4	1004	1.18	1.01–1.38			406	0.87	0.57–1.34		
5	677	1.24	1.06–1.44			230	1.01	0.69–1.47		
≥6	598	1.22	1.04–1.43			191	0.99	0.52–1.36		

Cox生存分析时还纳入了年龄、种族、职业、吸烟、饮酒、体质指数、病理分期等可疑干扰因素。CI: 可信区间; ref: 参照; RR: 相对危险度; ESCC: 食管鳞状细胞癌。

食管癌组织学类型的不同, 这些研究结果就并不完全适用于中国女性患者。食管癌发生的主要组织学类型有食管鳞状细胞癌和食管腺癌, 中国主要好发食管鳞状细胞癌, 而西方国家以腺癌高发为主。

国内关于婚育因素与消化系肿瘤发病风险关系研究也存有不一致甚至相反结论。一项研究发现绝经年龄晚, 有哺乳史者食管癌发病风险下降^[12]; 另一项研究发现初次生育年龄晚者, 食管鳞癌发病风险增高^[14]; 而另一项类似研究显示婚育因素与食管鳞癌或腺癌发病无关^[11]。研究者实验设计不同、样本量大小、样本来源不同及统计能力的受限等部分解释了相似研究为什么却存在有不同研究结果的原

因。此外, 这些研究样本量多在25-600之间, 随访时间短, 文章中很少提及与生存关系研究, 更不要说对患者进行进一步的多因素生存分层分析研究。

本研究通过对大样本人群进行生存分析研究, 首次揭示了与怀孕次数少的中国女性ESCC患者相比, 怀孕次数多女性患者预后较好; 分层分析显示来自食管癌高发区女性及家族史阴性女性患者存在有这种明显生存优势。这强烈提示孕育能影响女性体内激素环境, 使体内雌、孕激素持续维持在一个高水平状态。我们实验室以前的研究结果显示正常食管上皮中虽无性激素受体表达, 但食管鳞癌组织中存在有性激素受体, 且与食管癌病变程度呈

表 3 依据食管癌家族史阳性、阴性对女性ESCC患者进行Cox生存分析

危险因素	家族史阳性 (<i>n</i> = 1997)					家族史阴性 (<i>n</i> = 3703)				
	<i>n</i>	RR	95%CI	χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>n</i>	RR	95%CI	χ^2 值	<i>P</i> 值
经期状态				0.24	0.62				15.32	0.00
绝经前期	77		ref			153		ref		
围绝经期	477	1.37	0.77–2.42			709	0.54	0.37–0.81		
绝经后期	1443	0.94	0.81–1.37			2841	0.70	0.58–0.85		
初潮年龄(岁)				0.41	0.52				5.01	0.02
≤14	421		ref			1053		ref		
15–16	696	0.91	0.86–1.22			1310	1.14	1.01–1.28		
≥17	880	1.12	0.86–1.18			1340	1.05	0.89–1.17		
初次生育年龄(岁)				1.81	0.13				0.95	0.33
≤20	393		ref			725		ref		
21–22	656	0.88	0.69–1.13			1311	0.91	0.75–1.10		
23–24	663	0.99	0.88–1.28			1173	0.95	0.81–1.12		
≥25	285	1.10	0.98–1.39			494	0.96	0.87–1.14		
怀孕次数(次)				1.26	0.02				2.78	0.00
1–2	338		ref			593		ref		
3	428	1.32	0.73–2.24			840	1.36	1.16–1.62		
4	484	1.31	0.71–1.93			851	1.29	1.10–1.51		
5	334	0.97	0.71–1.34			695	1.24	1.07–1.44		
≥6	413	0.99	0.74–1.33			724	1.21	1.04–1.41		
绝经年龄(岁)				0.01	0.63				0.33	0.49
≤45	375		ref			676		ref		
46–55	1568	1.26	0.79–2.04			2932	1.03	0.75–1.43		
≥56	54	1.35	0.89–2.09			95	1.12	0.82–1.51		
生产孩子数目(个)				0.01	0.92				0.22	0.63
1–2	409		ref			710		ref		
3	533	1.47	1.15–1.91			942	1.11	0.73–1.69		
4	502	1.16	0.92–1.48			908	0.77	0.55–1.01		
5	290	1.35	1.08–1.70			617	0.95	0.71–1.27		
≥6	263	1.30	1.02–1.66			526	0.99	0.76–1.28		

Cox生存分析时还纳入了年龄、种族、职业、吸烟、饮酒、体质指数、病理分期等可疑干扰因素。CI: 可信区间; ref: 参照; RR: 相对危险度; ESCC: 食管鳞状细胞癌。

正相关关系^[10]。女性ESCC患者体内这种高浓度性激素水平影响患者生存预后的可能机制是通过与食管癌细胞膜表面相应受体结合, 激活相关信号转导途径, 抑制癌细胞分裂、增殖及转移^[27]。但奇怪的是, 处于食管癌低发区女性及食管癌家族史阳性女性, 怀孕次数增多时却没有明显延长术后生存时间。这一点很难完全解释清楚, 部分原因可能是由于环境因素及生活方式的改变, 当地的社会经济水平及患者对疾病的认知程度不同所导致^[28–31]。

本研究特点在于样本量大, 约12041例女性ESCC患者入组; 随访时间达40余年及对患者进行的多层次生存分析。生存分析中, 我们试图控制所有已知干扰因素, 包括患者年龄、

职业、种族、吸烟、饮酒、体质指数等; 同时, 除了上述因素外, 我们还把患者的病理分期作为影响预后干扰因素纳入进来进行分析, 以尽可能提高实验结果的可靠性和科学性。但一些未知的、未被控制的干扰因素可能会影响我们实验结果, 这一点在将来相关研究中必须考虑进去。另外, 下一步研究中应从细胞水平、分子水平探讨婚育因素参与改善女性患者预后的机制所在, 以加深对食管癌分子学机制的了解。总之, 本研究通过对来自中国食管癌高、低发区的女性食管鳞癌患者生存分析, 首次报道了婚育因素对中国女性食管鳞癌患者生存预后的影响, 并提出经期状态和怀孕次数与女性食管癌患者预后相关, 绝经前期女

同行评价

本文研究内容有较好新颖性, 样本信息量大, 具有代表性, 文字书写逻辑性较强, 数据翔实, 统计分析科学, 有较高学术参考价值和科学价值。

性、怀孕次数多女性食管鳞癌患者术后预后较好,这在一定程度上为我国女性食管癌患者的二级预防及内分泌治疗提供了可靠的理论依据。

5 参考文献

- Rutegård M, Nordenstedt H, Lu Y, Lagergren J, Lagergren P. Sex-specific exposure prevalence of established risk factors for oesophageal adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2010; 103: 735-740 [PMID: 20700121 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605804]
- Chen MF, Yang YH, Lai CH, Chen PC, Chen WC. Outcome of patients with esophageal cancer: a nationwide analysis. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 3023-3030 [PMID: 23525703 DOI: 10.1245/s10434-013-2935-4]
- Bohanes P, Yang D, Chhibar RS, Labonte MJ, Winder T, Ning Y, Gerger A, Benhaim L, Paez D, Wakatsuki T, Loupakakis F, El-Khoueiry R, Zhang W, Lenz HJ. Influence of sex on the survival of patients with esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2265-2272 [PMID: 22585694 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.8751]
- Hiripi E, Jansen L, Gondos A, Emrich K, Hollecsek B, Katalinic A, Luttmann S, Nennecke A, Brenner H. Survival of stomach and esophagus cancer patients in Germany in the early 21st century. *Acta Oncol* 2012; 51: 906-914 [PMID: 22524212]
- Onishi T, Oishi Y, Goto H, Yanada S, Abe K. Gender as a prognostic factor in patients with renal cell carcinoma. *BJU Int* 2002; 90: 32-36 [PMID: 12081765]
- McArdle CS, McMillan DC, Hole DJ. Male gender adversely affects survival following surgery for colorectal cancer. *Br J Surg* 2003; 90: 711-715 [PMID: 12808619]
- Warwick R, Shackcloth M, Mediratta N, Page R, McShane J, Shaw M, Poullis M. Female sex and long-term survival post curative resection for non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013; 44: 624-630 [PMID: 23509234 DOI: 10.1093/ejcts/ezt139]
- Freedman ND, Lacey JV, Hollenbeck AR, Leitzmann MF, Schatzkin A, Abnet CC. The association of menstrual and reproductive factors with upper gastrointestinal tract cancers in the NIH-AARP cohort. *Cancer* 2010; 116: 1572-1581 [PMID: 20186831 DOI: 10.1002/cncr.24880]
- Wu C, Wang Z, Song X, Feng XS, Abnet CC, He J, Hu N, Zuo XB, Tan W, Zhan Q, Hu Z, He Z, Jia W, Zhou Y, Yu K, Shu XO, Yuan JM, Zheng W, Zhao XK, Gao SG, Yuan ZQ, Zhou FY, Fan ZM, Cui JL, Lin HL, Han XN, Li B, Chen X, Dawsey SM, Liao L, Lee MP, Ding T, Qiao YL, Liu Z, Liu Y, Yu D, Chang J, Wei L, Gao YT, Koh WP, Xiang YB, Tang ZZ, Fan JH, Han JJ, Zhou SL, Zhang P, Zhang DY, Yuan Y, Huang Y, Liu C, Zhai K, Qiao Y, Jin G, Guo C, Fu J, Miao X, Lu C, Yang H, Wang C, Wheeler WA, Gail M, Yeager M, Yuenger J, Guo ET, Li AL, Zhang W, Li XM, Sun LD, Ma BG, Li Y, Tang S, Peng XQ, Liu J, Hutchinson A, Jacobs K, Giffen C, Burdette L, Fraumeni JF, Shen H, Ke Y, Zeng Y, Wu T, Kraft P, Chung CC, Tucker MA, Hou ZC, Liu YL, Hu YL, Liu Y, Wang L, Yuan G, Chen LS, Liu X, Ma T, Meng H, Sun L, Li XM, Li XM, Ku JW, Zhou YF, Yang LQ, Wang Z, Li Y, Qige Q, Yang WJ, Lei GY, Chen LQ, Li EM, Yuan L, Yue WB, Wang R, Wang LW, Fan XP, Zhu FH, Zhao WX, Mao YM, Zhang M, Xing GL, Li JL, Han M, Ren JL, Liu B, Ren SW, Kong QP, Li F, Sheyhidin I, Wei W, Zhang YR, Feng CW, Wang J, Yang YH, Hao HZ, Bao QD, Liu BC, Wu AQ, Xie D, Yang WC, Wang L, Zhao XH, Chen SQ, Hong JY, Zhang XJ, Freedman ND, Goldstein AM, Lin D, Taylor PR, Wang LD, Chanock SJ. Joint analysis of three genome-wide association studies of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese populations. *Nat Genet* 2014; 46: 1001-1006 [PMID: 25129146 DOI: 10.1038/ng.3064]
- Wang QM, Qi YJ, Jiang Q, Ma YF, Wang LD. Relevance of serum estradiol and estrogen receptor beta expression from a high-incidence area for esophageal squamous cell carcinoma in China. *Med Oncol* 2011; 28: 188-193 [PMID: 20195802 DOI: 10.1007/s12032-010-9457-8]
- Bodelon C, Anderson GL, Rossing MA, Chlebowski RT, Ochs-Balcom HM, Vaughan TL. Hormonal factors and risks of esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma in postmenopausal women. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4: 840-850 [PMID: 21505180 DOI: 10.1158/1940-6207]
- Yu H, Liu G, Zhao P, Zhu L. Hormonal and reproductive factors and risk of esophageal cancer in Chinese postmenopausal women: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1953-1956 [PMID: 22292631]
- Green J, Roddam A, Pirie K, Kirichek O, Reeves G, Beral V. Reproductive factors and risk of oesophageal and gastric cancer in the Million Women Study cohort. *Br J Cancer* 2012; 106: 210-216 [PMID: 22127287 DOI: 10.1038/bjc.2011.525]
- Chen ZH, Shao JL, Lin JR, Zhang X, Chen Q. Reproductive factors and oesophageal cancer in Chinese women: a case-control study. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 49 [PMID: 21554681 DOI: 10.1186/1471-230X-11-49]
- Islami F, Cao Y, Kamangar F, Nasrollahzadeh D, Marjani HA, Shakeri R, Fahimi S, Sotoudeh M, Dawsey SM, Abnet CC, Boffetta P, Malekzadeh R. Reproductive factors and risk of esophageal squamous cell carcinoma in northern Iran: a case-control study in a high-risk area and literature review. *Eur J Cancer Prev* 2013; 22: 461-466 [PMID: 23238586 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e32835c7f87]
- Inoue M, Ito LS, Tajima K, Yamamura Y, Kadera Y, Takezaki T, Hamajima N, Hirose K, Kuroishi T, Tominaga S. Height, weight, menstrual and reproductive factors and risk of gastric cancer among Japanese postmenopausal women: analysis by subsite and histologic subtype. *Int J Cancer* 2002; 97: 833-838 [PMID: 11857364]
- Persson C, Inoue M, Sasazuki S, Kurahashi N, Iwasaki M, Ye W, Tsugane S. Female reproductive factors and the risk of gastric cancer in a large-scale population-based cohort study in Japan (JPHC study). *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 345-353 [PMID: 18562960 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3282f521e4]
- Cronin-Fenton DP, Murray LJ, Whiteman DC, Cardwell C, Webb PM, Jordan SJ, Corley DA, Sharp L, Lagergren J. Reproductive and sex hormonal factors and oesophageal and gastric junction adenocarcinoma: a pooled analysis. *Eur J Cancer* 2010; 46: 2067-2076 [PMID: 20456945 DOI: 10.1016/

- j.ejca.2010.03.032]
- 19 Mellemkjaer L, Friis S, Olsen JH, Scélo G, Hemminki K, Tracey E, Andersen A, Brewster DH, Pukkala E, McBride ML, Kliever EV, Tonita JM, Kee-Seng C, Pompe-Kirn V, Martos C, Jonasson JG, Boffetta P, Brennan P. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 2285-2292 [PMID: 16342146]
 - 20 陈水娟, 李国维, 徐赛莉. 女性初潮年龄、绝经年龄与有关因素调查. *重庆医学* 1995; 24: 257-59
 - 21 聂广宁, 王小云, 杨洪艳. 中国城市女性绝经年龄影响因素调查. *中国妇幼保健* 2011; 26: 1191-1193
 - 22 Trévoux R, De Brux J, Castanier M, Nahoul K, Soule JP, Scholler R. Endometrium and plasma hormone profile in the peri-menopause and post-menopause. *Maturitas* 1986; 8: 309-326 [PMID: 3106758]
 - 23 Green J, Czanner G, Reeves G, Watson J, Wise L, Roddam A, Beral V. Menopausal hormone therapy and risk of gastrointestinal cancer: nested case-control study within a prospective cohort, and meta-analysis. *Int J Cancer* 2012; 130: 2387-2396 [PMID: 21671473 DOI: 10.1002/ijc.26236]
 - 24 Wang BJ, Zhang B, Yan SS, Li ZC, Jiang T, Hua CJ, Lu L, Liu XZ, Zhang DH, Zhang RS, Wang X. Hormonal and reproductive factors and risk of esophageal cancer in women: a meta-analysis. *Dis Esophagus* 2015 Mar 23. [Epub ahead of print] [PMID: 25809699 DOI: 10.1111/dote.12349]
 - 25 Lu Y, Lagergren J. Reproductive factors and risk of oesophageal cancer, a population-based nested case-control study in Sweden. *Br J Cancer* 2012; 107: 564-569 [PMID: 22767147 DOI: 10.1038/bjc.2012.285]
 - 26 Lagergren J, Jansson C. Sex hormones and oesophageal adenocarcinoma: influence of childbearing? *Br J Cancer* 2005; 93: 859-861 [PMID: 16189516]
 - 27 Chandanos E, Lagergren J. Oestrogen and the enigmatic male predominance of gastric cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44: 2397-2403 [PMID: 18755583 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.07.031]
 - 28 Gallus S, Bosetti C, Franceschi S, Levi F, Simonato L, Negri E, La Vecchia C. Oesophageal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional and hormonal factors. *Br J Cancer* 2001; 85: 341-345 [PMID: 11487262]
 - 29 Bouchardy C, Verkooijen HM, Fioretta G. Social class is an important and independent prognostic factor of breast cancer mortality. *Int J Cancer* 2006; 119: 1145-1151 [PMID: 16557599]
 - 30 Herndon JE, Kornblith AB, Holland JC, Paskett ED. Effect of socioeconomic status as measured by education level on survival in breast cancer clinical trials. *Psychooncology* 2013; 22: 315-323 [PMID: 22021121 DOI: 10.1002/pon.2094]
 - 31 Ou SH, Ziogas A, Zell JA. Prognostic factors for survival in extensive stage small cell lung cancer (ED-SCLC): the importance of smoking history, socioeconomic and marital statuses, and ethnicity. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 37-43 [PMID: 19096304 DOI: 10.1097/JTO.0b013e]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达及其临床意义

李向阳, 卢文杰, 朱琼琼

■背景资料

c-Cbl和Cbl-b是CBL家族的重要成员, 具有E3泛素连接酶功能与连接体功能, 可以靶向并降解以表皮生长因子受体为代表的受体蛋白(具有酪氨酸激酶活性), 使机体维持稳态. 对胃癌患者进行c-Cbl和Cbl-b表达检测, 可以更好的判断患者恶性程度.

李向阳, 卢文杰, 朱琼琼, 河南医学高等专科学校附属医院消化内科 河南省新郑市 451191

李向阳, 主治医师, 硕士, 主要从事消化疾病方面的研究.
作者贡献分布: 李向阳负责论文写作; 卢文杰进行临床数据整理及分析; 朱琼琼搜集并整理文献资料.

通讯作者: 李向阳, 主治医师, 451191, 河南省新郑市龙湖镇双湖大道中段, 河南医学高等专科学校附属医院消化内科.

lixiangyang129@163.com

电话: 0371-85901811

收稿日期: 2015-05-12 修回日期: 2015-06-16

接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

Clinical significance of expression of c-Cbl and Cbl-b in gastric cancer

Xiang-Yang Li, Wen-Jie Lu, Qiong-Qiong Zhu

Xiang-Yang Li, Wen-Jie Lu, Qiong-Qiong Zhu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of He'nan Medical College, Xinzheng 451191, He'nan Province, China

Correspondence to: Xiang-Yang Li, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of He'nan Medical College, Zhongduan Shuanghu Avenue, Longhu Town, Xinzheng 451191, He'nan Province, China. lixiangyang129@163.com

Received: 2015-05-12 Revised: 2015-06-16

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To detect the expression of c-Cbl and Cbl-b in gastric cancer and to analyze their clinical significance.

METHODS: One hundred gastric cancer surgical resection specimens collected between January 2012 and December 2014 were included in an observation group, and 20 adjacent normal gastric tissues were included in a control group. The two groups of specimens

were used for preparation of tissue chip. The expression of c-Cbl and Cbl-b was detected by immunohistochemical method, and the relationship between c-Cbl and Cbl-b expression and clinical and pathological features of gastric cancer was analyzed.

RESULTS: The positive rates of c-Cbl and Cbl-b in the observation group were 72% and 83%, respectively, which were significantly higher than those in the control group (20% and 25%, respectively). c-Cbl expression had a significant positive correlation with tumor stage and depth of invasion. The expression of Cbl-b was significantly positively correlated with tumor stage and lymph node metastasis. c-Cbl expression was positively correlated with Cbl-b expression in gastric cancer ($P < 0.05$). There were 29 cases of specimens that were strongly positive for both proteins, and the clinical and pathological characteristics of these patients were mainly late stage, increased number of metastatic lymph nodes, deep tumor infiltration and poor differentiation.

CONCLUSION: The expression of c-Cbl and Cbl-b increases in the development and invasion of gastric cancer, and the detection of c-Cbl and Cbl-b expression has clinical significance and value for clinical diagnosis of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: C-Cbl; Cbl-b; Gastric cancer; Expression; Clinical significance

Li XY, Lu WJ, Zhu QQ. Clinical significance of expression of c-Cbl and Cbl-b in gastric cancer. *Shijie*

■同行评议者

郑丽端, 副教授, 副主任医师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(22): 3526-3531 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3526>

摘要

目的: 研究c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达及其临床意义。

方法: 选取2012-01/2014-12河南医学高等专科学校附属医院经手术切除得到了胃癌组织标本100例, 设为观察组, 另外选择其中20例癌旁正常胃组织标本设为对照组, 将2组标本均制为组织芯片, 通过免疫组织化学方法对c-Cbl和Cbl-b表达的情况进行检测, 研究其表达与临床病理特征间的关系。

结果: c-Cbl和Cbl-b在观察组中的阳性率分别为72.0%与83.0%, 均高于对照组(阳性率分别为20.0%与25.0%); c-Cbl在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和浸润深度呈明显正相关, 其表达量随着病理分期加重、浸润深度加深而增加。Cbl-b在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和淋巴结是否转移呈明显正相关, 其表达量随着病理分期加重、淋巴结发生转移而增加; c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达呈正相关($P<0.05$), 两种蛋白同时呈强阳性表达者29例, 病例的临床病理特征主要是分期晚、淋巴结转移数目多、肿瘤组织浸润程度深和分化程度差。

结论: 胃癌的发展与侵袭会增加c-Cbl和Cbl-b表达的阳性率, c-Cbl和Cbl-b的检测对于胃癌的临床诊断有一定的临床意义与价值, 值得推广。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: C-Cbl; Cbl-b; 胃癌组织; 表达; 临床意义

核心提示: 近几年, 胃癌的发病率逐年升高, 严重影响了患者的生命健康。了解胃癌的发病机制, 尽早确诊并实施治疗措施, 是保障胃癌患者生命健康的重要途径。Cbl-b和c-Cbl在胃癌组织中的表达同分化程度有关。本文研究结果显示, c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的阳性率分别为72.0%与83.0%, 均高于正常组织(阳性率分别为20.0%与25.0%); c-Cbl在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和浸润深度呈明显正相关; Cbl-b在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和淋巴结是否转移呈明显正相关; c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达呈正相关。

李向阳, 卢文杰, 朱琼琼. c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3526-3531 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3526.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3526>

0 引言

作为CBL家族的重要成员, c-Cbl和Cbl-b具有E3泛素连接酶功能与连接体功能, 可以靶向并降解以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为代表的受体蛋白(具有酪氨酸激酶活性), 使机体维持稳态^[1-3]。但是, 目前关于c-Cbl和Cbl-b在胃癌中表达的研究较少, 所以我们通过构建胃癌组织芯片, 采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法, 对胃癌中两种蛋白质的表达情况进行了检测, 并探讨了其临床意义, 现进行如下报道。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-1/2014-12河南医学高等专科学校附属医院经手术切除得到了胃癌组织标本100例, 将其设为观察组, 包括男75例, 女25例; 年龄23-81岁, 平均58.3岁±5.4岁; 细胞类型的病理分类均为腺癌, 分化程度: 低分化69例、中分化23例、高分化8例; 浸润深度: T1共2例、T2共59例、T3共33例、T4共6例; 胃癌分期: I期13例、II期36例、III期31例、IV期20例; 发生远处转移4例, 淋巴结发生转移者85例。所有患者术前均没有进行免疫治疗、化疗及放疗。在100例胃癌组织中选取20例与胃癌组织距离较远(>5 cm)的正常组织, 将其设为对照组, 两组标本的来源(包括患者的性别、年龄、文化程度、疾病发展情况等)差异无统计学意义($P>0.05$), 可行组间对比。福建买新生物技术开发有限公司生产的DAB显色液、SP检测试剂盒; Santa Cruz公司生产的鼠抗人Cbl-b单克隆抗体; BD公司生产的鼠抗人c-Cbl单克隆抗体; 上海芯超生物科技有限公司提供的组织芯片制作技术。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学SP法: 采用对照组的20例癌旁正常胃组织标本与100例胃癌组织标本制作组织芯片, 制作步骤主要有以下几点: 首先, 由病理专家复诊并定位存档蜡块的组织, 采用组织阵列仪以0.6 mm直径进行打孔, 每块取得两块材料即可, 将其制为阵列块; 其次, 利用切

■ 研究前沿

c-Cbl和Cbl-b表达阳性率联合的检测对于胃癌的临床诊断和恶性程度判断有一定的指导意义, 可以为临床医师提供参考。研究的热点应侧重各项因子的表达情况。

■ 相关报道

李琳琳等为了探讨c-Cbl与FGFR2在胃癌组织中的表达和临床意义,进行了蛋白表达的情况检测,结果显示c-Cbl与FGFR2的阳性表达率范围是71.0%与77.4%. c-Cbl的表达和淋巴结转移、分化程度、年龄、性别无关.

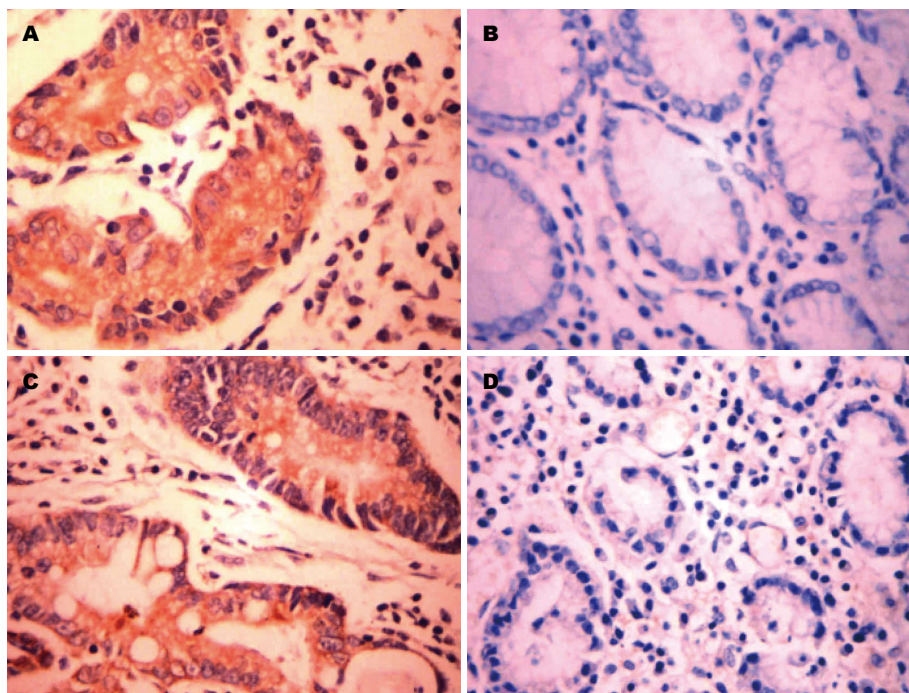


图1 c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达($\times 400$). A: c-Cbl在胃癌组织中的表达,其中棕黄色颗粒为阳性产物; B: c-Cbl在正常胃黏膜组织中情况; C: Cbl-b在胃癌组织中的表达,其中棕黄色颗粒为阳性产物; D: Cbl-b在正常胃黏膜组织中

片机以4 μm 厚度为单位进行连续切片;最后,经过捞片和烤片后二次复诊,制成数张组织芯片,以备免疫组织化学染色之用.通过免疫组织化学SP法,根据试剂盒说明书,依次完成实验步骤.

1.2.2 评价指标: Cbl-b与c-Cbl阳性染色的标志均为有棕黄色颗粒出现于胞浆和/或包膜中,在了解标本临床信息的情况下,读片者随机在400倍视野下选择5个不同的视野,根据每个视野的显色强度及阳性细胞比例确定其得分.显色强度:棕褐色为3分,棕黄色为2分,浅黄色为1分,未着色为0分.阳性细胞比例: $>75\%$ 为4分, $51\%-75\%$ 为3分, $26\%-50\%$ 为2分, $6\%-25\%$ 为1分, $\leq 5\%$ 为0分.将两项分数相乘的结果即为视野得分,分别求得5个视野的分数后,最后总分需要取其平均值.最后根据得分进行等级划分. ≥ 8 分为(+++), 5-7分为(++), 2-4分为(+), 0-1分为(-), 其中(++)-(+++表示阳性, (+)表示弱阳性, (-)表示阴性.弱阳性与阳性例数之和与总例数的比即为阳性率^[4-7].

统计学处理 本次研究中对数据进行分析与处理时采用的统计学软件为SPSS18.0,计数资料采用百分比的方式表示,其组间比较采用 χ^2 检验,计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 的方式表示,其组间比较采用 t 进行检验.采用Spearman等级

相关分析进行c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中表达的相关性分析^[8,9]. $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达情况 c-Cbl和Cbl-b均在胞膜和/或胞浆处阳性染色,显示为均匀一致的棕黄色颗粒. c-Cbl在胃癌组织中呈阳性者72例,阳性率为72.0%, Cbl-b在胃癌组织中呈阳性者83例,阳性率为83.0%.在对照组中, c-Cbl呈阳性者4例,阳性率为20.0%, Cbl-b呈阳性者5例,阳性率为25.0%. c-Cbl和Cbl-b在对照组中的表达均低于观察组 ($P < 0.05$)(图1).

2.2 c-Cbl和Cbl-b的表达和胃癌病理特征的关系 经过统计, c-Cbl在胃癌组织中的表达与淋巴结是否转移、分化程度、年龄和性别无关,与胃癌的病理分期和浸润深度呈明显正相关,其表达量随着病理分期加重、浸润深度加深而增加. Cbl-b在胃癌组织中的表达与胃癌浸润深度、分化程度、年龄和性别无关,与胃癌的病理分期和淋巴结是否转移呈明显正相关,其表达量随着病理分期加重、淋巴结发生转移而增加(表1).

2.3 胃癌组织中c-Cbl、Cbl-b表达的相关性

表 1 胃癌组织中c-Cbl和Cbl-b的表达和胃癌病理特征的关系 (%)

病理特征	n	c-Cbl的表达		P值	Cbl-b的表达		P值
		阴性率	阳性率		阴性率	阳性率	
合计	100	28.0	72.0		17.0	83.0	
年龄(岁)				0.075			0.074
≤60	58	27.6	73.3		15.5	84.5	
>60	42	28.6	71.4		19.0	81.0	
性别				0.061			0.065
男	75	26.7	73.3		14.7	85.3	
女	25	32.0	68.0		24.0	76.0	
胃癌分期				0.025			0.022
I, II	49	49.0	51.0		30.6	69.4	
III, IV	51	7.8	92.2		3.9	96.1	
淋巴结是否转移				0.059			0.047
是	85	27.1	72.9		12.9	84.7	
否	15	33.3	66.7		33.3	73.3	
浸润深度				0.037			0.064
T1, T2	61	37.7	62.3		19.7	77.0	
T2, T4	39	12.8	87.2		12.8	92.3	
分化程度				0.088			0.057
高、中	31	25.8	74.2		9.7	92.3	
低	69	29.0	71.0		20.3	79.7	

■ 创新盘点

目前国内外学者对于Cbl-b和c-Cbl在胃癌组织中的表达并没有过多研究. 有关报道显示, Cbl-b和c-Cbl能够抑制受体酪氨酸激酶的信号, 下调信号.

Spearman等级相关分析结果显示, c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达呈正相关($r = 0.205$, $P = 0.033$), 两种蛋白同时呈强阳性表达者29例, 病例的临床病理特征主要是分期晚、淋巴结转移数目多、肿瘤组织浸润程度深和分化程度差.

3 讨论

近几年, 作为我国常见的恶性肿瘤之一, 胃癌的发病率逐年升高, 严重影响了患者的生命健康, 特别是中老年人, 使患者的生活质量下降, 生存期缩短. 大部分患者在胃癌早期时无明显症状, 随着胃癌发展才逐渐表现出恶心、呕吐、上腹不适等症状, 在就诊时已经发展到中晚期, 难以实施手术治疗. 了解胃癌的发病机制, 尽早确诊并实施治疗措施, 是保障胃癌患者生命健康的重要途径^[10-16].

本次研究中制备了组织微阵列(即组织芯片), 较常规病理切片, 组织芯片具有高通量、省时、可靠及经济性等特点. 高通量是芯片上可以分析上百种的同一或不同疾病组织标本, 获取的生物学信息巨大; 一次完成组织的观察检测与分析, 比传统切片要省时; 同一条件下进行的微阵列观察, 结果会更加准确, 避免了批

次误差; 同时少量试剂的应用更能提高经济性.

机体中活化的人嗜酸粒细胞趋化因子受体(eosinophil chemotactic factor receptor, ECFR)可以募集Cbl-b和c-Cbl, 使其泛素化, 并且和Eendophilin、CIN85共同形成内化复合物, 经过内化作用后进到多泡体中, 并且在溶酶体中被降解. 目前国内外学者对于Cbl-b和c-Cbl在胃癌组织中的表达并没有过多研究. 有关报道^[17-19]显示, Cbl-b和c-Cbl能够抑制受体酪氨酸激酶的信号, 从而使其信号下调. 但是这两种蛋白也可能对肿瘤细胞的浸润过程有促进作用, 在结合CIN85的SH3结构域时, Cbl-b和c-Cbl主要是在表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)的诱导下酪氨酸磷酸化, 当对Cbl-b和c-Cbl的作用进行抑制后, 胃癌组织中部分细胞的浸润活性也会因此而受到抑制, 将Cbl-b和c-Cbl基因敲除也可以对降解基质过程发挥抑制作用^[20-23]. 因此, Cbl-b和c-Cbl蛋白很可能在癌细胞的浸润过程中发挥了作用.

本次研究结果显示, c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的阳性率分别为72.0%与83.0%, 均大于正常组织(阳性率分别为20.0%与25.0%); c-Cbl在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和浸润深度呈明显正相关, 其表达量随着病理分期

■名词解释

组织芯片: 组织微阵列, 可以分析上百种同一或不同疾病组织标本, 获取生物学信息巨大, 具有高通量、省时、可靠及经济性等特点; E3泛素连接酶: 能够将泛素分子连接到目的蛋白质的某个赖氨酸上的酶。

加重、浸润深度加深而增加。Cbl-b在胃癌组织中的表达与胃癌的病理分期和淋巴结是否转移呈明显正相关, 其表达量随着病理分期加重、淋巴结发生转移而增加; c-Cbl和Cbl-b在胃癌组织中的表达呈正相关($P<0.05$), 两种蛋白同时呈强阳性表达者29例, 病例的临床病理特征主要是分期晚、淋巴结转移数目多、肿瘤组织浸润程度深和分化程度差^[24,25]。

李琳琳等^[26]为了探讨c-Cbl与成纤维生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)2在胃癌组织中的表达和临床意义, 进行了胃癌组织芯片构建, 通过免疫组织化学SP法, 对两种蛋白表达的情况进行检测。结果显示, 胃癌组织中, c-Cbl与FGFR2的阳性表达率氛围是71.0%与77.4%。c-Cbl的表达和淋巴结转移、分化程度、年龄、性别无关, 与病理分期和浸润深度有关, 最终得到了c-Cbl与FGFR2蛋白的表达程度与病理分期和浸润深度呈正相关, 与本次研究的结果相符。

胃癌的发展与侵袭会增加c-Cbl和Cbl-b表达的阳性率, 这两种蛋白质的联合检测对于胃癌的临床诊断和恶性程度判断有一定的指导意义, 可以为临床医师提供参考^[27-30]。c-Cbl和Cbl-b二者间存在明显的正相关, 在淋巴结转移、肿瘤浸润、胃癌细胞增殖等方面可能发挥了协同作用, 对其进行检测有助于深入分析胃癌的生物学行为, 值得在临床上进行推广。

4 参考文献

- 1 马爱玲, 张建中, 黄永清. 胃癌组织中碱性成纤维细胞生长因子-2及其受体表达的研究. 宁夏医学院学报 2004; 26: 88-91
- 2 马宁, 周云. 胃癌组织中miR-451与MIF的表达及与临床病理的关系. 中国老年学杂志 2015; 36: 94-97
- 3 李琳琳, 刘云鹏, 侯柯佐. VEGFR2和c-Cbl在胃癌组织中的表达及其临床意义. 临床肿瘤学杂志 2009; 25: 1087-1091
- 4 徐莹莹, 金锋, 王振宁, 曲秀娟, 徐玲, 曲晶晶. 中期因子在胃癌中的表达与细胞增殖的关系. 中国肿瘤临床 2010; 37: 1507-1510
- 5 覃山羽, 姜海行, 李信. 胃癌及癌前病变中bFGF、FGFR-2及Hpa的表达及其意义. 中国实用内科杂志 2013; 27: 1379-1383
- 6 Meggiato T, Calabrese F, De Cesare CM, Baliello E, Valente M, Del Favero G. C-JUN and CPP32 (CASPASE 3) in human pancreatic cancer: relation to cell proliferation and death. *Pancreas* 2003; 26: 65-70 [PMID: 12499919 DOI: 10.1126/j.50190072]
- 7 刘海燕. 胃癌的免疫治疗. 国际肿瘤学杂志 2010; 37: 68-71
- 8 Huang KH, Liu JH, Wang LY, Zhu ZH, Chen QK,

- Min J, Chen RF. [Study of the anti-tumor effect of anti-vascular endothelial growth factor McAb 5-fluorouracil loaded polylactic acid nanoparticles]. *Zhonghua Weichang Waiké Zazhi* 2007; 10: 482-485 [PMID: 17851795]
- 9 Hoshi T, Sasano H, Kato K, Yabuki N, Ohara S, Konno R, Asaki S, Toyota T, Tateno H, Nagura H. Immunohistochemistry of Caspase3/ CPP32 in human stomach and its correlation with cell proliferation and apoptosis. *Anticancer Res* 1998; 18: 4347-4353 [PMID: 9891491 DOI: 10.1126/science.1090072]
- 10 马娟, 刘庆华, 沙卫红. PDX1正义表达载体的构建与表达. 广东医学 2010; 31: 3030-3031
- 11 刘爱东, 刘士生, 许志萍, 庞久玲. E-cadherin在胃癌中的表达及意义. 广东医学 2012; 28: 15-18
- 12 李子东, 陈波, 武一清, 金峰, 夏永静, 刘湘军. 人类抑癌基因beclin 1在胃癌和直肠癌中表达下调的研究. 生物化学与生物物理进展 2013; 35: 2419-2422
- 13 Nam JM, Onodera Y, Mazaki Y, Miyoshi H, Hashimoto S, Sabe H. CIN85, a Cbl-interacting protein, is a component of AMAP1-mediated breast cancer invasion machinery. *EMBO J* 2007; 26: 647-656 [PMID: 17255943 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605521]
- 14 Blumenthal RD, Hansen HJ, Goldenberg DM. Inhibition of adhesion, invasion, and metastasis by antibodies targeting CEACAM6 (NCA-90) and CEACAM5 (Carcinoembryonic Antigen). *Cancer Res* 2005; 65: 8809-8817 [PMID: 16204051 DOI: 10.1158/jc.21496]
- 15 赵毅, 邓鑫, 王强. Livin、Smac/DIABLO和PTEN在胃癌组织中的表达及其与胃癌的相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1303-1311
- 16 刘爱东, 庞久玲, 郭红辉. 基质金属蛋白酶-9在胃癌中的表达及意义. 现代中西医结合杂志 2011; 20: 52-54
- 17 严冬, 沈琳, 吕尤勇. MMP-11在胃癌患者血清中的表达及临床意义. 中国癌症杂志 2007; 17: 968-972
- 18 Klein G, Vellenga E, Fraaije MW, Kamps WA, de Bont ES. The possible role of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in cancer, e.g. acute leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 50: 87-100 [PMID: 15157658 DOI: 10.1016/j.1742-4658.2009.07449.x]
- 19 徐晓辉, 王耿, 崔艳红. MMP-9, EGFR和E-cadherin在非小细胞肺癌中的表达及意义. 肿瘤防治研究 2014; 23: 745-747
- 20 Polette M, Nawrocki-Raby B, Gilles C, Clavel C, Birembaut P. Tumour invasion and matrix metalloproteinases. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49: 179-186 [PMID: 15036258 DOI: 10.1016/j.jc.20847]
- 21 周绍弼, 滕小军, 陈新皓. 胃癌及胃癌前病变中E-cadherin及其相关蛋白的表达. 癌症 2011; 32: 480-484
- 22 Symowicz J, Adley BP, Gleason KJ, Johnson JJ, Ghosh S, Fishman DA, Hudson LG, Stack MS. Engagement of collagen-binding integrins promotes matrix metalloproteinase-9-dependent E-cadherin ectodomain shedding in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 2007; 67: 2030-2039 [PMID: 17332331 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 23 马莹, 宋印利, 包颖. EGFR、HER-2、VEGF及IGF-1R在胃癌组织中的表达及其与临床病理参数相关性分析. 哈尔滨医科大学学报 2014; 48: 2184-2186
- 24 张慧, 纪祥瑞, 赵洁. MMP-10、MMP-11及TIMP-2在胃癌组织中的表达. 青岛大学医学院学报 2010;

- 46: 119-124
- 25 徐晓, 欧阳斌, 欧阳卫泽. 胃腺癌中CDX2、VEGF、CD44、EG-FR和pRb的表达及预后意义. 九江学院学报(自然科学版) 2012; (3): 81-92
- 26 李琳琳, 刘云鹏, 侯柯佐. FGFR2和c-Cbl在胃癌组织中的表达及其临床意义. 中国癌症杂志 2009; 19: 609-614
- 27 马丽娟, 李亦工, 黄菱, 韩梅, 马百菁, 孙伯坚, 林佳静, 宋婷阁. 赖氨酸氧化酶和基质金属蛋白酶2在胃癌组织中的表达及其与胃癌转移的关系. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 3415-3418
- 28 Tamás P, Solti Z, Bauer P, Illés A, Sipeki S, Bauer A, Faragó A, Downward J, Buday L. Mechanism of epidermal growth factor regulation of Vav2, a guanine nucleotide exchange factor for Rac. *J Biol Chem* 2003; 278: 5163-5171 [PMID: 12454019 DOI: 10.1074./jbc.651840]
- 29 Lurje G, Lenz HJ. EGFR signaling and drug discovery. *Oncology* 2009; 77: 400-410 [PMID: 20130423 DOI: 10.1159/000279388]
- 30 罗荣城, 韩焕兴. 肿瘤生物治疗学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 850-859

同行评价

本文通过免疫组织化学方法检测了c-Cbl和Cbl-b在20例癌旁正常胃组织、100例胃癌组织标本中的表达,并探讨了它们与临床病理特征间的关系,对于胃癌的临床诊断和恶性程度判断有一定的指导意义。

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. 对新方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

中脑星形胶质细胞源性神经营养因子蛋白表达水平与乙型肝炎病毒慢性感染后疾病进展的相关性

叶娇娇, 马双双, 郜玉峰, 沈玉君, 沈玉先

■背景资料

目前认为, 内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)诱导的凋亡、炎症和上皮细胞间质转化等作为一种刺激因素参与了组织损伤和纤维化的发生发展。众所周知, 适度的ERS为细胞的一种自我保护反应, 过度的ERS则会导致细胞凋亡, 但ERS调控慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后肝脏疾病进展的研究尚未见报道。

叶娇娇, 马双双, 郜玉峰, 安徽医科大学第二附属医院肝病科 安徽省合肥市 230601

沈玉君, 沈玉先, 安徽医科大学基础医学院 安徽省合肥市 230032

叶娇娇, 硕士, 主要从事病毒性肝炎的基础和临床研究。

安徽省教育厅自然科学基金资助项目, No. KJ2014A107

国家自然科学基金资助项目, No. 81372576

作者贡献分布: 此课题由郜玉峰与沈玉先设计; 研究过程由叶娇娇与马双双共同完成; 研究所用新试剂由沈玉先提供; 数据分析由叶娇娇与沈玉君完成; 论文写作由叶娇娇与马双双共同完成。

通讯作者: 郜玉峰, 副教授, 副主任医师, 230601, 安徽省合肥市经开区芙蓉路678号, 安徽医科大学第二附属医院肝病科。aygyf@126.com

电话: 0551-63869590 传真: 0551-63869589

收稿日期: 2015-05-24 修回日期: 2015-06-16

接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

Correspondence to: Yu-Feng Gao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 678 Furong Road, Jingkai District, Hefei 230601, Anhui Province, China. aygyf@126.com

Received: 2015-05-24 Revised: 2015-06-16

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression level of endoplasmic reticulum stress related mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) protein and assess its clinical significance in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS: The expression levels of MANF protein in peripheral blood plasma was measured by ELISA in asymptomatic hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) carriers (ASC), chronic hepatitis B (CHB), compensatory liver cirrhosis (CLC) and decompensated liver cirrhosis (DLC) patients after chronic HBV infection and normal healthy controls (HC). The relationship between MANF protein expression and different stages of chronic HBV infection was analyzed.

RESULTS: The expression levels of MANF protein among the HC, ASC, CHB, CLC, and DLC groups had a statistically significant difference ($F = 7.391$, $P = 0.00$). Further data analysis showed that the expression levels of MANF protein in the CLC and DLC groups had a statistically significant difference compared with the HC, ASC and CHB groups, but there was no significant difference between

Association between expression level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protein and disease progression in patients with chronic hepatitis B virus infection

Jiao-Jiao Ye, Shuang-Shuang Ma, Yu-Feng Gao, Yu-Jun Shen, Yu-Xian Shen

Jiao-Jiao Ye, Shuang-Shuang Ma, Yu-Feng Gao, Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Yu-Jun Shen, Yu-Xian Shen, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Anhui Provincial Education Department, No. KJ2014A107; and National Natural Science Foundation of China, No. 81372576

■同行评议者

赵秀英, 副教授, 清华大学北京清华长庚医院检验医学科

the HC, ASC and CHB groups. The expression levels of MANF protein had a statistically significant difference in the three groups of patients stratified by HBsAg level (< 1500 IU/mL, $1500-20000$ IU/mL and > 20000 IU/mL) ($F = 9.420$, $P = 0.000$). The difference in MANF protein expression levels was statistically significant between patients with different levels of aspartate aminotransferase and total bilirubin, but there was no statistical difference between patients with different levels of alanine aminotransferase, HBV DNA, or between hepatitis B e antigen (HBeAg) positive group and HBeAg-negative group.

CONCLUSION: The expression levels of MANF protein are negatively associated with the disease progression in patients with chronic HBV infection.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MANF; Endoplasmic reticulum stress; Hepatitis B virus; Disease progression

Ye JJ, Ma SS, Gao YF, Shen YJ, Shen YX. Association between expression level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protein and disease progression in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3532-3537 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3532>

摘要

目的: 探索中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染后不同疾病进展患者外周血中蛋白表达水平的差异及其与临床特征的相关性。

方法: 采用酶联免疫吸附方法检测正常健康对照(healthy controls, HC)、乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic hepatitis B virus surface antigen carriers, ASC)、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者、乙型肝炎后肝硬化代偿期(compensatory liver cirrhosis, CLC)患者及乙型肝炎后肝硬化失代偿期(decompensated liver cirrhosis, DLC)患者外周血中MANF蛋白的表达水平, 分析其在不同阶段慢性HBV感染者中的差异。

结果: ASC组、CHB组、CLC组、DLC组和

HC组5组之间MANF的表达差异有统计学意义, $P = 0.00$, $F = 7.391$; 进一步进行两两组间分析显示, 与HC组、ASC组和CHB组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义($P < 0.01$), 但HC组与ASC组、CHB组之间两两比较差异均无统计学意义。MANF蛋白的表达水平在不同水平乙型肝炎表面抗原分组(< 1500 IU/mL, $1500-20000$ IU/mL和 > 20000 IU/mL)之间的差异具有统计学意义($F = 9.420$, $P = 0.000$); MANF蛋白的表达水平在不同水平的谷草转氨酶和总胆红素组的差异具有统计学意义($F = 3.188$, $P = 0.045$; $t = 2.867$, $P = 0.005$); MANF蛋白的表达水平在不同水平的谷丙转氨酶分组、HBV DNA分组和E抗原状态等分组中未见明显统计学差异。

结论: MANF蛋白表达水平下降可能与HBV慢性感染后的疾病进展相关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子; 内质网应激; 乙型肝炎病毒; 疾病进展

核心提示: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)是一种分泌性蛋白, 大量研究显示, MANF蛋白对内质网应激诱导的细胞凋亡具有保护作用。本研究国内外首次证实MANF蛋白的表达水平下降与慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染后的疾病进展密切相关。

叶娇娇, 马双双, 邵玉峰, 沈玉君, 沈玉先. 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子蛋白表达水平与乙型肝炎病毒慢性感染后疾病进展的相关性. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3532-3537 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3532>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染后在不同患者中的疾病进展并不相同, 部分患者长期处于HBV携带状态, 部分患者却持续进展至肝硬化甚至肝癌, 确切机制尚未完全阐明^[1-4]。HBV感染后持续的复制及表达可触发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS), ERS参与HBV慢性感染后疾病进展, 但确切的调控机制尚未阐明^[5-8]。中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived

■ 研究前沿

目前大量研究证实, HBV持续的表达和复制均可触发ERS, ERS参与了HBV感染后肝脏非可控性炎症的发生发展和恶性转化, 但确切的调控机制仍有待进一步阐明。

■ 相关报道

目前研究认为, ERS可以上调中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)基因的表达和蛋白的分泌, 这种高表达与分泌在心肌缺血、脑缺血、帕金森氏病等多种病理状态下保护相关细胞免受损伤密切相关。MANF蛋白高表达可能有助于抑制各种病理状态下的过度炎症及纤维化反应, 但慢性HBV感染后疾病进展状态的差异是否与MANF蛋白表达水平相关目前国内外尚未见报道。

■ 创新盘点

本研究在国内外首次通过对慢性HBV感染后不同疾病状态的患者进行MANF蛋白的检测, 证实MANF蛋白与慢性HBV感染后的疾病进展呈负相关。

neurotrophic factor, *MANF*)基因编码的蛋白是一种分泌性蛋白, 主要位于高尔基体和内质网(endoplasmic reticulum, ER)^[9]。目前研究^[10-12]认为, ERS可以上调*MANF*基因的表达和蛋白的分泌, 这种高表达与分泌在心肌缺血、脑缺血、帕金森氏病等多种病理状态下保护相关细胞免受损伤密切相关。MANF蛋白高表达可能有助于抑制各种病理状态下的过度炎症及纤维化反应, 但慢性HBV感染后疾病进展状态的差异是否与MANF蛋白表达水平相关目前国内外尚未见报道。因此, 我们拟对不同阶段的慢性HBV感染者外周血MANF蛋白的表达情况进行探索研究, 以明确MANF蛋白与慢性HBV感染后疾病进展差异的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-09/2014-09就诊于安徽医科大学第二附属医院肝病科的乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic hepatitis B virus surface antigen carriers, ASC)43例, 其中男30例, 女13例, 平均年龄35.34岁±10.47岁, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者47例, 其中男39例, 女8例, 平均年龄36.52岁±11.53岁; 乙型肝炎后肝硬化代偿期(compensatory liver cirrhosis, CLC)患者41例, 其中男29例, 女12例, 平均年龄52.33岁±10.62岁; 乙型肝炎后乙型肝炎后肝硬化失代偿期(decompensated liver cirrhosis, DLC)患者35例, 其中男28例, 女7例, 平均年龄51.55岁±10.72岁, 所有病例诊断符合2000年病毒性肝炎防治方案的诊断标准^[13]。所有患者均无重叠其他肝炎病毒感染、自身免疫性肝病、药物性肝病、酒精性肝病及其他疾病, 且未接受护肝药物及抗病毒治疗。同时选取40例体检健康者作为对照, 其中男28例, 女12例, 平均年龄31.67岁±12.22岁。所有入组患者及健康对照者均签署知情同意书, 并经医院伦理委员会审核讨论通过。

1.2 方法 MANF蛋白的ELISA检测: 采集HBV感染者及健康体检者空腹外周血5 mL, 分离血清-80℃度冰箱保存。采用美国Cloud-clone公司的MANF检测试剂盒进行样品检测, 实验步骤如下: (1)加样: 分别设标准孔、待测样品孔、空白孔, 每孔加入相应待测样品100 μL, 37℃温育2 h, 弃去液体, 甩干; (2)每孔加检测溶液A 100 μL, 37℃温育1 h; (3)弃去孔内液体, 每孔加

350 μL洗涤液, 浸泡1-2 min, 吸去或甩掉酶标板内液体, 重复洗涤3次; 每孔加检测溶液B工作液100 μL, 37℃温育30 min; 弃去孔内液体, 甩干, 洗板5次; (4)每孔加底物溶液90 μL, 37℃避光显色(反应时间控制在15-25 min), 每孔加终止液50 μL, 终止反应, 蓝色立转为黄色; (5)用酶标仪在450 nm波长测量各孔的光密度(OD值)。

统计学处理 所有数据均用SPSS16.0软件进行统计学分析。先将定量资料进行对数转换, 两组之间比较采用独立样本 t 检验, 3组及3组以上比较时先采用单因素方差分析, 再采用 LSD 检验比较多组中的两两差异, 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 不同阶段慢性HBV感染者外周血MANF蛋白的表达 首先按照临床诊断分为ASC、CHB、CLC、DLC和HC组进行分析, 结果显示: HC、ASC、CHB、CLC、DLC组5组之间MANF的表达差异有统计学意义($F = 7.391$, $P = 0.00$), 进一步进行两两组间分析显示, 与HC组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义($P < 0.01$), 与ASC组和CHB组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义($P < 0.01$), 但HC组与ASC组、CHB组之间两两比较差异均无统计学意义(图1)。

2.2 外周血MANF蛋白的表达水平与临床指标的相关性 将146例不同疾病阶段的HBV感染者根据其乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)水平、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平、乙型肝炎E抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)状态、HBV DNA及总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平分别进行分组, 结果发现, MANF蛋白的表达在不同水平HBsAg分组之间的差异具有统计学意义($F = 9.420$, $P = 0.000$); MANF的表达水平在不同水平的AST和TBIL分组之间差异具有统计学意义($F = 3.188$, $P = 0.045$; $t = 2.867$, $P = 0.005$); MANF蛋白的表达水平与其他各项指标差异无统计学意义(表1)。

3 讨论

HBV慢性感染后病毒的复制和表达水平在慢性乙型肝炎-肝纤维化-肝硬化转化中发挥重要

表 1 慢性HBV感染者外周血MANF表达水平与临床指标的相关性 (mean ± SD)

变量	MANF值	F值	P值
乙型肝炎表面抗原 (IU/mL)		9.420	0.000
<1000	2303.6 ± 974.3		
1000–20000	2485.9 ± 1023.4		
>20000	4089.3 ± 1124.6		
乙型肝炎E抗原		1.677	0.097
阳性	2837.8 ± 1020.9		
阴性	2337.9 ± 1133.1		
谷丙转氨酶(IU/mL)		1.754	0.178
<80	2169.3 ± 956.2		
80–250	2516.8 ± 1189.6		
>250	2838.8 ± 1246.3		
谷草转氨酶(IU/mL)		3.188	0.045
80	2873.6 ± 1305.9		
80–250	2267.5 ± 1161.3		
>250	1948.7 ± 1069.5		
HBV–DNA(copies/mL)		0.297	0.744
<10 ³	2865.7 ± 1225.1		
10 ³ –10 ⁵	2860.3 ± 1135.9		
>10 ⁵	2595.5 ± 1199.6		
总胆红素(μmol/L)		2.867	0.005
<17.1	3024.7 ± 1251.5		
≥ 17.1	2339.4 ± 1104.5		

应用要点

MANF蛋白有可能作为一种预测慢性HBV感染后疾病进展程度的一种分泌性蛋白,具有较高的潜在临床应用价值。

HBV: 乙型肝炎病毒; MANF: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子。

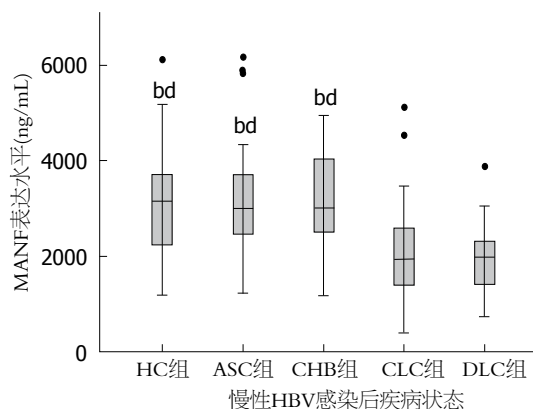


图 1 不同疾病状态的慢性HBV感染者MANF蛋白水平表达比较。^a $P<0.01$ vs CLC组; ^b $P<0.01$ vs DLC组。HC组: 健康对照组; ASC组: 乙型肝炎病毒携带组; CHB组: 慢性乙型病毒性肝炎组; CLC组: 肝硬化代偿期组; DLC组: 肝硬化失代偿期组。HBV: 乙型肝炎病毒; MANF: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子。

作用。目前大量研究^[14-16]证实, HBV持续的表达和复制均可触发ERS, ERS参与了HBV感染后肝脏非可控性炎症的发生发展和恶性转化, 但确切的调控机制仍有待进一步阐明。进一步研究ERS与HBV慢性感染后肝脏疾病进展的关

系对于肝脏疾病的防治具有重要的临床意义。MANF基因是本课题组所在实验室从30000个基因中筛选出来的ERS相关基因, ERS上调他们的表达。前期研究^[17,18]已经证实MANF对ERS诱导的细胞凋亡具有保护作用, 由此推断MANF可能抑制肝脏纤维化的发生发展。MANF蛋白是一种分泌性蛋白, 通过外周血可以进行其表达水平的测定, 是否MANF蛋白的表达水平与慢性HBV感染后疾病状态的进展密切相关国内外尚未见报道。因此, 我们探索了不同疾病状态的慢性HBV感染者外周血中MANF蛋白水平上的表达情况, 结果发现, 与HC组、ASC组和CHB组相比, MANF蛋白在慢性HBV感染后疾病至肝硬化代偿期和肝硬化失代偿期阶段时均明显低表达($P<0.01$), 但ASC组、CHB组与HC组相比表达未见明显差异。目前认为, ERS诱导的凋亡、炎症和上皮细胞间质转化等作为一种刺激因素参与了组织损伤和纤维化的发生发展^[19-21]。众所周知, 适度的ERS为细胞的一种自我保护反应, 过度的ERS则会导致细胞凋亡。肝硬化代偿期和肝硬化失代偿期是慢性HBV

■名词解释

内质网应激(ERS): 在正常细胞中, 新合成的分泌性和膜相关蛋白需要在内质网内进行正确的折叠和装配。一旦有各种病理因素打破内质网平衡, 新合成的未折叠蛋白积聚在内质网将会导致ERS; 未折叠蛋白反应: ERS是一种细胞自我保护反应, 为了使细胞适应这种改变得以存活, 内质网就会启动活化一系列信号传递通路, 以处理这些未折叠或错误折叠的蛋白质成分, 此过程被称为未折叠蛋白反应。

感染的严重疾病阶段, 因此, 我们认为, 在慢性HBV感染的早期, MANF蛋白表达水平较高, 对肝纤维化的进展起保护作用, 但当HBV感染持续存在其引起持续的免疫损伤后, 肝细胞呈过度凋亡状态, MANF蛋白表达呈下降趋势。另外, ERS诱导的凋亡可以导致转化生长因子的释放, 进一步刺激慢性HBV感染后疾病的进展和恶性转化^[22-25], 这与本研究发现的CLC组和DLC组患者MANF表达水平显著下降相一致。

与正常对照组和慢性乙型肝炎组比较, 肝硬化组MANF蛋白的表达呈显著降低, 但MANF蛋白表达下降通过何种机制参与肝硬化发生发展有待进一步研究。临床证据显示HBsAg水平越高的患者纤维化程度越轻, 肝硬化患者HBsAg往往显著低于CHB患者^[26-29]。我们进一步结合临床资料的分析显示, 按HBsAg水平分组, 不同HBsAg水平组患者MANF表达水平存在显著差异($P = 0.001$), HBsAg>20000 IU/mL组MANF表达水平明显高于<1500 IU/mL组($P = 0.001$), 提示MANF蛋白在肝纤维化早期肝细胞适度的ERS中起保护作用, 这与我们之前的MANF mRNA水平的研究^[30]结果相一致。胆红素持续的升高及转氨酶升高往往提示肝脏损伤持续加重, 本研究发现胆红素异常者的MANF蛋白表达水平下降, 可能与肝脏损害逐渐加重有关。

本研究在国内外首次证实MANF蛋白在不同阶段的慢性HBV感染者中表达水平存在显著性差异, 推测MANF蛋白水平的下降参与HBV慢性感染后的疾病进展, 但确切的调控机制仍不明确。深入研究MANF在HBV慢性感染后疾病进展中的作用机制有着非常重要的临床意义, 借此可以筛选及鉴定肝脏炎症、纤维化及肝硬化过程中的关键节点及靶点。

4 参考文献

- 1 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]
- 2 Lin CL, Kao JH. Hepatitis B viral factors and clinical outcomes of chronic hepatitis B. *J Biomed Sci* 2008; 15: 137-145 [PMID: 18058038 DOI: 10.1007/s11373-007-9225-8]
- 3 Kuo A, Gish R. Chronic hepatitis B infection. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 347-369 [PMID: 22541703 DOI: 10.1016/j.cld.2012.03.003]
- 4 Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology* 2015; 479-480: 672-686 [PMID: 25759099 DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.031]

- 5 Dara L, Ji C, Kaplowitz N. The contribution of endoplasmic reticulum stress to liver diseases. *Hepatology* 2011; 53: 1752-1763 [PMID: 21384408 DOI: 10.1002/hep.24279]
- 6 Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol* 2011; 54: 795-809 [PMID: 21145844 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.005]
- 7 Wang HC, Huang W, Lai MD, Su IJ. Hepatitis B virus pre-S mutants, endoplasmic reticulum stress and hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci* 2006; 97: 683-688 [PMID: 16863502 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00235.x]
- 8 Cho HK, Cheong KJ, Kim HY, Cheong J. Endoplasmic reticulum stress induced by hepatitis B virus X protein enhances cyclo-oxygenase 2 expression via activating transcription factor 4. *Biochem J* 2011; 435: 431-439 [PMID: 21244365 DOI: 10.1042/BJ20102071]
- 9 Petrova P, Raibekas A, Pevsner J, Vigo N, Anafi M, Moore MK, Peaire AE, Shridhar V, Smith DI, Kelly J, Durocher Y, Commissiong JW. MANF: a new mesencephalic, astrocyte-derived neurotrophic factor with selectivity for dopaminergic neurons. *J Mol Neurosci* 2003; 20: 173-188 [PMID: 12794311 DOI: 10.1385/JMN: 20: 2: 173]
- 10 Lindholm P, Peränen J, Andressoo JO, Kalkkinen N, Kokaia Z, Lindvall O, Timmusk T, Saarna M. MANF is widely expressed in mammalian tissues and differently regulated after ischemic and epileptic insults in rodent brain. *Mol Cell Neurosci* 2008; 39: 356-371 [PMID: 18718866 DOI: 10.1016/j.mcn.2008.07.016]
- 11 Glembotski CC. Functions for the cardiomyokine, MANF, in cardioprotection, hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 51: 512-517 [PMID: 20970425 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2010.10.008]
- 12 Voutilainen MH, Bäck S, Pörsti E, Toppinen L, Lindgren L, Lindholm P, Peränen J, Saarna M, Tuominen RK. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is neurorestorative in rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2009; 29: 9651-9659 [PMID: 19641128 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0833-09.2009]
- 13 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 14 潘高峰, 邵玉峰, 叶娇娇, 姜同翠, 沈玉君, 沈玉先. 慢性HBV感染者外周血白细胞GRP78、CHOP和XBP1 mRNA水平变化. *实用肝脏病杂志* 2015; 18: 136-140
- 15 Lazar C, Macovei A, Petrescu S, Branza-Nichita N. Activation of ERAD pathway by human hepatitis B virus modulates viral and subviral particle production. *PLoS One* 2012; 7: e34169 [PMID: 22461906 DOI: 10.1371/journal.pone.0034169]
- 16 Lazar C, Uta M, Branza-Nichita N. Modulation of the unfolded protein response by the human hepatitis B virus. *Front Microbiol* 2014; 5: 433 [PMID: 25191311 DOI: 10.3389/fmicb.2014.00433]
- 17 陈滢, 李成锦, 杨文, 程里, 安然, 都建, 沈玉君, 冯利杰, 沈玉先. MANF对内质网应激诱导的细胞凋亡的保护作用. *安徽医科大学学报* 2013; 48: 1308-1312
- 18 Chen L, Feng L, Wang X, Du J, Chen Y, Yang W, Zhou C, Cheng L, Shen Y, Fang S, Li J, Shen Y. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is involved in inflammation by negatively regulating the NF-κB pathway. *Sci Rep* 2015; 5:

- 8133 [PMID: 25640174 DOI: 10.1038/srep08133]
- 19 Zhao H, Qin HY, Cao LF, Chen YH, Tan ZX, Zhang C, Xu DX. Phenylbutyric acid inhibits epithelial-mesenchymal transition during bleomycin-induced lung fibrosis. *Toxicol Lett* 2014; 232: 213-220 [PMID: 25455454 DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.10.013]
- 20 Tanjore H, Lawson WE, Blackwell TS. Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 940-947 [PMID: 23201247 DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.11.011]
- 21 Lenna S, Trojanowska M. The role of endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in fibrosis. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24: 663-668 [PMID: 22918530 DOI: 10.1084/jem.145.3.784]
- 22 Chen WT, Ha D, Kanel G, Lee AS. Targeted deletion of ER chaperone GRP94 in the liver results in injury, repopulation of GRP94-positive hepatocytes, and spontaneous hepatocellular carcinoma development in aged mice. *Neoplasia* 2014; 16: 617-626 [PMID: 25220589 DOI: 10.1016/j.neo.2014.07.005]
- 23 De Minicis S, Candelaresi C, Agostinelli L, Taffetani S, Saccomanno S, Rychlicki C, Trozzi L, Marzoni M, Benedetti A, Svegliati-Baroni G. Endoplasmic Reticulum stress induces hepatic stellate cell apoptosis and contributes to fibrosis resolution. *Liver Int* 2012; 32: 1574-1584 [PMID: 22938186 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02860.x]
- 24 Chen WT, Tseng CC, Pfaffenbach K, Kanel G, Luo B, Stiles BL, Lee AS. Liver-specific knockout of GRP94 in mice disrupts cell adhesion, activates liver progenitor cells, and accelerates liver tumorigenesis. *Hepatology* 2014; 59: 947-957 [PMID: 24027047 DOI: 10.1002/hep.26711]
- 25 Chen WT, Zhu G, Pfaffenbach K, Kanel G, Stiles B, Lee AS. GRP78 as a regulator of liver steatosis and cancer progression mediated by loss of the tumor suppressor PTEN. *Oncogene* 2014; 33: 4997-5005 [PMID: 24141775 DOI: 10.1038/onc.2013.437]
- 26 Zeng DW, Zhu YY, Huang Q, Zhang JM, Wu YL, Dong J, Jiang JJ, Liu YR. Hepatitis B surface antigen in late hepatitis B infection. *J Med Virol* 2015; 87: 380-387 [PMID: 25604455 DOI: 10.1002/jmv.24078]
- 27 Suh SJ, Bae SI, Kim JH, Kang K, Yeon JE, Byun KS. Clinical implications of the titer of serum hepatitis B surface antigen during the natural history of hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2014; 86: 117-123 [PMID: 24115074 DOI: 10.1002/jmv.23767]
- 28 Zeng DW, Liu YR, Dong J, Zhu YY, Li YB, Chen J, Zheng Q, Jiang JJ. Serum HBsAg and HBeAg levels are associated with liver pathological stages in the immune clearance phase of hepatitis B virus chronic infection. *Mol Med Rep* 2015; 11: 3465-3472 [PMID: 25592612 DOI: 10.3892/mmr.2015.3207]
- 29 邵玉峰, 邹桂舟, 叶珺, 潘高峰, 饶建国, 李芳, 魏艳艳, 李旭. HBsAg和HBV DNA定量水平与肝纤维化程度的关系. *中华肝脏病杂志* 2015; 23: 107-110
- 30 潘高峰, 邵玉峰, 叶娇娇, 姜同翠, 沈玉君, 沈玉先. MANF蛋白表达水平与肝纤维化程度的相关性研究. *安徽医科大学学报* 2015; 50: 78-82

同行评价

本文探索MANF在慢性HBV感染后不同疾病进展患者外周血中表达水平的差异及其与临床特征的相关性, 对5组研究对象检测MANF, 发现其不同组间表达有明显区别. 作为一种探索性研究, 有一定的学术价值.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



CD68和CD11c在肝细胞癌中的表达及临床意义

束青华, 葛勇胜, 许戈良, 马金良, 英卫东, 余继海, 张传海, 刘文斌

■背景资料

肝细胞癌是世界常见的恶性肿瘤之一, 且术后高复发率是主要问题, 同时, M2型巨噬细胞促进肿瘤的发展和转移, M1型巨噬细胞在抗肿瘤过程中起到重要的作用, 但是, CD68是泛-巨噬细胞标志物, 不能区分M1和M2型巨噬细胞。

束青华, 葛勇胜, 许戈良, 马金良, 英卫东, 余继海, 张传海, 刘文斌, 安徽医科大学附属省立医院肝胆外科 胆胰外科 安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001
束青华, 在读硕士, 主要从事肝癌转移和复发的研究。
国家自然科学基金资助项目, No.81272398
安徽省自然科学基金资助项目, No. 1308085MH147
安徽高校省级自然科学基金资助项目, No. KJ2012Z186
作者贡献分布: 束青华、葛勇胜、许戈良、马金良、英卫东、余继海、张传海及刘文斌对此文贡献均等; 此课题由束青华、葛勇胜及许戈良设计; 研究过程由束青华、葛勇胜、马金良、英卫东、余继海、张传海及刘文斌操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由束青华与葛勇胜提供; 数据收集及分析由束青华完成; 论文撰写由束青华完成。
通讯作者: 葛勇胜, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属省立医院肝胆外科, 肝胆胰外科安徽省重点实验室。sygys163@163.com
电话: 0551-62283553
收稿日期: 2015-05-17 修回日期: 2015-05-30
接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-08-08

Received: 2015-05-17 Revised: 2015-05-30
Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of expression of CD68 and CD11c in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Sixty HCC and matched peritumoral tissues were collected. The expression of CD68 and CD11c in macrophages in these tissues was detected by immunohistochemical staining. The relationship between CD68 and CD11c expression and clinicopathologic features of HCC was analyzed. Paraffin sections of HCC tumor tissues were stained for CD68 and CD11c by double immunofluorescence to analyze the expression and significance of CD68 and CD11c.

RESULTS: CD68 and CD11c were expressed mainly in macrophages in HCC and peritumoral tissues. The expression levels of CD68 and CD11c were significantly higher in peritumoral tissues than in HCC tissues ($P < 0.01$). The expression of CD68 and CD11c had a significant correlation in both HCC and peritumoral tissues ($r = 0.601, P < 0.01; r = 0.626, P < 0.01$). The expression level of CD68 in macrophages in HCC and peritumoral tissues was significantly higher than that of CD11c ($P < 0.01$ for both). Double immunofluorescence analysis showed that the relative content of CD68 in HCC tissues was significantly higher than that of CD11c, which is consistent with the results of immunohistochemistry.

CONCLUSION: The expression levels of CD68 and CD11c in tumor adjacent tissues are

Clinical significance of expression of CD68 and CD11c in hepatocellular carcinoma

Qing-Hua Shu, Yong-Sheng Ge, Ge-Liang Xu, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Ji-Hai Yu, Chuan-Hai Zhang, Wen-Bin Liu

Qing-Hua Shu, Yong-Sheng Ge, Ge-Liang Xu, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Ji-Hai Yu, Chuan-Hai Zhang, Wen-Bin Liu, Department of Hepatic Surgery, Anhui Provincial Hospital, Anhui Medical University; Anhui Provincial Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, Hefei 230001, Anhui Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272398; Natural Science Foundation of Anhui Province, No. 1308085MH147; Key Project of Natural Science Foundation for Universities in Anhui, No. KJ2012Z186
Correspondence to: Yong-Sheng Ge, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatic Surgery, Anhui Provincial Hospital, Anhui Medical University; Anhui Provincial Key Laboratory of Hepatopancreatobiliary Surgery, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. sygys163@163.com

■同行评议者

邓庆, 副研究员, 上海人类基因组研究中心功能基因组部

significantly higher than those in HCC tissues. Compared with CD68⁺ macrophages, CD11c⁺ macrophages may be closely related to the oncogenesis and progression of HCC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; CD68; CD11c; Macrophage

Shu QH, Ge YS, Xu GL, Ma JL, Jia WD, Yu JH, Zhang CH, Liu WB. Clinical significance of expression of CD68 and CD11c in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3538-3547 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3538.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3538>

摘要

目的: 检测CD68和CD11c在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和癌旁组织巨噬细胞中的表达情况, 探讨并比较其与CD68在HCC中的相关临床病理特征的关系及其意义。

方法: 采用免疫组织化学方法检测60例HCC患者肝癌组织和癌旁组织CD68和CD11c的表达, 分析并比较CD68和CD11c在巨噬细胞中的表达情况以及与HCC临床病理特征的关系; 免疫荧光双染HCC石蜡切片肝癌组织的CD68和CD11c, 采用倒置荧光显微镜观察, 并采集图像分析CD68和CD11c的表达意义。

结果: 免疫组织化学染色结果显示CD68、CD11c主要在肝癌和癌旁组织巨噬细胞中表达。癌旁组织中的CD68和CD11c表达水平明显高于肝癌组织($P<0.01$), 肝癌和癌旁组织中的CD68和CD11c存在一定的相关性($r=0.601, P<0.01; r=0.626, P<0.01$); 肝癌组织和癌旁组织中CD68的表达水平明显高于CD11c的表达(分别为 $P<0.01$ 和 $P<0.01$); 免疫荧光双染结果显示在肝癌组织CD68的表达明显高于CD11c, 与免疫组织化学结果一致。

结论: CD68巨噬细胞在癌旁组织中表达明显高于肝癌组织, CD11c巨噬细胞在癌旁组织中表达也明显高于肝癌组织, 并且与CD68相比, CD11c标记的巨噬细胞与HCC的发生、进展关系更为密切; 可以帮助我们为诊断及治疗HCC提供一些新的思路和理论基础。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝细胞癌; CD68; CD11c; 巨噬细胞

核心提示: M2型巨噬细胞通过调节肿瘤生长、适应性免疫、血管生成和肿瘤基质形成促进肿瘤的发展和转移, 并且可作为预后指标。本文研究发现CD68泛-巨噬细胞、CD11c M1型巨噬细胞在癌旁组织中表达明显高于肝癌组织, 并且与CD68相比, CD11c M1型巨噬细胞与肝细胞癌的发生发展关系更为密切, 从而为肝癌提供新的辅助治疗策略。

束青华, 葛勇胜, 许戈良, 马金良, 英卫东, 余继海, 张传海, 刘文斌. CD68和CD11c在肝细胞癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3538-3547 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3538.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3538>

■ 研究前沿

肿瘤免疫微环境在肿瘤发生发展过程中的作用已成为临床研究的热点, 巨噬细胞是免疫微环境的主要成分, 其在肝癌进展中的作用及其机制, 以及针对巨噬细胞的靶向药物是该研究领域中的前沿问题。

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)约占原发性肝癌的70%-85%, 是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 且是男性患者中癌症死亡的第二大原因, 女性患者癌症死亡的第六大原因, 其中约有一半发生在中国^[1]。虽然, 肝切除术是治疗肝癌患者长期生存的最佳方法之一, 但是术后高复发率是主要问题^[2]。尽管肝移植术切除了全部肝病, 包括肝癌原发灶和肝内转移灶, 但5年生存率也仅为47%-61%^[3]。最近研究^[4]指出, 肿瘤微环境, 特别是巨噬细胞在各种肿瘤的发生、发展和转移中发挥着重要的作用。大量相关研究^[5-10]指出, 瘤内巨噬细胞与预后有关, 但是这种结果具有异质性, 因其未将巨噬细胞分为M1型(经典活化的)和M2型(替代性活化的)巨噬细胞亚型。此外, 部分研究^[11,12]指出, 在各种肿瘤中肿瘤相关巨噬细胞主要是M2型巨噬细胞, M2型巨噬细胞通过调节肿瘤生长、适应性免疫、血管生成和肿瘤基质形成促进肿瘤的发展和转移, 并且可作为预后指标^[13-15]。因此推测, M1型巨噬细胞也参与了肿瘤的过程, 可能起着抗肿瘤作用。但是, CD68(泛-巨噬细胞)是最广泛使用的巨噬细胞标志物, 但不能区分M1(CD11c)和M2巨噬细胞^[16]。本文初步探讨HCC中CD68和CD11c的表达及其与相关临床病理特征的关系, 为诊断及治疗HCC提供一些新的思路和理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 收集安徽医科大学附属省立医院肝

■ 相关报道

近年来, 巨噬细胞在炎症、肿瘤等疾病中的作用引起了极大的关注. 但有关M1型巨噬细胞的研究与报道较少, 尤其M1型细胞在肝脏生理、病理活动中所发挥作用以及M1型巨噬细胞趋化募集、调控等报道更少, 其具体作用机制亟待进一步的研究.

脏外科2008-01/2011-12行肝切除术并经术后病理证实为HCC60例石蜡标本. 上述患者术前未接受任何形式的抗肿瘤治疗. 其中男50例, 女10例; 年龄30-79岁(57.8岁 \pm 10.2岁). 包膜完整者40例, 不完整者20例; 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP) \leq 20 ng/mL者25例, >20 ng/mL 35例. 按照2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(International Union Against Cancer/American Joint Committee on Cancer, UICC/AJCC)第七次修订的HCC TNM临床分期标准^[17]: I - II期37例, III-IV期23例; 肝癌组织Edmondson分级: I - II级38例, III-IV级22例; 血管侵犯(包括肉眼癌栓和镜下癌栓)25例, 无血管侵犯35例; 肿瘤转移者28例, 无肿瘤转移者32例; 巴塞罗那临床肝癌分期(Barcelona Clinic Liver Cancer, BCLC)^[18]: A-B期40例, C-D期20例; 美国东部肿瘤协作组-体力活动状态评分系统(Eastern Cooperative Oncology Group performance status, ECOG-PS)^[19]: 0分39例, \geq 1分21例. 以上资料得到患者及家属的书面同意及安徽医科大学医学伦理委员会批准. 鼠抗人单克隆抗体CD68(Abcam, Cambridge, MA), 兔抗人单克隆抗体CD11c(Abcam, Cambridge, MA), 免疫组织化学试剂盒、免疫荧光双染试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 采用SP法免疫组织化学染色. 单染: 经乙醇梯度脱蜡水化, 柠檬酸水浴加热进行抗原修复; 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 血清封闭, 一抗鼠抗人单克隆抗体CD68(1:200), 兔抗人单克隆抗体CD11c(1:100), 4℃孵育过夜; 通用型二抗室温孵育30 min, DAB染色, 苏木精复染, 梯度无水乙醇脱水, 中性树胶封片.

1.2.2 免疫荧光双染: 抗原修复等步骤与单染基本类似, 加一抗: 滴加用5%BSA按一定比例稀释好的一抗覆盖组织. 于湿盒内4℃孵育过夜; 加二抗: 玻片置于PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤3次, 每次5 min. 滴加与一抗相应种属的二抗(FITC标记)覆盖组织, 避光室温孵育50 min; DAPI复染细胞核: 玻片置于PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤3次, 每次5 min. 滴加DAPI染液, 避光室温孵育10 min; 封片: 玻片置于PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤3次, 每次5 min. 切片稍甩干后用抗荧光淬灭封

片剂封片; 镜检拍照: 切片于尼康倒置荧光显微镜下观察并采集图像. 步骤均参照试剂盒的说明书进行操作, 并由两位病理专家采用双盲法对染色结果进行评估. 抗CD68免疫组织化学标记泛-巨噬细胞, 抗CD11免疫组织化学标记M1型巨噬细胞^[20].

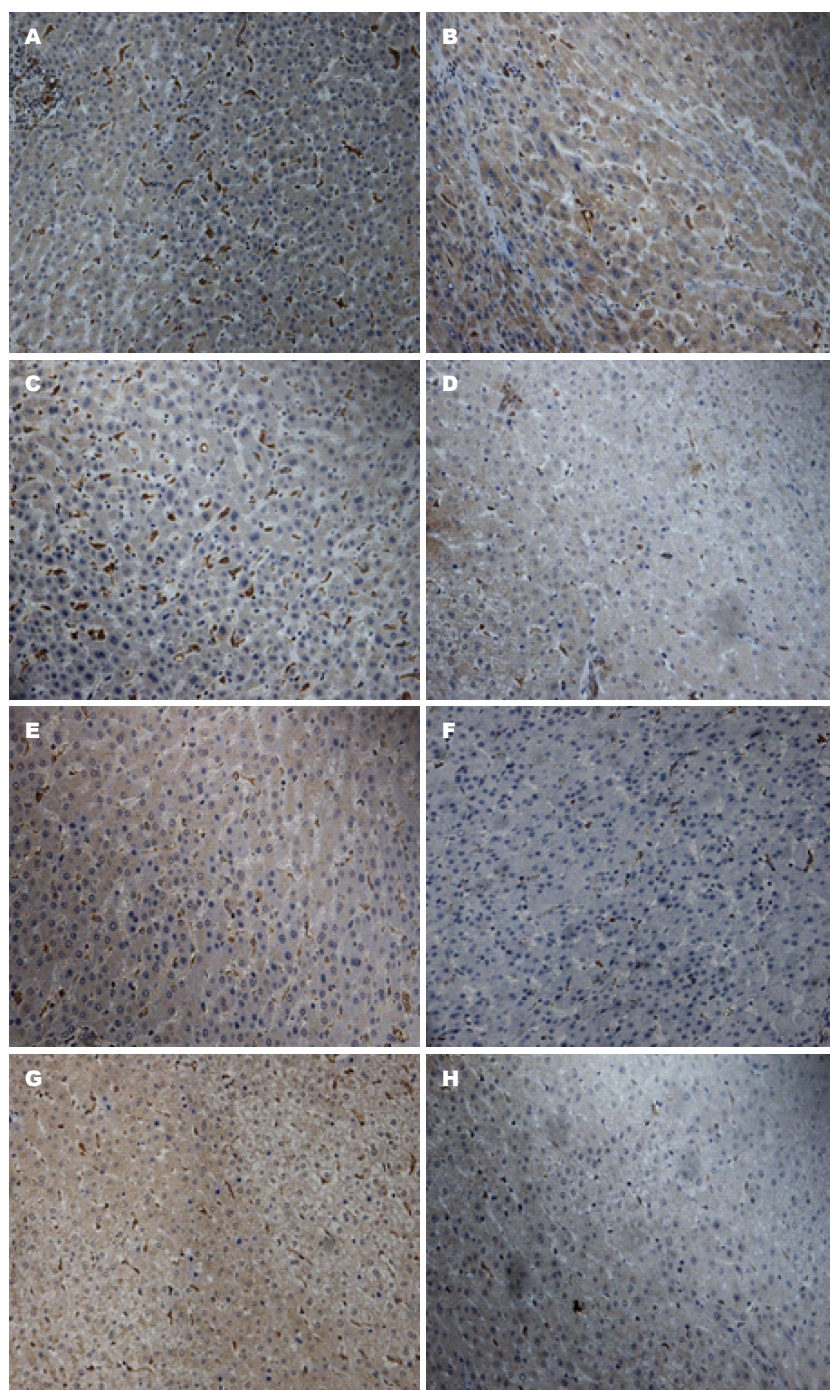
1.2.3 免疫组织化学及免疫荧光双染结果判定: 双染: 在400倍镜下选取具有代表性的细胞视野, 出现红色和绿色双重染色的归类为M1型巨噬细胞. 单染: CD68表达以细胞质或细胞膜中出现黄褐色或棕褐色颗粒为阳性, CD11c以细胞质或细胞膜中出现黄褐色或棕褐色颗粒为阳性, 先在低倍(100倍)光学显微镜下观察切片, 随机选择癌旁和癌组织中5个不重叠具有代表性的区域, 高倍视野(200倍)下计数阳性细胞, 求其均值, 即为该切片的TAM(tumor-associated macrophage)数, 计数方法参照Molin法^[21], 以中位数截取值分高密度组和低密度组.

统计学处理 应用SPSS17.0软件处理数据, 计量资料以mean \pm SD表示, 用 t 检验及相关分析; 组间比较用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学染色和免疫荧光双染结果的意义 免疫组织化学染色结果显示, CD68、CD11c主要在肝癌和癌旁组织巨噬细胞中表达(图1). 免疫荧光双染结果显示, CD11c阳性巨噬细胞包括在CD68阳性巨噬细胞内, 在肝癌组织内不存在CD11c(+)CD68(-)巨噬细胞, 这与免疫组织化学染色结果一致(图2).

2.2 CD68和CD11c巨噬细胞在肝癌组织和癌旁组织的比较 癌旁组织中的CD68和CD11c表达水平明显高于肝癌组织, 差异有统计学意义($t = 8.87, P<0.01; t = 7.41, P<0.01$)(图3). 癌旁组织CD68和CD11c计数分别是48.42/视野 \pm 10.10/视野和20.55/视野 \pm 5.24/视野, 中位数分别是46.50/视野和20.00/视野; 肝癌组织CD68和CD11c计数分别是33.88/视野 \pm 7.68/视野和14.22/视野 \pm 4.03/视野, 中位数分别是33.50/视野和14.00/视野. 肝癌组织和癌旁组织中CD68的表达水平明显高于CD11c的表达, 差异有统计学意义($t = 25.23, P<0.01; t = 26.59, P<0.01$)(图4). 以及肝癌和癌旁组织中的CD68和CD11c存在一定的相关性($r = 0.601, P<0.01$;



创新亮点

有关M1型巨噬细胞在肝细胞癌中的研究相当有限, 本实验通过与泛-巨噬细胞相比, 得出以下结论: M1型巨噬细胞参与了肿瘤的发生发展, 特别是在分化良好的肿瘤中, 表明M1型巨噬细胞可以抑制肿瘤进一步恶化。

图 1 免疫组织化学染色检测CD68和CD11c在肝癌和癌旁组织的表达($\times 200$)。A: 肝癌组织CD68高表达; B: 肝癌组织CD68低表达; C: 癌旁组织CD68高表达; D: 癌旁组织CD68低表达; E: 肝癌组织CD11c高表达; F: 肝癌组织CD11c低表达; G: 癌旁组织CD11c高表达; H: 癌旁组织CD11c低表达。

$r = 0.626, P < 0.01$)(图5); CD68和CD11c在肝癌组织和癌旁组织也存在一定的相关性($r = 0.851, P < 0.01; r = 0.706, P < 0.01$)(图6)。

2.3 肝癌组织和癌旁组织CD68、CD11c巨噬细胞的表达与临床病理特征之间的关系 癌旁组织CD11c表达与患者肿瘤数目相关($\chi^2 = 4.418, P = 0.042$); 肝癌组织和癌旁组织CD11c表达与患者肿瘤包膜、血管侵犯、肿瘤转移、TNM

分期和ECOG-PS相关($P < 0.05$); 癌旁组织CD68与患者肿瘤包膜、血管侵犯、肿瘤转移、TNM分期和ECOG-PS、Edmondson分级及BCLC分期相关($P < 0.05$); 肝癌组织CD68与患者肿瘤包膜、血管侵犯、肿瘤转移、TNM分期和ECOG-PS、Edmondson分级及BCLC分期无相关; 肝癌组织和癌旁组织CD68、CD11c表达与患者年龄、性别、HBsAg、肝硬化等无

应用要点

本文研究CD68和CD11c在肝细胞癌患者中的关系, 提示了M1型巨噬细胞与肝细胞癌的发生发展有关, 为进一步研究M1型巨噬细胞在疾病中的作用机制提供了方向, 同时为术后复发提供了一些理论指导。

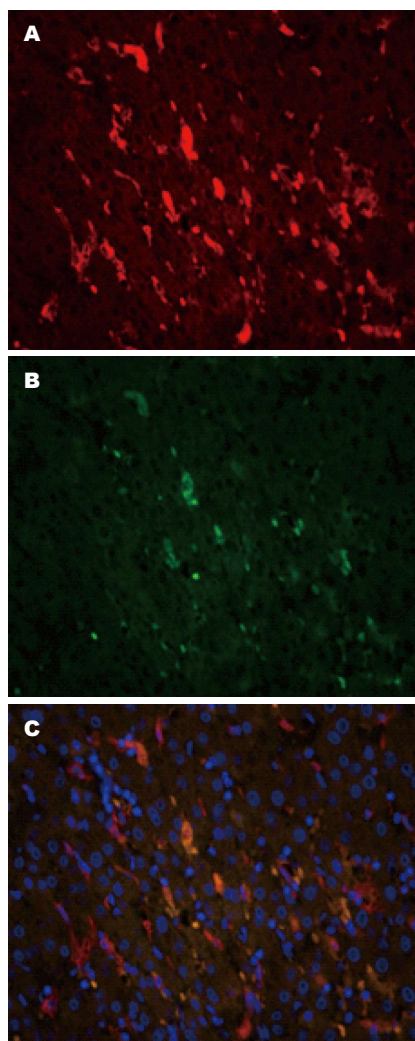


图 2 免疫荧光双染检测CD68和CD11c在肝癌组织的表达($\times 400$)。A: CD68标记泛-巨噬细胞; B: CD11c标记M1型巨噬细胞; C: DAPI标记细胞核。红色代表CD68, 绿色代表CD11c, 蓝色代表细胞核, 且棕黄色代表CD68和CD11c共表达, 所有CD11c阳性巨噬细胞包括在CD68阳性巨噬细胞中。

明显相关($P>0.05$)(表1)。

3 讨论

近年来, 炎症在肿瘤中扮演的作用越来越重要, 肿瘤免疫微环境在肿瘤发生发展过程中的作用已成为临床研究的热点之一。巨噬细胞是肿瘤局部浸润的免疫细胞中比例最大的一群细胞, 他由不同的亚型组成, 每种亚型由于所处的微环境不同具有不同的表型并发挥不同甚至相反的生物学功能。巨噬细胞分为M1型巨噬细胞和M2型巨噬细胞, M1型巨噬细胞能够调整宿主对多种细菌和病毒的防御能力, 在抗肿瘤过程中起到重要的作用^[22]; M2型巨噬细胞通过调节肿瘤生长、适应性免疫、

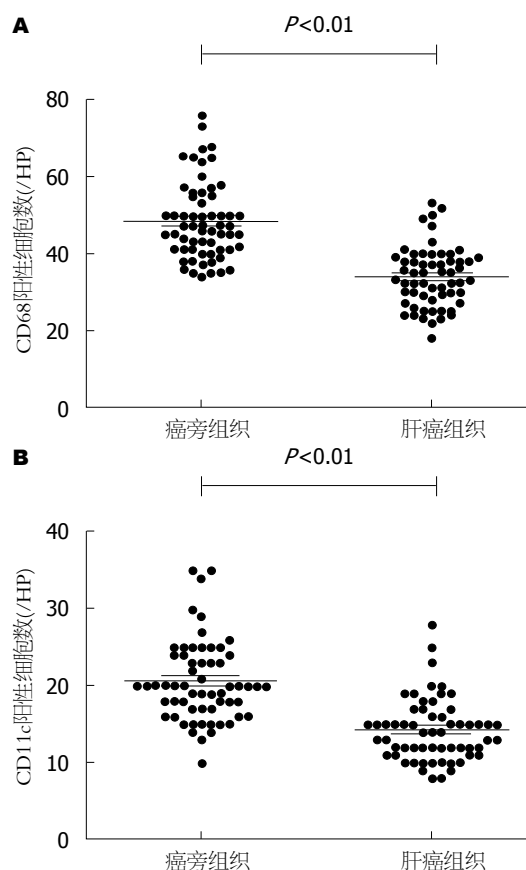


图 3 CD68和CD11c在癌旁组织和肝癌组织中的表达分析。A: CD68细胞数统计图($n = 60$); B: CD11c细胞数统计图($n = 60$), 横线代表mean \pm SD, 数据采用Wilcoxon秩和检验进行分析。

血管生成和肿瘤基质形成促进肿瘤的发展和转移^[13-15]。前期的相关研究显示癌旁巨噬细胞的浸润和巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factors, M-CSF)的高表达, 和肝癌手术后的进展、复发及不良预后相关^[23-25]。本研究发现癌旁组织中的CD68表达水平明显高于肝癌组织, 且癌旁组织CD68与患者肿瘤包膜、血管侵犯、肿瘤转移、TNM分期和ECOG-PS、Edmondson分级及BCLC分期相关, 可能由此推测巨噬细胞在肝癌组织中减少, 可能与肿瘤组织内肝小叶结构紊乱、破坏较多, 导致正常肝血窦环境无法维持, 引起细胞表面共刺激信号缺乏, 不能为T细胞活化提供足够的第二信号, 从而诱导抗肿瘤免疫应答能力下降, 使肿瘤细胞易于免疫逃逸, 最终导致肿瘤生长发展加快^[26]。HCC中肿瘤相关巨噬细胞的极化尚未完全阐明, 之前的研究均直接将泛-巨噬细胞CD68作为识别肿瘤相关巨噬细胞组织中标志。因此才会导致巨噬细胞和肿瘤患者预后关系的偏差。实际上, CD68是M1型巨噬

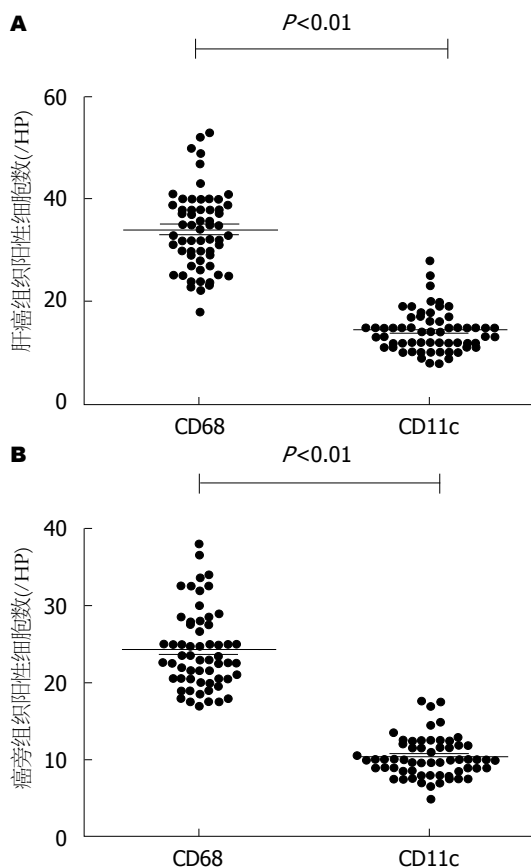


图 4 肝癌组织和癌旁组织中CD68和CD11c表达分析. A: 肝癌组织中CD68和CD11c的细胞数统计图($n = 60$); B: 癌旁组织中CD68和CD11c的细胞数($n = 60$), 横线代表mean \pm SD, 数据采用Wilcoxon秩和检验进行分析.

细胞和M2型巨噬细胞共表达结果, 因此使用CD68标记巨噬细胞不能作为可靠的生物学标志物, 来评估两种具有相反生物学特征的巨噬细胞在组织中的意义. 在本项研究中, 我们使用免疫荧光双染CD11c/CD68标记M1型巨噬细胞, 这与大多数先前发表的文章进行表型鉴定研究巨噬细胞极化是一致的. 在脂肪组织中, CD11c作为M1型巨噬细胞常用标志物, 同时也被看作是髓系树突状细胞(DCs)的标志物, 因此可能存在疑问是CD11c阳性巨噬细胞标记是巨噬细胞还是DCs^[27,28]. 定义巨噬细胞和DCs的主要问题在于他们源于共同髓系前体和表达共同的细胞表面标志物^[22]. 因此, 应该注意到, 这个问题在这些领域不是唯一的, 在免疫学家当中即使定义良好的淋巴组织巨噬细胞和DCs之间的区别也是有争议的^[29,30].

有趣的是在本项研究中, CD11c阳性巨噬细胞表达与患者单个肿瘤数目、具有完整包膜、无血管侵犯、无肿瘤转移的早期肿瘤相关. Ma等^[31]发现在非小细胞肺癌中M1型巨噬

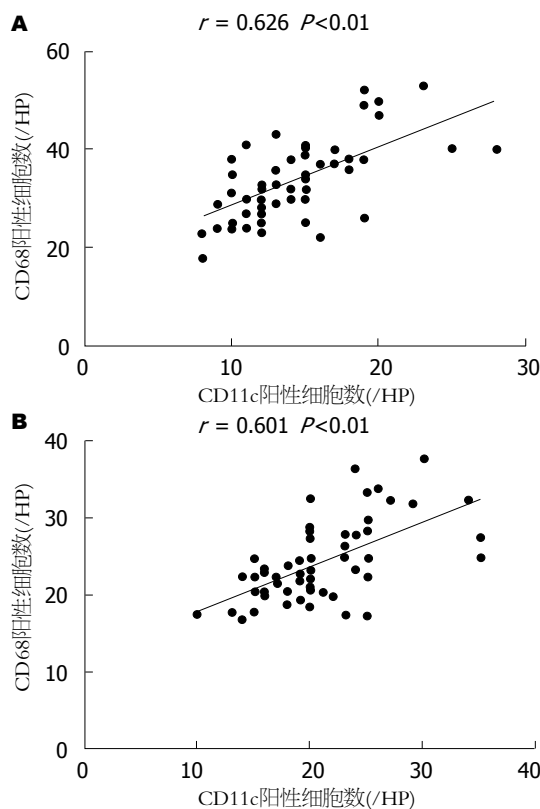


图 5 肝癌组织和癌旁组织中CD68和CD11c的相关性分析. A: 肝癌中相关关系; B: 癌旁组织中相关关系.

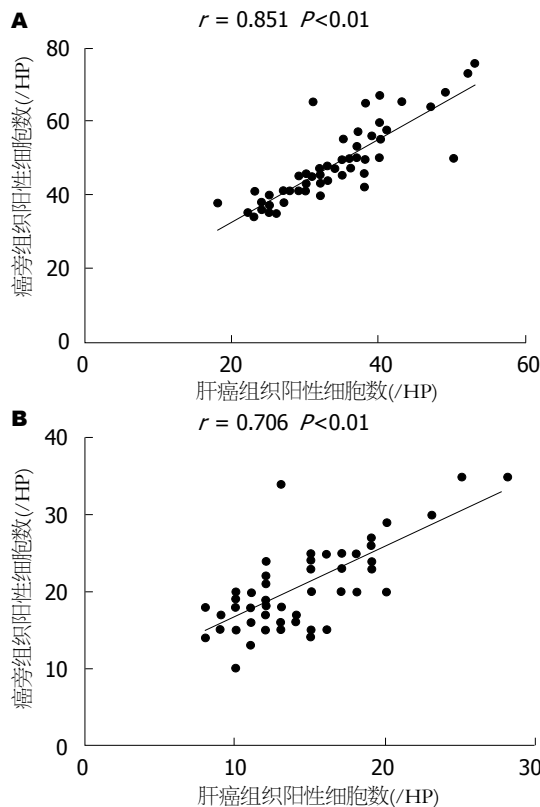


图 6 CD68和CD11c在肝癌组织和癌旁组织的相关性分析. A: CD68在肝癌组织和癌旁组织的相关关系; B: CD11c在肝癌组织和癌旁组织的相关关系.

名词解释

CD68: 一种分子量为110 kDa的细胞浆蛋白, 表达于巨噬细胞、单核细胞、Kupffer细胞、破骨细胞、粒细胞及其前体, 是巨噬细胞最可靠的标志物; CD11c: 黏附分子家族成员, 对免疫细胞具有协同刺激作用, 在人类树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和部分淋巴细胞有表达.

同行评价

本文系统地总结了肝星状细胞相关信号通路与miRNA相互调控的相关研究结果,为肝星状细胞激活的内在机制、肝纤维化病理进程过程中的分子机制研究以及分子靶向治疗提供文献参考。

表 1 肝癌组织和癌旁组织CD68、CD11c巨噬细胞的表达与临床病理特征之间的关系

临床因素	癌旁组织CD68				癌旁组织CD11c				肝癌组织CD68				肝癌组织CD11c			
	低	高	χ^2 值	P值	低	高	χ^2 值	P值	低	高	χ^2 值	P值	低	高	χ^2 值	P值
性别																
男	27	23		1.080	33	17		0.919	23	27		1.080	27	23		0.817
女	3	7			5	5			7	3			5	5		
年龄(岁)																
≤50	7	11		1.270	13	5		0.875	11	7		1.270	9	9		0.735
>50	23	19			25	17			19	23			23	19		
HBsAg																
阳性	23	25		0.417	31	17		0.161	24	24		0.000	26	22		0.796
阴性	7	5			7	5			6	6			6	6		
肝硬化																
阳性	20	23		0.739	28	15		0.208	20	23		0.739	21	22		0.267
阴性	10	7			10	7			10	7			11	6		
AFP(ng/ml)																
≤20	16	9		3.360	17	8		0.402	15	10		1.714	12	13		0.484
>20	14	21			21	14			15	20			20	15		
肿瘤数目(个)																
1	27	23		1.080	35	15		4.148	26	24		0.120	28	22		0.355
≥2	3	7			3	7			4	6			4	6		
肿瘤直径(cm)																
≤5	15	9		2.500	16	8		0.191	15	9		2.500	15	9		0.245
>5	15	21			22	14			15	21			17	19		
肿瘤包膜																
完整	26	14		9.075	30	10		7.033	20	20		0.000	27	13		0.002
不完整或无	4	16			8	12			10	10			5	15		
血管侵犯 ¹																
阳性	5	20		15.429	12	13		4.339	15	10		1.714	9	16		0.023
阴性	25	10			26	9			15	20			23	12		

- 2000; 17: 445-451 [PMID: 10938382 DOI: 10.3892/ijo.17.3.445]
- 6 Ohno S, Ohno Y, Suzuki N, Kamei T, Koike K, Inagawa H, Kohchi C, Soma G, Inoue M. Correlation of histological localization of tumor-associated macrophages with clinicopathological features in endometrial cancer. *Anticancer Res* 2004; 24: 3335-3342 [PMID: 15515429]
- 7 Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* 2000; 7: 263-269 [PMID: 10910229 DOI: 10.1046/j.1442-2042.2000.00190.x]
- 8 Lee CH, Espinosa I, Vrijaldenhoven S, Subramanian S, Montgomery KD, Zhu S, Marinelli RJ, Peterse JL, Poulin N, Nielsen TO, West RB, Gilks CB, van de Rijn M. Prognostic significance of macrophage infiltration in leiomyosarcomas. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1423-1430 [PMID: 18316565 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-07-1712]
- 9 Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, Stenling R, Jung A, Palmqvist R. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1472-1479 [PMID: 17332291 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-06-2073]
- 10 Ohno S, Inagawa H, Dhar DK, Fujii T, Ueda S, Tachibana M, Suzuki N, Inoue M, Soma G, Nagasue N. The degree of macrophage infiltration into the cancer cell nest is a significant predictor of survival in gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2003; 23: 5015-5022 [PMID: 14981961]
- 11 Kurahara H, Shinchu H, Mataka Y, Maemura K, Noma H, Kubo F, Sakoda M, Ueno S, Natsugoe S, Takao S. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer. *J Surg Res* 2011; 167: e211-e219 [PMID: 19765725 DOI: 10.1016/j.jss.2009.05.026]
- 12 Sica A, Schioppa T, Mantovani A, Allavena P. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy. *Eur J Cancer* 2006; 42: 717-727 [PMID: 16520032 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.003]
- 13 Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357: 539-545 [PMID: 11229684 DOI: 10.1016/s0140-6736(00)04046-0]
- 14 Coussens LM, Tinkle CL, Hanahan D, Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell* 2000; 103: 481-490 [PMID: 11081634 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00139-2]
- 15 Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-555 [PMID: 12401408 DOI: 10.1016/S1471-4906(02)02302-5]
- 16 Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, Eitelbach F, Thiele J, Pacini R, Cavaliere A. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol* 1993; 142: 1359-1372 [PMID: 7684194]
- 17 Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. AJCC cancer staging manual. 7th ed. New York: Springer, 2010
- 18 Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-338 [PMID: 10518312 DOI: 10.1055/s-2007-1007122]
- 19 McCorkle R, Ercolano E, Lazenby M, Schulman-Green D, Schilling LS, Lorig K, Wagner EH. Self-management: Enabling and empowering patients living with cancer as a chronic illness. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 50-62 [PMID: 21205833 DOI: 10.3322/caac.20093]
- 20 Hirata Y, Tabata M, Kurobe H, Motoki T, Akaike M, Nishio C, Higashida M, Mikasa H, Nakaya Y, Takanashi S, Igarashi T, Kitagawa T, Sata M. Coronary atherosclerosis is associated with macrophage polarization in epicardial adipose tissue. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 248-255 [PMID: 21737014 DOI: 10.1016/j.jacc.2011.01.048]
- 21 Molin D, Edström A, Glimelius I, Glimelius B, Nilsson G, Sundström C, Enblad G. Mast cell infiltration correlates with poor prognosis in Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2002; 119: 122-124 [PMID: 12358914 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03768.x]
- 22 Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 723-737 [PMID: 21997792 DOI: 10.1038/nri3073]
- 23 Zhu XD, Zhang JB, Zhuang PY, Zhu HG, Zhang W, Xiong YQ, Wu WZ, Wang L, Tang ZY, Sun HC. High expression of macrophage colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2707-2716 [PMID: 18509183 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.6521]
- 24 Wang Y, Wang YP, Zheng G, Lee VW, Ouyang L, Chang DH, Mahajan D, Coombs J, Wang YM, Alexander SI, Harris DC. Ex vivo programmed macrophages ameliorate experimental chronic inflammatory renal disease. *Kidney Int* 2007; 72: 290-299 [PMID: 17440493 DOI: 10.1038/sj.ki.5002275]
- 25 Talmadge JE, Donkor M, Scholar E. Inflammatory cell infiltration of tumors: Jekyll or Hyde. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 373-400 [PMID: 17717638 DOI: 10.1007/s10555-007-9072-0]
- 26 郑乔丹, 吴文苑, 陈月. 肿瘤相关巨噬细胞在肝癌细胞生长和转移中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2907-2912
- 27 Nguyen MT, Favellyukis S, Nguyen AK, Reichart D, Scott PA, Jenn A, Liu-Bryan R, Glass CK, Neels JG, Olefsky JM. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem* 2007; 282: 35279-35292 [PMID: 17916553 DOI: 10.1074/jbc.M706762200]
- 28 Wu H, Perrard XD, Wang Q, Perrard JL, Polsani VR, Jones PH, Smith CW, Ballantyne CM. CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 186-192 [PMID: 19910635 DOI: 10.1161/atvbaha.109.198044]
- 29 Hume DA. Macrophages as APC and the dendritic cell myth. *J Immunol* 2008; 181: 5829-5835 [PMID:

- 18941170 DOI: 10.4049/jimmunol.181.9.5829]
- 30 Geissmann F, Gordon S, Hume DA, Mowat AM, Randolph GJ. Unravelling mononuclear phagocyte heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 453-460 [PMID: 20467425 DOI: 10.1038/nri2784]
- 31 Ma J, Liu L, Che G, Yu N, Dai F, You Z. The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time. *BMC Cancer* 2010; 10: 112 [PMID: 20338029 DOI: 10.1186/1471-2407-10-112]

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》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax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*); 化学学中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

microRNA-34a在结肠癌组织中的表达及临床意义

卢书明, 张竹青, 徐梦杳, 宋波, 刘丽娜, 李岩, 李春艳

■背景资料

结肠癌的发生与 *k-ras*、*p53* 等基因突变有关, microRNA-34a(miR-34a)在转录过程受 *p53* 基因的诱导调节, *p53* 内在激活 miR-34a 的表达。肿瘤细胞 *p53* 基因突变及启动子区域 CpG 岛甲基化可导致 miR-34a 表达水平降低, 进而通过下游靶基因参与肿瘤细胞增殖、细胞周期及凋亡的调控, miR-34a 被看作是一类新的抑癌基因。

卢书明, 徐梦杳, 刘丽娜, 李春艳, 大连医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省大连市 116011
张竹青, 大连市中心医院病理科 辽宁省大连市 116033
宋波, 大连医科大学病理教研室 辽宁省大连市 116044
李岩, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004
卢书明, 副教授, 博士, 主要从事消化系统肿瘤临床与基础研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81172052
辽宁省自然科学基金资助项目, No. 2013023024
作者贡献分布: 此课题由卢书明与李春艳设计; 文献检索及实验操作由卢书明、张竹青及徐梦杳共同完成; 实验指导为宋波; 课题指导为刘丽娜与李岩; 论文由卢书明与李春艳完成。
通讯作者: 李春艳, 教授, 116011, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院消化内科。
lichunyandocor@126.com
电话: 0411-83635963
收稿日期: 2015-05-15 修回日期: 2015-06-09
接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

Clinical significance of expression of microRNA-34a in human colon cancer

Shu-Ming Lu, Zhu-Qing Zhang, Meng-Yao Xu, Bo Song, Li-Na Liu, Yan Li, Chun-Yan Li

Shu-Ming Lu, Meng-Yao Xu, Li-Na Liu, Chun-Yan Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Zhu-Qing Zhang, Department of Pathology, Dalian Municipal Central Hospital, Dalian 116033, Liaoning Province, China

Bo Song, Department of Pathology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Yan Li, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81172052; Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 2013023024

Correspondence to: Chun-Yan Li, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China. lichunyandocor@126.com

Received: 2015-05-15 Revised: 2015-06-09

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

■同行评议者

姜又红, 教授, 研究员, 中国医科大学附属第一医院

Abstract

AIM: To investigate the expression of microRNA-34a (miR-34a) in human colon cancer tissues and colon cancer cell lines, and to explore its clinical significance.

METHODS: The expression of miR-34a was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) in 30 colon cancer tissues and matched tumor adjacent normal colon tissues as well as colon cancer cell lines (HT29, SW620 and Lovo). The relationship between the levels of miR-34a expression and the clinicopathologic features of patients with colon cancer was analyzed.

RESULTS: The expression of miR-34a in colon cancer was significantly lower than that in adjacent normal colon tissues (0.681 ± 0.327 vs 1.313 ± 0.546 , $P < 0.05$). The expression of miR-34a in colon cancer cell line Lovo was significantly lower than that in colon cancer cell lines HT29 and SW620 (0.275 ± 0.035 vs 0.757 ± 0.04 and 0.614 ± 0.046 , $P < 0.05$). The expression of miR-34a was significantly associated with tumor differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis and clinical stage in patients with colon cancer ($P < 0.05$), but not with gender, age, or tumor size ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The expression of miR-34a is down-regulated in colon cancer, which may be related to tumorigenesis and progression.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; MicroRNA-34a; Metastasis

Lu SM, Zhang ZQ, Xu MY, Song B, Liu LN, Li Y, Li CY.

Clinical significance of expression of microRNA-34a in human colon cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(22): 3548-3553 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3548.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3548>

摘要

目的: 探讨microRNA-34a(miR-34a)在结肠癌组织及细胞株中的表达及临床意义。

方法: 采用实时定量PCR检测30例结肠癌组织及其癌旁正常结肠黏膜组织、结肠癌细胞株(HT29、SW620、Lovo)中miR-34a的表达水平, 分析miR-34a表达与结肠癌临床病理参数之间的关系。

结果: miR-34a在结肠癌组织中的表达水平(0.681 ± 0.327)较癌旁正常结肠黏膜组织(1.313 ± 0.546)显著降低($P < 0.01$); miR-34a在结肠癌细胞株Lovo中的表达(0.275 ± 0.035)明显低于其在结肠癌细胞株HT29、SW620中的表达(0.757 ± 0.044 、 0.614 ± 0.046), 差异有统计学意义(均 $P < 0.01$); miR-34a的表达与结肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移及临床分期均显著相关(均 $P < 0.05$)。而miR-34a的表达与性别、年龄、肿瘤大小无关(均 $P > 0.05$)。

结论: miR-34a在结肠癌组织中低表达, 可能参与结肠癌的发生发展。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠癌; MicroRNA-34a; 转移

核心提示: 本研究显示microRNA-34a(miR-34a)在结肠癌组织与正常结肠黏膜、不同分化程度结肠癌细胞株间存在差异表达, 且与结肠癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移及临床分期均显著相关, miR-34a可能在结肠癌发生中发挥抑癌基因的功能, 其低表达可能参与结肠癌的发展。

卢书明, 张竹青, 徐梦杏, 宋波, 刘丽娜, 李岩, 李春艳. microRNA-34a在结肠癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3548-3553 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3548.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3548>

0 引言

微小RNA(microRNA, miRNA)是近年来新发现的一类非编码小分子RNA, 通过与靶基因

序列特异性结合, 在细胞增殖、分化、凋亡等生理和病理过程中发挥重要作用, 而且与肿瘤的发生、发展密切相关^[1,2]. microRNA-34(miR-34)是在进化过程中高度保守的一个miRNA家族, miR-34a是miR-34家族最常见的一种成熟体, 研究发现在miR-34a在多种恶性肿瘤中表达异常, 与肿瘤的转移、分期关系密切^[3]. 本研究应用实时定量PCR方法(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)检测miR-34a在结肠癌组织及结肠癌细胞株中的表达, 分析miR-34a与结肠癌临床病理特征的关系, 探讨miR-34a在结肠癌中表达的临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-01/2014-12大连医科大学附属第一医院诊断明确的结肠癌手术切除组织标本及对应的癌旁正常肠黏膜组织(距离肿瘤边缘至少5 cm)各30例, 40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋. 术前均未接受放疗和化疗. 结肠癌细胞株HT29(高分化)、SW620(中分化)、Lovo(低分化)购自中国医学科学院肿瘤细胞库. 石蜡包埋组织miRNA快速提取试剂盒购自上海吉玛制药技术有限公司, TaqMan MiRNA反转录试剂盒、TaqMan universals PCR Master Mix II、TaqMan MiRNA分析试剂盒购自美国Life Technologies公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及RNA提取: 用含有10%的胎牛血清的RPMI 1640培养基, 在37 ℃、50 mL/L CO₂细胞培养箱中培养. 当细胞生长至对数生长期, 即细胞密度达 10^6 - 10^7 个/L时, 收集细胞采用TRIzol一步法提取总RNA. 结肠癌与癌旁正常肠黏膜组织中总RNA的提取均采用石蜡包埋组织miRNA快速提取试剂盒, 步骤按照说明书操作. 使用紫外分光光度计分析RNA的浓度和纯度, $A_{260/280}$ 比值在1.8-2.1之间, 表明RNA纯度较好, 可进行下一步操作。

1.2.2 Taqman探针法qRT-PCR反应: 引物: 从GenBank中查找目的基因序列, 使用Primer-Express3.0软件进行引物设计, 由大连宝生物工程股份有限公司合成. 内参U6基因扩增片段长96 bp, 其上游引物为: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物为: 5'-AACGCTTCACGATTGCGT-3'; miR-34a扩增片段长152 bp, 其上游引物为: 5'-GGCAGTGTCTTAGCTGGT

■ 研究前沿

国内外大量研究显示miR-34a与恶性肿瘤发生、发展及复发等密切相关, miR-34a在结肠癌组织中低表达, 其功能缺失使结肠癌细胞异常增殖, 促进其进展. 而miR-34a稳定高表达可预防肿瘤细胞对化疗药物的抵抗、增高对化疗药物的敏感性. 调控miR-34a的表达可对结肠癌治疗产生潜在的影响, 为临床治疗药物的研发提供新的思路。

■ 相关报道

国外研究发现在45.1%的结肠癌组织中存在miR-34a的甲基化, 启动子的甲基化导致miR-34a表达水平显著降低, miR-34a表达与结肠癌肝转移及淋巴结转移密切相关, 联合检测miR-34a及c-Met、 β -catenin的表达对于结肠癌有预警价值。

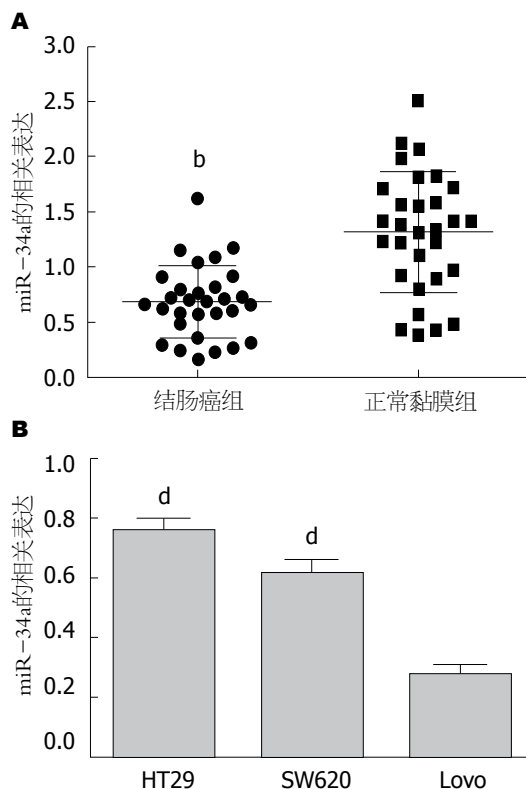


图1 miR-34a在结肠癌黏膜组织和结肠癌细胞株的表达。A: miR-34a在结肠癌及癌旁正常肠黏膜组织中的表达, $^bP<0.01$ vs 正常肠黏膜组; B: miR-34a在结肠癌细胞株的表达, $^dP<0.01$ vs Lovo细胞。

TG-3', 下游引物为: 5'-AAGAGCTTCCGA AGT CCTGG-3'。

逆转录反应: 将提取的总RNA稀释成2 ng/ μ L, 每个逆转录反应用10 ng的总RNA, 以U6基因作为内参。所有操作均在冰上进行。逆转录反应体系为15 μ L: Nuclease free water 4.16 μ L, dNTP mix 0.15 μ L, MultiscribeTM RT enzyme 1.0 μ L, 10 \times RT Buffer 1.5 μ L, RnaseInhibitor 0.19 μ L, RT primer(miR-34a, U6) 3 μ L, total RNA sample 5 μ L。混匀离心至PCR管底, 冰上放置5 min。反应条件: 16 $^{\circ}$ C 30 min, 42 $^{\circ}$ C 30 min, 85 $^{\circ}$ C 5 min。逆转录后, cDNA产物保存在-20 $^{\circ}$ C。

定量PCR反应: 按照TaqMan[®] Small RNA Assay试剂盒说明书操作。qPCR反应体系为20 μ L, Master Mix II (2 \times) 10 μ L, Small RNA Assay 1 μ L, Product from RT reaction 1.33 μ L, Nuclease Free Water 7.67 μ L。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 扩增40个循环。

结果计算: miRNA表达水平用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示, 其中 $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miR-34a} - Ct_{U6})_{\text{实验组}} - (Ct_{miR-34a} - Ct_{U6})_{\text{对照组}}$ 。得出miR-34a在结肠癌组织和癌旁正常肠黏膜组织中的相对表达量。

统计学处理 采用SPSS18.0统计学软件, miR-34a在结肠癌和癌旁正常黏膜中相对表达量的比较采用 t 检验, miR-34a在3种结肠癌细胞株中的表达及miR-34a与结肠癌临床病理参数之间的关系比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-34a在结肠癌组织和癌旁正常结肠黏膜组织中的表达 qRT-PCR检测显示miR-34a在结肠癌组织中相对表达量为 0.681 ± 0.327 , 低于其在癌旁正常结肠黏膜组织中相对表达量 1.313 ± 0.546 ($t = 5.438$, $P<0.01$) (图1A)。

2.2 miR-34a在结肠癌细胞系中的表达 实时PCR检测显示miR-34a在结肠癌细胞株HT29、SW620、Lovo中的相对表达量分别为 0.757 ± 0.044 、 0.614 ± 0.046 、 0.275 ± 0.035 , miR-34a在低分化结肠癌细胞株Lovo中的相对表达量明显低于其在高分化结肠癌细胞株HT29及中分化结肠癌细胞株SW620中的相对表达量 (均 $P<0.01$) (图1B)。

2.3 miR-34a的表达与结肠癌患者临床病理参数之间的关系 miR-34a在低分化、浸润深度侵及浆膜、淋巴结转移、III-IV期的结肠癌组中的相对表达量分别为 0.486 ± 0.208 、 0.478 ± 0.318 、 0.495 ± 0.277 、 0.558 ± 0.285 , 明显低于其在相应的高中分化、浸润深度未及浆膜、无淋巴结转移及I-II期结肠癌组中的相对表达量 0.752 ± 0.336 、 0.783 ± 0.287 、 0.806 ± 0.303 、 0.822 ± 0.323 (均 $P<0.05$)。miR-34a表达与患者性别、年龄、肿瘤大小无关 (均 $P>0.05$) (表1)。

3 讨论

结肠癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 发病率逐年上升, 死亡率高, 严重影响人们的身体健康^[4]。结肠癌的发生与APC、k-ras、p53等基因的突变有关^[5]。miRNA作为一类非编码小分子RNA, 通过参与转录后基因表达调控, 在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用, 其与肿瘤耐药也密切相关, 研究发现可通过调控miRNA对肿瘤进行有效的治疗, 目前miRNA已经成为肿瘤领域的研究热点^[1,2,6]。近年来miR-34家族备受关注, 其成员可以作为人类癌症预后的标志物及治疗的靶点^[7,8]。miR-34a作为其家族成员之一, 在转录过程受p53基因的诱导调节,

表 1 miR-34a的表达与结肠癌临床病理参数之间的关系 (mean ± SD)

临床病理参数	n	miR-34a相对表达量	t值	P值
性别			0.622	0.539
男	17	0.714 ± 0.378		
女	13	0.638 ± 0.253		
年龄(岁)			0.285	0.778
<60	13	0.701 ± 0.384		
≥60	17	0.666 ± 0.286		
肿瘤大小(cm)			1.917	0.065
<6	20	0.836 ± 0.375		
≥6	10	0.604 ± 0.278		
分化程度			2.090	0.046
高、中分化	22	0.752 ± 0.336		
低分化	8	0.486 ± 0.208		
浸润深度			2.654	0.013
未侵及浆膜	20	0.783 ± 0.287		
侵及浆膜	10	0.478 ± 0.318		
淋巴结转移			2.849	0.008
无	18	0.806 ± 0.303		
有	12	0.495 ± 0.277		
TNM分期			2.376	0.025
I-II期	16	0.822 ± 0.323		
III-IV期	14	0.558 ± 0.285		

应用要点

检测结肠癌组织中miR-34a的表达, 可为临床判断结肠癌进展及预后提供一个有效的指标。随着研究的深入, miR-34a有望为临床治疗结肠癌提供新的靶点。

p53可内在激活miR-34a的表达, 研究^[9]报道肿瘤细胞染色体杂合性缺失、*p53*基因突变及启动子区域CpG岛甲基化均可导致miR-34a表达水平降低, 进而通过下游的靶基因参与肿瘤细胞增殖、周期阻滞、细胞凋亡的调控。研究^[10-12]显示miR-34a具有诱导癌细胞的细胞周期G₁期阻滞及细胞凋亡作用, 能够抑制癌细胞的侵袭迁移, 而且能够通过靶向调控CD44抑制肿瘤血管的生成, *miR-34a*被看作是一类新的抑癌基因。

研究^[13-17]报道miR-34a在胃癌、肝细胞癌、乳腺癌、肾癌及前列腺癌等恶性肿瘤或其细胞系中表达明显下调, miR-34a的表达与肿瘤的淋巴结转移及分期显著相关。miR-34a还与膀胱移行细胞癌、胃癌等恶性肿瘤的复发密切相关^[18,19]。miR-34a可通过下调癌细胞血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)、*E2F3*、*SIRT1*等基因的表达参与肿瘤血管生成的调节, miR-34a可能成为肿瘤患者预后的生物学标记^[3]。国外学者研究^[20,21]发现在45.1%的结肠癌组织中存在miR-34a的甲基化, 启动子的甲基化导致miR-34a表达水平显著降低, miR-34a的表达与结肠癌的肝转移

及淋巴结转移密切相关, 联合检测miR-34a及c-Met、β-catenin的表达对于结肠癌有预警价值。Wu等^[22]也报道miR-34a在结肠癌组织的表达水平显著低于癌旁结肠黏膜, 而且在发生淋巴结转移的结肠癌组的miR-34a表达水平明显低于未发生淋巴结转移组。miR-34a的功能缺失使结肠癌细胞异常增殖, 导致结肠癌的进展^[23]。

我们应用实时定量PCR方法检测miR-34a在结肠癌及癌旁正常结肠黏膜组织中的表达, 结果发现miR-34a在结肠癌组织中的表达水平明显低于其在癌旁正常结肠黏膜组织中的表达水平($P<0.05$), 与既往研究结果相一致。为了观察miR-34a在不同分化程度结肠癌细胞株中的差异, 我们检测miR-34a在高、中、低分化结肠癌细胞株的表达情况, 结果显示在低分化结肠癌细胞株Lovo中miR-34a的表达水平显著低于高分化结肠癌细胞株HT29及中分化结肠癌细胞株SW620中的表达水平($P<0.05$)。研究从结肠癌组织及结肠癌细胞株层面观察了miR-34a表达的差异, 结果提示miR-34a可能在结肠癌的发生发展中发挥抑癌基因的功能, 为今后深入研究调控miR-34a表达对结肠癌细胞生物学行为的影响及作用机制奠定基础。本研

■名词解释

微小RNA(miRNA): 是一类非编码小分子RNA, 通过与靶基因序列特异性结合, 在细胞增殖、分化、凋亡等生理和病理过程中发挥重要作用, 而且与肿瘤的发生、发展及肿瘤的耐药、治疗等密切相关。

研究还分析了miR-34a与结肠癌患者临床病理参数之间的关系, 结果发现发生低分化、浸润深度达浆膜、淋巴结转移、分期为III-IV期的结肠癌组中miR-34a表达水平分别低于其在高中分化、浸润深度未及浆膜、未发生淋巴结转移和分期为I-II期结肠癌组中的表达水平, 与miR-34a在结肠癌细胞株中的表达结果一致, 提示miR-34a在结肠癌中低表达, 可能参与与结肠癌的发生发展。Liu等^[24]研究发现miR-34a可通过抑制上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)信号通路调节基质金属蛋白酶7(matrix metalloproteinases 7, MMP-7)的表达, 进而调控胃癌细胞的侵袭转移力。在人肾癌细胞中的研究^[25]显示miR-34a通过靶向调控CD44的表达抑制肾癌细胞的生长及转移。miR-34a是通过何种机制促进结肠癌的侵袭转移尚不清楚, 有待于进一步研究。

研究^[26]认为miR-34a的低表达与p53基因突变一致, 因此针对p53基因突变和/或miR-34a表达的调控将对癌症的治疗产生潜在的影响。有报道miR-34a的异常表达在人乳腺癌细胞阿霉素耐药中发挥作用, 使miR-34a表达增高可通过靶向调控Notch1的表达增加乳腺癌细胞对阿霉素的药物敏感性^[27]。另有报道检测miR-34a能预测肿瘤是否出现治疗抵抗, 体外实验研究结果显示恢复或上调miR-34a的表达及功能可以预防肿瘤细胞对化疗药物的抵抗^[11]。小分子激活剂Rubone可激活miR-34a的表达, 抑制肿瘤的生长^[28], 二氟化姜黄素可抑制结肠癌细胞株的生长, 与上调miR-34a的表达有关^[21]。结肠癌SW480细胞株稳定表达miR-34a可导致癌细胞的侵袭与迁移能力明显降低, 而且miR-34a可通过特异性调节Sirtuin 1/p53通路增加SW480细胞对5-氟尿嘧啶的敏感性^[29]。动物实验研究^[30]显示miR-34a的过表达可抑制裸鼠移植瘤的生长及血管生成, 而且miR-34a是通过阻断VEGF的生成直接抑制肿瘤血管内皮细胞的功能发挥抑制肿瘤血管生成的作用。因此, 随着对miR-34a研究的不断深入, miR-34a除了有望为临床上判断结肠癌进展提供一个有效的指标, 同时可为临床治疗肿瘤提供新的策略和靶点。

4 参考文献

- 1 Taylor MA, Schiemann WP. Therapeutic Opportunities for Targeting microRNAs in Cancer. *Mol Cell Ther* 2014; 2: 1-13 [PMID: 25717380 DOI: 10.1186/2052-8426-2-30]

- 2 Thorsen SB, Obad S, Jensen NF, Stenvang J, Kauppinen S. The therapeutic potential of microRNAs in cancer. *Cancer J* 2012; 18: 275-284 [PMID: 22647365 DOI: 10.1097/PPO.0b013e318258b5d6]
- 3 Maroof H, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. Role of microRNA-34 family in cancer with particular reference to cancer angiogenesis. *Exp Mol Pathol* 2014; 97: 298-304 [PMID: 25102298 DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.08.002]
- 4 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
- 5 Hsieh JS, Lin SR, Chang MY, Chen FM, Lu CY, Huang TJ, Huang YS, Huang CJ, Wang JY. APC, K-ras, and p53 gene mutations in colorectal cancer patients: correlation to clinicopathologic features and postoperative surveillance. *Am Surg* 2005; 71: 336-343 [PMID: 15943410]
- 6 Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302: 1-12 [PMID: 16989803 DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.08.028]
- 7 Wang R, Ma J, Wu Q, Xia J, Miele L, Sarkar FH, Wang Z. Functional role of miR-34 family in human cancer. *Curr Drug Targets* 2013; 14: 1185-1191 [PMID: 23834144 DOI: 10.2174/13894501113149990191]
- 8 Maroof H, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. MicroRNA-34 family, mechanisms of action in cancer: a review. *Curr Cancer Drug Targets* 2014; 14: 737-751 [PMID: 25329673 DOI: 10.2174/1568009614666141020100337]
- 9 Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, Feldmann G, Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ, Arking DE, Beer MA, Maitra A, Mendell JT. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26: 745-752 [PMID: 17540599 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.05.010]
- 10 Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Körner H, Knyazev P, Diebold J, Hermeking H. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle* 2008; 7: 2591-2600 [PMID: 18719384 DOI: 10.4161/cc.7.16.6533]
- 11 Hermeking H. The miR-34 family in cancer and apoptosis. *Cell Death Differ* 2010; 17: 193-199 [PMID: 19461653 DOI: 10.1038/cdd.2009.56]
- 12 Yu G, Yao W, Xiao W, Li H, Xu H, Lang B. MicroRNA-34a suppresses angiogenesis in bladder cancer by directly targeting CD44. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 779 [PMID: 25551284 DOI: 10.1186/s13046-014-0115-4]
- 13 Stánitz E, Juhász K, Tóth C, Gombos K, Natali PG, Ember I. Evaluation of MicroRNA expression pattern of gastric adenocarcinoma associated with socioeconomic, environmental and lifestyle factors in northwestern Hungary. *Anticancer Res* 2013; 33: 3195-3200 [PMID: 23898078]
- 14 Dang Y, Luo D, Rong M, Chen G. Underexpression of proliferating inhibitory effects of agents targeting c-MET. *PLoS One* 2013; 8: e61054 [PMID: 23593387 DOI: 10.1371/journal.pone.0061054]
- 15 Li L, Xie X, Luo J, Liu M, Xi S, Guo J, Kong Y, Wu M, Gao J, Xie Z, Tang J, Wang X, Wei W, Yang M, Hung MC, Xie X. Targeted expression of miR-

- 34a using the T-VISA system suppresses breast cancer cell growth and invasion. *Mol Ther* 2012; 20: 2326-2334 [PMID: 23032974 DOI: 10.1038/mt.2012.201]
- 16 Vogt M, Munding J, Grüner M, Liffers ST, Verdoodt B, Hauk J, Steintraesser L, Tannapfel A, Hermeking H. Frequent concomitant inactivation of miR-34a and miR-34b/c by CpG methylation in colorectal, pancreatic, mammary, ovarian, urothelial, and renal cell carcinomas and soft tissue sarcomas. *Virchows Arch* 2011; 458: 313-322 [PMID: 21225432 DOI: 10.1007/s00428-010-1030-5]
- 17 Fujita Y, Kojima K, Hamada N, Ohhashi R, Akao Y, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. Effects of miR-34a on cell growth and chemoresistance in prostate cancer PC3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377: 114-119 [PMID: 18834855 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.09.086]
- 18 Andrew AS, Marsit CJ, Schned AR, Seigne JD, Kelsey KT, Moore JH, Perreard L, Karagas MR, Sempere LF. Expression of tumor suppressive microRNA-34a is associated with a reduced risk of bladder cancer recurrence. *Int J Cancer* 2014 2014 Dec 29. [Epub ahead of print] [PMID: 25556547 DOI: 10.1002/ijc.29413]
- 19 Zhang H, Li S, Yang J, Liu S, Gong X, Yu X. The prognostic value of miR-34a expression in completely resected gastric cancer: tumor recurrence and overall survival. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 2635-2641 [PMID: 25932212]
- 20 Siemens H, Neumann J, Jackstadt R, Mansmann U, Horst D, Kirchner T, Hermeking H. Detection of miR-34a promoter methylation in combination with elevated expression of c-Met and β -catenin predicts distant metastasis of colon cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 710-720 [PMID: 23243217 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1703]
- 21 Roy S, Levi E, Majumdar AP, Sarkar FH. Expression of miR-34 is lost in colon cancer which can be re-expressed by a novel agent CDF. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 58 [PMID: 22992310 DOI: 10.1186/1756-8722-5-58]
- 22 Wu J, Wu G, Lv L, Ren YF, Zhang XJ, Xue YF, Li G, Lu X, Sun Z, Tang KF. MicroRNA-34a inhibits migration and invasion of colon cancer cells via targeting to Fra-1. *Carcinogenesis* 2012; 33: 519-528 [PMID: 22198213 DOI: 10.1093/carcin/bgr304]
- 23 Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15472-15477 [PMID: 17875987 DOI: 10.1073/pnas.0707351104]
- 24 Liu G, Jiang C, Li D, Wang R, Wang W. MiRNA-34a inhibits EGFR-signaling-dependent MMP7 activation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2014; 35: 9801-9806 [PMID: 24981249 DOI: 10.1007/s13277-014-2273-6]
- 25 Yu G, Li H, Wang J, Gumireddy K, Li A, Yao W, Tang K, Xiao W, Hu J, Xiao H, Lang B, Ye Z, Huang Q, Xu H. miRNA-34a suppresses cell proliferation and metastasis by targeting CD44 in human renal carcinoma cells. *J Urol* 2014; 192: 1229-1237 [PMID: 24866595 DOI: 10.1016/j.juro.2014.05.094]
- 26 Wong MY, Yu Y, Walsh WR, Yang JL. microRNA-34 family and treatment of cancers with mutant or wild-type p53 (Review). *Int J Oncol* 2011; 38: 1189-1195 [PMID: 21399872 DOI: 10.3892/ijo.2011.970]
- 27 Li XJ, Ji MH, Zhong SL, Zha QB, Xu JJ, Zhao JH, Tang JH. MicroRNA-34a modulates chemosensitivity of breast cancer cells to adriamycin by targeting Notch1. *Arch Med Res* 2012; 43: 514-521 [PMID: 23085450 DOI: 10.1016/j.arcmed.2012.09.007]
- 28 Xiao Z, Li CH, Chan SL, Xu F, Feng L, Wang Y, Jiang JD, Sung JJ, Cheng CH, Chen Y. A small-molecule modulator of the tumor-suppressor miR34a inhibits the growth of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2014; 74: 6236-6247 [PMID: 25217526 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0855]
- 29 Lai M, Du G, Shi R, Yao J, Yang G, Wei Y, Zhang D, Xu Z, Zhang R, Li Y, Li Z, Wang L. MiR-34a inhibits migration and invasion by regulating the SIRT1/p53 pathway in human SW480 cells. *Mol Med Rep* 2015; 11: 3301-3307 [PMID: 25585539 DOI: 10.3892/mmr.2015.3182]
- 30 Kumar B, Yadav A, Lang J, Teknos TN, Kumar P. Dysregulation of microRNA-34a expression in head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor growth and tumor angiogenesis. *PLoS One* 2012; 7: e37601 [PMID: 22629428 DOI: 10.1371/journal.pone.0037601]

同行评价

该研究方法和研究结果表述较规范, 文章书写比较流畅, 研究具有一定的学术价值和实用价值。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



肝脏缺血再灌注损伤的研究进展

李伟男, 彭慈军, 舒德军, 梅永, 李雄雄, 谢万桃

■背景资料

在各种肝外科手术中, 如复杂肝切除、严重肝外伤的处理、肝血管重建、肝移植等, 都不可避免地发生了缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI), 研究缺血再灌注发生机制及预防措施将为肝外科手术中缺血再灌注的防治提供理论依据, IRI的研究对促进肝脏外科手术的发展有重要的意义。

李伟男, 彭慈军, 舒德军, 梅永, 李雄雄, 谢万桃, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003
李伟男, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究。
贵州省科学技术基金资助项目, No. 黔科合J字LKZ[2011]26
作者贡献分布: 本文撰写主要由李伟男完成; 舒德军、梅永、李雄雄及谢万桃共同参与文献检索及整理工作; 彭慈军审校。
通讯作者: 彭慈军, 教授, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆外科。
doctorpengcijun@163.com
电话: 0851-28608244
收稿日期: 2015-05-04 修回日期: 2015-07-03
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-08

Progress in research of liver ischemia-reperfusion injury

Wei-Nan Li, Ci-Jun Peng, De-Jun Shu, Yong Mei, Xiong-Xiong Li, Wan-Tao Xie

Wei-Nan Li, Ci-Jun Peng, De-Jun Shu, Yong Mei, Xiong-Xiong Li, Wan-Tao Xie, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Supported by: Science and Technology Project of Guizhou Province, No. J-LKZ[2011]26
Correspondence to: Ci-Jun Peng, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. doctorpengcijun@163.com
Received: 2015-05-04 Revised: 2015-07-03
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-08

Abstract

Liver resection is widely used in the treatment of benign and malignancy tumors of the liver, intrahepatic bile duct stones, liver trauma and other diseases, and liver transplantation is the only effective way to treat end-stage liver disease. However, ischemia-reperfusion injury is one of the main restricting factors of liver resection and liver transplantation, and

effective control of intraoperative ischemia-reperfusion injury will help to reduce the effects of surgery on the liver function. In this paper, we review the recent advances in research of ischemia-reperfusion injury in terms of staging, pathogenesis, adverse effects and preventive measures.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver; Ischemia-reperfusion injury; Mechanism; Preventive measures

Li WN, Peng CJ, Shu DJ, Mei Y, Li XX, Xie WT. Progress in research of liver ischemia-reperfusion injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3554-3559 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3554.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3554>

摘要

肝部分切除是广泛运用于治疗肝脏良恶性肿瘤、肝内胆管结石、肝外伤等疾病, 肝移植是治疗终末期肝病的唯一有效方式, 但缺血再灌注损伤是肝切除术及肝移植的主要制约因素之一, 其病理生理过程复杂, 如何有效减轻术中缺血再灌注损伤将有助于降低手术对肝脏功能的影响。本文就缺血再灌注损伤分期、发生机制、对肝脏的不良影响及预防措施的相关研究作一综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝; 缺血再灌注损伤; 机制; 预防措施

核心提示: 缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)的病理生理过程复杂, 包含了肝脏缺血过程中的损伤及肝脏血流得到再灌注而产生

■同行评议者

李华, 教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心; 张明辉, 教授, 主任医师, 河北省唐山市人民医院感染性疾病科

的一系列损伤, 近年来IRI研究对发展肝脏疾病有重要的临床意义, 通过对其综述, 加深对其了解, 为临床工作提供参考意见。

李伟男, 彭慈军, 舒德军, 梅永, 李雄雄, 谢万桃. 肝脏缺血再灌注损伤的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3554-3559
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3554.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3554>

0 引言

肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI)是肝部分切除及肝移植的主要制约因素之一^[1], 是指肝脏组织缺血一段时间后血流重新恢复, 损伤却进一步加重的现象^[2]. 可分为热缺血和冷保存缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)^[3], 其中热缺血主要对肝实质细胞产生伤害^[4], 临床常见于肝脏外科手术及失血性休克, 冷IRI则发生于肝移植过程中^[5]. HIRI是导致肝部分切除和肝移植术后肝功能衰竭的主要原因, 减轻术中HIRI有助于降低手术对肝功能的影响^[6], 其病理生理过程复杂, 迄今尚认识不足. 本文就HIRI的研究进展综述如下.

1 HIRI与肝脏手术

肝脏外科是一个历史悠久的学科, 自1716年Berta实施了第一例肝脏切除手术以来, 至今已有300多年的历史. 我国肝脏外科是一个新型年轻的学科, 直到20世纪五六十年代才开始起步, 至今还不到50年时间, 但发展很快, 他的发展得益于外科解剖学的进步, 离不开基础外科的支持, 更需要新材料、新技术的应用, 带动肝脏外科突飞猛进发展. 尤其是在21世纪以来的今天, 在切除肝脏肿瘤、处理肝脏严重创伤及肝脏移植手术过程中, 通常需要阻断肝门而发生HIRI^[7], 因此, HIRI的研究是肝脏外科的研究热点之一^[8]. IRI不仅不能使组织、器官功能恢复, 反而加重组织、器官的功能障碍和结构损伤^[9]. IRI病理生理过程复杂, 是缺氧器官细胞损伤在恢复氧供后反而更加严重的现象^[10]. 且随着肝脏外科的迅猛发展, 肝脏切除的手术日益增多, 加上肝脏血供丰富, 术者为了获得清晰无血的视野, 术中常常需行肝门阻断以控制和减少出血, 故肝脏血流控制技术如Pringle止血法、全肝血流阻断法、Glisson蒂阻断法、控制性低中心静脉压技术等相继问世,

大大减少了手术出血和输血量, 减轻了对肝脏的损害, 减少并发症和降低死亡率, 也为HIRI的发展奠定了基石.

2 HIRI的分期

HIRI是肝脏外科手术中常见的病理过程, 多见于需要肝断流的肝脏外科手术^[11], 其过程按时间可分为缺血期和再灌注期, 亦可分为2期, 早期, 发生在肝脏再灌注2-4 h内, Kupffer细胞(KC)首先被激活^[12], 并以KC介导的氧化应激为特征. KC产生并释放活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)和炎性细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白介素(interleukin, IL)-1等; 晚期, 是指发生于再灌注后6 h或更长时间, 主要包括中性粒细胞的激活^[13], 此期肝脏内中性粒细胞聚集达到高潮, 引起长时间的蛋白酶的释放和氧化应激, 造成肝脏的损伤^[14]. 目前在HIRI的研究中, 再灌注损伤主要分为两个阶段: 第一个阶段是再灌注开始到6 h以内的急性损伤. 此阶段主要是由自由基和TNF- α 导致的肝脏实质细胞凋亡和坏死; 第二个阶段是从6-24 h内, 此阶段主要是由中性粒细胞造成的肝实质细胞的损伤.

3 HIRI的发生机制

HIRI的病理生理过程复杂, 其发生的机制既包含了肝脏缺血过程中的损伤, 更重要的是当肝脏血流得到再灌注而产生的一系列损伤^[15]. 实验研究表明, HIRI与以下机制相关.

3.1 代谢性酸中毒 肝脏发生缺血后, 会造成肝脏细胞的供氧不足和代谢终产物不能及时排出, 无氧糖酵解增加, 造成细胞间pH值降低和酸中毒, 导致肝细胞损伤^[16]. 同时ATP的生成减少将会造成细胞内钠增加, 导致细胞水肿, 影响膜的稳定性^[17].

3.2 氧自由基 正常生理条件下, 机体自身不断产生氧自由基, 又不断将其清除, 使氧自由基维持在一个动态平衡状态^[18]. 组织缺血缺氧时, 产生大量的氧自由基, 对细胞造成损伤^[19], 研究^[20]证实, 氧自由基在HIRI时发挥重要作用, 其损伤肝细胞的机制主要有: 氧化细胞膜, 改变细胞膜的流动性和通透性; 引起膜脂质过氧化损害, 从而加重肝脏损害^[21]; 直接作用于肝窦内皮细胞膜, 导致微循环障碍; 氧化核酸酶, 加快DNA双链断裂. 由此可见, 及时有效地清除肝组织内积存的氧自由基将可能成为HIRI

■ 研究前沿

HIRI是肝脏外科临床常见的病理生理过程, 可引起不可逆的肝功能衰竭, 针对其预防及治疗在临床上已取得一定的疗效, 重视多种机制的预防及多药物的联合运用在临床上可获得良好效果. 深入开展综合性研究, 探索能够防治疾病的最佳干预手段是目前研究的热点.

■ 相关报道

目前大量研究证明许多介质参与了IRI的病理生理过程, 核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)/I- κ B细胞内信号传导通路在肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)的发展中, 对一些促炎症因子基因的表达到起着重要的调节作用.

■ 创新盘点

本文对HIRI的分期、发病机制、不良影响、防治措施进行了系统性的阐述, 有一定的参考价值, 需要特别指出的HIRI是许多介质参与的病理生理过程, 应重视多种机制的预防及多药物的联合运用, 深入开展综合性研究, 促进肝外科的发展。

干预的有效途径^[22]。

3.3 中性粒细胞 肝脏缺血再灌注后中性粒细胞在各种炎性因子作用下被激活、上调, 激活的中性粒细胞可释放大量的氧自由基^[23]、ROS^[24], 分泌蛋白酶和细胞因子对肝细胞产生毒性作用, 最终导致大量的肝实质细胞丧失功能或者死亡^[25]。

3.4 钙超载 正常情况下, 细胞内钙浓度比细胞外低。细胞内Ca²⁺稳定的维持对于生命活动是至关重要的^[26]。HIRI时细胞内钙超载是HIRI主要的病理生理机制^[27]。其造成肝细胞损伤的机制有: 线粒体内Ca²⁺异常升高, 造成线粒体功能紊乱, 可干扰线粒体氧化磷酸化, 增加ATP消耗并抑制ATP合成; 细胞ATP不足使得Ca²⁺潴留于细胞内; 激活钙依赖性降解酶, 干扰细胞膜的流动性; 钙超载激活Ca²⁺依赖蛋白酶, 破坏细胞骨架结构, 导致细胞损伤, 同时钙超载促进氧自由基生成、激活肝脏KC, 最终加速肝脏损伤。

3.5 KC KC是肝血窦内的巨噬细胞, 约占体内的80%-90%, 肝脏缺血再灌注后KC被激活, 释放炎性介质, 促进白细胞、血小板与肝窦内皮细胞的黏附, 导致肝脏持续性缺血缺氧, 造成肝细胞损伤, 故KC激活及肝血窦内皮细胞的损伤是HIRI两个重要环节^[28-30]。

3.6 细胞因子 研究表明细胞因子可加重炎症反应、损伤细胞, 并且参与HIRI的整个病理生理过程, 主要包括TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、内皮素(endothelin, ET)及血小板激活因子(platelet activating factor, PAF)等, 其中TNF- α 和IL-1是引起HIRI的两个最重要细胞因子。

3.7 ET和一氧化氮 肝脏再灌注损伤与一氧化氮(NO)/ET平衡关系破坏有关, 调节其平衡关系可影响HIRI的程度^[31], 同时NO和ET是一对调节血管舒缩功能的血管活性物质, 其中ET是具有强力收缩血管的作用的一种肽类物质, 可引起肝脏微循环功能障碍; 而NO是由血管内皮细胞、巨噬细胞和中性粒细胞等多种细胞分泌的介质^[32], 他能引起具有调节血管张力、调节微循环、抑制血小板聚集, 抑制白细胞的黏附的作用^[33,34]。HIRI期间血浆NO水平持续下降, ET水平逐渐升高, 二者呈显著负相关, 且HIRI随时间的延长, 两者相关性增强^[35]。

3.8 微循环功能障碍 肝脏微循环功能障碍可加重肝脏的缺血缺氧症状, 引起肝窦内皮细胞肿胀、死亡及脱落^[36], 并迅速激活KC及中性粒细胞产生大量炎性介质、细胞因子及氧自由基, 使肝细胞发生不可逆的损伤和死亡。

3.9 细胞凋亡 细胞凋亡在HIRI中发挥着重要的作用^[37]。研究^[38]表明再灌注时50%-70%肝窦内皮细胞和40%-60%肝细胞出现凋亡, 肝细胞凋亡受P53、Fas、Myc、B细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma 2, *Bcl-2*)家族等的调控, 其最主要的途径是受体介导。目前已知参与肝细胞凋亡的主要有Fas受体、TNF1和TNF2、DR-4、TGF- β 受体等^[39]。故有效阻断肝脏细胞凋亡的信号传导通路, 可降低肝细胞损伤的数目, 维持或改善肝功能^[40]。

4 HIRI的不良影响

HIRI一般情况下比较安全, 但是偶尔也会发生不良反应。(1)HIRI后可引起肝功能低下或无功能, 这是术后最常见的并发症, 也是术后死亡的主要原因之一, 因此术后应进行严密的临床观察和肝功能指标监测, 可加用异甘草酸镁等保肝药, 或进一步探讨有效改善肝功能的方法;(2)HIRI可引起肠黏膜屏障功能障碍, 导致内毒素血症及肠道细菌移位, 可加重肝脏损伤, 直接导致肝功能衰竭。当前研究认为, 尽量缩短门静脉的阻断时间、应用谷氨酰胺肠道黏膜保护剂及某些中药等能不同程度减轻肠道及肝脏的损伤;(3)钳夹部位的缺血、坏死, 最终引起失血性休克、感染, 如腹膜炎、菌血症等。故术中需操作轻柔, 尽量避免不必要的损伤, 临床上需要严密观察, 预防性使用抗生素;(4)有关HIRI引起的不良反应如暂时性血流动力学紊乱、毒血症、发热、胸闷、腹痛等反应, 也需要进一步加强防范与治疗。

5 HIRI的预防与治疗措施

HIRI可使肝代谢解毒功能降低, 微循环阻力升高, 严重者可导致肝功能衰竭, 直接影响到疾病的预后、手术成功率和患者存活率^[41]。故如何预防与治疗是其手术成功的关键。然而到目前为止尚没有可以治疗HIRI的有效方法^[42], 肝脏再灌注之前给予药物^[43]或短暂缺血^[44,45]的预处理, 可不同程度减轻肝脏的损伤, 基于此, 临床上有以下几方面的对策。

5.1 缺血预处理 缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC): 预先反复短暂缺血可提高组织或器官对后续长期缺血的耐受性, 减轻缺血再灌注所造成的损伤, 这称为IPC^[46]. IPC作为一种简便易行的内源性保护方法受到广泛关注^[41], 因其临床实用价值高, 在肝脏外科领域得到了有效的应用, 可直接对其后的HIRI产生保护作用^[47], 可不同程度地减轻HIRI, 是处理各种严重肝脏疾病、降低肝移植失败率的重要措施. IPC效应已经在脑、小肠、骨骼肌和肝脏中均有证实^[48], 其保护效应可能与腺苷、腺苷A2受体、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、NO、TNF- α 、Bcl-XL、热休克蛋白(heat shock protein, HSP)、敏感性钾通道、蛋白激酶C、氧自由基、前列腺素等因素有关.

5.2 缺血后处理 缺血后处理(ischemic postconditioning, IPO)即在长时间缺血后, 再灌注的起始阶段, 立刻给予一次或多次短暂重复缺血-再灌注处理, 是近年来提出的一种有效减轻IRI的手段^[49]. 目前对IPO的抗IRI作用的研究尚处于初步阶段, 其常用的方法是间断肝门阻断(intermittent portal triad clamping, IC)即术中每隔15-30 min缺血后进行5 min的灌注. 研究证实, 在>75 min的手术中IC对肝脏的保护作用要强于IPC, 尤其对于有肝硬化等病变的患者效果更为明显^[50]. 同时IPO证实通过炎性细胞因子TNF、IL-1 β 的释放, 清除氧自由基, 减轻脂质过氧化程度, 抑制促凋亡基因Fas的表达, 进而减轻细胞凋亡, 发挥保护作用^[49].

5.3 药物预处理 药物预处理是指利用某些活性物质直接或间接的药理作用来达到类似IPC的保护作用, 增强组织或细胞对IRI的耐受性, 从而减轻损伤^[51]. 由于药物预处理安全可靠、方便快捷有效, 已受到医师广泛关注并在临床上普遍运用. 目前临床上针对HIRI药物预处理主要原则有: (1)钙通道阻滞剂, 如维拉帕米; (2)氧自由基清除剂, 如褪黑素; (3)蛋白酶抑制剂, 如乌司他丁; (4)保护生物膜, 改善微循环及细胞能量代谢的药物, 分别包括NO和CO; (5)减轻炎症反应的药物, 如血小板激活因子拮抗剂; (6)中草药制剂的运用, 如丹参、参附、银杏叶提取物、大黄素.

5.4 基因治疗 相对于传统疾病的治疗方式, 基因治疗还处于探索起步阶段, 但已经取得了很

多令人瞩目的成果, 其具有极强的作用特异性, 是一种崭新的治疗理念. 这种理念是将外源基因通过各种特殊处理的载体导入到机体细胞内, 从而发挥目的基因的治疗效果. 随着对HIRI的进一步深入研究, 基因治疗越来越受到人们的重视, 在基因治疗HIRI的过程中, 实验经常使用到转基因治疗和基因敲除技术. 利用该项技术, 可有效清除有害基因, 不同程度减轻炎症反应, 限制排斥反应的发生, 抑制肝窦内皮细胞活化, 最终减轻HIRI. 目前治疗HIRI的基因策略有: (1)直接或者间接地抑制肝细胞凋亡; (2)激活机体的免疫系统杀伤细胞因子; (3)抑制肝组织氧自由基的生成. 研究证实Bcl-2基因是一种抗凋亡基因, 其产生的Bcl-2蛋白可抑制多种细胞因子所诱导产生的细胞凋亡, 使细胞寿命延长, 数量增多. 在HIRI过程中, 肝细胞凋亡和坏死是不可避免的, 因此, 可考虑将抗凋亡基因Bcl-2植入到特定的肝细胞中, 还可通过腺病毒转入抗氧自由基基因超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1), 从根本上抑制细胞凋亡, 进而减轻HIRI并降低相应并发症的发生. Oshiro等^[52]研究结果证实, 大鼠HIRI后通过转基因Bcl-2可明显改善肝功能、保护肝窦内皮细胞与肝实质细胞. 因此基因治疗也为HIRI后肝脏保护的注入了新鲜血液, 显示出了广阔的临床应用前景, 必将推动肝脏外科的发展.

6 结论

HIRI是一个发展迅速的新型学科, 对研究发展肝脏疾病有重要的临床意义. HIRI是肝脏外科临床常见的病理生理过程, 可引起不可逆的肝功能衰竭, 患者预后极差^[53], 针对其预防及治疗在临床上已取得一定的疗效, 重视多种机制的预防及多药物的联合运用在临床上可获得良好效果. 深入开展综合性研究, 探索能够防治疾病的最佳干预手段, 必将为肝脏外科手术提供安全保障, 促进肝脏外科手术的发展^[54]. 同时, 延长人类寿命, 解决患者痛苦, 提高患者生活质量, 是我们每一个临床医师的应尽的职责与义务.

7 参考文献

- 刘正, 刘锡玖, 宋建国. 肝脏缺血再灌注损伤及其防治. 皖南医学院学报 2004; 23: 148-150

应用要点

本文系统地介绍了HIRI的机制及防治措施, 对肝脏外科的发展有着重要的意义, 但是仍无确切性的治疗措施, 仍需进一步研究.

■名词解释

肝脏冷缺血再灌注损伤: 常发生于冷灌注期间及移植肝脏的储存期间过程中缺氧缺血可以引起肝组织损伤, 造成肝脏微循环紊乱; 再灌注后, Kupffer细胞被激活, 释放大量氧自由基、一氧化氮及其他炎症因子入血, 导致白细胞聚集、黏附、渗出, 进一步加剧了肝脏的损伤现象。

- 2 Qian Y, Liu Z, Geng X. Lack of protection of ischaemic preconditioning in the rat model of major hepatectomy with ischaemia reperfusion injury. *Asian J Surg* 2008; 31: 140-147 [PMID: 18658013 DOI: 10.1016/S1015-9584(08)60075-5]
- 3 刘永平, 刘景诗. 肝脏缺血再灌注损伤机制的研究进展. *医学临床研究* 2008; 25: 1904-1907
- 4 彭承宏, 陈皓. 肝脏手术中肝血流阻断与肝脏缺血-再灌注损伤. *中国实用外科杂志* 2007; 27: 53-57
- 5 宋建生, 夏先明. 肝脏缺血再灌注损伤机制的研究进展. *泸州医学院学报* 2013; 36: 409-412
- 6 Liu A, Fang H, Dahmen U, Dirsch O. Chronic lithium treatment protects against liver ischemia/reperfusion injury in rats. *Liver Transpl* 2013; 19: 762-772 [PMID: 23696274 DOI: 10.1002/lt.23666]
- 7 李斌, 钱海鑫. 肝脏缺血再灌注损伤保护机制的研究进展. *中国现代医生* 2011; 49: 28-31
- 8 Donckier V, Loi P, Closset J, Nagy N, Quertinmont E, Le Moine O, Devière J, Goldman M, Gelin M, Gianello P. Preconditioning of donors with interleukin-10 reduces hepatic ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in pigs. *Transplantation* 2003; 75: 902-904 [PMID: 12660523 DOI: 10.1097/01.TP.0000056633.50445.AC]
- 9 崔巍, 熊奇如. 预防肝脏缺血再灌注损伤的研究现状. *中国实用外科杂志* 2005; 25: 638-640
- 10 千年松, 帝振宇, 陶开山. 肝脏缺血再灌注损伤的发生机制研究进展. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 1589-1591
- 11 马菁璠, 赵英鹏, 李晓延. 促红细胞生成素与肝缺血再灌注损伤. *吉林医学* 2013; 34: 1146-1147
- 12 Wanner GA, Ertel W, Müller P, Höfer Y, Leiderer R, Menger MD, Messmer K. Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation. *Shock* 1996; 5: 34-40 [PMID: 8821101 DOI: 10.1097/00024382-199601000-00008]
- 13 Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J* 1990; 4: 3355-3359 [PMID: 2253850]
- 14 Rentsch M, Post S, Palma P, Lang G, Menger MD, Messmer K. Anti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia and reperfusion, but does not improve early graft function in rat liver transplantation. *J Hepatol* 2000; 32: 821-828 [PMID: 10845670 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80252-4]
- 15 刘国岩, 英卫东, 许戈良, 马金良, 葛勇胜, 李建生, 余继海. 肝脏缺血再灌注损伤的机制及防治进展. *国际外科学杂志* 2013; 40: 50-53
- 16 Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676 [PMID: 3282347 DOI: 10.1097/00007890-198804000-00001]
- 17 张荣传, 罗地来. 肝脏缺血再灌注损伤机制与相关细胞因子研究进展. *实用临床医学* 2007; 8: 130-131
- 18 王冰, 汪根树, 陈规划. 肝脏缺血再灌注损伤的发生机制研究进展. *器官移植* 2010; 1: 317-320
- 19 李小刚, 吕新生. 肝脏缺血再灌注损伤的保护机制. *中国现代医学杂志* 2000; 10: 31-32
- 20 Brass CA, Roberts TG. Hepatic free radical production after cold storage: Kupffer cell-dependent and -independent mechanisms in rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 1167-1175 [PMID: 7698585 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90216-3]
- 21 Shimono H, Goromaru T, Kadota Y, Tsurumaru T, Kanmura Y. Propofol displays no protective effect against hypoxia/reoxygenation injury in rat liver slices. *Anesth Analg* 2003; 97: 442-448, table of contents [PMID: 12873932 DOI: 10.1213/01.ANE.0000067407.25527.B7]
- 22 麻勇, 姜洪池. 肝脏缺血再灌注损伤的实验研究现状与展望. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 1880-1882
- 23 Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M, Oshima A, Shito M, Kawachi S, Karahashi T, Kumamoto Y, Yoshida M, Kitajima M. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 1997; 64: 1398-1403 [PMID: 9392301 DOI: 10.1097/00007890-199711270-00004]
- 24 Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: G15-G26 [PMID: 12488232 DOI: 10.1152/ajpgi.00342.2002]
- 25 Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32: 169-173 [PMID: 10915720 DOI: 10.1053/jhep.2000.9323]
- 26 岳媛媛, 冯志杰. 肝脏缺血再灌注损伤与钙超载. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3654-3658
- 27 Papadimitriou JC, Phelps PC, Shin ML, Smith MW, Trump BF. Effects of Ca²⁺ deregulation on mitochondrial membrane potential and cell viability in nucleated cells following lytic complement attack. *Cell Calcium* 1994; 15: 217-227 [PMID: 8194101 DOI: 10.1016/0143-4160(94)90061-2]
- 28 Clavien PA. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology* 1998; 28: 281-285 [PMID: 9695988 DOI: 10.1002/hep.510280201]
- 29 Gao W, Bentley RC, Madden JF, Clavien PA. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. *Hepatology* 1998; 27: 1652-1660 [PMID: 9620339 DOI: 10.1002/hep.510270626]
- 30 Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Free Radic Res Commun* 1991; 15: 277-284 [PMID: 1666625 DOI: 10.3109/10715769109105223]
- 31 吕平, 陈道达, 田源, 张景辉, 吴毅华. 肝脏缺血再灌注损伤与一氧化氮和内皮素平衡关系的研究. *中华实验外科杂志* 2000; 17: 161-162
- 32 张强, 张瑞明, 李德平. 肝脏缺血再灌注损伤机制研究进展. *内蒙古医学杂志* 2007; 39: 831-834
- 33 吕国庆, 刘秉义, 丁田贵, 张英. 缺血预处理对肝脏缺血再灌注损伤中MPO、TNF- α 、ET、NO的影响. *中华肝胆外科杂志* 2001; 7: 231-233
- 34 Li SQ, Liang LJ. Protective mechanism of L-arginine against liver ischemic-reperfusion injury in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 549-552 [PMID: 14627517]
- 35 王万铁, 林丽娜, 谢克俭, 陈锡文. 异丙酚对兔肝缺血/再灌注损伤中一氧化氮和内皮素的干预. *中国急救医学* 2004; 24: 4-6
- 36 梁浩晖, 王成友, 倪勇. 肝脏缺血再灌注损伤发生机制的研究进展. *肝胆外科杂志* 2002; 10: 478-479
- 37 李冲, 赵海芳. 抗凋亡策略在肝脏缺血再灌注损伤中的研究进展. *医学研究杂志* 2014; 43: 183-185
- 38 蔡利芬, 杨俊山. 肝脏缺血一再灌注损伤的治疗进展.

- 山东医药 2009; 49: 113-114
- 39 庞利群, 房平承, 刘大彪. 重组腺病毒Ad.VSG-hBCL-2对大鼠移植肝缺血/再灌注损伤的保护作用. 徐州医学院学报 2008; 28: 493-496
 - 40 王建珍, 杨贺, 陈琳. 丙泊酚联合瑞芬太尼对肝硬化大鼠肝脏缺血一再灌注损伤的影响. 临床麻醉学杂志 2014; 30: 709-712
 - 41 张敏, 全晖. 缺血预处理对肝脏缺血再灌注损伤的保护机制探讨. 河南职工医学院学报 2008; 20: 321-324
 - 42 孔瑞, 孙备, 潘尚哈, 王刚, 陈华, 王双佳, 陈平, 姜洪池. 缺血预处理联合丹酚酸B对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 951-953
 - 43 Nordström G, Seeman T, Hasselgren PO. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery* 1985; 97: 679-684 [PMID: 4002116]
 - 44 Lloris-Carsí JM, Cejalvo D, Toledo-Pereyra LH, Calvo MA, Suzuki S. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. *Transplant Proc* 1993; 25: 3303-3304 [PMID: 8266552]
 - 45 刘秀华, 庞永政, 陈魁, 苏静怡, 唐朝枢. 预处理对大鼠肝缺血再灌注损伤的影响. 北京医科大学学报 1996; 28: 208-210
 - 46 Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136 [PMID: 3769170 DOI: 10.1161/01.CIR.74.5.1124]
 - 47 Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999; 30: 1223-1231 [PMID: 10534344 DOI: 10.1002/hep.510300513]
 - 48 冷建军, 韩本立, 董家鸿. 肝脏缺血再灌注损伤机制和缺血预处理保护作用. 消化外科杂志 2005; 4: 142-148
 - 49 罗进, 张劲. 肝脏缺血再灌注损伤机制及其防治. 现代医药卫生 2013; 29: 548-550
 - 50 孙备, 秦嵩, 许军, 姜洪池. 肝脏缺血再灌注损伤与药物预处理的研究进展. 哈尔滨医科大学学报 2003; 37: 85-87
 - 51 陈李玉, 于恒超, 韩骅. 肝脏缺血再灌注损伤研究进展. 中国健康月刊 2011; 30: 271-273
 - 52 Oshiro T, Shiraishi M, Muto Y. Adenovirus mediated gene transfer of antiapoptotic protein in hepatic ischemia-reperfusion injury: the paradoxical effect of Bcl-2 expression in the reperfused liver. *J Surg Res* 2002; 103: 30-36 [PMID: 11855914 DOI: 10.1006/jsre.2001.6313]
 - 53 华晨, 傅永清, 傅天啸, 周剑, 兰菲, 任大为. 四君子汤联合缺血预处理对大鼠肝脏缺血再灌注损伤保护作用的研究. 浙江实用医学 2014; 19: 83-86
 - 54 卜月, 席宏杰. 血红素加氧酶-1在肝脏缺血再灌注损伤研究中新进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2014; 23: 1121-1123

■同行评价

本文全面的介绍了IRI的机制、分期及预防治疗措施, 参考文献较全面, 有一定的参考意义, 对大家有所裨益。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



肝硬化合并细菌感染易感性机制的研究进展

李莹, 韩涛

■背景资料

肝硬化特别是终末期肝硬化患者对感染极为易感, 是普通人群的4-5倍, 将近25%-30%的肝硬化患者在入院或住院期间存在感染。而感染是导致肝硬化患者出现各种并发症及器官衰竭、甚至死亡的常见原因, 病死率极高。

李莹, 韩涛, 天津市第三中心医院消化肝病科 天津市人工细胞重点实验室 天津市 300170

李莹, 主治医师, 主要从事肝脏疾病的研究。

十二五科技重大专项基金资助项目, No.

2012ZX10002004-011

作者贡献分布: 本文综述由李莹完成; 韩涛审核。

通讯作者: 韩涛, 教授, 主任医师, 300170, 天津市河东区大桥道78号, 天津市第三中心医院消化肝病科, 天津市人工细胞重点实验室。hantaomd@126.com

电话: 022-84112298

收稿日期: 2015-05-14 修回日期: 2015-06-23

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Mechanisms of susceptibility to bacterial infections in cirrhotic patients

Ying Li, Tao Han

Ying Li, Tao Han, Department of Hepatology and Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin City; Tianjin Key Laboratory of Artificial Cell, Tianjin 300170, China

Supported by: the National 12th 5-year Plan for Hepatitis Research, No. 2012ZX10002004-011

Correspondence to: Tao Han, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology and Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin City; Tianjin Key Laboratory of Artificial Cell, 78 Daqiao Street, Hedong District, Tianjin 300170, China. hantaomd@126.com

Received: 2015-05-14 Revised: 2015-06-23

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

Bacterial infections are very common in cirrhotic patients, and the incidence is 4-5 times higher than that in the general population. The mechanisms of susceptibility to bacterial infections in cirrhotic patients include intestinal bacterial overgrowth, bacterial translocation, increased number of potentially pathogenic bacteria accompanied by reduced number

of beneficial bacteria; small bowel motility disturbances and delayed gut transit, increased intestinal permeability; genetic predisposition to bacterial infections; immunodeficiency accompanied by persistent activation of the immune cells with production of pro-inflammatory cytokines. In this paper, we will discuss the mechanisms of susceptibility to bacterial infections in cirrhotic patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Bacterial infections; Translocation; Immune dysfunction

Li Y, Han T. Mechanisms of susceptibility to bacterial infections in cirrhotic patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3560-3566 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3560.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3560>

摘要

肝硬化患者合并细菌感染的风险是普通人群的4-5倍, 对细菌感染易感性的机制主要是由于肝硬化患者肠道微生物群特点即肠道细菌过度生长、细菌异位、致病菌比例增加、有益菌比例降低, 肠道功能障碍即肠道运动转运功能障碍、肠道渗透性增加, 基因易感性, 和免疫功能紊乱等。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 感染; 细菌异位; 免疫紊乱

核心提示: 肝硬化对细菌感染易感性主要是由于肝硬化肠道微生物群特点(质与量的改变)、肠道功能障碍(肠道转运功能障碍及渗透性增

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科; 陈茂伟, 教授, 广西医科大学第一附属医院质量管理办公室

加)、基因易感性和免疫功能紊乱。

李莹, 韩涛. 肝硬化合并细菌感染易感性机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3560–3566 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3560.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3560>

0 引言

细菌感染、消化道出血、肝性脑病和肝肾综合征是肝硬化患者的四大常见, 其中合并细菌感染最为常见, 是代偿期肝硬化患者进展至失代偿期、出现肝功能衰竭、肝外脏器衰竭、甚至死亡的常见原因, 也是导致肝硬化患者无法正常接受肝移植治疗及移植后失败的常见原因^[1,2]. 将近25%-30%的肝硬化患者在入院或住院期间存在感染^[1], 是普通人群的4-5倍, 肝硬化患者一旦合并感染病死率将升高近4倍^[1,3], 因此正确理解肝硬化患者合并细菌感染的易感性机制, 及时防治细菌感染对肝硬化的救治非常关键. 目前肝硬化患者合并细菌感染易感性的主要机制有于肝硬化患者肠道微生物群特点、肠道功能障碍、宿主基因易感性和免疫功能紊乱等方面, 现就这一专题进行综述.

1 肝硬化患者肠道微生物特点

宿主与肠道微生物之间精确平衡被打乱则导致疾病发生^[4,5]. 微生物改变包括量的改变(肠道细菌过度生长)和质的改变(微生物种群失调). 肝硬化患者常出现肠道细菌过度生长, 特别是小肠^[6]. 导致肠道微生物过度生长的原因包括胃酸分泌改变、肠道动力降低、胆汁流量降低、IgA分泌改变、抗微生物分子缺乏和门脉高压^[7,8]. 研究显示给小鼠喂食3 wk乙醇, 抗微生物分子Reg3b和Reg3g明显降低^[8], 致对肠杆菌属抗菌活性降低. 胆汁酸可通过直接抑制和间接调节宿主细胞抗菌肽基因表达而抑制细菌增殖^[9]. 肝硬化患者机体存在一系列胆汁酸改变, 总粪胆酸减少可导致肠道菌群过度生长^[10]. 肝硬化患者最突出微生物种群改变为潜在致病菌增加、有益菌比例降低, 不同病因肝硬化有着相似粪便菌群分布^[11-13]. 终末期肝硬化机体特征如胆汁流量降低等均影响肠道微生物种群的构成.

肝硬化患者合并肠道微生物过度生长易发生自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP), 肠道微生物数量改

变起到关键性作用. 实验显示单纯肠道微生物过度生长即可导致细菌易位和肝脏炎症, 如应用抗生素减轻肠道细菌负荷, 可改善肝脏疾病状况, 且临床应用中可降低终末期肝硬化患者肝病严重程度、减少内毒素血症和感染并发症发生^[14]. 肠道菌群亦参与肝硬化肝性脑病的发生^[15], 合并轻微肝性脑病的肝硬化患者较未合并者更易存在肠道细菌过度生长, 特别是致病性大肠杆菌和葡萄球菌的过度生长^[16]. 应用肠道不吸收的抗生素如利福昔明对肠道进行去污染对于亚临床和显性肝性脑病是有效的治疗手段^[17]. 近期的一项Meta分析显示应用益生菌、益生元和牛初乳可以影响肠道菌群, 显著改善肝性脑病^[18].

肝硬化腹水小鼠合并细菌易位使得潘氏细胞产生防御素和Reg3分子水平降低, 从而导致对肠杆菌属的抗菌活性降低^[7]. 肝硬化患者发生细菌易位可导致炎症、血液动力学紊乱^[19]和严重感染, 病死率接近40%^[3]. 细菌易位产物导致非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和酒精性肝病的进展. 终末期肝病患者肠道细菌迁移至腹腔和循环可导致SBP和菌血症, 易位的活菌及微生物产物导致临床并发症的发生, 细菌易位是肝硬化患者病死率的主要决定因素.

2 肝硬化患者肠道功能障碍

肝硬化患者肠道动力紊乱, 特别是门脉高压患者存在异常的肠道压力波传播模式, 表现为大量长串和高频波逆向传播, 肝移植后小肠测压异常得到改善^[20]. 肝硬化患者小肠转运时间延长^[21,22], 约35%患者存在小肠滞留时间延长, 与腹泻、腹痛增加密切相关, 给予服用西沙比利加速结肠转运, 可去除80%患者肠道细菌过度生长, 因此小肠转运延迟可致肠道细菌过度生长, 进一步导致腹泻、腹痛、细菌易位及感染并发症(如SBP)^[20].

肝硬化患者肠道渗透性增加, 疾病终末期、并发脓毒血症、合并腹水、存在SBP病史、合并细菌感染的肝硬化患者肠道渗透性显著增加. 细菌感染特别是SBP与肠道渗透性增加密切相关^[3], 细菌反复从肠腔进入肠系膜淋巴结(细菌易位), 进而进入腹水导致SBP. 入院时肠道渗透性增加可以作为肝硬化患者细菌感染的预测因子, 与肝硬化并发症密切相关^[23].

■ 研究前沿

正确理解肝硬化患者合并细菌感染的易感性机制, 对开发肝硬化患者感染早期诊断新方法、制定规范化细菌感染预防及治疗策略非常关键.

■ 相关报道

Jalan等对肝硬化合并细菌感染的早期诊断、预防和治疗提出了规范化指南。

此外肠道对细菌产物的渗透, 如内毒素、细菌DNA等可以导致免疫系统激活、循环状态紊乱并诱发肾功能衰竭及肝性脑病^[18]。肝硬化患者肝脏对内毒素清除减少和/或肠道细胞因子产生增加, 内毒素致敏的巨噬细胞释放一氧化氮和促炎因子, 进一步破坏肠道屏障功能^[24], 导致免疫和血流动力学紊乱、心功能障碍^[25]及肝脏疾病进展^[26]。肝病患者摄入酒精可导致肠道渗透性增加和内毒素血症, 且先于脂肪性肝炎发生^[27], 通过刺激肝纤维化导致肝脏损伤, 进一步提示肠道渗透性增加在慢性肝损伤中发挥了重要作用。

肝硬化患者肠道屏障功能障碍发病机制复杂^[20]。(1)酒精及其代谢产物通过一氧化氮介导的氧化应激、产生反应氧、细胞骨架改变及对细胞直接损伤导致紧密连接异常^[28];(2)门脉高压可影响肠道屏障完整性, 引起肠壁水肿、细胞间隙扩大、肠道渗透性增加, 应用非选择性 β 受体阻滞剂可降低肠道渗透性、减少细菌易位^[29];(3)肠道细菌改变特别是小肠细菌过度生长影响肠道屏障功能、增加肠道渗透性。潘氏细胞防御功能受损, 黏膜对入侵细菌的杀伤能力降低^[8]易出现细菌易位^[29];(4)肝硬化特别是失代偿期, 肠上皮细胞紧密连接蛋白表达改变^[30], 与血内毒素水平相关^[7], 成孔蛋白-封闭蛋白2增加^[24], 紧密连接蛋白-闭合蛋白和封闭蛋白-1表达显著降低^[31];(5)针对入侵细菌宿主胞吞作用受损。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是紧密连接和胞吞作用关键调节因子, 终末期肝硬化肠道淋巴组织中TNF- α ^[32];(6)分泌介质可限制细菌与上皮表面直接接触, 肝硬化此分泌功能缺乏, 包括IgA、胆汁脂质和抗微生物肽^[7]。

3 肝硬化患者细菌感染的基因易感性

细胞外的细菌通过膜结合Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)和细胞内Nod受体(Nod-like receptors, NLR)(包括NOD2和NLRP3)被宿主识别, 进一步激活核因子NF- κ B和释放抗微生物肽。Nischalke等^[33]研究显示TLR2基因多态性与SBP特别是革兰氏阳性菌导致的SBP相关。TLR2基因内含子2串联GT重复序列数量增加的患者具有SBP高风险性, 纯合子TLR2启动子序列突变[-16934A>T(rs4696480)]亦与SBP高风险相关。研究亦发现发生TLR2

Arg753Gln(rs5743708)变异的患者SBP风险增加, 亦与其他感染性疾病相关, 包括心内膜炎、泌尿系感染、儿童复发性细菌感染、ICU危重患者入院已存感染和肝移植后革兰氏阳性菌感染复发^[34]。携带TLR2 Arg753Gln变异的SBP患者培养均为阴性, 且腹水蛋白浓度较高, 中位生存期低于GG基因型患者^[34]。一项回顾性研究阐述了TLR4多态性与肝硬化患者感染率增加及强烈刺激细胞因子表达的相关性^[35]。NOD2对革兰氏阴性菌细胞壁组成成分胞壁酰二肽敏感, 已证实NOD2、NLRP3和TLR4基因变异可增加脓毒血症患者的病死率。肝硬化携带NOD2变异的患者, 发生SBP和死亡风险更高、发生静脉曲张出血和原发性肝癌频率更高^[36,37]。多变量分析显示如NOD和TLR2基因变异同时存在则发生SBP风险极高, 同时可以作为肠道屏障功能异常和细菌易位的替代标志。亦有研究显示单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein, MCP)1的-2518位AA基因型是肝硬化患者SBP的高危因素, 合并SBP患者血清和腹水中MCP-1蛋白水平要高于未合并者, 且治疗后MCP-1蛋白水平下降。MCP-1蛋白亦与无症状菌尿相关^[38]。

4 肝硬化患者免疫状态紊乱

肝硬化相关免疫紊乱(cirrhosis associated immune dysfunction, CAID)包括免疫缺陷状态和免疫系统持续激活炎症状态^[39]。

4.1 肝硬化相关免疫缺陷 免疫监控功能受损。肝窦纤维化、肝窦毛细血管化、间隔纤维化、门脉系统分流和Kuffer细胞缺失或受损共同导致免疫监控功能受损, 对血液中内毒素和细菌清除能力降低, 导致菌血症、组织器官感染和对免疫系统持续刺激。实验中Kuffer细胞或其补体受体缺乏将导致难以控制的菌血症及宿主死亡, 临床肝硬化患者网状内皮组织功能降低与细菌感染高风险性和低生存率密切相关^[40]。

肝硬化患者先天免疫蛋白和识别受体合成减少, 导致吞噬细胞杀菌能力降低。腹水可增加肝硬化患者细菌感染风险, 患者血清、腹水中补体C3、C4和CH50浓度降低导致免疫调节素活性下降。肝硬化患者基因多态性致甘露糖结合凝集素识别分子和转运受体血清水平降低, 导致细菌感染风险增加^[41]。

循环免疫细胞受损: (1)中性粒细胞数量减少、吞噬功能受损、过氧化物阴离子 O_2^- 产生缺乏、过氧化物酶活性降低、对肽聚糖识别蛋白反应性降低致其杀菌能力受损, 微血管内皮黏附能力和游出能力降低致其对感染部位的趋化能力受损^[42]; (2)循环中单核细胞数量、分布和功能均发生改变, 促炎 $CD14^+CD16^+$ 亚组单核细胞增多, 存在嗜菌能力有限的单核细胞扩增^[43]. 循环中单核细胞 $Fc\gamma$ 受体功能障碍, 此为清除IgG包被细菌所必须^[44]; (3)B细胞外周血绝对计数减少、记忆性B细胞功能障碍、 $CD27^+$ 记忆性B细胞缺乏, 导致对 $CD40/TLR9$ 应答不足、对共刺激标志物上调功能受损、 $TNF\beta$ 和IgG生成受损及T细胞异种刺激受损^[45]; (4)T细胞池受损, T淋巴细胞减少并影响辅助T细胞(T helper cells, Th)和细胞毒T细胞(cytotoxic T cells, Tc)、天然T细胞损耗、T细胞池回缩、循环中T淋巴细胞体内激活增殖减少^[46,47]; (5)循环和肝脏中NK细胞受损, 对细胞因子刺激反应性较差^[48].

肠道淋巴组织损伤. 肠道渗透性增加、肠道细菌过度生长使得肠道淋巴组织始终处于细菌易位和细菌产物增加的微环境, 持续刺激致肠道和肠系膜淋巴结内活化的单核细胞、树突状细胞和T淋巴细胞增多^[32,49], 引起固有层、黏膜上皮和肠系膜淋巴结促炎/抗炎因子扩增表达、肠道树突状细胞吞噬作用增强^[32,49], 导致全身性炎症^[32,50]及肠道屏障功能衰竭.

4.2 免疫系统持续激活炎症状态 肝硬化循环免疫细胞活化表现: (1)中性粒细胞: 呼吸爆发增加和 $CD11b$ 表达增加^[51]; (2)单核细胞: 表面人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)-DR、活化/共刺激分子 $CD80$ 和 $CD86$ 表达增加、通路上调并增加促炎因子的产生, 如 $[TNF-\alpha$ 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)]^[32,50,52]; (3)T淋巴细胞: T细胞表面活化抗原表达增加, 进一步增加 $TNF-\alpha$ 、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、IL-17的生成^[32,50,53]; (4)B淋巴细胞: 活化/共刺激标志物、HLA-DR和 $CD86$ 的上调、对细胞因子反应性增加和高球蛋白血症^[54]. 活化的循环免疫细胞成为促炎因子如 $TNF-\alpha$ 、 $TNF-\alpha$ 受体 I 和 II、IL-1 β 、IL-6、IFN γ 、IL-17、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)和血管细胞黏附

分子(vascular cell adhesion molecule, VCAM)-1血清浓度增加的主要原因, 其中单核细胞是循环 $TNF-\alpha$ 的主要来源, 血清 $TNF-\alpha$ 水平与单核细胞产生 $TNF-\alpha$ 能力成正相关^[50]. 这种全身性炎症的严重程度与肝硬化程度相平行, 特别是肝硬化合并腹水患者^[32,50,55], 可应用Child-Pugh评分进行评估^[56,57].

全身性炎症病理机制. 终末期肝硬化患者免疫应答所致全身性炎症起始于肠道细菌进入机体内环境. 来自肠道细菌的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)和/或损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)可识别先天免疫细胞表达的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 活菌和肝-内脏循环中的PAMPs(包括LPS、脂肽、含糖聚合物、鞭毛蛋白和细菌DNA)均可导致全身性炎症反应^[55,58], 肠道淋巴组织和肠系膜淋巴结中已活化的免疫细胞进入外周血并传播全身性炎症^[32,59]. PRRs触发基因转录、表达并合成一系列广谱分子, 包括多种促炎、抗炎细胞因子、趋化因子、细胞黏附分子和免疫受体, 驱动获得性免疫. 此外PRRs介导免疫细胞活化还包括加强吞噬细胞活性^[51]、损伤血管内皮^[50,57,60]、肝脏合成急性期蛋白^[50,57,61]、趋化白细胞到炎症部位, 肝硬化合并腹水患者先天性免疫系统细胞PRRs表达(主要是TLRs和NLRs)上调^[51,62].

5 结论

肝硬化患者肠道微生物种群量和质的改变、肠道功能异常、基因易感性和肝硬化相关的免疫紊乱共同导致肝硬化患者对感染的易感性, 通过对感染易感性的深入剖析可帮助临床医生从各易感环节入手, 对肝硬化患者感染采取积极有效的预防措施, 有效降低患者病死率.

6 参考文献

- Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, Stadlbauer V, Gustot T, Bernardi M, Canton R, Albillos A, Lammert F, Wilmer A, Mookerjee R, Vila J, Garcia-Martinez R, Wendon J, Such J, Cordoba J, Sanyal A, Garcia-Tsao G, Arroyo V, Burroughs A, Ginès P. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol* 2014; 60: 1310-1324 [PMID: 24530646 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.01.024]
- Bajaj JS, O'Leary JG, Wong F, Reddy KR, Kamath

■ 创新盘点

本文详细剖析、综述了肝硬化细菌感染易感性机制. 从肝硬化肠道微生物群特点、肠道功能障碍、基因易感性和免疫功能紊乱几方面进行详细阐述, 深刻地揭示了肝硬化患者易感机制.

■应用要点

通过对易感性机制的剖析, 有助于研发肝硬化细菌感染早期诊断方法及制定有效防治策略。

- 3 Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M, Burroughs AK. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology* 2010; 139: 1246-1256, 1256.e1-e5 [PMID: 20558165 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.019]
- 4 Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012; 336: 1268-1273 [PMID: 22674334 DOI: 10.1126/science.1223490]
- 5 Littman DR, Pamer EG. Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses. *Cell Host Microbe* 2011; 10: 311-323 [PMID: 22018232 DOI: 10.1016/j.chom.2011.10.004]
- 6 Pande C, Kumar A, Sarin SK. Small-intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis is related to the severity of liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1273-1281 [PMID: 19302262 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.03994.x]
- 7 Teltschik Z, Wiest R, Beisner J, Nuding S, Hofmann C, Schoelmerich J, Bevens CL, Stange EF, Wehkamp J. Intestinal bacterial translocation in rats with cirrhosis is related to compromised Paneth cell antimicrobial host defense. *Hepatology* 2012; 55: 1154-1163 [PMID: 22095436 DOI: 10.1002/hep.24789]
- 8 Yan AW, Fouts DE, Brandl J, Stärkel P, Torralba M, Schott E, Tsukamoto H, Nelson KE, Brenner DA, Schnabl B. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 96-105 [PMID: 21254165 DOI: 10.1002/hep.24018]
- 9 Kakiyama G, Pandak WM, Gillevet PM, Hylemon PB, Heuman DM, Daita K, Takei H, Muto A, Nittono H, Ridlon JM, White MB, Noble NA, Monteith P, Fuchs M, Thacker LR, Sikaroodi M, Bajaj JS. Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 949-955 [PMID: 23333527 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.003]
- 10 Lorenzo-Zúñiga V, Bartolí R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V, Gassull MA. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 37: 551-557 [PMID: 12601352]
- 11 Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012]
- 12 Wu ZW, Lu HF, Wu J, Zuo J, Chen P, Sheng JF, Zheng SS, Li LJ. Assessment of the fecal lactobacilli population in patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis and hepatitis B cirrhosis treated with liver transplant. *Microb Ecol* 2012; 63: 929-937 [PMID: 21965156 DOI: 10.1007/s00248-011-9945-1]
- 13 Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology* 2014; 146: 1513-1524 [PMID: 24440671 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.020]
- 14 Kalambokis GN, Tsianos EV. Rifaximin reduces endotoxemia and improves liver function and disease severity in patients with decompensated cirrhosis. *Hepatology* 2012; 55: 655-656 [PMID: 22030839 DOI: 10.1002/hep.24751]
- 15 Tranah TH, Vijay GK, Ryan JM, Shawcross DL. Systemic inflammation and ammonia in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2013; 28: 1-5 [PMID: 23224356 DOI: 10.1007/s11011-012-9370-2]
- 16 Gupta A, Dhiman RK, Kumari S, Rana S, Agarwal R, Duseja A, Chawla Y. Role of small intestinal bacterial overgrowth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2010; 53: 849-855 [PMID: 20675008 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.017]
- 17 Sidhu SS, Goyal O, Mishra BP, Sood A, Chhina RS, Soni RK. Rifaximin improves psychometric performance and health-related quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy (the RIME Trial). *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 307-316 [PMID: 21157444 DOI: 10.1038/ajg.2010.455]
- 18 Shukla S, Shukla A, Mehboob S, Guha S. Meta-analysis: the effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 662-671 [PMID: 21251030 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04574.x]
- 19 Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int* 2013; 33: 31-39 [PMID: 23121656 DOI: 10.1111/liv.12021]
- 20 Kalaitzakis E. Gastrointestinal dysfunction in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14686-14695 [PMID: 25356031 DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14686]
- 21 Sadik R, Abrahamsson H, Björnsson E, Gunnarsdóttir A, Stotzer PO. Etiology of portal hypertension may influence gastrointestinal transit. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 1039-1044 [PMID: 14621277]
- 22 Chander Roland B, Garcia-Tsao G, Ciarleglio MM, Deng Y, Sheth A. Decompensated cirrhotics have slower intestinal transit times as compared with compensated cirrhotics and healthy controls. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 888-893 [PMID: 23632359 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31829006bb]
- 23 Pijls KE, Jonkers DM, Elamin EE, Masclee AA, Koek GH. Intestinal epithelial barrier function in liver cirrhosis: an extensive review of the literature. *Liver Int* 2013; 33: 1457-1469 [PMID: 23879434 DOI: 10.1111/liv.12271]
- 24 Du Plessis J, Vanheel H, Janssen CE, Roos L, Slavik T, Stivaktas PI, Nieuwoudt M, van Wyk SG, Vieira W, Pretorius E, Beukes M, Farré R, Tack J, Laleman W, Fevery J, Nevens F, Roskams T, Van der Merwe SW. Activated intestinal macrophages in patients with cirrhosis release

- NO and IL-6 that may disrupt intestinal barrier function. *J Hepatol* 2013; 58: 1125-1132 [PMID: 23402745 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.038]
- 25 Karagiannakis DS, Vlachogiannakos J, Anastasiadis G, Vafiadis-Zouboulis I, Ladas SD. Frequency and severity of cirrhotic cardiomyopathy and its possible relationship with bacterial endotoxemia. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 3029-3036 [PMID: 23907333 DOI: 10.1007/s10620-013-2693-y]
 - 26 Sandler NG, Koh C, Roque A, Eccleston JL, Siegel RB, Demino M, Kleiner DE, Deeks SG, Liang TJ, Heller T, Douek DC. Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. *Gastroenterology* 2011; 141: 1220-1230, 1230. e1-e3 [PMID: 21726511 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.063]
 - 27 Keshavarzian A, Farhadi A, Forsyth CB, Rangan J, Jakate S, Shaikh M, Banan A, Fields JZ. Evidence that chronic alcohol exposure promotes intestinal oxidative stress, intestinal hyperpermeability and endotoxemia prior to development of alcoholic steatohepatitis in rats. *J Hepatol* 2009; 50: 538-547 [PMID: 19155080 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.028]
 - 28 Elamin EE, Masclee AA, Dekker J, Jonkers DM. Ethanol metabolism and its effects on the intestinal epithelial barrier. *Nutr Rev* 2013; 71: 483-499 [PMID: 23815146 DOI: 10.1111/nure.12027]
 - 29 Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, Mandorfer M, Heinisch BB, Hayden H, Lammert F, Trauner M, Peck-Radosavljevic M, Vogelsang H. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 911-921 [PMID: 23262249 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.12.011]
 - 30 Assimakopoulos SF, Charonis AS. Uncovering the molecular events associated with increased intestinal permeability in liver cirrhosis: the pivotal role of enterocyte tight junctions and future perspectives. *J Hepatol* 2013; 59: 1144-1146 [PMID: 23928410 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.06.031]
 - 31 Assimakopoulos SF, Tsamandas AC, Tsiaoussis GI, Karatza E, Triantos C, Vagianos CE, Spiliopoulou I, Kaltezioti V, Charonis A, Nikolopoulou VN, Scopa CD, Thomopoulos KC. Altered intestinal tight junctions' expression in patients with liver cirrhosis: a pathogenetic mechanism of intestinal hyperpermeability. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 439-446 [PMID: 22023490 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2011.02609.x]
 - 32 Muñoz L, Albillos A, Nieto M, Reyes E, Lledó L, Monserrat J, Sanz E, de la Hera A, Alvarez-Mon M. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF-alpha production: first steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. *Hepatology* 2005; 42: 411-419 [PMID: 16025514]
 - 33 Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grünhage F, Lammert F, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U, Appenrodt B. Toll-like receptor (TLR) 2 promoter and intron 2 polymorphisms are associated with increased risk for spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 55: 1010-1016 [PMID: 21356257 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.022]
 - 34 Bruns T, Reuken PA, Fischer J, Berg T, Stallmach A. Further evidence for the relevance of TLR2 gene variants in spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 2012; 56: 1207-1208; author reply 1208-1209 [PMID: 22019578 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.010]
 - 35 Soriano G, Sánchez E, Nieto JC, Román E, Vidal S, Oliva L, Guarner-Argente C, Poca M, Torras X, Juárez C, Guarner C. Cytokine production in patients with cirrhosis and D299G and/or T399I Toll-like receptor 4 polymorphisms. *J Hepatol* 2013; 58(Suppl 1): S247-S248 [DOI: 10.1016/S0168-8278(13)60608-X]
 - 36 Appenrodt B, Grünhage F, Gentemann MG, Thyssen L, Sauerbruch T, Lammert F. Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology* 2010; 51: 1327-1333 [PMID: 20087966 DOI: 10.1002/hep.23440]
 - 37 Bruns T, Peter J, Reuken PA, Grabe DH, Schuldes SR, Brenmoehl J, Schölmerich J, Wiest R, Stallmach A. NOD2 gene variants are a risk factor for culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and monomicrobial bacterascites in cirrhosis. *Liver Int* 2012; 32: 223-230 [PMID: 21745302 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02561.x]
 - 38 Filik L. Monocyte chemotactic protein-1 gene polymorphism and spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 914 [PMID: 20143473]
 - 39 Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol* 2014; 61: 1385-1396 [PMID: 25135860 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.08.010]
 - 40 Jenne CN, Kubes P. Immune surveillance by the liver. *Nat Immunol* 2013; 14: 996-1006 [PMID: 24048121 DOI: 10.1038/ni.2691]
 - 41 Altorjay I, Vitalis Z, Tornai I, Palatka K, Kacska S, Farkas G, Udvardy M, Harsfalvi J, Dinya T, Orosz P, Lombay B, Par G, Par A, Csak T, Osztoivits J, Szalay F, Csepregi A, Lakatos PL, Papp M. Mannose-binding lectin deficiency confers risk for bacterial infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 484-491 [PMID: 20605050 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.028]
 - 42 Rolas L, Makhezer N, Hadjoudj S, El-Benna J, Djerdjouri B, Elkrief L, Moreau R, Périanin A. Inhibition of mammalian target of rapamycin aggravates the respiratory burst defect of neutrophils from decompensated patients with cirrhosis. *Hepatology* 2013; 57: 1163-1171 [PMID: 23080369 DOI: 10.1002/hep.26109]
 - 43 Seidler S, Zimmermann HW, Weiskirchen R, Trautwein C, Tacke F. Elevated circulating soluble interleukin-2 receptor in patients with chronic liver diseases is associated with non-classical monocytes. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 38 [PMID: 22530792 DOI: 10.1186/1471-230X-12-38]
 - 44 Gomez F, Ruiz P, Schreiber AD. Impaired function of macrophage Fc gamma receptors and bacterial infection in alcoholic cirrhosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 1122-1128 [PMID: 7935636]
 - 45 Doi H, Iyer TK, Carpenter E, Li H, Chang KM,

■名词解释

肝硬化相关免疫紊乱: 包括免疫缺陷状态和免疫系统持续激活炎症状态共存, 肝硬化初期全身炎症状态占主导地位, 进展至终末期免疫缺陷状态占主导地位。

同行评价

文章内容写出了新意, 总结了肝硬化合并细菌感染易感性的机制, 对感染采取积极有效的预防措施大有帮助。

- Vonderheide RH, Kaplan DE. Dysfunctional B-cell activation in cirrhosis resulting from hepatitis C infection associated with disappearance of CD27-positive B-cell population. *Hepatology* 2012; 55: 709-719 [PMID: 21932384 DOI: 10.1002/hep.24689]
- 46 Lario M, Muñoz L, Ubeda M, Borrero MJ, Martínez J, Monserrat J, Díaz D, Alvarez-Mon M, Albillos A. Defective thymopoiesis and poor peripheral homeostatic replenishment of T-helper cells cause T-cell lymphopenia in cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 59: 723-730 [PMID: 23742913 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.042]
- 47 Morishima C, Di Bisceglie AM, Rothman AL, Bonkovsky HL, Lindsay KL, Lee WM, Koziel MJ, Fontana RJ, Kim HY, Wright EC. Antigen-specific T lymphocyte proliferation decreases over time in advanced chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2012; 19: 404-413 [PMID: 22571902 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01562.x]
- 48 Laso FJ, Madruga JL, Girón JA, López A, Ciudad J, San Miguel JF, Alvarez-Mon M, Orfao A. Decreased natural killer cytotoxic activity in chronic alcoholism is associated with alcohol liver disease but not active ethanol consumption. *Hepatology* 1997; 25: 1096-1100 [PMID: 9141423]
- 49 Muñoz L, José Borrero M, Ubeda M, Lario M, Díaz D, Francés R, Monserrat J, Pastor O, Aguado-Fraile E, Such J, Alvarez-Mon M, Albillos A. Interaction between intestinal dendritic cells and bacteria translocated from the gut in rats with cirrhosis. *Hepatology* 2012; 56: 1861-1869 [PMID: 22611024 DOI: 10.1002/hep.25854]
- 50 Albillos A, Hera Ad Ade L, Reyes E, Monserrat J, Muñoz L, Nieto M, Prieto A, Sanz E, Alvarez-Mon M. Tumour necrosis factor- α expression by activated monocytes and altered T-cell homeostasis in ascitic alcoholic cirrhosis: amelioration with norfloxacin. *J Hepatol* 2004; 40: 624-631 [PMID: 15030978]
- 51 Tritto G, Bechlis Z, Stadlbauer V, Davies N, Francés R, Shah N, Mookerjee RP, Such J, Jalan R. Evidence of neutrophil functional defect despite inflammation in stable cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 55: 574-581 [PMID: 21236309 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.034]
- 52 Gandoura S, Weiss E, Rautou PE, Fasseu M, Gustot T, Lemoine F, Hurtado-Nedelec M, Hego C, Vadrot N, Elkrief L, Lettéron P, Tellier Z, Pocidal MA, Valla D, Lebre C, Groyer A, Monteiro RC, de la Grange P, Moreau R. Gene- and exon-expression profiling reveals an extensive LPS-induced response in immune cells in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 936-948 [PMID: 23321315 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.12.025]
- 53 Sun HQ, Zhang JY, Zhang H, Zou ZS, Wang FS, Jia JH. Increased Th17 cells contribute to disease progression in patients with HBV-associated liver cirrhosis. *J Viral Hepat* 2012; 19: 396-403 [PMID: 22571901 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01561.x]
- 54 Girón JA, Alvarez-Mon M, Menéndez-Caro JL, Abreu L, Albillos A, Manzano L, Duránte A. Increased spontaneous and lymphokine-conditioned IgA and IgG synthesis by B cells from alcoholic cirrhotic patients. *Hepatology* 1992; 16: 664-670 [PMID: 1505909]
- 55 Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, Ruiz-del-Arbol L, Alvarez-Mon M. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology* 2003; 37: 208-217 [PMID: 12500206]
- 56 Trebicka J, Krag A, Gansweid S, Schiedermaier P, Strunk HM, Fimmers R, Strassburg CP, Bendtsen F, Möller S, Sauerbruch T, Spengler U. Soluble TNF- α -receptors I are prognostic markers in TIPS-treated patients with cirrhosis and portal hypertension. *PLoS One* 2013; 8: e83341 [PMID: 24386183 DOI: 10.1371/journal.pone.0083341]
- 57 Wiese S, Mortensen C, Götze JP, Christensen E, Andersen O, Bendtsen F, Möller S. Cardiac and proinflammatory markers predict prognosis in cirrhosis. *Liver Int* 2014; 34: e19-e30 [PMID: 24313898 DOI: 10.1111/liv.12428]
- 58 González-Navajas JM, Bellot P, Francés R, Zapater P, Muñoz C, García-Pagán JC, Pascual S, Pérez-Mateo M, Bosch J, Such J. Presence of bacterial-DNA in cirrhosis identifies a subgroup of patients with marked inflammatory response not related to endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 61-67 [PMID: 17998145]
- 59 Ubeda M, Muñoz L, Borrero MJ, Díaz D, Francés R, Monserrat J, Lario M, Lledó L, Such J, Alvarez-Mon M, Albillos A. Critical role of the liver in the induction of systemic inflammation in rats with preascitic cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52: 2086-2095 [PMID: 21105108 DOI: 10.1002/hep.23961]
- 60 Buck M, Garcia-Tsao G, Groszmann RJ, Stalling C, Grace ND, Burroughs AK, Patch D, Matloff DS, Clopton P, Chojkier M. Novel inflammatory biomarkers of portal pressure in compensated cirrhosis patients. *Hepatology* 2014; 59: 1052-1059 [PMID: 24115225 DOI: 10.1002/hep.26755]
- 61 Kaser A, Ludwiczek O, Waldenberger P, Jäschke W, Vogel W, Tilg H. Endotoxin and its binding proteins in chronic liver disease: the effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunting. *Liver* 2002; 22: 380-387 [PMID: 12390473]
- 62 Riordan SM, Skinner N, Nagree A, McCallum H, McIver CJ, Kurtovic J, Hamilton JA, Bengmark S, Williams R, Visvanathan K. Peripheral blood mononuclear cell expression of toll-like receptors and relation to cytokine levels in cirrhosis. *Hepatology* 2003; 37: 1154-1164 [PMID: 12717397]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



长链非编码RNA在结直肠癌中的表达与调控机制

姜鹤宇, 邹健, 于晓峰

姜鹤宇, 邹健, 于晓峰, 复旦大学附属华东医院消化内科
上海市 200040

姜鹤宇, 在读硕士, 主要从事结直肠癌的相关研究。

作者贡献分布: 本文综述由姜鹤宇完成; 邹健与于晓峰审核。

通讯作者: 于晓峰, 教授, 主任医师, 200040, 上海市延安西路
221号, 复旦大学附属华东医院消化内科。

yuxiaofeng252@yahoo.cn

电话: 021-62484981

收稿日期: 2015-06-02 修回日期: 2015-06-30

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Expression and regulation of long non-coding RNAs in colorectal cancer

He-Yu Jiang, Jian Zou, Xiao-Feng Yu

He-Yu Jiang, Jian Zou, Xiao-Feng Yu, Department of
Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated to Fudan
University, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Xiao-Feng Yu, Professor, Chief
Physician, Department of Gastroenterology, Huadong
Hospital Affiliated to Fudan University, 221 Yan'an West
Road, Shanghai 200040, China. yuxiaofeng252@yahoo.cn
Received: 2015-06-02 Revised: 2015-06-30
Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

Long non-coding RNA (lncRNA) has a messenger RNA-like structure, greater than 200 nucleotides in length, and extensively existing in both the cytoplasm and nucleus. However, almost all lncRNAs cannot be transcribed into proteins. Increasing studies showed that lncRNAs participate in many eukaryotic activities, such as regulating the expression of genes at epigenetic, transcriptional and post-transcriptional levels, and regulating human growth and development, and also, cell apoptosis. Their aberrant expression is involved in many human diseases and tumorigenesis. This

article reviews the latest results of lncRNAs in colorectal cancer with regards to their expression and regulation.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Long non-coding RNA; Colorectal cancer; Tumor biomarker

Jiang HY, Zou J, Yu XF. Expression and regulation of long non-coding RNAs in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3567-3575 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3567.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3567>

摘要

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)的结构类似于mRNA, 长度大于200个核苷酸, 广泛存在于真核细胞的细胞核和细胞质中, 但却几乎不能编码蛋白质。lncRNA参与了许多真核细胞的生物活动, 可以在表观遗传学、转录及转录后水平调节基因表达, 在人类的生长发育以及细胞凋亡分化等诸多方面有重要作用, 其异常表达还与许多人类疾病和肿瘤的发生、发展密切相关, 本文就lncRNA在结直肠恶性肿瘤中的基因表达及调控机制等方面的最新进展作一综述。

© 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; 结直肠癌; 肿瘤标志物

核心提示: 长链非编码RNA广泛存在于真核细胞中, 其异常表达与许多人类疾病和肿瘤的发生、发展密切相关。本文就其在结直肠恶性肿瘤中的基因表达、调控机制及临床应用等方面

背景资料

结直肠恶性肿瘤已成为全球最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率、死亡率呈现逐年增加的趋势。大量研究提示长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA), 一类结构类似于mRNA, 长度大于200 nt, 几乎不能编码蛋白质的RNA, 与结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生发展密切相关。

同行评议者

顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科

■ 研发前沿

lncRNA作为目前RNA组学的研究热点, 通过对其生物特性、功能与作用机制等方面的研究, 证实其与许多人类疾病及恶性肿瘤相关。加之许多新兴技术的发展, 更加有助于对其代谢和生物功能的探索。

的最新进展作一综述。

姜鹤宇, 邹健, 于晓峰. 长链非编码RNA在结直肠癌中的表达与调控机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3567-3575
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3567.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3567>

0 引言

如今, 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)已成为全世界最常见的恶性肿瘤之一。美国癌症统计数据显示, CRC每年新发病例超过10万例, 发病率、死亡率在所有恶性肿瘤中均居第三位^[1]。在我国, CRC的发病率也呈现逐年增加的趋势。2010年的统计数据显示, 在全国所有新发恶性肿瘤中, CRC占9%, 排第6位, 死亡患者占有癌症死亡患者的11%, 排在第5位^[2]。

随着细胞分子生物研究的不断进展, 研究者们发现当初认为是转录“垃圾产物”的非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)参与了多种重要的生物活动, 例如, 微小RNA(microRNA, miRNA)被证实在调控基因表达、病毒防御、肿瘤及人类疾病的发生和主动免疫等方面具有重要作用^[3]。越来越多学者意识到ncRNA重要性, 并将目光投至长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)上。大量研究数据提示lncRNA参与了许多真核细胞内生物活动, 其异常表达还与许多人类疾病和肿瘤的发生、发展密切相关。本文总结了lncRNA在CRC中的表达及调控方面的最新进展, 为进一步研究提供参考依据。

1 lncRNA

20世纪90年代人类基因组计划表明, 人类基因组中约含有20000个蛋白质编码基因, 仅占人类基因组的1.5%, 当时普遍认为98.5%的基因序列都是“垃圾序列”^[4]。随后的ENCODE计划却发现, 约75%的基因能被转录成RNA, 绝大部分为ncRNA^[5]。2002年Okazaki等^[6]对小鼠60770条的全长cDNA进行测序注释, 发现生物体内有大量lncRNA存在。此后, 许多课题组都致力于对lncRNA的研究, 逐步加深了我们对它的了解。

目前可以用于lncRNA研究的技术包括: Northern印记、qRT-PCR、微阵列技术、Tiling Array技术、转录组测序、荧光原位杂交技术、RNA干扰、RNA结合蛋白免疫沉淀

和基因富集分析技术的等等, 可以定量、定性分析lncRNA及其功能^[3,7]。另外, 近年来报道的许多新兴研究方法, 例如ChIRP(chromatin isolation by RNA purification)^[8]、catRAPID(fast predictions of RNA and protein interactions and domains)^[9]和c-KLAN(combined knockdown and localization analysis of noncoding RNAs)^[10]等技术, 以及一些lncRNA相关数据库^[3,11], 都有助于对ncRNA的探索。

lncRNAs是结构类似于mRNA, 长度超过200 nt, 且几乎不能编码蛋白质的非蛋白编码RNA。lncRNA主要由RNA聚合酶II转录, 3'端多聚腺苷酸化, 5'端甲基鸟苷帽化, 含有许多重复序列, 不存在有义的开放式阅读框架, 稳定性较差。lncRNA广泛存在于真核细胞的细胞核和细胞质中, 其表达具有明显的时间、组织特异性。lncRNA基因在染色体上定位较为保守, 而基因序列保守性差, 含局部区域高度保守, 如启动子和功能元件^[12-16]。为了解释lncRNA的作用机制, Wang等^[12]研究组建立了4种机制模型, 分别是信号分子、诱饵分子、引导分子和支架分子模型, 一种lncRNA可参与一种或多种分子机制, 同时还有许多蛋白质、基因组和转录组等共同发挥作用。

lncRNA参与了许多真核细胞内生物活动, 在表观遗传学、转录及转录后水平调节基因表达, 维持亚细胞区室的完整性, 参与染色体重塑、基因印记、X染色体失活、mRNA的降解和翻译调控等。lncRNA在人类生长发育和细胞凋亡分化等方面有重要作用, 其异常表达还与许多人类疾病和肿瘤的发生、发展密切相关^[12-20]。尽管近年来, 对lncRNA的研究逐步深入, 但lncRNA的大部分功能和调控机制仍尚不清楚, 究竟和人类疾病的关系如何, 是否具有较高的临床应用价值, 还有待进一步研究阐明。

2 CCAT1

CCAT1(colorectal cancer associated transcript 1)是由富含“热点(hot spot)”的人类染色体8q24.21区域转录的、长为2628 nt的lncRNA, 主要分布于细胞质中, 具有3个无翻译能力的开放阅读框, CCAT1基因由两个外显子(1-288, 289-2612)和约9 kb长的内含子组成, 转录位点临近*c-myc*癌基因^[21-23]。

正常人中, 仅肝脏和小肠有微量的CCAT1,

其他组织并未检测出CCAT1。在CRC患者中, 原发灶和转移病灶组织(如淋巴结、肝脏或腹膜)中, CCAT1的表达都明显增高, 特别是转移病灶内, CCAT1可达到上百倍甚至千倍的增高; 在原发灶周围的正常组织中, 也可测得不同程度的CCAT1水平上升, 但较原发灶和转移病灶的水平低; 部分患者的外周血液标本和粪便标本也可检测出CCAT1表达升高。另外, CCAT1表达水平与临床分期呈正相关, 即CCAT1水平越高, 临床分期处于越晚期。CCAT1高水平患者, 生存期明显低于CCAT1处于较低水平患者, 治疗后复发可能更大^[22-25]。

研究^[24,26]发现, 在CCAT1启动子区域内, 转录因子结合位点上含有一段E-box顺势调控元件, c-MYC蛋白可与其特异性结合。c-MYC蛋白是一种在许多肿瘤中过度表达的转录因子, 主要参与调节细胞周期、细胞增殖、分化及凋亡, 与肿瘤的发生发展有一定关系。在CRC起源细胞系中, 通过调控c-MYC蛋白的表达水平可以引起相应的CCAT1基因启动子活性及CCAT1的表达水平的变化, 即c-MYC的高表达, 可增加启动子活性和CCAT1表达水平; 另外, 上调CCAT1或c-MYC表达水平, 可加速肿瘤细胞生长和增殖, 增加其克隆存活及侵袭转移能力^[23], 提示了c-MYC和CCAT1与CRC的发生发展存在一定联系。

有趣的是, 许多研究^[23,25]还发现不同亚型的肠息肉或不同程度异型性增生的组织上皮内, CCAT1表达含量也显著增加, 并且各型间CCAT1增高水平无明显差异。而当肠息肉恶变成CRC后, 其CCAT1水平将轻度下降。

对于CCAT1仍存在许多疑问, 他在CRC的发生发展中起到何种作用? c-MYC对其调控机制究竟有何影响? 是否仅为一个过度表达中间产物? 能否作为CRC的全新的肿瘤标志物? 通过对CCAT1的干预, 是否可以达到理想的治疗效果? 这一系列的问题还有待进一步验证。根据现有的研究结果提示: 无论是CRC原发灶还是转移病灶, 甚至是患者血液和粪便, 都可检查出高表达的CCAT1, 它具有高度敏感性和特异性; 结合CCAT1水平, 还可以更加精确地划分临床分期, 为治疗方案提供有效参考指标; 除此之外, 利用CCAT1在结肠腺瘤及异型增生病变中高表达的这一特点, 可以在分子水平上量化CRC发生风险, 从而做到“早发现, 早治

疗”;还可以作为术后及接受辅助治疗患者的病情评估指标, 帮助改善CRC患者的预后, 延长患者生存期。Alaiyan等^[23]认为, 单凭CCAT1升高来评估结肠腺瘤患者的CRC患病风险会在一定程度上提高假阳性率, 如果结合是否存在异常的DNA甲基化, 便可更加准确的共同预测CRC患病风险。

3 CCAT1-L

以往认为, 增强子可以通过染色质成环(chromatin looping)的方式, 形成启动子-增强子环, 在空间上拉近启动子并增强其活性, 从而上调相距较远的基因组^[27]。而Kim等^[28]提出增强子也可以转录成RNA-eRNA(enhancer-derived RNA)^[28]。与蛋白编码DNA转录过程类似, 转录因子结合至增强子的高度保守区, 募集RNAPII从而转录合成eRNA, 但不同的是, 该转录过程需要在启动子-增强子环形成后才能进行。多项研究^[27-32]发现, eRNA作为转录产物, 可能参与染色质成环活动、维持其稳定性和募集RNAPII至相应的启动子等多种生物活动。2013年, Lovén等^[33]提出了超级增强子(super enhancer)这一概念。超级增强子由多个相邻的较长的增强子(平均长度19.4 kb)组成, 同时结合大量转录因子/介质, 共同调控癌基因的表达。超级增强子具有肿瘤细胞特异性的特点, 在正常细胞中并不表达, 在肿瘤发生中起重要作用^[34]。

继CCAT1的发现后, Xiang等^[35]发现另一个与CRC极为相关的lncRNA-CCAT1-L(CCAT1, the long isoform)。他是CCAT1的异构体, 长度为5200 nt, 5端有帽子结构, 3端多聚腺苷酸化, 主要分布于细胞核内。CCAT1-L的转录位点在8q24染色体的c-myc基因上游约515 kb处, 与CCAT1基因广泛重叠。CCAT1-L和前述的CCAT1具有相似的表达特点, 即在正常人体组织中极低表达或不表达, 而在CRC各期和CRC起源的细胞系都特异性高表达, 但CCAT1-L较CCAT1表达水平更高。

该研究组通过一系列实验证实: (1)CCAT1-L基因为150 kb长的CRC特异性超级增强子, 受转录因子CTCF调控, 其转录产物CCAT1-L即为eRNA; (2)c-myc增强子(myc-335)、c-myc启动子及CCAT1基因在空间上十分接近, 前两者成环活动及环的稳定性维持受CCAT1-L调控,

■ 相关报道

CCAT1(colorectal cancer associated transcript 1)、CCAT1-L(CCAT1, the long isoform)、(HOX anti-sense intergenic RNA)及H19在CRC中高表达, 但各自的代谢和调控机制不尽相同: 多个研究组证实CCAT1表达水平受c-MYC蛋白的调控; Xiang等发现CCAT1-L基因为CRC特异性超级增强子, 而CCAT1-L可在转录水平上调癌基因c-myc表达; Padua等认为HOTAIR除了具有支架分子的功能, 其与PRC2的相互作用还可能引起上皮-间叶细胞转换。HOTAIR高表达可作为提示CRC预后不良的独立危险因素; 多项研究认为CRC与IGF2印记丢失伴H19 DMR双等位基因低甲

■ 创新盘点

本文对CRC相关的最新热点研究的lncRNA-CCAT1和CCAT1-L的基因表达、调控机制、临床应用及存在的问题进行了详述;并结合大量近期文献,总结了H19及HOTAIR在CRC发生发展中新的认识,有助于对CRC相关的lncRNA的深入了解。

敲除*CCAT1-L*或*CTCF*基因则可减弱c-MYC成环和转录能力^[32,35]。因此,我们可以认为:CCAT1-L不仅具有CRC特异性,还可以在转录水平上调癌基因*c-myc*表达,从而影响肿瘤的发生发展,但其具体调控机制和生物学特性还有待进一步研究。

4 HOTAIR

Rinn等^[36]报道发现了第一条具有反式调控作用的lncRNA-HOTAIR(HOX anti-sense intergenic RNA)。HOTAIR是长2158 nt的反义lncRNA,其转录位点在人类染色体12q13.13区域的*HOXC11*和*HOXC12*基因之间,基因序列保守性较低,含有6个外显子。该研究组发现,HOTAIR可以在表观遗传学水平上进行染色质修饰,反式调控*HOXD*基因,使其沉默。

目前,多项针对“HOTAIR在肿瘤发生发展中的分子机制”研究认为:HOTAIR具有特异性双向结合能力,作为支架分子发挥生物作用。HOTAIR通过募集PCR2(polycomb repressive complex 2),并且5'与之结合,促进H3组蛋白27位赖氨酸甲基化(H3K27me3);3'结合组蛋白去甲基化酶复合体(LSD1/CoREST/REST),介导H3组蛋白4位赖氨酸脱甲基化(H3K4me2),从而使特定基因沉默^[36-39]。近来,HOTAIR被证实与恶性肿瘤细胞增殖、凋亡、血管生成、侵袭转移等多种恶性表型相关^[40],甚至可以引起肿瘤对化疗药物的耐药性^[41]。例如:通过沉默肿瘤转移抑制基因*HOXD10*、*PGR*和原钙黏蛋白家族基因等,促进癌肿的侵袭转移^[42];而*WIF-1*基因的沉默则会激活Wnt/ β -catenin信号通路,促进食管鳞癌的发生^[43]。另外,HOTAIR还有miRNA海绵作用,如通过与miR-331-3p结合从而上调*HER2*基因表达,激活Akt信号通路,促进肿瘤细胞增殖和转移^[39]。HOTAIR与PCR2的相互作用还可能引起上皮-间叶细胞转换(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT),促进癌肿的浸润转移和细胞逃逸凋亡^[44,45]。

许多研究发现,多种恶性肿瘤中都出现了HOTAIR的表达上调,从最早在乳腺癌中发现HOTAIR高表达^[42],而后在肝癌^[46]、CRC^[38,47-49]也发现了此现象,近两三年中,许多大样本实验证实食管癌^[43]、胃癌^[50]等都有HOTAIR的表达上调。

为证实CRC和HOTAIR之间的关系,Kogo等^[38]通过研究发现,在CRC患者中,癌肿组织表达HOTAIR水平明显高于癌旁组织,且与肿瘤侵袭性和肝转移能力有显著的相关性;体外实验也得到了类似的结论;敲除HOTAIR基因后,CRC侵袭转移能力明显减弱。该研究组认为HOTAIR在CRC中高表达为提示预后不良的独立危险因子,可作为CRC的生物标志物评估患者预后情况;通过干预HOTAIR或HOTAIR-PCR2的相互作用可以抑制CRC的发生与发展。Svoboda等^[47]通过多种方法验证了上述观点,认为HOTAIR可以作为评价预后的独立危险因子-HOTAIR高表达,将加剧CRC浸润深度、转移风险、患者生存期等方面,并且,在多种恶性肿瘤中都有此特点。另外,该研究组发现,CRC患者血液中HOTAIR水平明显高于正常人,且与CRC分期呈正相关,认为可将HOTAIR作为一个早期非创伤性评估CRC预后的指标。

虽然目前对HOTAIR的有许多相关机制仍无法彻底的解释,但随着对HOTAIR的不断深入的探索,我们发现其广泛参与了多种肿瘤恶性表型的调控,这不仅使我们更好的了解肿瘤的发生发展机制,更为临床诊断及治疗提供了新的方向,尤其是靶向针对HOTAIR的治疗药物。

5 H19

H19基因位于人类染色体11p15.5区域,长2322 bp,包含5个外显子和4个内含子^[51,52]。H19基因还可以编码多种产物,包括91H(H19反义RNA)、HOTS(H19 opposite tumor suppressor)、miR-675等,但对于这些转录产物具体功能及作用机制尚未明确^[53,54]。另外,根据组织来源和发育阶段不同,H19转录物起到的功能及其机制也有所差别^[55-57]。

而其中的H19是第一个被发现的肿瘤相关lncRNA。H19全长2.3 kb,主要分布于细胞质内,缺乏明显的开放阅读框。正常情况下,H19仅在脊椎动物胚胎发育期中表达,出生后迅速下调,仅在心肌和骨骼肌中低表达^[51-53]。多项研究发现,H19具有促进癌细胞增殖、抑制细胞凋亡、增加细胞缺氧耐受能力和促进血管生成等作用^[53,54,58]。

H19基因与基因印记(gene imprinting)密切相关。基因组印记是一种不遵循孟德尔遗传定律的表遗传现象,具有亲本来源特异性、等

位基因差异性表达的特点, 产生原因为特定亲本的等位基因差异甲基化区(differentially methylated region, DMR), 发生高甲基化而导致该基因沉默, 即发生印记。此类基因约占人类基因组的1%^[59]。H19基因具有母源表达、父源印记的特点。H19基因上游90 kb处为胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor2, IGF2)基因, 在胚胎发育期, 两者表达呈现亲本依赖性单等位基因表达, 交互印记, 共用同一调控体系^[53,54,60]。尽管, 恶性肿瘤与基因印记的关系为目前的研究热点, 但是多数并未得出明确统一的结果, 而对于CRC来说, 许多课题组认为, 与IGF2印记丢失伴H19 DMR双等位基因低甲基化相关^[56,57,61], 然而Nakagawa等^[62]却得到相反的结果, 因而需要深入研究取得可靠结果。

目前来说, 得到许多学者广泛认同的是: H19在多种肿瘤中高表达, 可起到致癌作用或抑癌作用, 如胃癌^[58]、膀胱癌^[63]、乳腺癌^[64]、肝癌^[65]等。值得注意的是, 无论是CRC原发灶或周围正常组织中, 以及CRC起源的细胞系, 也都存在H19表达上调。Cai等^[66]发现H19是miR-675的前体RNA, 在早期CRC中也具有和H19一样的表达特点。miR-675由H19基因的第一个外显子转录, 可以下调肿瘤抑制基因RBI, 促进CRC生长和转移; 抑制miR-675的表达将会降低肿瘤生长速度和克隆性。此结论也已得到其他研究组的证实^[53,67,68], 提示H19 RNA可能通过miRNA发挥基因调控作用。而miR-675调控的下游基因及调控机制, 还有, 其与H19是否存在相互作用关系及机制有待进一步探究。

6 结论

我国目前尚无规范的CRC筛查指南, 考虑到CRC的确诊有赖于组织病理学检查, 而粪便隐血试验以及CEA、CA19-9等肿瘤指标的特异性、灵敏度差强人意, 因此, 无创性的筛查指标无疑是早期诊断的必要条件。近些年来, lncRNA的研究正在不断的扩大及深入, 尤其是其在恶性肿瘤中的作用得到越来越多的重视。大量研究数据显示, lncRNA与CRC的发生发展极其相关。本文通过对CCAT1、CCAT1-L、H19及HOTAIR的讨论, 深入的阐述了lncRNA在CRC的发生发展中的作用和临床意义, 及目前研究的主要问题。然而, 目前针

对lncRNA的研究仍处于初期阶段, 其作用机制及功能的认识仍只是冰山一角。进一步的探索过程依赖于更加先进技术的支持, 不断完善lncRNA数据库也有助于学者对其深入研究, 拓展对于恶性肿瘤的认识。

7 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Zeng H, Zou X. Report of cancer incidence and mortality in China, 2010. *Ann Transl Med* 2014; 2: 61 [PMID: 25333036 DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.04.05]
- 3 尹凌帝, 孙倩, 孙明, 德伟. 人类癌症中长链非编码RNA与miRNA相互作用的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2014; 19: 662-666
- 4 The Human Genome Project, Delisi C. The ambitious proposal to map and decipher the complete sequence of human DNA. *American Scientist* 1988; 76: 488-493
- 5 Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigó R, Gingeras TR, Margulies EH, Weng Z, Snyder M, Dermitzakis ET, Thurman RE, Kuehn MS, Taylor CM, Neph S, Koch CM, Asthana S, Malhotra A, Adzhubei I, Greenbaum JA, Andrews RM, Flicek P, Boyle PJ, Cao H, Carter NP, Clelland GK, Davis S, Day N, Dhami P, Dillon SC, Dorschner MO, Fiegler H, Giresi PG, Goldy J, Hawrylycz M, Haydock A, Humbert R, James KD, Johnson BE, Johnson EM, Frum TT, Rosenzweig ER, Karnani N, Lee K, Lefebvre GC, Navas PA, Neri F, Parker SC, Sabo PJ, Sandstrom R, Shafer A, Vetrie D, Weaver M, Wilcox S, Yu M, Collins FS, Dekker J, Lieb JD, Tullius TD, Crawford GE, Sunyaev S, Noble WS, Dunham I, Denoeud F, Reymond A, Kapranov P, Rozowsky J, Zheng D, Castelo R, Frankish A, Harrow J, Ghosh S, Sandelin A, Hofacker IL, Baertsch R, Keefe D, Dike S, Cheng J, Hirsch HA, Sekinger EA, Lagarde J, Abril JF, Shahab A, Flamm C, Fried C, Hackermüller J, Hertel J, Lindemeyer M, Missal K, Tanzer A, Washietl S, Korbel J, Emanuelsson O, Pedersen JS, Holroyd N, Taylor R, Swarbreck D, Matthews N, Dickson MC, Thomas DJ, Weirauch MT, Gilbert J, Drenkow J, Bell I, Zhao X, Srinivasan KG, Sung WK, Ooi HS, Chiu KP, Foissac S, Alioto T, Brent M, Pachter L, Tress ML, Valencia A, Choo SW, Choo CY, Ucla C, Manzano C, Wyss C, Cheung E, Clark TG, Brown JB, Ganesh M, Patel S, Tammana H, Chrast J, Henrichsen CN, Kai C, Kawai J, Nagalakshmi U, Wu J, Lian Z, Lian J, Newburger P, Zhang X, Bickel P, Mattick JS, Carninci P, Hayashizaki Y, Weissman S, Hubbard T, Myers RM, Rogers J, Stadler PF, Lowe TM, Wei CL, Ruan Y, Struhl K, Gerstein M, Antonarakis SE, Fu Y, Green ED, Karaöz U, Siepel A, Taylor J, Liefer LA, Wetterstrand KA, Good PJ, Feingold EA, Guyer MS, Cooper GM, Asimenos G, Dewey CN, Hou M, Nikolaev S, Montoya-Burgos JL, Löytynoja A, Whelan S, Pardi F, Massingham T, Huang H, Zhang NR, Holmes I, Mullikin JC, Ureta-Vidal A, Paten B, Seringhaus M, Church D, Rosenbloom K, Kent WJ, Stone EA, Batzoglou

■应用要点

通过对CCAT1、CCAT1-L、H19及HOTAIR的讨论, 深入的阐述了lncRNA在CRC发生发展中的作用和临床意义, 研究者可结合相关新兴技术支持及lncRNA数据库, 深入研究, 拓展对于恶性肿瘤的认识。

■名词解释

超级增强子: 是由多个相邻的较长的增强子(平均长度19.4 kb)组成, 同时结合大量转录因子/介质, 共同调控癌基因的表达; 增强子RNA: 转录因子结合至增强子的高度保守区, 募集RNAPII从而转录合成的RNA, 该转录过程需要在启动子-增强子环形成后才能进行。

- S, Goldman N, Hardison RC, Haussler D, Miller W, Sidow A, Trinklein ND, Zhang ZD, Barrera L, Stuart R, King DC, Ameur A, Enroth S, Bieda MC, Kim J, Bhinge AA, Jiang N, Liu J, Yao F, Vega VB, Lee CW, Ng P, Shahab A, Yang A, Moqtaderi Z, Zhu Z, Xu X, Squazzo S, Oberley MJ, Inman D, Singer MA, Richmond TA, Munn KJ, Rada-Iglesias A, Wallerman O, Komorowski J, Fowler JC, Couttet P, Bruce AW, Dovey OM, Ellis PD, Langford CF, Nix DA, Euskirchen G, Hartman S, Urban AE, Kraus P, Van Calcar S, Heintzman N, Kim TH, Wang K, Qu C, Hon G, Luna R, Glass CK, Rosenfeld MG, Aldred SF, Cooper SJ, Halees A, Lin JM, Shulha HP, Zhang X, Xu M, Haidar JN, Yu Y, Ruan Y, Iyer VR, Green RD, Wadelius C, Farnham PJ, Ren B, Harte RA, Hinrichs AS, Trumbower H, Clawson H, Hillman-Jackson J, Zweig AS, Smith K, Thakapallayil A, Barber G, Kuhn RM, Karolchik D, Armengol L, Bird CP, de Bakker PI, Kern AD, Lopez-Bigas N, Martin JD, Stranger BE, Woodroffe A, Davydov E, Dimas A, Eyrae S, Hallgrimsdóttir IB, Huppert J, Zody MC, Abecasis GR, Estivill X, Bouffard GG, Guan X, Hansen NF, Idol JR, Maduro VV, Maskeri B, McDowell JC, Park M, Thomas PJ, Young AC, Blakesley RW, Muzny DM, Sodergren E, Wheeler DA, Worley KC, Jiang H, Weinstock GM, Gibbs RA, Graves T, Fulton R, Mardis ER, Wilson RK, Clamp M, Cuff J, Gnerre S, Jaffe DB, Chang JL, Lindblad-Toh K, Lander ES, Koriabine M, Nefedov M, Osoegawa K, Yoshinaga Y, Zhu B, de Jong PJ. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447: 799-816 [PMID: 17571346 DOI: 10.1038/nature05874]
- 6 Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, Adachi J, Bono H, Kondo S, Nikaido I, Osato N, Saito R, Suzuki H, Yamanaka I, Kiyosawa H, Yagi K, Tomaru Y, Hasegawa Y, Nogami A, Schönbach C, Gojobori T, Baldarelli R, Hill DP, Bult C, Hume DA, Quackenbush J, Schriml LM, Kanapin A, Matsuda H, Batalov S, Beisel KW, Blake JA, Bradt D, Brusic V, Chothia C, Corbani LE, Cousins S, Dalla E, Dragani TA, Fletcher CF, Forrest A, Frazer KS, Gaasterland T, Gariboldi M, Gissi C, Godzik A, Gough J, Grimmond S, Gustincich S, Hirokawa N, Jackson IJ, Jarvis ED, Kanai A, Kawaji H, Kawasawa Y, Kedzierski RM, King BL, Konagaya A, Kurochkin IV, Lee Y, Lenhard B, Lyons PA, Maglott DR, Maltais L, Marchionni L, McKenzie L, Miki H, Nagashima T, Numata K, Okido T, Pavan WJ, Pertea G, Pesole G, Petrovsky N, Pillai R, Pontius JU, Qi D, Ramachandran S, Ravasi T, Reed JC, Reed DJ, Reid J, Ring BZ, Ringwald M, Sandelin A, Schneider C, Semple CA, Setou M, Shimada K, Sultana R, Takenaka Y, Taylor MS, Teasdale RD, Tomita M, Verardo R, Wagner L, Wahlestedt C, Wang Y, Watanabe Y, Wells C, Wilming LG, Wynshaw-Boris A, Yanagisawa M, Yang I, Yang L, Yuan Z, Zavolan M, Zhu Y, Zimmer A, Carninci P, Hayatsu N, Hirozane-Kishikawa T, Konno H, Nakamura M, Sakazume N, Sato K, Shiraki T, Waki K, Kawai J, Aizawa K, Arakawa T, Fukuda S, Hara A, Hashizume W, Imotani K, Ishii Y, Itoh M, Kagawa I, Miyazaki A, Sakai K, Sasaki D, Shibata K, Shinagawa A, Yasunishi A, Yoshino M, Waterston R, Lander ES, Rogers J, Birney E, Hayashizaki Y. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. *Nature* 2002; 420: 563-573 [PMID: 12466851 DOI: 10.1038/nature01266]
- 7 Yan B, Wang ZH, Guo JT. The research strategies for probing the function of long noncoding RNAs. *Genomics* 2012; 99: 76-80 [PMID: 22210346 DOI: 10.1016/j.ygeno.2011.12.002]
- 8 Chu C, Qu K, Zhong FL, Artandi SE, Chang HY. Genomic maps of long noncoding RNA occupancy reveal principles of RNA-chromatin interactions. *Mol Cell* 2011; 44: 667-678 [PMID: 21963238 DOI: 10.1016/j.molcel.2011.08.027]
- 9 Bellucci M, Agostini F, Masin M, Tartaglia GG. Predicting protein associations with long noncoding RNAs. *Nat Methods* 2011; 8: 444-445 [PMID: 21623348 DOI: 10.1038/nmeth.1611]
- 10 Chakraborty D, Kappei D, Theis M, Nitzsche A, Ding L, Paszkowski-Rogacz M, Surendranath V, Berger N, Schulz H, Saar K, Hubner N, Buchholz F. Combined RNAi and localization for functionally dissecting long noncoding RNAs. *Nat Methods* 2012; 9: 360-362 [PMID: 22327834 DOI: 10.1038/nmeth.1894]
- 11 夏天, 肖丙秀, 郭俊明. 长链非编码RNA的作用机制及其研究方法. *遗传* 2013; 35: 269-280
- 12 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]
- 13 Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, Stadler PF, Hertel J, Hackermüller J, Hofacker IL, Bell I, Cheung E, Drenkow J, Dumais E, Patel S, Helt G, Ganesh M, Ghosh S, Piccolboni A, Sementchenko V, Tammanna H, Gingeras TR. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007; 316: 1484-1488 [PMID: 17510325 DOI: 10.1126/science.1138341]
- 14 Spizzo R, Almeida MI, Colombatti A, Calin GA. Long non-coding RNAs and cancer: a new frontier of translational research? *Oncogene* 2012; 31: 4577-4587 [PMID: 22266873 DOI: 10.1038/onc.2011.621]
- 15 Chen LL, Carmichael GG. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 357-364 [PMID: 20356723 DOI: 10.1016/j.jceb.2010.03.003]
- 16 Gutschner T, Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view. *RNA Biol* 2012; 9: 703-719 [PMID: 22664915 DOI: 10.4161/rna.20481]
- 17 Cao X, Yeo G, Muotri AR, Kuwabara T, Gage FH. Noncoding RNAs in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2006; 29: 77-103 [PMID: 16776580 DOI: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.112839]
- 18 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell* 2009; 136: 629-641 [PMID: 19239885 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.006]
- 19 杨峰, 易凡, 曹慧青, 梁子才, 杜权. 长链非编码RNA研究进展. *遗传* 2014; 36: 456-468
- 20 Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 155-159 [PMID: 19188922 DOI: 10.1038/

- nrg2521]
- 21 Zanke BW, Greenwood CM, Rangrej J, Kustra R, Tenesa A, Farrington SM, Prendergast J, Olschwang S, Chiang T, Crowdy E, Ferretti V, Laflamme P, Sundararajan S, Roumy S, Olivier JF, Robidoux F, Sladek R, Montpetit A, Campbell P, Bezieau S, O'Shea AM, Zogopoulos G, Cotterchio M, Newcomb P, McLaughlin J, Younghusband B, Green R, Green J, Porteous ME, Campbell H, Blanche H, Sahbatou M, Tubacher E, Bonaiti-Pellié C, Buecher B, Riboli E, Kury S, Chanock SJ, Potter J, Thomas G, Gallinger S, Hudson TJ, Dunlop MG. Genome-wide association scan identifies a colorectal cancer susceptibility locus on chromosome 8q24. *Nat Genet* 2007; 39: 989-994 [PMID: 17618283 DOI: 10.1038/ng2089]
 - 22 Nissan A, Stojadinovic A, Mitrani-Rosenbaum S, Halle D, Grinbaum R, Roistacher M, Bochem A, Dayanc BE, Ritter G, Gomceli I, Bostanci EB, Akoglu M, Chen YT, Old LJ, Gure AO. Colon cancer associated transcript-1: a novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues. *Int J Cancer* 2012; 130: 1598-1606 [PMID: 21547902 DOI: 10.1002/ijc.26170]
 - 23 Alaiyan B, Ilyayev N, Stojadinovic A, Izadjoo M, Roistacher M, Pavlov V, Tzivin V, Halle D, Pan H, Trink B, Gure AO, Nissan A. Differential expression of colon cancer associated transcript1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence. *BMC Cancer* 2013; 13: 196 [PMID: 23594791 DOI: 10.1186/1471-2407-13-196]
 - 24 He X, Tan X, Wang X, Jin H, Liu L, Ma L, Yu H, Fan Z. C-Myc-activated long noncoding RNA CCAT1 promotes colon cancer cell proliferation and invasion. *Tumour Biol* 2014; 35: 12181-12188 [PMID: 25185650 DOI: 10.1007/s13277-014-2526-4]
 - 25 Kam Y, Rubinstein A, Naik S, Djavsarov I, Halle D, Ariel I, Gure AO, Stojadinovic A, Pan H, Tsivin V, Nissan A, Yavin E. Detection of a long non-coding RNA (CCAT1) in living cells and human adenocarcinoma of colon tissues using FIT-PNA molecular beacons. *Cancer Lett* 2014; 352: 90-96 [PMID: 23416875 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.014]
 - 26 Yang F, Xue X, Bi J, Zheng L, Zhi K, Gu Y, Fang G. Long noncoding RNA CCAT1, which could be activated by c-Myc, promotes the progression of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 437-445 [PMID: 23143645 DOI: 10.1007/s00432-012-1324-x]
 - 27 Bulger M, Groudine M. Functional and mechanistic diversity of distal transcription enhancers. *Cell* 2011; 144: 327-339 [PMID: 21295696 DOI: 10.1016/j.cell.2011.01.024]
 - 28 Kim TK, Hemberg M, Gray JM, Costa AM, Bear DM, Wu J, Harmin DA, Laptevich M, Barbara-Haley K, Kuersten S, Markenscoff-Papadimitriou E, Kuhl D, Bito H, Worley PF, Kreiman G, Greenberg ME. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers. *Nature* 2010; 465: 182-187 [PMID: 20393465 DOI: 10.1038/nature09033]
 - 29 Lam MT, Li W, Rosenfeld MG, Glass CK. Enhancer RNAs and regulated transcriptional programs. *Trends Biochem Sci* 2014; 39: 170-182 [PMID: 24674738 DOI: 10.1016/j.tibs.2014.02.007]
 - 30 Sanyal A, Lajoie BR, Jain G, Dekker J. The long-range interaction landscape of gene promoters. *Nature* 2012; 489: 109-113 [PMID: 22955621 DOI: 10.1038/nature11279]
 - 31 Mousavi K, Zare H, Dell'orso S, Grontved L, Gutierrez-Cruz G, Derfoul A, Hager GL, Sartorelli V. eRNAs promote transcription by establishing chromatin accessibility at defined genomic loci. *Mol Cell* 2013; 51: 606-617 [PMID: 23993744 DOI: 10.1016/j.molcel.2013.07.022]
 - 32 Younger ST, Rinn JL. 'Lnc'-ing enhancers to MYC regulation. *Cell Res* 2014; 24: 643-644 [PMID: 24777251 DOI: 10.1038/cr.2014.54]
 - 33 Lovén J, Hoke HA, Lin CY, Lau A, Orlando DA, Vakoc CR, Bradner JE, Lee TI, Young RA. Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers. *Cell* 2013; 153: 320-334 [PMID: 23582323 DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.036]
 - 34 Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, Abraham BJ, Lin CY, Kagey MH, Rahl PB, Lee TI, Young RA. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell* 2013; 153: 307-319 [PMID: 23582322 DOI: 10.1016/j.cell.2013.03.035]
 - 35 Xiang JF, Yin QF, Chen T, Zhang Y, Zhang XO, Wu Z, Zhang S, Wang HB, Ge J, Lu X, Yang L, Chen LL. Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the MYC locus. *Cell Res* 2014; 24: 513-531 [PMID: 24662484 DOI: 10.1038/cr.2014.35]
 - 36 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Bruggmann SA, Goodnough LH, Helms JA, Farnham PJ, Segal E, Chang HY. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129: 1311-1323 [PMID: 17604720 DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.022]
 - 37 Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammamaparast N, Wang JK, Lan F, Shi Y, Segal E, Chang HY. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329: 689-693 [PMID: 20616235 DOI: 10.1126/science.1192002]
 - 38 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.can-11-1021]
 - 39 Liu XH, Sun M, Nie FQ, Ge YB, Zhang EB, Yin DD, Kong R, Xia R, Lu KH, Li JH, De W, Wang KM, Wang ZX. Lnc RNA HOTAIR functions as a competing endogenous RNA to regulate HER2 expression by sponging miR-331-3p in gastric cancer. *Mol Cancer* 2014; 13: 92 [PMID: 24775712 DOI: 10.1186/1476-4598-13-92]
 - 40 李雨薇, 王裕民, 张雪莹, 薛丹, 卞彪, 潘序雅, 李小玲, 周鸣, 熊伟, 曾朝阳, 李桂源. 长链非编码RNA HOTAIR在恶性肿瘤中的研究进展. *生物化学与生物物理进展* 2015; 42: 228-235
 - 41 Bhan A, Hussain I, Ansari KI, Bobzean SA, Perrotti LI, Mandal SS. Bisphenol-A and diethylstilbestrol exposure induces the expression of breast cancer associated long noncoding RNA HOTAIR in vitro and in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 141: 160-170 [PMID: 24533973 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.02.002]

■同行评价

本文对lncRNA在CRC中表达和调控方面进行综述, 资料较丰富, 内容较翔实. 文笔较流畅, 可读性强, 有助于增加读者对LncRNA在CRC生物学行为中的作用了解.

- 42 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]
- 43 Ge XS, Ma HJ, Zheng XH, Ruan HL, Liao XY, Xue WQ, Chen YB, Zhang Y, Jia WH. HOTAIR, a prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma, inhibits WIF-1 expression and activates Wnt pathway. *Cancer Sci* 2013; 104: 1675-1682 [PMID: 24118380 DOI: 10.1111/cas.12296]
- 44 Pádua Alves C, Fonseca AS, Muys BR, de Barros E Lima Bueno R, Bürger MC, de Souza JE, Valente V, Zago MA, Silva WA. Brief report: The lincRNA Hota1r is required for epithelial-to-mesenchymal transition and stemness maintenance of cancer cell lines. *Stem Cells* 2013; 31: 2827-2832 [PMID: 24022994 DOI: 10.1002/stem.1547]
- 45 Wu ZH, Wang XL, Tang HM, Jiang T, Chen J, Lu S, Qiu GQ, Peng ZH, Yan DW. Long non-coding RNA HOTAIR is a powerful predictor of metastasis and poor prognosis and is associated with epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Oncol Rep* 2014; 32: 395-402 [PMID: 24840737 DOI: 10.3892/or.2014.3186]
- 46 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]
- 47 Svoboda M, Slysokova J, Schneiderova M, Makovicky P, Bielík L, Levy M, Lipska L, Hemmelova B, Kala Z, Protivankova M, Vycital O, Liska V, Schwarzova L, Vodickova L, Vodicka P. HOTAIR long non-coding RNA is a negative prognostic factor not only in primary tumors, but also in the blood of colorectal cancer patients. *Carcinogenesis* 2014; 35: 1510-1515 [PMID: 24583926 DOI: 10.1093/carcin/bgu055]
- 48 Xue Y, Ma G, Gu D, Zhu L, Hua Q, Du M, Chu H, Tong N, Chen J, Zhang Z, Wang M. Genome-wide analysis of long noncoding RNA signature in human colorectal cancer. *Gene* 2015; 556: 227-234 [PMID: 25456707 DOI: 10.1016/j.gene.2014.11.060]
- 49 黄凯, 孙陟, 徐迅, 张长乐. 消化道恶性肿瘤患者肿瘤组织长链非编码RNA-HOTAIR高表达与预后关系的Meta分析. *山东医药* 2015; 55: 46-49
- 50 Okugawa Y, Toiyama Y, Hur K, Toden S, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Mohri Y, Kusunoki M, Boland CR, Goel A. Metastasis-associated long non-coding RNA drives gastric cancer development and promotes peritoneal metastasis. *Carcinogenesis* 2014; 35: 2731-2739 [PMID: 25280565 DOI: 10.1093/carcin/bgu200]
- 51 Zhang Y, Tycko B. Monoallelic expression of the human H19 gene. *Nat Genet* 1992; 1: 40-44 [PMID: 1363808 DOI: 10.1038/ng0492-40]
- 52 Brannan CI, Dees EC, Ingram RS, Tilghman SM. The product of the H19 gene may function as an RNA. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 28-36 [PMID: 1688465]
- 53 Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer* 2011; 10: 38 [PMID: 21489289 DOI: 10.1186/1476-4598-10-38]
- 54 Matouk I, Raveh E, Ohana P, Lail RA, Gershtain E, Gilon M, De Groot N, Czerniak A, Hochberg A. The increasing complexity of the oncofetal h19 gene locus: functional dissection and therapeutic intervention. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 4298-4316 [PMID: 23429271 DOI: 10.3390/ijms14024298]
- 55 Hibi K, Nakamura H, Hirai A, Fujikake Y, Kasai Y, Akiyama S, Ito K, Takagi H. Loss of H19 imprinting in esophageal cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 480-482 [PMID: 8564957]
- 56 Cui H, Onyango P, Brandenburg S, Wu Y, Hsieh CL, Feinberg AP. Loss of imprinting in colorectal cancer linked to hypomethylation of H19 and IGF2. *Cancer Res* 2002; 62: 6442-6446 [PMID: 12438232]
- 57 Ariel I, Ayesh S, Perlman EJ, Pizov G, Tanos V, Schneider T, Erdmann VA, Podeh D, Komitowski D, Quasem AS, de Groot N, Hochberg A. The product of the imprinted H19 gene is an oncofetal RNA. *Mol Pathol* 1997; 50: 34-44 [PMID: 9208812]
- 58 Yang F, Bi J, Xue X, Zheng L, Zhi K, Hua J, Fang G. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS J* 2012; 279: 3159-3165 [PMID: 22776265 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08694.x]
- 59 薛开先. 表遗传学几个重要问题的述评. *遗传* 2014; 36: 286-294
- 60 樊红, 徐卫芳. 肿瘤中胰岛素样生长因子 II 基因印记及其丢失的机制. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2324-2328
- 61 Tian F, Tang Z, Song G, Pan Y, He B, Bao Q, Wang S. Loss of imprinting of IGF2 correlates with hypomethylation of the H19 differentially methylated region in the tumor tissue of colorectal cancer patients. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1536-1540 [PMID: 22427002 DOI: 10.3892/mmr.2012.833]
- 62 Nakagawa H, Chadwick RB, Peltomaki P, Plass C, Nakamura Y, de La Chapelle A. Loss of imprinting of the insulin-like growth factor II gene occurs by biallelic methylation in a core region of H19-associated CTCF-binding sites in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 591-596 [PMID: 11120891 DOI: 10.1073/pnas.011528698]
- 63 Ariel I, Sughayer M, Fellig Y, Pizov G, Ayesh S, Podeh D, Libdeh BA, Levy C, Birman T, Tykocinski ML, de Groot N, Hochberg A. The imprinted H19 gene is a marker of early recurrence in human bladder carcinoma. *Mol Pathol* 2000; 53: 320-323 [PMID: 11193051]
- 64 Yballe CM, Vu TH, Hoffman AR. Imprinting and expression of insulin-like growth factor-II and H19 in normal breast tissue and breast tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1607-1612 [PMID: 8636375 DOI: 10.1210/jcem.81.4.8636375]
- 65 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]
- 66 Cai X, Cullen BR. The imprinted H19 noncoding RNA is a primary microRNA precursor. *RNA* 2007; 13: 313-316 [PMID: 17237358 DOI: 10.1261/rna.351707]
- 67 Tsang WP, Ng EK, Ng SS, Jin H, Yu J, Sung JJ, Kwok TT. Oncofetal H19-derived miR-675

regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 350-358 [PMID: 19926638 DOI: 10.1093/carcin/bgp181]

68 Keniry A, Oxley D, Monnier P, Kyba M, Dandolo

L, Smits G, Reik W. The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. *Nat Cell Biol* 2012; 14: 659-665 [PMID: 22684254 DOI: 10.1038/ncb2521]

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》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506位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

合理应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究进展

王君辅, 张平峰, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪

■背景资料

直肠癌术后局部复发与脱落肿瘤细胞密切相关, 肠腔灌洗与腹腔热灌注化疗可减少游离脱落肿瘤细胞, 从而减少术后局部复发。灌洗液类型及灌洗量尚不明确。本研究对灌洗液类型的选择、灌洗量、灌洗的临床价值进行阐述。

王君辅, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

张平峰, 九江学院附属医院普外科 江西省九江市 332000

王君辅, 住院医师, 主要从事胃肠肿瘤的临床和基础研究。

作者贡献分布: 此文主要由王君辅完成; 此课题由李红浪设计; 本论文写作由王君辅完成; 资料收集由张平峰完成; 数据校对及文章修改由王君辅、谢勇、胡林及李昌荣完成。

通讯作者: 李红浪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科。lihonglang6802@163.com

电话: 0791-86312170

收稿日期: 2015-04-19 修回日期: 2015-06-29

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Reasonable application of rectal washout in surgery for rectal cancer: Influence on prognosis and recurrence

Jun-Fu Wang, Ping-Feng Zhang, Yong Xie, Lin Hu, Chang-Rong Li, Hong-Lang Li

Jun-Fu Wang, Yong Xie, Lin Hu, Chang-Rong Li, Hong-Lang Li, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Ping-Feng Zhang, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Jiujiang University, Jiujiang 332000 Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hong-Lang Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lihonglang6802@163.com

Received: 2015-04-19 Revised: 2015-06-29

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

The growth of residual tumor cells may cause postoperative colorectal anastomotic recurrence, which mainly exists in the intestine; however,

rectal washout can significantly reduce the number of free tumor cells in the intestinal cavity and decrease the local recurrence rate. Clinical application of rectal washout has been tried in operation, but the effect remains controversial. This paper mainly introduces the method of rectal washout, washout fluid type, amount of washout fluid, relation of rectal washout with local recurrence, with emphasis on the influence of reasonable application of rectal washout on prognosis and recurrence of rectal cancer after surgery.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal washout; Rectal cancer; Tumor cell; Recurrence

Wang JF, Zhang PF, Xie Y, Hu L, Li CR, Li HL. Reasonable application of rectal washout in surgery for rectal cancer: Influence on prognosis and recurrence. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3576-3581
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3576.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3576>

摘要

残留肿瘤细胞脱落种植可能引起结直肠术后吻合口复发, 其主要存在于肠管中, 然而肠腔灌洗可显著减少肠腔游离肿瘤细胞, 并降低局部复发率。临床中肠腔灌洗在手术中应用, 但其效果仍存在争议。本文主要介绍了肠腔灌洗的方法、灌洗液的类型、选择的灌洗量、与直肠癌术后局部复发的关系, 重点探讨合理的应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究概况。

■同行评议者

周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科; 赵青川, 主任医师, 教授, 西京医院消化外科; 顾岩, 教授, 主任医师, 上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠腔灌洗; 直肠癌; 肿瘤细胞; 预后复发

核心提示: 临床中直肠癌手术应该常规进行肠腔灌洗, 可减少术后局部复发, 对于冲洗液选择多选择生理盐水, 冲洗量达2000 mL, 才能清除肿瘤细胞, 对于肿瘤TNM分期晚、瘤体大及手术时间长的病例, 可行腹腔热灌注化疗, 有重要的临床意义。

王君辅, 张平峰, 谢勇, 胡林, 李昌荣, 李红浪. 合理应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3576–3581 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3576.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3576>

0 引言

随着医疗技术水平的不断提高, 直肠癌外科手术治疗已取得了长足的进步, 但存活率并未显著提高, 主要原因是术后复发率较高, 有学者^[1,2]报道直肠癌术后有5%-45%的患者出现术后局部复发, 多发生在2年内. 术后复发仍是影响存活率和病死率的重要原因之一, 复发率差异悬殊的原因很多^[3]. 直肠癌术后复发与淋巴转移、不完全的系膜切除及吻合口脱落的肿瘤细胞种植等^[4,5]因素密切相关, 尽管临床上全直肠系切除术(total mesorectal excision, TME)联合新辅助化疗及术后辅助治疗等^[6-8]方法的不断提高, 但术后局部复发继续发生. 在直肠癌根治术过程中牵拉、挤压、触摸等极有可能造成癌细胞脱落于肠腔, 有明确的证据证明肠腔脱落的游离癌细胞具有较强的种植能力, 脱落肿瘤细胞从肠管吻合口处溢出可能导致盆腔种植转移^[9-17], 吻合前如果不进行肠腔灌洗, 脱落的癌细胞极有可能种植于吻合口上引起术后肿瘤复发, 术中肠腔冲洗可减少或杀死脱落于腹腔的游离癌细胞, 是降低直肠癌术后复发率的一个至关重要的因素. 已有多种不同灌洗液在临床上应用, 如生理盐水、甲醛、溴棕三甲胺、聚维酮碘, 升汞, 洗必泰, 羟甲硫脲, 蒸馏水等, 效果尚不明确. 本文旨在探讨合理的应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究概况.

1 肠腔灌洗的方法

肠腔灌洗包括横行夹闭直肠上段, 远离肿瘤平

面, 但靠近预计切除部位, 再灌洗肛门至夹闭段肠腔, 具体操作是在完全游离直肠系膜后准备切除肿瘤之前, 充分扩肛后, 以无损伤钳在肿瘤平面以下夹闭肠管, 经肛门放入连接好注射器的冲洗管, 反复冲洗直至注入液和流出液同一颜色表明冲洗干净; 切除肿瘤完成吻合后, 以无损伤钳在吻合口平面以上夹闭肠管, 经肛门反复冲洗至干净. 对于肿瘤较大, 骨盆相对狭窄的患者, 上述操作难以完成的可在肿瘤下缘套扎粗的尼龙线. 对于肿瘤距肛缘很近不能夹闭和套扎的直接于肿瘤表面完成灌洗.

2 肠腔灌洗与直肠癌术后局部复发的关系

从病理角度上讲, 直肠癌的术后复发与肿瘤的Dukes分级、病理分型、细胞分化程度、有无远处转移等因素有关. 林国乐等^[18]通过分析肠腔冲洗液找到肿瘤细胞患者的临床资料, 发现肿瘤直径>3 cm, Duke B期以上, 有明确淋巴转移, 溃疡型肿瘤, 肿瘤分化较差者容易发生肿瘤细胞脱落. 而Maeda等^[19]研究发现高分化腺癌较中、低分化腺癌脱落的细胞多, 差异有统计学意义, 但结论与肿瘤大小, 肿瘤浸润程度, Dukes分期等无关. 戴冬秋等^[20]研究间接证实未分化癌较分化癌更易脱落. 宗华等^[21]认为TNM分期、手术时间及手术方式是肿瘤细胞脱落的决定因素.

直肠癌术后复发除与上述因素有关外, 还与脱落肿瘤细胞有关, 术中盆腔狭窄导致手术操作困难, 术中挤压肿瘤导致有活性的脱落细胞种植于手术创面, 这也是肿瘤复发的一个重要原因^[22], 术后复发的一个重要的因素是必须留有活性肿瘤细胞, 这些活性细胞主要来源于剩余肠管、残余肿瘤、残留淋巴结、直肠系膜以及游离的活性肿瘤细胞繁衍种植, 假如术前肿瘤穿孔或破裂、术中肿瘤保护不到位、挤压导致肿瘤细胞种植. 有学者^[23,24]证实脱落肿瘤细胞会大大增加肿瘤局部复发风险, 不清除干净可能种植在吻合口及结肠黏膜破损的创面上引起复发. 尽管新辅助化疗、全系膜切除术、术后辅助治疗在临床中广泛应用, 但术后复发率未见明显降低, 局部复发继续发生^[25]. 一些学者^[26,27]认为, 相比手工缝合, 全系膜切除术过程中吻合器的使用可能会加速术后复发, 术中任何机械损伤都可能导致游离的癌细胞漏入腹腔, 而游离的有活性的肿瘤细胞具有较强的种植能力, 是引起术后复发的一个因素. 有

■ 研究前沿

肠腔灌洗与腹腔热灌注化疗可减少游离脱落肿瘤细胞, 减少术后局部复发, 在临床中有着不错的前景.

■ 相关报道

宗华等研究表明直肠癌根治术中必须常规行肠腔内灌洗, 特别是肿瘤TNM分期晚、瘤体大及手术时间长的病例, 可减少术后局部复发率。

研究^[28]证实直肠癌和乙状结肠癌根治术中, 脱落的癌细胞藏匿于直肠隐窝内, 术中微小癌灶或癌细胞播散为直肠癌术后复发的主要原因之一。Maeda等^[19]对30例直肠癌患者行术中肠腔灌洗液进行研究分析, 发现29例灌洗液中都找到肿瘤细胞, 灌洗液中脱落肿瘤细胞阳性率高达79.9%, 可见灌洗液中存在脱落的肿瘤细胞, Kodeda等^[29]研究发现术中灌洗组5年局部复发率为6.0%, 未灌洗组5年局部复发率为10.2%, 差异具有统计学意义($P<0.001$)。脱落肿瘤细胞是引起肿瘤复发的重要因素, 这些都意味着减少或杀死游离的癌细胞是降低复发率的一个关键因素。越来越多的学者把目光投向询证医学进行Meta分析, 发现肠腔灌洗能显著减少肠腔游离肿瘤细胞, 并降低局部复发率, 理论上说明术中肠腔灌洗可降低直肠癌局部复发率, 并且直肠癌根治术过程中肠腔灌洗是必要的^[30]。

3 肠腔灌洗液类型的选择

3.1 生理盐水 Church等^[31]认为肠腔灌洗消除肿瘤细胞是一个机械过程, 并非药物作用, 因此生理盐水在诸多细胞学研究中应用最多, 其原因在于他可保持细胞的正常形态, 不破坏改变细胞活性。我们对既往20年中有关术中肠腔灌洗液进行分析, 发现冲洗液选用生理盐水的效果可能优于其他消毒液, 生理盐水应用安全, 不会引起不良反应^[32]。Matsuda等^[33]分析了各种类型灌液, 表明单纯的生理盐水效果更理想。Fukuda等^[34]采用30 mL注射器对135例直肠癌患者用生理盐水进行残留直肠灌洗, 灌洗20次后再进行肠管吻合, 26例患者接受灌洗作为实验组, 其余未接受灌洗为对照组, 观察发现实验组中未见复发而对照组中局部复发率达11%, 差异有统计学意义($P<0.05$), 结果显示应用生理盐水实施灌洗后再进行肠管吻合是一种防止直肠癌术后局部复发的有效方法。近年来越来越多的研究采用生理盐水作为直肠癌术中肠腔灌洗液, 都取得了不错的效果^[35,36]。在灌洗液选择中建议尽量选择无破坏安全性高的液体作为灌洗液, 以免引起不良反应。

3.2 消毒液 已有大量不同的灌洗液被提出使用, 例如: 甲醛、溴棕三甲胺、聚维酮碘, 升汞, 洗必泰, 羟甲硫脲, 蒸馏水等, 在这些消毒液中聚维酮碘和洗必泰灌洗的效果较好, 这两

种药物细胞有效作用浓度范围较广, 都能起到迅速灭活作用。0.2%的升汞基本可达到相同的效果, 但羟甲硫脲的效果较差^[37]。有学者^[38,39]认为消毒液以(例如十六烷基三甲基溴化铵和氯己定, 碘等)破坏游离癌细胞的结构从而杀死癌细胞, 冲洗后引起严重的并发症, 而生理盐水不会改变细胞形态及杀死细胞, 可见其效果不如生理盐水。直肠冲洗可消除游离的癌细胞, 主要是通过机械冲洗, 而不是通过消毒液来杀死癌细胞。Agaba^[40]对90例直肠癌患者在进行肠管吻合之前使用1%溴棕三甲胺进行直肠灌洗, 51例吻合之前未直肠灌洗。两组局部复发率进行比较, 结果显示灌洗组的局部复发率为4.4%($n=4$)与未灌洗组为5.9%($n=3$)。Long等^[41]采用甲醛液对直肠癌患者进行术中肠腔灌洗, 其中40例接受灌洗为实验组, 145例未接受灌洗为对照组, 灌洗组患者局部复发率为2.6%和未经治疗的患者的复发率为14.3%。5年存活率分别为66.6%和50.5%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。研究结果表明, 在打开病灶前行肠道腔内灌洗是减少大肠癌切除后局部复发的有效方法。可见消毒液在冲洗过程中不仅可以机械作用减少肿瘤细胞, 同时还可杀死癌细胞以达到双重作用, 但在应用过程中可能出现严重的不良反应。亦有学者不赞同上述观点, Terzi等^[42]对96例直肠癌患者的治疗进行监测, 采用5%聚维酮碘进行灌洗, 冲洗组局部复发率为8%, 未冲洗组为3.4%($P=0.338$), 有87%患者可在圆形吻合器上找到癌细胞和其他细胞, 故认为术中肠腔灌洗作用不明确。

4 灌洗液的灌洗量

为了达到彻底清除肠腔内游离的肿瘤细胞, 多大的冲洗量能完全清除肿瘤细胞尚不知道, 最佳剂量因每个中心应用的方法不一, 尚无一致观点。Terzi等^[42]报道, 将500 mL冲洗液定为灌洗常用量, 但发现很难完全清除游离的恶性肿瘤细胞, 建议灌洗量必须 >500 mL。Jenner等^[43]的研究对20例直肠癌患者进行术中肠腔灌洗, 用200-500 mL生理盐水对10例患者进行术中肠腔灌洗, 吻合完再对圆形吻合器冲洗液进行肿瘤细胞检测, 均未检测到肿瘤细胞, 而没有接受灌洗的对照组10例中有9例发现肿瘤细胞。毕建军等^[44]认为冲洗量应 >1000 mL方可达到冲洗彻底效果。Maeda等^[19]总结生理盐水冲洗

确定疗效的冲洗量, 将生理盐水用量增大到 2000 mL, 但 30 例患者中仍有 1 例患者最后仍找到少量肿瘤细胞。同时他们发现腹膜反折以下的肿瘤需 1.5 L 生理盐水, 腹膜反折以上的至少需要 2 L 生理盐水灌洗, 才能清除腹腔游离的肿瘤细胞, 并且至少冲洗 3 次以上。然而灌洗次数及灌洗液体量的增加势必会延长手术时间, 增大手术风险, 加重患者的经济负担, 患者家属及外科医生不愿意接受这种风险。近年来 Maeda 等^[19]应用改良的灌洗器, 灌洗 2 L 生理盐水平均用时只要 3 min, 为我们肠腔灌洗争取了时间, 为我们手术提供了便利, 从而降低了手术风险。

5 结论

肿瘤术后复发无疑会增加患者心理负担、严重影响患者生活质量和生命。肿瘤的复发主要与淋巴转移、不完全的系膜切除及吻合口脱落的肿瘤细胞种植等因素密切相关, 有关肠腔脱落肿瘤细胞近年来备受关注。针对肿瘤细胞脱落目前临床采用了几种方法: (1) 肠腔灌洗; (2) 隔离法: 选用一定厚度的纱布 8-10 层包裹肿瘤, 即无瘤术; (3) 腹腔内热灌注化疗: 药物化疗、集体热效应和肠腔灌洗三者结合的综合疗法。

术中肿瘤脱落细胞与种植复发密切相关, 严格预防或消除脱落肿瘤细胞是降低患者术后复发的关键所在, 术中应严格把握无瘤技术, 即便如此也很难彻底避免游离脱落细胞。如肿瘤侵犯肠管浆膜层游离肿瘤细胞脱落腹腔, 肿瘤细胞从肠管吻合口溢出等情况, 仅行肠腔灌洗是不够的, 应联合腹腔热灌注化疗热灌注化疗是预防与治疗结直肠腹膜转移的有效方法, 具有独特疗效^[45-50]。这样一内一外, 可以达到意想不到的效果。

鉴于肠灌洗过程简单、快捷、相对安全、廉价, 与其他一些直肠癌的治疗干预措施比较创伤小, 术中肠腔灌洗是合理的, 我们直肠癌根治术过程中应常规行进肠腔灌洗, 并尽可能增加冲洗液体量(>2 L)及冲洗次数(>3 次), 对于 Duck 分期 B 和 C 期的低位直肠癌患者应当是增加灌洗量和灌洗次数。冲洗液选择安全性高的两种冲洗液配合起来使用(生理盐水、聚维酮碘等), 并且及时进行术后辅助化疗预防患者局部复发以提高术后存活率, 具有较好的

临床推广价值。术中肠腔灌洗存在以下几个问题: (1) 具体的灌洗装置; (2) 明确灌洗液类型及冲洗效果; (3) 随访时间短, 研究的样本甚少不能表现出统计学意义, 临床难以广泛应用。腹腔镜下行术中肠腔灌洗具有独特优势, 放大术野更加清晰, 进入狭窄部位空间感更大, 减少了触碰和挤压肿瘤的机会, 解剖间隙更加清楚, 但 CO₂ 气腹对肿瘤脱落有无影响, 是否会加剧肿瘤复发不得而知。

总之, 直肠癌根治术中, 肿瘤细胞脱落必然会发生, 而术中肠腔灌洗可清除或减少创面脱落的肿瘤细胞。灌洗液生理盐水和消毒液各自有优缺点, 建议两种冲洗液配合起来使用, 生理盐水用于肠腔清洁, 清除残留肿瘤组织和脱落于创面的恶性肿瘤细胞, 必要时再用杀死肿瘤细胞的消毒液灌洗肠腔以达到完全清除游离癌细胞。如何进行肠腔灌洗以及选用何种类型的冲洗液还需进一步研究。

6 参考文献

- Davies M, Harris D, Hirst G, Beynon R, Morgan AR, Carr ND, Beynon J. Local recurrence after abdomino-perineal resection. *Colorectal Dis* 2009; 11: 39-43 [PMID: 19076836 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01520.x]
- Constantinides VA, Cheetham D, Nicholls RJ, Tekkis PP. Is rectal washout effective for preventing localized recurrence after anterior resection for rectal cancer? *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1339-1344 [PMID: 18470561 DOI: 10.1007/s10350-008-9308-2]
- Bhangu A, Ali SM, Darzi A, Brown G, Tekkis P. Meta-analysis of survival based on resection margin status following surgery for recurrent rectal cancer. *Colorectal Dis* 2012; 14: 1457-1466 [PMID: 22356246 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03005.x]
- Heimann TM, Szporn A, Bolnick K, Aufses AH. Local recurrence following surgical treatment of rectal cancer. Comparison of anterior and abdominoperineal resection. *Dis Colon Rectum* 1986; 29: 862-864 [PMID: 3792168 DOI: 10.1007/BF02555364]
- Michelassi F, Vannucci L, Ayala JJ, Chappel R, Goldberg R, Block GE. Local recurrence after curative resection of colorectal adenocarcinoma. *Surgery* 1990; 108: 787-792; discussion 792-793 [PMID: 2218892]
- Heald RJ, Moran BJ, Ryall RD, Sexton R, MacFarlane JK. Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978-1997. *Arch Surg* 1998; 133: 894-899 [PMID: 9711965 DOI: 10.1001/archsurg.133.8.894]
- Sebag-Montefiore D, Stephens RJ, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Quirke P, Couture J, de Metz C, Myint AS, Bessell E, Griffiths G, Thompson LC, Parmar M. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in

应用要点

本研究总结了肠腔灌洗与直肠癌术后局部复发的关系, 不同灌洗液的优缺点、灌洗液类型选择以及灌洗量的掌控。合理应用肠腔灌洗液具有较重要的临床意义, 仅行肠腔灌洗不能杜绝脱落肿瘤细胞的腹腔种植, 应联合腹腔灌注热化疗。

同行评价

本文着重阐述了合理应用肠腔灌洗液对直肠癌手术预后复发影响的研究进展,系统分析了国内外肠腔灌洗的不同方法、不同灌洗液类型以及灌洗量和灌洗次数与直肠癌预后的关系,结合临床工作,具有较好的临床意义。

- patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial. *Lancet* 2009; 373: 811-820 [PMID: 19269519 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60484-0]
- 8 Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, Pahlman L, Glimelius B, van Krieken JH, Leer JW, van de Velde CJ. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 638-646 [PMID: 11547717 DOI: 10.1056/NEJMoa010580]
- 9 Mathis KL, Larson DW, Dozois EJ, Cima RR, Huebner M, Haddock MG, Wolff BG, Nelson H, Pemberton JH. Outcomes following surgery without radiotherapy for rectal cancer. *Br J Surg* 2012; 99: 137-143 [PMID: 22052336 DOI: 10.1002/bjs.7739]
- 10 Umpleby HC, Fermor B, Symes MO, Williamson RC. Viability of exfoliated colorectal carcinoma cells. *Br J Surg* 1984; 71: 659-663 [PMID: 6478151 DOI: 10.1002/bjs.1800710902]
- 11 Skipper D, Cooper AJ, Marston JE, Taylor I. Exfoliated cells and in vitro growth in colorectal cancer. *Br J Surg* 1987; 74: 1049-1052 [PMID: 3690235 DOI: 10.1002/bjs.1800741130]
- 12 Rygick AN, Fain SN, Pestovskaja GN. Viability of cancer cells penetrating tissues during operations for cancer of the rectum. *Dis Colon Rectum* 1969; 12: 351-356 [PMID: 5823089 DOI: 10.1007/BF02617748]
- 13 Symes MO, Fermor B, Umpleby HC, Tribe CR, Williamson RC. Cells exfoliated from colorectal cancers can proliferate in immune deprived mice. *Br J Cancer* 1984; 50: 423-425 [PMID: 6466549 DOI: 10.1038/bjc.1984.193]
- 14 Umpleby HC, Williamson RC. Anastomotic recurrence in large bowel cancer. *Br J Surg* 1987; 74: 873-878 [PMID: 3311277 DOI: 10.1002/bjs.1800741003]
- 15 Hubens G, Lafullarde T, Van Marck E, Vermeulen P, Hubens A. Implantation of colon cancer cells on intact and damaged colon mucosa and serosa: an experimental study in the rat. *Acta Chir Belg* 1994; 94: 258-262 [PMID: 7976066]
- 16 McGregor JR, Galloway DJ, McCulloch P, George WD. Anastomotic suture materials and implantation metastasis: an experimental study. *Br J Surg* 1989; 76: 331-334 [PMID: 2541860 DOI: 10.1002/bjs.1800760405]
- 17 Ng JW. Is on-table rectal stump washout necessary? *ANZ J Surg* 2007; 77: 1028-1029 [PMID: 17931279 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2007.04309.x]
- 18 林国乐, 邱辉忠, 张太平. 结直肠癌患者手术中腹腔及肠腔脱落细胞学研究. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 396-398
- 19 Maeda K, Maruta M, Hanai T, Sato H, Horibe Y. Irrigation volume determines the efficacy of "rectal washout". *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1706-1710 [PMID: 15540303 DOI: 10.1007/s10350-004-0659-z]
- 20 戴冬秋, 陈峻青. E-钙黏附素及 α -链接素的表达与胃癌生物学行为及淋巴结转移规律的关系. *中华肿瘤杂志* 2001; 23: 35-38
- 21 宗华, 潘凯, 夏利刚, 陈小春, 钟克力, 李明伟, 林烈文, 朱畅. 直肠癌根治术中影响肠腔肿瘤细胞脱落的多因素分析. *中国普外基础与临床杂志* 2009; 16: 304-307
- 22 郁宝铭. 大肠癌复发转移的预防和治疗直肠癌复发的原因与对策. *中国实用外科杂志* 2002; 22: 323-325
- 23 Zirngibl H, Husemann B, Hermanek P. Intraoperative spillage of tumor cells in surgery for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 610-614 [PMID: 2361432 DOI: 10.1007/BF02052218]
- 24 Slanetz CA. The effect of inadvertent intraoperative perforation on survival and recurrence in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 792-797 [PMID: 6389051 DOI: 10.1007/BF02553942]
- 25 Tsunoda A, Shibusawa M, Kawamura M, Murakami M, Kusano M. Recurrent colonic cancer developing at the site of a stapled stump: report of a case. *Surg Today* 1997; 27: 457-459 [PMID: 9130352 DOI: 10.1007/BF02385713]
- 26 Anderberg B, Enblad P, Sjödal R, Wetterfors J. Recurrent rectal carcinoma after anterior resection and rectal stapling. *Br J Surg* 1984; 71: 98-100 [PMID: 6692125 DOI: 10.1002/bjs.1800710206]
- 27 Hurst PA, Prout WG, Kelly JM, Bannister JJ, Walker RT. Local recurrence after low anterior resection using the staple gun. *Br J Surg* 1982; 69: 275-276 [PMID: 7074339 DOI: 10.1002/bjs.1800690515]
- 28 Sayfan J, Averbuch F, Koltun L, Benyamin N. Effect of rectal stump washout on the presence of free malignant cells in the rectum during anterior resection for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1710-1712 [PMID: 11156455 DOI: 10.1007/BF02236855]
- 29 Kodeda K, Holmberg E, Jörgren F, Nordgren S, Lindmark G. Rectal washout and local recurrence of cancer after anterior resection. *Br J Surg* 2010; 97: 1589-1597 [PMID: 20672364 DOI: 10.1002/bjs.7182]
- 30 Rondelli F, Trastulli S, Cirocchi R, Avenia N, Mariani E, Sciannameo F, Noya G. Rectal washout and local recurrence in rectal resection for cancer: a meta-analysis. *Colorectal Dis* 2012; 14: 1313-1321 [PMID: 22150936 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02903.x]
- 31 Church JM, Gibbs P, Chao MW, Tjandra JJ. Optimizing the outcome for patients with rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 389-402 [PMID: 12626917 DOI: 10.1007/s10350-004-6561-x]
- 32 王君辅, 谢勇, 胡林, 李红浪. 直肠癌根治术中不同类型冲洗液选择对术后复发影响的荟萃分析. *实用医学杂志* 2013; 29: 3065-3069
- 33 Matsuda A, Kishi T, Musso G, Matsutani T, Yokoi K, Wang P, Uchida E. The effect of intraoperative rectal washout on local recurrence after rectal cancer surgery: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 856-863 [PMID: 22987097 DOI: 10.1245/s10434-012-2660-4]
- 34 Fukuda I, Kameyama M, Imaoka S, Furukawa H, Ishikawa O, Kabuto T, Sasaki Y, Koyama H, Iwanaga T. [Prevention of local recurrence after sphincter-saving resection for rectal cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1991; 18: 1965-1967 [PMID: 1877839]
- 35 Kawahara H, Hirai K, Aoki T, Sato K, Ono M, Suzuki T. Usefulness of intraluminal lavage for post-operative anastomosis recurrence in rectal cancer cases with double stapling technique. *Nippon Rinsho Geka Gakkai Zasshi* 1998; 31: 56-60 [DOI: 10.5833/jjgs.31.56]
- 36 Nakano M, Negami N, Sengoku H, Suda S, Tanaka M, Tomiki Y, Sakamoto K, Kamano T. Examination of exfoliated malignant cells collected with intraluminal lavage in anterior resection [in

- Japanese]. *Juntendo Igaku* 2004; 50: 373-379 [DOI: 10.14789/pjmj.50.373]
- 37 Umpleby HC, Williamson RC. The efficacy of agents employed to prevent anastomotic recurrence in colorectal carcinoma. *Ann R Coll Surg Engl* 1984; 66: 192-194 [PMID: 6232888]
 - 38 Liu SY, Lee JF, Ng SS, Li JC, Yiu RY. Rectal stump lavage: simple procedure resulting in life-threatening complication. *Asian J Surg* 2007; 30: 72-74 [PMID: 17337376 DOI: 10.1016/S1015-9584(09)60132-9]
 - 39 Docherty JG, McGregor JR, Purdie CA, Galloway DJ, O'Dwyer PJ. Efficacy of tumoricidal agents in vitro and in vivo. *Br J Surg* 1995; 82: 1050-1052 [PMID: 7648150 DOI: 10.1002/bjs.1800820816]
 - 40 Agaba EA. Does rectal washout during anterior resection prevent local tumor recurrence? *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 291-296 [PMID: 14991490 DOI: 10.1007/s10350-003-0046-1]
 - 41 Long RT, Edwards RH. Implantation metastasis as a cause of local recurrence of colorectal carcinoma. *Am J Surg* 1989; 157: 194-201 [PMID: 2916734 DOI: 10.1016/0002-9610(89)90527-8]
 - 42 Terzi C, Unek T, Sağol O, Yılmaz T, Füzün M, Sökmen S, Ergör G, Küpelioglu A. Is rectal washout necessary in anterior resection for rectal cancer? A prospective clinical study. *World J Surg* 2006; 30: 233-241 [PMID: 16425079 DOI: 10.1007/s00268-005-0300-x]
 - 43 Jenner DC, de Boer WB, Clarke G, Levitt MD. Rectal washout eliminates exfoliated malignant cells. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1432-1434 [PMID: 9823812 DOI: 10.1007/BF02237063]
 - 44 毕建军, 周志祥, 李中林, 赵宏, 白晓枫, 周健国, 赵东兵. 直肠癌前切除术中直肠冲洗64例分析. *肿瘤学杂志* 2008; 14: 831-833
 - 45 Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, van Sloothen GW, van Tinteren H, Boot H, Zoetmulder FA. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3737-3743 [PMID: 14551293 DOI: 10.1200/JCO.2003.04.187]
 - 46 Elias D, Benizri E, Di Pietrantonio D, Menegon P, Malka D, Raynard B. Comparison of two kinds of intraperitoneal chemotherapy following complete cytoreductive surgery of colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 509-514 [PMID: 17096054 DOI: 10.1245/s10434-006-9167-9]
 - 47 Yan TD. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: standard of care. *Ann Surg* 2006; 244: 632-633; author reply 633-634 [PMID: 16998376 DOI: 10.1097/01.sla.0000239629.96036.cd]
 - 48 何建苗, 蒲永东. 胃癌患者腹腔游离癌细胞的监测与腹腔灌注化疗. *中国普外基础与临床杂志* 2002; 9: 156-158
 - 49 Franko J, Gusani NJ, Holtzman MP, Ahrendt SA, Jones HL, Zeh HJ, Bartlett DL. Multivisceral resection does not affect morbidity and survival after cytoreductive surgery and chemoperfusion for carcinomatosis from colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 3065-3072 [PMID: 18712450 DOI: 10.1245/s10434-008-0105-x]
 - 50 Zanon C, Bortolini M, Chiappino I, Simone P, Bruno F, Gaglia P, Airolidi M, Deriu L, Mashiah A. Cytoreductive surgery combined with intraperitoneal chemohyperthermia for the treatment of advanced colon cancer. *World J Surg* 2006; 30: 2025-2032 [PMID: 17058031 DOI: 10.1007/s00268-005-0486-y]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



芍药苷通过调节Caspase3活性及核因子 κ B信号通路诱导HepG2肝癌细胞凋亡

白春阳, 王红雷

■背景资料

肝癌是世界上常见恶性肿瘤之一, 目前其主要治疗手段为手术, 但术后复发、转移率高。而芍药苷(paeoniflorin, PF)是从毛茛科植物芍药(*Paeonia Lactiflora Pall*)中提取的有效单体成分, 具有抗各种肿瘤活性, 因此本文通过一定剂量芍药苷作用于肝癌细胞HepG2, 并探讨其机制。

白春阳, 南阳市第二人民医院医务部 河南省南阳市 473012
王红雷, 南阳市第二人民医院肝胆外科 河南省南阳市 473012

白春阳, 主治医师, 主要从事消化内科的研究。

作者贡献分布: 本文主要由白春阳与王红雷共同写作完成。

通讯作者: 白春阳, 主治医师, 473012, 河南省南阳市建设路66号, 南阳市第二人民医院医务部。

baichunyangwei@yeah.net

电话: 0377-61609970

收稿日期: 2015-04-16 修回日期: 2015-05-10

接受日期: 2015-06-25 在线出版日期: 2015-08-08

Paeoniflorin induces HepG2 cell apoptosis by regulating Caspase3 activation and nuclear factor kappa B signaling pathway

Chun-Yang Bai, Hong-Lei Wang

Chun-Yang Bai, Medical Service Division, Nanyang Second People's Hospital, Nanyang 473012, He'nan Province, China

Hong-Lei Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanyang Second People's Hospital, Nanyang 473012, He'nan Province, China

Correspondence to: Chun-Yang Bai, Attending Physician, Medical Service Division, Nanyang Second People's Hospital, 66 Jianshe East Road, Nanyang 473012, He'nan Province, China. baichunyangwei@yeah.net

Received: 2015-04-16 Revised: 2015-05-10

Accepted: 2015-06-25 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To explore the effect of paeoniflorin on apoptosis of HepG2 cells and the underlying mechanisms.

METHODS: HepG2 cells were treated with

different concentrations of paeoniflorin (0.5, 1.0, and 2.0 mg/mL). The viability of cells was detected by MTT assay. Apoptotic cells were detected by Annexin V-FITC flow cytometry. Caspase3 activity was measured with a colorimetric assay kit. The expression of nuclear factor kappa-B (NF- κ B) related proteins was detected by Western blot.

RESULTS: Compared with the control group, paeoniflorin at concentrations of 0.5, 1.0, and 2.0 mg/mL could reduce cell viability, and the inhibitory rate peaked at 48 h ($P < 0.05$). Compared with the control group, paeoniflorin at concentrations of 0.5, 1.0, and 2.0 mg/mL could promote cell apoptosis, increase Caspase3 activity, and suppress NF- κ B p65 phosphorylation ($P < 0.05$). Paeoniflorin at concentrations of 1.0 and 2.0 mg/mL could suppress I κ B α phosphorylation ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Paeoniflorin induces apoptosis of HepG2 cells possibly *via* the NF- κ B signal pathway.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Paeoniflorin; HepG2 cells; Apoptosis; Nuclear factor kappa B signaling pathway; Phosphorylation

Bai CY, Wang HL. Paeoniflorin induces HepG2 cell apoptosis by regulating Caspase3 activation and nuclear factor kappa B signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3582-3586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3582.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3582>

■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

摘要

目的: 探讨芍药苷(paeoniflorin)对HepG2肝癌细胞凋亡诱导作用, 并考察其作用机制。

方法: 用不同浓度芍药苷(0.5、1.0、2.0 mg/mL)对HepG2肝癌细胞进行给药, MTT法检测细胞活力, Annexin V-FITC流式细胞法检测细胞凋亡情况, 酶标法检测Caspase3活性, Western blot检测核因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)信号通路相关蛋白表达。

结果: 与对照组比较, 0.5、1.0、2.0 mg/mL芍药苷能逐渐降低HepG2肝癌细胞活力, 且在48 h, 抑制率最高($P<0.05$); 与对照组比较, 0.5、1.0、2.0 mg/mL芍药苷能逐渐促进HepG2肝癌细胞凋亡并提高Caspase3活性($P<0.05$), 还能显著抑制IκBα磷酸化, 从而促进细胞凋亡; 并且1.0、2.0 mg/mL芍药苷能抑制细胞核内NF-κB p65磷酸化($P<0.05$)。

结论: PF可能通过激活Caspase3活性以及抑制NF-κB p65和pIκBα表达促进HepG2细胞凋亡。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 芍药苷; HepG2肝癌细胞; 凋亡; 核因子κB信号通路; 磷酸化

核心提示: 芍药苷可通过抑制核因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)信号通路, 来抑制胃癌细胞增殖, 且芍药苷具有抗肝癌作用; Caspase3及NF-κB活性促进细胞凋亡是治疗肿瘤的有效手段之一, 因此本文拟通过调节Caspase3活性及NF-κB信号通路来探讨芍药苷对肝癌细胞凋亡的抑制作用。

白春阳, 王红雷. 芍药苷通过调节Caspase3活性及核因子κB信号通路诱导HepG2肝癌细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3582–3586 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3582.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3582>

0 引言

肝癌是世界上常见恶性肿瘤之一, 目前其主要治疗手段为手术, 但术后复发、转移率高。因此, 寻求有效治疗肝癌, 降低复发率的药物成为研究热点。芍药苷(paeoniflorin, PF)是从毛茛科植物芍药(*Paeonia Lactiflora Pall*)中提取的有

效单体成分, 具有抗各种肿瘤活性^[1-4]。已有报道^[1]芍药苷可上调Bax、p53表达, 下调Bcl-2表达, 从而促进HepG2肝癌细胞凋亡, 但其具体机制还尚未可知。并且芍药苷可通过抑制核因子κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)信号通路, 来抑制胃癌细胞增殖^[4,5], 因此本课题在此基础上探讨芍药苷是否也是通过抑制NF-κB信号通路, 来诱导HepG2肝癌细胞凋亡。

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2肝癌细胞, 购自美国标准生物品收藏中心(American Type Culture Collection, ATCC), 细胞培养在含10%胎牛血清的DMEM培养基中。芍药苷购自中国药品生物制品检定所。其余的材料包括: 四唑盐试剂(MTT)(Sigma公司); BCA法蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术有限公司); ECL超敏发光液(碧云天生物技术有限公司); 小鼠p65抗体(碧云天生物技术有限公司); β-actin(碧云天生物技术有限公司); 兔核因子κB抑制因子α(nuclear factor of kappa B inhibitor alpha, IκBα)抗体(Epitmics公司); 兔抗pp65抗体(Epitmics公司); Caspase3分光光度法检测试剂盒(南京凯基生物技术有限公司); 胎牛血清(Gbico公司); DMEM培养基(Gbico公司); CO₂培养箱(Thermo Scientific公司); 超净工作台(Thermo Scientific公司); Tecan Infinite F200/M200型多功能酶标仪(瑞士TECAN集团公司); ChemiDoc™ XRS凝胶成像系统(Bio-Rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 MTT实验: 将80%左右融合的HepG2肝癌细胞消化, 细胞浓度调整为 4×10^3 个细胞/mL, 接种, 37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养24 h。加入含PF[终浓度(0.5、1.0、2.0 mg/mL)]DMEM培养基, 继续培养24、48、72 h, 加MTT(5 mg/mL) 20 μL, 培养4 h后, 弃上清, 加DMSO 150 μL, 10 min左右后, 570 nm处测定吸光度(A)值。计算药物对细胞生长的抑制率。

1.2.2 Annexin V-FITC流式细胞法检测软骨细胞凋亡: 细胞培养同1.2.1, 培养48 h。加入含PF[终浓度(0.5、1.0、2.0 mg/mL)]DMEM培养基, 按照Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒说明书的方法, 用0.25%的胰蛋白酶(不含EDTA)消化, PBS洗涤, 2000 r/min离心5 min, 收集细胞; 加入Binding Buffer 500 μL悬浮细

■ 相关报道

朱开梅等报道八角中莽草酸可通过抑制NF-κB p65活性, 从而抑制人肝癌HepG2细胞增殖。本实验结果也表明芍药苷能抑制HepG2肝癌细胞NF-κBp65, IκBα蛋白磷酸化, 最终提高Caspase3活性, 诱导肿瘤细胞凋亡。

创新点

芍药苷可通过激活Caspase3活性以及抑制pp65和pI κ B α 表达促进HepG2细胞凋亡。

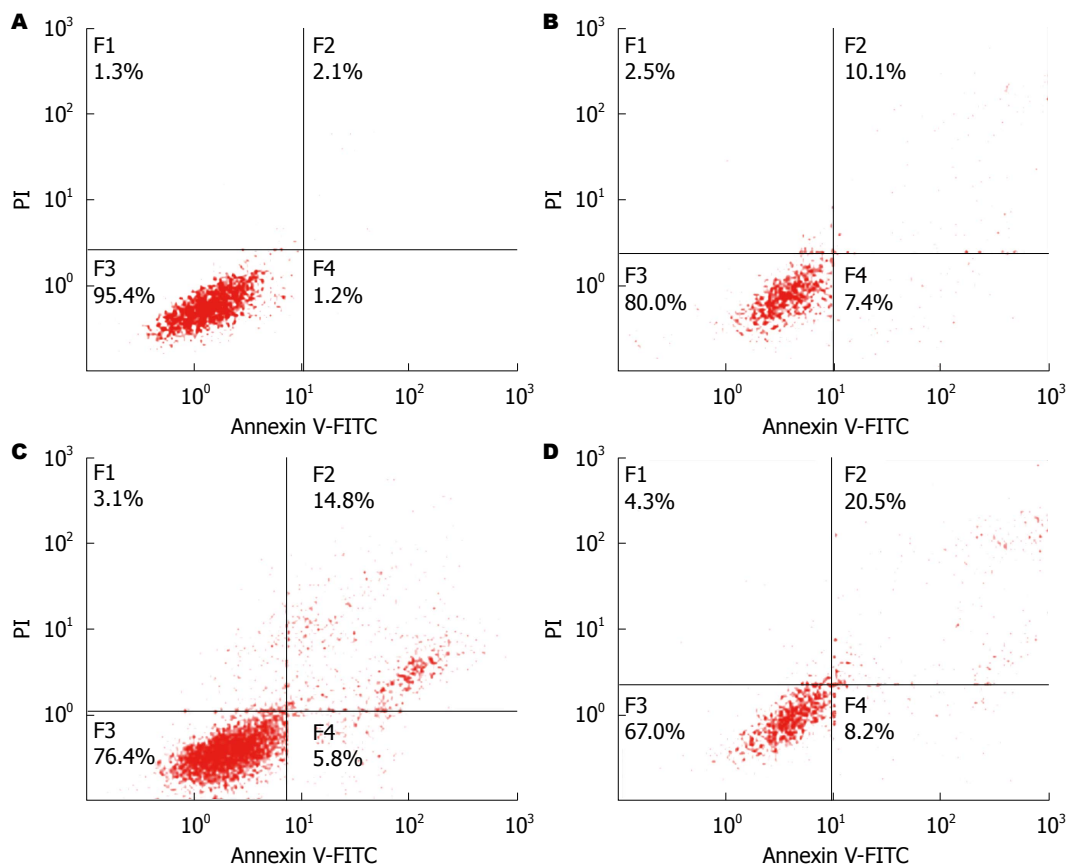


图1 不同浓度芍药苷对HepG2肝癌细胞凋亡诱导作用. A: 对照组; B: 0.5 mg/mL; C: 1.0 mg/mL; D: 2.0 mg/mL.

胞, 随后加入Annexin V-FITC 5 μ L混匀后, 加入PI 5 μ L, 混匀, 于室温避光反应5-15 min, 在1 h内进行流式细胞仪检测。

1.2.3 Caspase3酶活性检测: 按照Caspase3酶活性检测试剂盒说明书进行操作, 收集细胞, 裂解, 加底物, 显色, 于405 nm处测定A值。

1.2.4 Western blot收集细胞: 加入RIPA裂解液, 收获蛋白. 根据BCA试剂盒对蛋白浓度进行测定. 跑SDS凝胶电泳, 后湿法转膜. 孵一抗过夜, 二抗1 h, 后在膜上滴加ECL曝光液, 在凝胶成像系统中曝光. 用“Quantity one”软件对各抗体条带灰度值进行统计。

统计学处理 采用SPSS17.0统计分析, 所有数据至少重复3次, 并用mean \pm SD表示, 两组之间差异显著性经t检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 芍药苷抑制HepG2肝癌细胞的增殖 如表1所示, 随着给药浓度的增加(0.5、1.0、2.0 mg/mL), 芍药苷对HepG2肝癌细胞抑制作用逐渐增强, 在2.0 mg/mL时抑制率最大($P<0.05$); 随着24、

48 h给药时间增加, 芍药苷对HepG2肝癌细胞抑制作用也逐渐增强, 其中48、72 h作用强度一致, 所以在后续实验中我们选取48 h作为给药浓度。

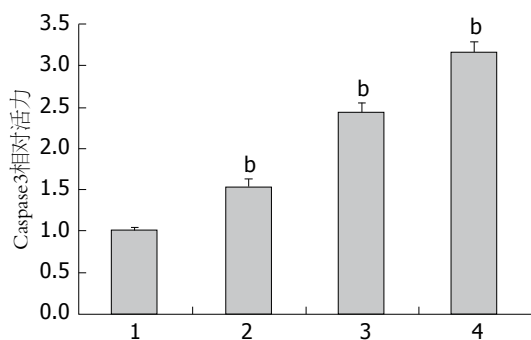
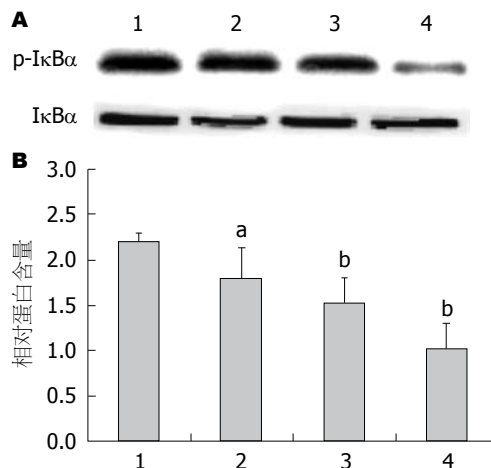
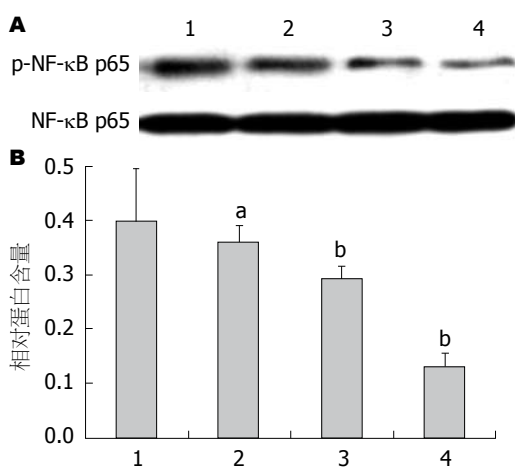
2.2 芍药苷对HepG2肝癌细胞凋亡诱导作用 与对照组比较, 0.5、1.0、2.0 mg/mL都能显著促进HepG2肝癌细胞凋亡(图1)。

2.3 芍药苷对HepG2肝癌细胞Caspase3活性的影响 如图2所示, 与对照组比较, 0.5、1.0、2.0 mg/mL芍药苷能提高HepG2肝癌细胞Caspase3活性, 并呈剂量依赖性, 具有统计学意义($P<0.01$)。

2.4 芍药苷对HepG2肝癌细胞NF- κ B通路的影响 如图3所示, 芍药苷能抑制HepG2肝癌细胞细胞核NF- κ B p65蛋白磷酸化, 并呈剂量依赖性, 具有统计学意义($P<0.05$), 而对细胞核内p65表达无任何影响, 无统计学意义. 因此继续探讨NF- κ B p65上游蛋白的影响, 结果发现芍药苷对芍药苷能抑制HepG2肝癌细胞I κ B α 蛋白磷酸化, 并呈剂量依赖性, 具有统计学意义($P<0.05$), 对I κ B α 自身表达无任何影响(图4)。

表 1 芍药苷对HepG2肝癌细胞增殖抑制作用 (mean ± SD, %)

分组	剂量(mg/mL)	抑制率		
		24 h	48 h	72 h
对照组	0.0	0.1 ± 0.02	3.0 ± 0.3	3.1 ± 0.5
芍药苷	0.5	3.5 ± 0.08 ^a	14.5 ± 2.12 ^a	14.3 ± 2.47 ^a
	1.0	6.5 ± 0.15 ^a	23.7 ± 3.63 ^b	23.8 ± 3.82 ^b
	2.0	10.7 ± 1.19 ^b	35.3 ± 5.14 ^b	35.2 ± 4.31 ^b

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 对照组.图 2 芍药苷对HepG2肝癌细胞Caspase3活性的影响. 1: 对照组; 2: 0.5 mg/mL; 3: 1.0 mg/mL; 4: 2.0 mg/mL. ^b*P*<0.01 vs 对照组.图 4 芍药苷对HepG2肝癌细胞IκBα磷酸化水平的影响. 1: 对照组; 2: 0.5 mg/mL; 3: 1.0 mg/mL; 4: 2.0 mg/mL. ^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 对照组. IκBα: 核因子κB抑制因子α.图 3 芍药苷对HepG2肝癌细胞NF-κB p65磷酸化水平的影响. A: Western blot结果; B: NF-κB p65蛋白相对表达量. 1: 对照组; 2: 0.5 mg/mL; 3: 1.0 mg/mL; 4: 2.0 mg/mL. ^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 对照组. NF-κB: 核因子κB.

3 结论

肝癌是世界上常见恶性肿瘤之一, 其危害仅次于肺癌, 全球每年有约100万例死于肝癌, 其中50%在我国^[5-7]. 目前其主要治疗手段为手术, 但即使获得手术切除机会, 其复发、转移率依然相当高. 因此, 寻求有效治疗肝癌, 降低复发率的药物成为研究热点. 而很多的抗肿瘤药物, 包

括化疗药物、激素、生物制剂, 都能够引起肿瘤细胞发生凋亡. 凋亡对肿瘤的抑制起到重要作用, 并且抑制NF-κB活性促进细胞凋亡是治疗肿瘤的有效手段之一^[8]. 芍药苷可通过抑制NF-κB信号通路, 来抑制胃癌细胞增殖^[2,4], 所以本文拟尝试用不同浓度(0.5、1.0、2.0 mg/mL)芍药苷对HepG2肝癌细胞进行给药, 结果表明随着给药浓度的增加, 芍药苷可以逐渐地降低细胞活力, 抑制肿瘤细胞的增殖, 在48 h时其抑制率就可达到最高点. 与芍药苷对其他肿瘤细胞抑制作用浓度有稍许差别^[4,9], 这可能是各种肿瘤细胞抵抗外环境不同所造成的, 对各种药物敏感程度不一样所致的.

Caspase3是Caspase家族中最重要的凋亡执行者之一, 他被合成后通常以非活化的酶原形式存在于细胞质中, 在多种凋亡信号刺激下经蛋白水解作用被激活成活化形式, 可对多种蛋白底物进行降解, 从而在细胞凋亡过程中起关键作用, 被认为是整个凋亡级联反应的一个关键调节点^[10]. Caspase3在HepG2肝癌细胞中活性

同行评价

本文研究内容新颖, 有一定的参考价值.

高于给药组^[11-13], 在本研究中, 与对照组中对比, 芍药苷(0.5、1.0、2.0 mg/mL)剂量依赖性抑制Caspase3活性。

NF- κ B是一类广泛存在于肿瘤细胞内的重要转录因子, 是多信号转导途径的汇聚点, 参与组织细胞的免疫调节、炎症反应、生长分化和凋亡等^[14]。未受刺激时与I κ B结合, 当受到刺激时, I κ B磷酸化, 释放NF- κ B, 使之恢复转录活性并从细胞质转移到细胞核内, 调节相关基因的表达。NF- κ B在肝癌^[15]、胃癌^[16]、乳腺癌^[17]等肿瘤中都被激活, 过表达。在原发性肝癌中NF- κ B持续被激活, 与原发性肝癌肿瘤的发生发展及预后不良密切相关^[18], NF- κ B抑制剂PDTC可抑制NF- κ B活性, 抑制肿瘤细胞增殖^[19]。朱开梅等^[20]报道八角中莽草酸可通过抑制NF- κ B p65活性, 从而抑制人肝癌HepG2细胞增殖。本实验结果也表明芍药苷能抑制HepG2肝癌细胞NF- κ B p65、I κ B α 蛋白磷酸化, 最终提高Caspase3活性, 诱导肿瘤细胞凋亡。

因此可以得出PF可能通过激活Caspase3活性以及抑制pp65和pI κ B α 表达促进HepG2细胞凋亡。

4 参考文献

- 1 晏雪生, 李瀚旻, 彭亚琴, 明安萍. 芍药苷对人肝癌细胞HepG-2凋亡及其调控基因的影响. 中华中医药学刊 2007; 25: 1346-1347
- 2 Fang S, Zhu W, Zhang Y, Shu Y, Liu P. Paeoniflorin modulates multidrug resistance of a human gastric cancer cell line via the inhibition of NF- κ B activation. *Mol Med Rep* 2012; 5: 351-356 [PMID: 22051979 DOI: 10.3892/mmr.2011.652]
- 3 Lu JT, He W, Song SS, Wei W. Paeoniflorin inhibited the tumor invasion and metastasis in human hepatocellular carcinoma cells. *Bratisl Lek Listy* 2014; 115: 427-433 [PMID: 25077366]
- 4 方申存, 戴伟, 吴昊, 束永前, 刘平. 芍药苷对人胃癌SGC7901/VCR细胞增殖抑制作用及其机制研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2010; 30: 636-640
- 5 Chang H, Xu J, Mu Q, Qin C, Zhang Z, Wu T. Occult hepatocellular carcinoma: a case report of a special icteric-type hepatoma and literature review. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2010; 19: 690-693 [PMID: 19659667 DOI: 10.1111/j.1365-2354.2008.01035.x]
- 6 Wáng YX, De Baere T, Idée JM, Ballet S. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences. *Chin J Cancer Res* 2015; 27: 96-121 [PMID: 25937772 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.03.03]
- 7 Bruix J, Han KH, Gores G, Llovet JM, Mazzaferro V. Liver cancer: Approaching a personalized care. *J Hepatol* 2015; 62: S144-S156 [PMID: 25920083 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.007]
- 8 Baud V, Karin M. Is NF- κ B a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 33-40 [PMID: 19116625 DOI: 10.1038/nrd2781]
- 9 晏雪生, 李瀚旻, 彭亚琴, 明安萍. 芍药苷对人肝癌细胞HepG-2凋亡及其调控基因的影响. 中华中医药学刊 2007; 25: 1346-1347
- 10 Porter AG, Jänicke RU. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ* 1999; 6: 99-104 [PMID: 10200555 DOI: 10.1038/sj.cdd.4400476]
- 11 Xiang Q, Ma Y, Dong J, Shen R. Carnosic acid induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction and Akt inactivation in HepG2 cells. *Int J Food Sci Nutr* 2015; 66: 76-84 [PMID: 25265205 DOI: 10.3109/09637486.2014.953452]
- 12 Zhang H, Guo Z, Han L, You X, Xu Y. The antitumor effect and mechanism of taipenine A, a new C19-diterpenoid alkaloid from Aconitum taipenicum, on the HepG2 human hepatocellular carcinoma cell line. *J BUON* 2014; 19: 705-712 [PMID: 25261656]
- 13 Sudan S, Rupasinghe HP. Flavonoid-enriched apple fraction AF4 induces cell cycle arrest, DNA topoisomerase II inhibition, and apoptosis in human liver cancer HepG2 cells. *Nutr Cancer* 2014; 66: 1237-1246 [PMID: 25256427 DOI: 10.1080/0163581.2014.951733]
- 14 Zhang YH, Yan HQ, Wang F, Wang YY, Jiang YN, Wang YN, Gao FG. TIPE2 inhibits TNF- α -induced hepatocellular carcinoma cell metastasis via Erk1/2 downregulation and NF- κ B activation. *Int J Oncol* 2015; 46: 254-264 [PMID: 25339267 DOI: 10.3892/ijo.2014.2725]
- 15 Huang X, Qin J, Lu S. Kanglaite stimulates anticancer immune responses and inhibits HepG2 cell transplantation-induced tumor growth. *Mol Med Rep* 2014; 10: 2153-2159 [PMID: 25119060 DOI: 10.3892/mmr.2014.2479]
- 16 Cheng CY, Hu CC, Yang HJ, Lee MC, Kao ES. Inhibitory effects of scutellarein on proliferation of human lung cancer A549 cells through ERK and NF κ B mediated by the EGFR pathway. *Chin J Physiol* 2014; 57: 182-187 [PMID: 25246059 DOI: 10.4077/CJP.2014.BAC200]
- 17 Zeng L, Zhen Y, Chen Y, Zou L, Zhang Y, Hu F, Feng J, Shen J, Wei B. Naringin inhibits growth and induces apoptosis by a mechanism dependent on reduced activation of NF- κ B/COX-2-caspase-1 pathway in HeLa cervical cancer cells. *Int J Oncol* 2014; 45: 1929-1936 [PMID: 25174821 DOI: 10.3892/ijo.2014.2617]
- 18 Calvisi DF, Frau M, Tomasi ML, Feo F, Pascale RM. Deregulation of signalling pathways in prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma: novel insights from interspecies comparison. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826: 215-237 [PMID: 23393659]
- 19 Madonna G, Ullman CD, Gentilecore G, Palmieri G, Ascierto PA. NF- κ B as potential target in the treatment of melanoma. *J Transl Med* 2012; 10: 53 [PMID: 22433222 DOI: 10.1186/1479-5876-10-53]
- 20 朱开梅, 顾生玖, 顾小文, 骆彩珍. 八角中莽草酸对人肝癌HepG-2细胞增殖及NF- κ B蛋白表达的影响. 中国实验方剂学杂志 2014; 20: 126-129

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



牛磺胆酸钠转运蛋白在肝癌大鼠肝组织中的表达状况

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明

张孟瑜, 夏先明, 泸州医学院附属医院肝胆外科 四川省泸州市 646000

王洁萍, 泸州医学院附属医院康复科 四川省泸州市 646000
张孟瑜, 主治医师, 主要从事肝胆胰疾病的基础和临床研究。

四川泸州市科技局课题基金资助项目, No. 2013-s-48

作者贡献分布: 课题设计由张孟瑜与夏先明完成; 研究过程及论文写作由张孟瑜与王洁萍完成; 数据分析由王洁萍完成; 试剂由夏先明提供。

通讯作者: 夏先明, 教授, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院肝胆外科. xxm6206@126.com
电话: 0830-3165903

收稿日期: 2015-05-24 修回日期: 2015-06-08

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-08-08

Sodium/taurocholate cotransporting polypeptide expression in hepatocellular carcinoma in rats

Meng-Yu Zhang, Jie-Ping Wang, Xian-Ming Xia

Meng-Yu Zhang, Xian-Ming Xia, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Jie-Ping Wang, Department of Rehabilitation, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: Project of Science and Technology Bureau of Luzhou City, No. 2013-s-48

Correspondence to: Xian-Ming Xia, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. xxm6206@126.com

Received: 2015-05-24 Revised: 2015-06-08

Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To detect the expression of sodium/taurocholate cotransporting polypeptide (Ntcp) in hepatocellular carcinoma in rats.

METHODS: Sixty Wistar rats were randomly divided into a control group and an experimental group, with 30 rats in each group. The control group was fed an ordinary diet, and the experimental group was fed diethylnitrosamine for 20 wk to induce primary liver cancer. After successful induction, liver tissues were taken to detect the expression of Ntcp protein by immunohistochemistry and Western blot.

RESULTS: Both immunohistochemistry and Western blot analysis showed that the expression of Ntcp protein was significantly higher in the experiment group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of Ntcp protein increases significantly in primary liver cancer in rats, which suggests that drugs targeting Ntcp may provide a new treatment method for primary liver cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Ntcp*; Primary liver cancer; Expression

Zhang MY, Wang JP, Xia XM. Sodium/taurocholate cotransporting polypeptide expression in hepatocellular carcinoma in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3587-3591 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3587>

摘要

目的: 本研究通过建立肝癌大鼠模型, 以牛磺胆酸钠转运蛋白(sodium/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)为研究对象,

背景资料

肝癌的发生发展和变化过程非常复杂, 目前临床上一些手术及非手术治疗手段有限, 且治疗效果并非十分理想。

同行评议者

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胰腺肝胆外科

■ 研发前沿

目前研究的热点和重点为新型的治疗肝癌的方法和药物, 而基因治疗是目前尚未在临床广泛应用又极具前景的治疗方式, 所以尝试从相关基因入手, 为肝癌治疗找到新的方法。

初步了解Ntcp在肝癌大鼠中的表达状况, 以期能找到新的手段和方法进行肝癌的治疗。

方法: 取Wistar大鼠(♂、体质量160 g±8 g) 60只, 随机分为2组, 每组30只: 普通饮食对照组(简称对照组)予以普通饮食、二乙基亚硝胺饮食实验组(简称实验组)予以含二乙基亚硝胺饮水。经过20 wk, 建立肝癌大鼠模型, 取对照组和实验组肝脏组织: (1)石蜡切片后用免疫组织化学SP(streptavidin-peroxidase)法检测两组模型肝脏组织的Ntcp蛋白表达的强度; (2)Western blot法检测两组模型肝脏组织的Ntcp蛋白表达的强度。

结果: 免疫组织化学SP法及Western blot法结果均显示, 实验组Ntcp表达阳性率高于对照组Ntcp表达阳性率(25.7%), 他们之间的表达差异有统计学意义($\chi^2 = 10.62, P < 0.05$)。

结论: 实验组大鼠的Ntcp蛋白的表达较对照组增多, 提示我们在肝癌的治疗中, Ntcp有可能成为新的治疗靶点和方向。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Ntcp基因; 肝癌; 表达

核心提示: 建立肝癌大鼠模型, 以牛磺胆酸钠转运蛋白(sodium/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)为研究对象, 初步了解Ntcp在肝癌大鼠中的表达状况, 以期能找到新的手段和方法进行肝癌的治疗。

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明. 牛磺胆酸钠转运蛋白在肝癌大鼠肝组织中的表达状况. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3587-3591 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3587.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3587>

0 引言

肝癌是消化系恶性肿瘤之一, 据资料统计, 在消化系恶性肿瘤中近年来每年被肝癌夺去生命的人数在逐年增加, 但目前治疗方法和手段有限。在各种方法中, 首选的方法是手术切除肝癌, 但手术有适应证和禁忌证, 能行根治性切除的患者不多, 对不能行根治性切除的患者部分可行姑息性切除, 但二者术后5年生存率皆不高。对无法进行手术或放弃手术的患者, 包括存在身体各器官严重功能障碍, 肿瘤浸及周围组织或转移者, 因自身条件有限放弃

手术者等, 进行介入治疗、放疗、化疗、射频消融等非手术治疗后发现效果有限, 治疗后的生存率未得到大的改善。那么, 是否存在更为有效而又实用的方法呢? 基因治疗是目前尚未在临床广泛应用而又极具前景的治疗方法之一, 所以, 我们尝试从相关基因入手, 牛磺胆酸钠转运蛋白(sodium/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)基因与胆汁酸重吸收关系密切^[1-3], 而胆汁酸如果淤积, 则可能形成结石, 进而可能导致胆管及肝脏组织的恶变, 那么其在肝癌组织中有无表达呢? 表达情况又如何呢? 所以, 本项目拟以Ntcp为研究对象, 分析其在肝癌大鼠肝细胞中的表达状况, 尝试为肝癌治疗提供新的方法。

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠(♂、体质量160 g±8 g)60只(购自泸州医学院动物实验中心), 随机分为2组, 每组30只: 普通饮食对照组(简称对照组)予以普通饮食、二乙基亚硝胺(DEN)饮食实验组(简称实验组)予以含DEN饮水。入选前大鼠无其他疾病存在。主要仪器有冰冻切片机, HFsafe生物安全柜, 显微摄像系统(PM-10A)等; 主要试剂有Western blot试剂盒(购自大连宝生物TaKaRa工程有限公司), Ntcp单克隆抗体(购自CHEMICON公司, 美国)等。

1.2 方法 首先制备肝癌大鼠模型, 实验组饲以含DEN饮水, 连续12 wk后改为自由饮水。对照组, 自由进食及饮水。每天观察动物的精神状态、饮食状况及皮毛的变化等一般情况。于实验第8、16、20周, 分别取出模型组动物各2、2、2只, 剖腹观察肝脏情况, 记录肝脏的大小、质地、形态等的变化情况。经病理检查证实建立肝癌大鼠模型成功后, 取对照组和实验组肝脏组织: (1)石蜡切片后用免疫组织化学SP(streptavidin-peroxidase)法检测两组模型肝脏组织的Ntcp蛋白表达情况; (2)Western blot法检测两组模型肝脏组织的Ntcp蛋白表达的强度。Quantity One软件计算比较Western blot产物条带与β-actin条带的光密度的相对比值, 通过分析, 最终得出其在肝脏组织中表达相对含量。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行分析, 统计学方法测得数据用mean±SD表示, 判断组间差异采用t检验及 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

■ 相关报道

Veloso Alves Pereira等发现了初级胆汁酸可以抑制牛磺胆酸钠转运蛋白(sodium/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)-调控的丁型肝炎病毒进入肝细胞, 提示胆汁酸池的调节可以影响肝细胞中丁型肝炎病毒的感染。

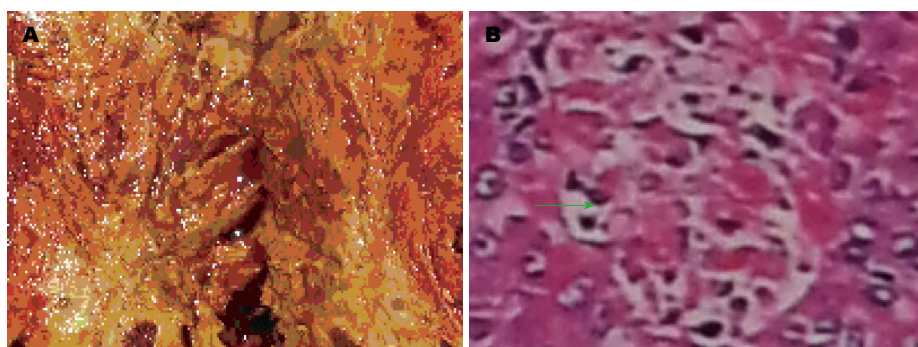


图1 病理检查证实肝癌大鼠模型建立. A: 大鼠肝癌组织剖面图; B: 200倍物镜下所显示的肝癌组织情况, 可见核分裂的肿瘤细胞(图中绿色箭头所指)($\times 200$).

创新盘点

本文从肝癌相关基因 *Ntcp* 入手, 初步发现了 *Ntcp* 在肝癌组织中的表达状况, 为肝癌治疗找寻新的思路.

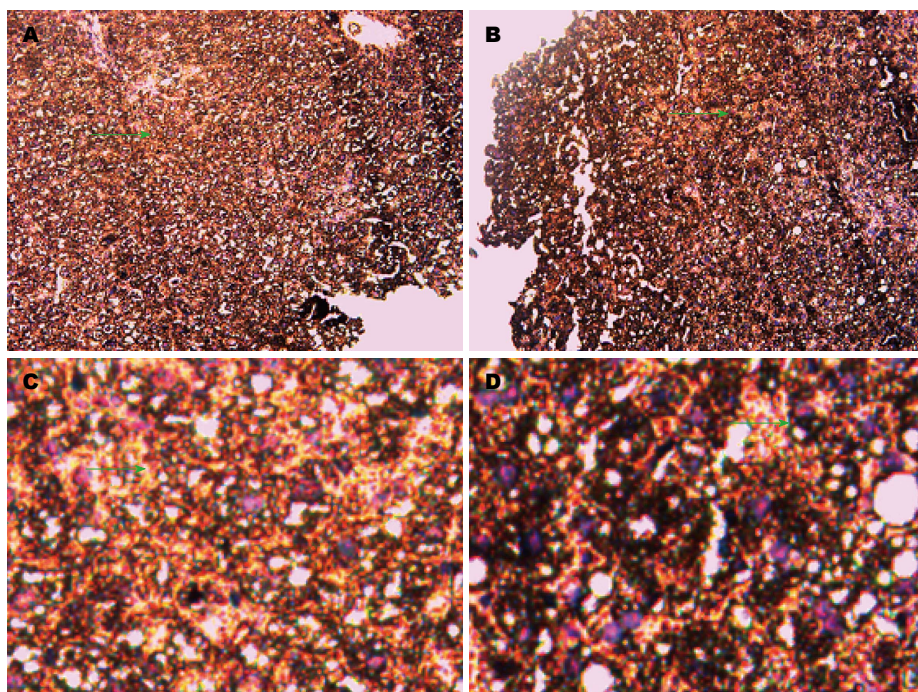


图2 免疫组织化学结果. A: *Ntcp* 基因实验组, *Ntcp* 蛋白在实验组中的阳性表达($\times 100$); B: *Ntcp* 基因对照组, *Ntcp* 蛋白在对照组中的阳性表达($\times 100$); C: *Ntcp* 基因实验组, *Ntcp* 蛋白在实验组中的阳性表达($\times 200$); D: *Ntcp* 基因对照组, *Ntcp* 蛋白在对照组中的阳性表达($\times 200$). 绿色箭头所指即为 *Ntcp* 蛋白. *Ntcp*: 牛磺胆酸钠转运蛋白.

2 结果

2.1 一般情况 实验组大鼠自第5周开始, 进食开始出现减少的情况, 部分大鼠体重与对照组相比降低明显, 喂食至20 wk后死亡2只. 对照组大鼠饮食情况及身体情况较好, 未出现死亡病例. 20 wk后经病理检查证实已建立肝癌大鼠模型(图1).

2.2 免疫组织化学SP法染色结果 光学高倍(100倍及200倍)物镜下: 肝脏组织中 *Ntcp* 蛋白出现黄色染色颗粒为阳性细胞(绿色箭头所指). 每张切片随机选取6个视野, 每个视野内观察80个细胞, 阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性, 否则为阴性.

χ^2 检验显示: 实验组 *Ntcp* 蛋白表达阳性率为76.3%, 对照组 *Ntcp* 蛋白表达阳性率为25.7%, 他们之间的差异有统计学意义($\chi^2 = 10.62$, $P < 0.05$)(图2).

2.3 Western blot法检测结果 我们发现, 在51 kDa处出现了 *Ntcp* 蛋白表达, 利用Quantity One软件, 我们得到实验组 *Ntcp* 蛋白表达较高(0.775 ± 0.016), 对照组 *Ntcp* 蛋白表达较低(0.253 ± 0.011); *Ntcp* 蛋白在对照组和实验组中表达差异有统计学意义($P < 0.05$)(图3).

3 讨论

在消化系恶性肿瘤中, 包括肝癌、胃癌、胰腺

应用要点

通过初步发现 *Ntcp* 在肝癌大鼠肝组织中的表达状况, 为进一步寻找作用于 *Ntcp* 基因的药物打下基础, 从而改善目前肝癌治疗的局限性。

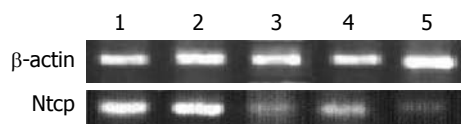


图3 Western blot结果. 1, 2: 实验组; 3-5: 对照组. *Ntcp*: 牛磺胆酸钠转运蛋白。

癌等等; 肝癌是恶性程度较高的肿瘤之一, 虽然长时间的基础研究和临床实践为肝癌的诊治积累了大量的经验, 但目前肝癌的发病机制、病理生理变化、内环境等的改变过程尚不是完全明确, 目前考虑其发病是各种因素、各种条件综合作用的结果、中间变化发展可能涉及一系列基因、受体、信号传递介质等的改变, 其步骤变化多而繁杂, 所需时间和过程均较长, 不同的影响条件和不同的状况改变均可能对此过程产生较多影响。就目前而言, 已经明确的情况是, 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒感染、肝硬化、亚硝胺类物质、黄曲霉素、一些特殊的药物等都与肝癌发病相关, 但变化的过程、经历的时间、具体的信号传递等并不明确。由于经过研究发现肝癌可能是各种因素和条件积累并相互作用后出现的结果, 所以目前的治疗存在困难。就目前治疗方法来看, 早期的肝癌, 包括微小肝癌、小肝癌、局限于部分叶、段的肝癌可以行根治性的手术切除, 但如果肿瘤发生周围组织浸润或转移, 在身体多个器官或组织发现病灶, 那么手术则可能无法完全切除, 不能再作为首要考虑的治疗方法, 而射频消融、灌注化疗、放疗、介入栓塞等治疗方法效果有限, 即便是进行了上述的治疗, 肝癌在治疗后复发率和转移率也较高, 5年生存率并未达到理想的结果。所以, 由于上述原因, 我们不断进行思考和探索, 能不能找到一种行之有效的办法呢? 而目前, 基因治疗是一种尚未广泛应用于临床但又极具前景和挑战性的治疗方案, 可能让肝癌的治疗方法产生较为明显的重要的变化, 因此, *Ntcp* 基因进入了我们的思考范围并在此前提下我们设计了上述的对比试验, 以期能发现一些与肝癌相关的变化^[4-6]。

我们已进行实验发现在肝癌大鼠中存在法尼基衍生物X受体(farnesyl derivatives X receptor, *FXR*)基因, 并且其在肝脏中的表达减弱, 那么, 作为*FXR*的靶基因, *Ntcp*在肝癌大鼠肝组织中是否出现了相似的变化, 其作用是增

强还是减弱, 继续引导我们深入研究和思考^[7,8]。*Ntcp*是一种具有胆酸转运功能的多肽类物质, 通常表达在人肝细胞表面, 对胆汁酸盐的排泄、胆汁酸盐浓度的稳定具有重要作用、而更重要的是, 在胆汁酸盐的肠肝循环胆汁酸重吸收过程中, 其更是不可或缺的。胆汁酸的肠肝循环需要各种转运体的配合和相互调节来完成, 胆汁酸首先由肝细胞合成, 接下来胆汁酸在胆盐输出泵(bile salt export pump, *Bsep*)作用下主动分泌后转运至肠道^[9,10], 当被排入小肠后结合胆汁酸约95%通过顶端钠依赖胆汁酸转运蛋白(apical sodium-dependent bile acid transport, *ASBT*)、细胞内胆汁酸结合蛋白和基侧膜的终末腔面钠盐依赖的胆汁酸转运体(terminal apical sodium-dependent bile acid transporter, *tASBT*)被重吸收, 其中的80%的胆汁酸在*Ntcp*协助下被摄入肝细胞内并再次被分泌到胆汁中形成胆汁酸的肠肝循环^[11,12]。而如果*Ntcp*功能紊乱导致胆汁重吸收出现紊乱, 则可能出现肝内胆汁淤积, 而由于胆汁淤积, 则可能出现胆固醇、胆色素等在肝内胆管的沉积, 从而形成结石, 而肝内胆管结石的长期存在, 正是我们目前了解的可能产生胆管细胞性肝癌的原因之一。所以, *Ntcp*基因是否表达, 以及表达的情况是我们所关注的和了解的重点^[13,14]。

我们通过设计试验并观察发现, 经过20 wk时间含DEN饮水的喂养成功建立肝癌大鼠模型, 在试验中使用免疫组织化学、Western blot等方法进行试验和检测后, 证实了肝癌大鼠的肝脏组织中*Ntcp*基因出现了显而易见的变化, 表达显著增强, 较对照组有明显的增多, 该情况也就说明肝癌时胆汁酸的肠肝循环出现了变化, 重吸收开始增多, 出现了较为显著的加强, 由此我们初步考虑如果胆汁酸进入肠道增加, 则会伴随*Ntcp*基因表达增强^[15], 从而加快胆汁酸的重吸收, 维持胆汁酸浓度的稳定, 而肝癌时则出现了胆汁酸的重吸收大幅度增强, 已超过了正常肝细胞的代偿范围, 因此导致肝细胞出现转化。在目前所用治疗肝癌的药物广泛存在不同种类的问题, 可能无法完全达到治疗目的、效果不明显, 药物服用时间偏长、胃肠道反应大, 患者可持续接受性差等缺点, 而这些情况阻碍了其作为临床治疗药物的普遍应用, 但目前所研究的药物中尚无可直接作用

于肝癌相关基因又可在临床广泛应用、且不良反应较小的药物。由此, *Ntcp* 基因表达变化的发现, 可能为基础研究和临床治疗肝癌提供新的药物治疗靶点^[16,17], 找到不同于以往的新的治疗方法和治疗方向。

4 参考文献

- 1 Veloso Alves Pereira I, Buchmann B, Sandmann L, Sprinzl K, Schlaphoff V, Döhner K, Vondran F, Sarrazin C, Manns MP, Pinto Marques Souza de Oliveira C, Sodeik B, Ciesek S, von Hahn T. Primary biliary acids inhibit hepatitis D virus (HDV) entry into human hepatoma cells expressing the sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP). *PLoS One* 2015; 10: e0117152 [PMID: 25646622 DOI: 10.1371/journal.pone.0117152]
- 2 Troeller A, Yan D, Marina O, Schulze D, Alber M, Parodi K, Belka C, Söhn M. Comparison and limitations of DVH-based NTCP models derived from 3D-CRT and IMRT data for prediction of gastrointestinal toxicities in prostate cancer patients by using propensity score matched pair analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 91: 435-443 [PMID: 25636766 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.09.046]
- 3 Song P, Rockwell CE, Cui JY, Klaassen CD. Individual bile acids have differential effects on bile acid signaling in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2015; 283: 57-64 [PMID: 25582706 DOI: 10.1016/j.taap.2014.12.005]
- 4 Elinger S. HBV: Stowaway of NTCP. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014; 38: 661-663 [PMID: 25178832 DOI: 10.1016/j.clinre.2014.07.009]
- 5 Fattah S, Augustijns P, Annaert P. Age-dependent activity of the uptake transporters Ntcp and Oatp1b2 in male rat hepatocytes: from birth till adulthood. *Drug Metab Dispos* 2015; 43: 1-8 [PMID: 25305012 DOI: 10.1124/dmd.114.059212]
- 6 Romero MR, Monte MJ, Marin JJ. Pathophysiological and pharmacological implications of elucidating the molecular bases of the interaction between HBV and the bile acid transporter NTCP. *Ann Hepatol* 2015; 14: 143-144 [PMID: 25536655]
- 7 Benadjaoud MA, Blanchard P, Schwartz B, Champoudry J, Bouaita R, Lefkopoulos D, Deutsch E, Diallo I, Cardot H, de Vathaire F. Functional data analysis in NTCP modeling: a new method to explore the radiation dose-volume effects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 90: 654-663 [PMID: 25304951 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.07.008]
- 8 Zhang G, Zhou Y, Rao Z, Qin H, Wei Y, Ren J, Zhou L, Wu X. Effect of Yin-Zhi-Huang on up-regulation of Oatp2, Ntcp, and Mrp2 proteins in estrogen-induced rat cholestasis. *Pharm Biol* 2015; 53: 319-325 [PMID: 25420584 DOI: 10.3109/13880209.2014.918156]
- 9 Tong S, Li J. Identification of NTCP as an HBV receptor: the beginning of the end or the end of the beginning? *Gastroenterology* 2014; 146: 902-905 [PMID: 24576732 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.02.024]
- 10 Erlinger S. NTCP deficiency: a new inherited disease of bile acid transport. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2015; 39: 7-8 [PMID: 25193235 DOI: 10.1016/j.clinre.2014.07.011]
- 11 Dong Z, Ekins S, Polli JE. Quantitative NTCP pharmacophore and lack of association between DILI and NTCP Inhibition. *Eur J Pharm Sci* 2014; 66C: 1-9 [PMID: 25220493 DOI: 10.1016/j.ejps.2014.09.005]
- 12 Wopken K, Bijl HP, van der Schaaf A, van der Laan HP, Chouvalova O, Steenbakkers RJ, Doornaert P, Slotman BJ, Oosting SF, Christianen ME, van der Laan BF, Roodenburg JL, Leemans CR, Verdonck-de Leeuw IM, Langendijk JA. Development of a multivariable normal tissue complication probability (NTCP) model for tube feeding dependence after curative radiotherapy/chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Radiother Oncol* 2014; 113: 95-101 [PMID: 25443500 DOI: 10.1016/j.radonc.2014.09.013]
- 13 Fu LL, Liu J, Chen Y, Wang FT, Wen X, Liu HQ, Wang MY, Ouyang L, Huang J, Bao JK, Wei YQ. In silico analysis and experimental validation of azelastine hydrochloride (N4) targeting sodium taurocholate co-transporting polypeptide (NTCP) in HBV therapy. *Cell Prolif* 2014; 47: 326-335 [PMID: 24965018 DOI: 10.1111/cpr.12117]
- 14 Vojtišek R, Mužik J, Slampa P, Budíková M, Hejsek J, Smolák P, Ferda J, Fínek J. The impact of PET/CT scanning on the size of target volumes, radiation exposure of organs at risk, TCP and NTCP, in the radiotherapy planning of non-small cell lung cancer. *Rep Pract Oncol Radiother* 2014; 19: 182-190 [PMID: 24944819 DOI: 10.1016/j.rpor.2013.09.006]
- 15 König A, Döring B, Mohr C, Geipel A, Geyer J, Glebe D. Kinetics of the bile acid transporter and hepatitis B virus receptor Na⁺/taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) in hepatocytes. *J Hepatol* 2014; 61: 867-875 [PMID: 24845614 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.05.018]
- 16 Marada VV, Flörl S, Kühne A, Müller J, Burckhardt G, Hagos Y. Interaction of human organic anion transporter 2 (OAT2) and sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) with antineoplastic drugs. *Pharmacol Res* 2015; 91: 78-87 [PMID: 25481222 DOI: 10.1016/j.phrs.2014.11.002]
- 17 Brouwer CL, Steenbakkers RJ, Gort E, Kamphuis ME, van der Laan HP, Van't Veld AA, Sijtsma NM, Langendijk JA. Differences in delineation guidelines for head and neck cancer result in inconsistent reported dose and corresponding NTCP. *Radiother Oncol* 2014; 111: 148-152 [PMID: 24560759 DOI: 10.1016/j.radonc.2014.01.019]

同行评价

肝癌是高致命性癌症。本研究建立肝癌大鼠模型, 通过免疫组织化学及Western blot检测了Ntcp在肝癌大鼠肝脏肿瘤及正常大鼠肝脏组织中的表达情况, 探索肝癌治疗的潜在靶点, 有一定的研究价值及意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



表皮生长因子对胰岛素-PI3K信号通路的影响及机制

胡先福, 叶火旺, 信思易, 何济满, 郭文

■背景资料

磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT)信号通路过度激活与各类肿瘤的发生发展密切相关。第10号染色体缺失并与张力蛋白同源磷酸酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)能够阻止4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP₂)向PIP₃的转化, 负性调控PI3K/AKT信号转导途径, 介导细胞凋亡, 发挥抑癌作用。

胡先福, 叶火旺, 信思易, 何济满, 郭文, 南方医科大学附属南方医院消化内科 广东省广州市 510515

胡先福, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170743

作者贡献分布: 胡先福、叶火旺及信思易参与实验操作与论文撰写; 何济满与郭文参与设计指导与撰写。

通讯作者: 郭文, 教授, 主任医师, 510515, 广东省广州市白云区广州大道北1838号, 南方医科大学附属南方医院消化内科。

gwdoc@163.com

电话: 020-61641543

收稿日期: 2015-05-19 修回日期: 2015-06-13

接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

Effect of epidermal growth factor on insulin-PI3K signaling pathway and potential mechanism involved

Xian-Fu Hu, Huo-Wang Ye, Si-Yi Xin, Ji-Man He, Wen Guo

Xian-Fu Hu, Huo-Wang Ye, Si-Yi Xin, Ji-Man He, Wen Guo, Department of Gastroenterology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170743

Correspondence to: Wen Guo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, 1838 Guangzhou North Avenue, Baiyun District, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. gwdoc@163.com

Received: 2015-05-19 Revised: 2015-06-13

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To examine the effect of epidermal growth factor (EGF) on the insulin-PI3K signalling pathway and the potential mechanism involved.

METHODS: HepG2 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)

containing 10% fetal calf serum with the addition of L-glutamine. After overnight serum starvation, cells were stimulated with EGF or insulin for different periods of time. Cell protein expression was determined by Western blot.

RESULTS: Insulin stimulation caused Akt phosphorylation in HepG2 cells. Prestimulation with epidermal growth factor for 30 min had no significant effect on PI3K signalling. In contrast, prestimulation with EGF for 4 h inhibited insulin induced activation of p-Akt. When cells were transfected with phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (PTEN) mutant C124S or N-terminal deleted p85, EGF induced inhibition of phospho-Akt was reversed.

CONCLUSION: Interaction between EGF and insulin inhibits PI3K-Akt activation. The underlying mechanism involves PTEN and regulatory subunit p85. Mutations of PTEN and p85 reverse the inhibition.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epidermal growth factor; Insulin; HepG2; PI3K signalling

Hu XF, Ye HW, Xin SY, He JM, Guo W. Effect of epidermal growth factor on insulin-PI3K signaling pathway and potential mechanism involved. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3592-3596 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3592.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3592>

摘要

目的: 研究表皮生长因子(epidermal growth

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科; 徐庆, 教授, 桂林医学院药理教研室

factor, EGF)对胰岛素-磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)信号通路的影响及其可能涉及的机制。

方法: 肝癌细胞系HepG2用含10%胎牛血清的DMEM培养。细胞刺激试验前过夜血清饥饿, EGF和胰岛素刺激不同的时间, 裂解细胞后提取蛋白, Western blot检测相关信号蛋白水平。

结果: 胰岛素可以导致肝癌细胞系蛋白激酶B(Akt)的磷酸化。当EGF短时间刺激后, 胰岛素对PI3K信号通路的调节没有受到明显的影响。当EGF刺激4 h后, 胰岛素对Akt的激活效应受到抑制, 而当HepG2细胞转染质粒磷酸酶域突变型质粒pSvEGFP-PTEN C124S或PI3K调节亚基的p85 N末端缺失序列p50后, EGF预先刺激产生的对Akt的抑制效应消失。

结论: EGF和胰岛素的相互作用对肝癌细胞PI3K-Akt信号通路具有抑制效应, 其抑制机制涉及到PTEN和调节亚基p85。当两基因突变后, 这种抑制作用则消失。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 表皮生长因子; 胰岛素; 人肝癌细胞系HepG2; PI3K信号通路

核心提示: 在HepG2细胞上, 表皮生长因子对胰岛素-磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)信号通路的影响具有时间效应, 即短时促进作用, 长时抑制作用。这种时间效应的关键调节点可能是PTEN-p85间的相互作用。

胡先福, 叶火旺, 信思易, 何济满, 郭文. 表皮生长因子对胰岛素-PI3K信号通路的影响及机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3592-3596 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3592.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3592>

0 引言

磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路作为细胞内重要的活性信号通路, 与细胞存活、凋亡密切相关, 其过度激活与各类肿瘤的发生发展密切相关^[1,2], 而过于抑制则与胰岛素(Insulin)抵抗类疾病紧密相连^[3,4]。

I类PI3K由调节亚基p85和催化亚基p110构成, 调节亚基调节催化亚基的催化活性, 进而介导下游Akt、GSK等信号分子和其他多条信号通路, 调控细胞生长和增殖、运动和侵

袭、存活和凋亡及新生血管的生成等多种细胞活动^[5,6]。许多激素或细胞因子可以激活该信号通路, 例如表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、Insulin等。PTEN, 即第10号染色体缺失并与张力蛋白同源磷酸酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10), 是该信号通路的主要负调控因子^[7,8]。PTEN具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶的双重磷酸酶活性, 其抑癌作用的发挥主要是通过脂质磷酸酶活性, 抑制PI3K活性信号通路。PTEN基因在多种恶性肿瘤组织中存在不同程度的突变或丢失^[9]。

EGF和Insulin在体内常常同时存在。他们间的相互作用对肝细胞活性信号通路PI3K/Akt的影响还不清楚。本文通过人肝癌细胞系HepG2研究EGF对Insulin的作用及对PI3K/Akt信号通路的影响机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系HepG2细胞株购自中国科学院昆明细胞库; 质粒磷酸酶域突变型质粒pSvEGFP-C124S和p50[SH2(C+N)]均由英国YorK大学Mike Sharrard教授赠送; *E. coli* (DH5α)购自广州威佳科技有限公司; 脂质体转染试剂LipofectamineTM2000购自Invitrogen公司; DMEM高糖培养基与胎牛血清均购自美国Gibco公司; BCA蛋白检测试剂盒和化学发光增强剂(ECL)试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; 聚偏二氟乙烯膜(PVDF)购自美国Millipore公司; 重组人Insulin注射液(优必林)购自美国Lilly公司; Recombinant Human EGF购自美国PeproTech公司; p-Akt(Ser473)购自Santa Cruz; PTEN购自Enzo; p85购自Millipore; GAPDH、辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠IgG、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG均购自北京中杉金桥。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人肝癌细胞株HepG2细胞于含10%胎牛血清的DMEM培养基、37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。待细胞贴满瓶底后用0.25%胰酶进行消化, 按照1:3或1:4的比例传代、铺板。

1.2.2 细胞转染: 将HepG2细胞种植于12孔板, 待细胞融合60%-70%时, 按LipofectamineTM2000说明书中的转染程序, 分别将突变型pSvEGFP-C124S或p50[SH2(C+N)]转染入细胞。

■ 研究前沿

PI3K/Akt信号通路是极其重要的细胞活性信号通路, 与细胞的代谢、存活、增殖等密切相关。PI3K/Akt信号通路有两个基本的负向调节因子, 即PTEN和p85, 这两个分子的调节异常与肿瘤形成密切相关。

■ 相关报道

PI3K调节亚基p85α可以通过N末端的SH3/BH结构域与PTEN结合, 激活PTEN的脂质磷酸酶活性。

■创新亮点

本文研究了表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)对胰岛素(Insulin)的抑制作用是否与p85的介入有关. 研究结果显示, 当调节亚基p85 N末端的SH3/BH结构域缺失后, EGF对Insulin的抑制作用丧失. 提示PTEN-p85间的相互作用在维持Insulin信号通路稳态方面的重要作用.

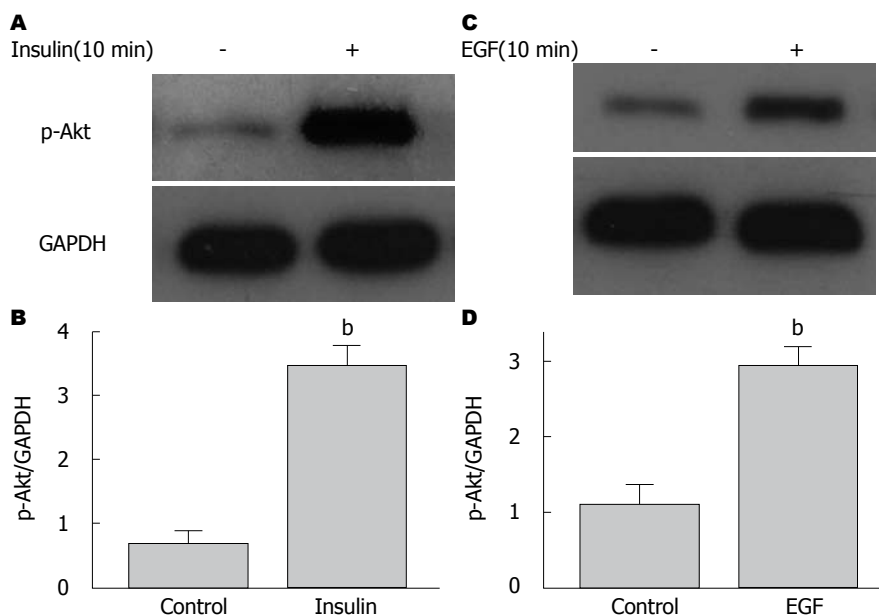


图1 HepG2细胞予以10 min Insulin和EGF刺激, 提取细胞总蛋白, Western blot检测p-Akt. A: Insulin刺激后的Western blot检测结果; B: 图A对应的灰度图; C: EGF刺激后的Western blot检测结果; D: 图C对应的灰度图. ^b $P < 0.01$ vs control (GAPDH为内源性对照). Insulin: 胰岛素; EGF: 表皮生长因子; Akt: 蛋白激酶B.

1.2.3 蛋白提取: (1)非转染实验:待细胞融合至80%-90%时, 移去10%胎牛血清培养基, 予无血清DMEM培养基饥饿12 h, 按照实验方案予EGF(0.3 $\mu\text{g/mL}$)或Insulin(0.15 IU/mL)刺激, RIPA裂解液裂解收集细胞提取蛋白; (2)转染实验: 待转染共48 h后, 按照实验方案裂解前4 h、30 min予EGF(0.3 $\mu\text{g/mL}$), 裂解前10 min每组一半的孔加Insulin(0.15 IU/mL)刺激, RIPA裂解液裂解收集细胞提取蛋白.

1.2.4 Western blot检测p-Akt水平: 收集上述细胞裂解混悬液于4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g 离心30 min, 取上清用BCA法测定蛋白浓度. 取等量蛋白进行SDS-PAGE电泳并转位到PVDF膜上, 最后采用ECL化学发光法检测. 具体步骤及实际配方参见参考文献[10].

统计学处理 数据以mean \pm SD标示, 采用SPSS13.0统计软件分析. 两组间比较方差齐性时采用两独立样本 t 检验, 方差不齐采用Satterthwaite近似 t 检验; 各组间比较采用方差分析(One-Way ANOVA), 多重比较方差齐性采用 LSD 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Insulin和EGF可体外激活HepG2细胞PI3K/Akt信号通路 本文利用人肝癌细胞系HepG2为研究模型. 当用Insulin刺激细胞后, 与Control

组(0.68 ± 0.18)相比, Insulin组(3.47 ± 0.28)的p-Akt表达明显上调($P < 0.000$), 这是体内正常的生理现象(图1). 本文再用EGF刺激HepG2细胞, 与Control组(1.11 ± 0.22)相比, EGF组(2.93 ± 0.23)的p-Akt表达明显上调($P = 0.001$), 这也是体内正常的生理现象(图1).

2.2 EGF对Insulin的抑制作用 本文进一步在HepG2细胞上研究了EGF和Insulin间的相互作用. EGF分别刺激30 min或4 h, 而Insulin分别刺激10 min. 同样是Insulin刺激10 min, EGF提前刺激4 h(1.07 ± 0.25)与无EGF刺激(1.70 ± 0.17)或EGF刺激30 min(2.04 ± 0.17)相比, p-Akt信号水平均显著降低($P = 0.019$, $P = 0.001$), 这说明长时间的EGF刺激对Insulin作用产生抑制效应(图2).

2.3 抑癌基因PTEN突变效应 为了研究图2中的机制, 本文研究了该信号通路的负调控因子PTEN的作用. 结果显示, 转染突变型pSvEGFP-C124S质粒后, EGF和Insulin的处理方式虽然和图2中的一样, 但4 h EGF+Insulin组(0.95 ± 0.17)与Insulin组(0.67 ± 0.19)相比, p-Akt水平差异无统计学意义($P = 0.089$)(图3).

2.4 p85序列缺失效应 本文进一步研究PI3K调节亚基p85的变异对该信号通路的影响. 结果显示, 转染p85 N末端序列缺失的p50后, 4 h EGF+Insulin组(0.41 ± 0.11)与Insulin组(0.35 ± 0.06)相比, p-Akt水平差异无统计学意义(P

■应用要点

PTEN-p85在维持PI3K/AKT信号通路稳态方面的重要作用, 避免了Akt的持续活化, 可能是肿瘤形成的关键调节点, PTEN-p85有望成为新的抗肿瘤靶点.

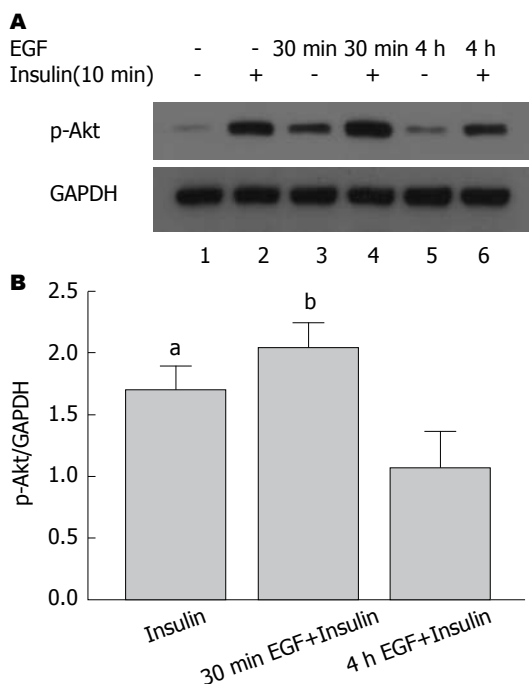


图 2 裂解前4 h、30 min予EGF, 裂解前10 min加Insulin刺激, 提取细胞总蛋白, Western blot检测p-Akt。A: Western blot检测结果; B: 图A第2、4、6泳道对应的灰度图。 $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ vs 4 h EGF+Insulin(GAPDH为内源性对照)。EGF: 表皮生长因子; Insulin: 胰岛素; Akt: 蛋白激酶B。

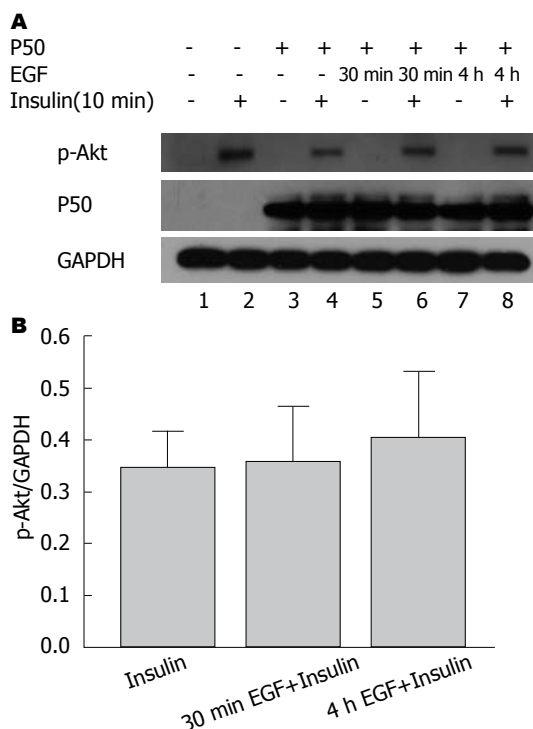


图 4 HepG2细胞转染p50后, EGF提前刺激4 h的Akt磷酸化水平同样不再降低。A: Western blot检测结果; B: 图A第4、6、8泳道对应的灰度图。EGF: 表皮生长因子; Insulin: 胰岛素; Akt: 蛋白激酶B。

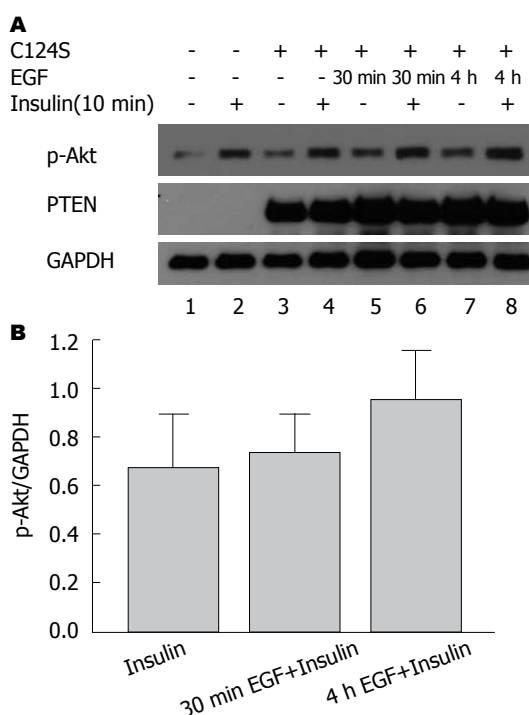


图 3 HepG2细胞转染C124S后, EGF提前刺激4 h的Akt磷酸化水平已经不再降低, 甚至有微弱的提高。A: Western blot检测结果; B: 图A第4、6、8泳道对应的灰度图。EGF: 表皮生长因子; Insulin: 胰岛素; Akt: 蛋白激酶B。

= 0.454)(图4)。

名词解释

pSvEGFP-C124S: PTEN核心区域的第124位半胱氨酸被丝氨酸取代, 导致磷酸酶活性完全丧失; p50[SH2(C+N)]: PI3K调节亚基p85 N末端的SH3/BH结构域缺失。

3 讨论

通过以人肝癌细胞系HepG2为研究模型, 本文发现, EGF长时间(几个小时)刺激对Insulin具有抑制效应。而当该信号通路的负调控因子PTEN或PI3K调节亚基p85突变后, 这种抑制效应则消失。

PTEN在维持正常的物质代谢和内环境稳态及细胞的多种生命活动中具有重要的功能, 参与细胞的生长、聚集、黏附、迁移及凋亡以及血管的生成, 然而其确切机制尚未完全^[11,12]。PTEN的N末端磷酸酶结构域的第123-130位氨基酸为N末端核心, 具有蛋白磷酸酶和脂质磷酸酶的双重磷酸酶活性, 能使磷脂及蛋白质脱磷酸化, 而其抑癌作用的发挥主要是通过脂质磷酸酶活性, 该磷酸酶核心内的点突变可导致PTEN蛋白的脂质磷酸酶或蛋白磷酸酶活性丧失^[9,13]。PTEN能够阻止4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2)向3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)的转化, 负性调控PI3K/Akt信号转导途径, 诱导Caspase9及P27等蛋白活性, 抑制周期

同行评价

本文利用人肝癌细胞系HepG2为研究模型证明了EGF对Insulin的作用有抑制效应;而当该信号通路的负调控因子PTEN或PI3K调节亚基p85突变后,这种抑制效应则消失,说明EGF对Insulin的抑制效应可能与负调控因子PTEN或PI3K调节亚基p85有关。研究较为深入,内容新颖、设计合理,具有很好的学术价值和可读性。

素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)活性从而使细胞周期停滞在G₁期,介导细胞凋亡,发挥抑癌作用^[14]。我们的结果显示,PTEN的这些调控作用受到激素或细胞因子间相互作用的影响,提示我们研究抑癌基因PTEN的作用时需要结合体内具体的生理状态。

PTEN的PDZ-BD结构域能够通过与其他蛋白的相互作用,增强PTEN的磷酸酶活性^[9]。最近的研究^[15]报道显示,调节亚基p85 α 可以通过N末端的SH3/BH结构域与PTEN结合,激活PTEN的脂质磷酸酶活性。基于我们实验室的前期发现,我们研究了EGF对Insulin的抑制作用是否也与p85的介入有关。我们的研究结果显示,当调节亚基p85 N末端的SH3/BH结构域缺失后,EGF对Insulin的抑制作用丧失。

在人体内无时无刻都存在着各种各样的激素和细胞因子,他们当中有许多都可以激活PI3K/Akt信号通路。本部分实验在细胞水平验证了EGF对Insulin/PI3K/Akt信号通路的调节特点,并发现了PTEN-p85这个关键调节节点。那么其他激素和细胞因子之间的调节效应是否也与EGF对Insulin的作用相类似?他们之间的相互调节是否也是通过PTEN-p85这个关键调节节点实现的?我们正开展进一步的相关研究。

参考文献

- Georgescu MM. PTEN Tumor Suppressor Network in PI3K-Akt Pathway Control. *Genes Cancer* 2010; 1: 1170-1177 [PMID: 21779440 DOI: 10.1177/1947601911407325]
- Viglietto G, Amodio N, Malanga D, Scrima M, De Marco C. Contribution of PKB/AKT signaling to thyroid cancer. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 1461-1487 [PMID: 21196242 DOI: 10.2741/3799]
- Schulman IH, Zhou MS. Vascular insulin resistance: a potential link between cardiovascular and metabolic diseases. *Curr Hypertens Rep* 2009; 11: 48-55 [PMID: 19146801 DOI: 10.1007/s11906-009-0010-0]
- Lee J, Kim MS. The role of GSK3 in glucose homeostasis and the development of insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 77 Suppl 1: S49-S57 [PMID: 17478001 DOI: 10.1016/j.diabres.2007.01.033]

- Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K, White S, Timms J, Waterfield MD. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 615-675 [PMID: 11687500 DOI: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.615]
- Sheppard K, Kinross KM, Solomon B, Pearson RB, Phillips WA. Targeting PI3 kinase/AKT/mTOR signaling in cancer. *Crit Rev Oncog* 2012; 17: 69-95 [PMID: 22471665 DOI: 10.1615/CritRevOncog.v17.i1.60]
- Sharrard RM, Maitland NJ. Regulation of protein kinase B activity by PTEN and SHIP2 in human prostate-derived cell lines. *Cell Signal* 2007; 19: 129-138 [PMID: 16842970 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.05.029]
- Liu S, Knapp S, Ahmed AA. The structural basis of PI3K cancer mutations: from mechanism to therapy. *Cancer Res* 2014; 74: 641-646 [PMID: 24459181 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2319]
- Worby CA, Dixon JE. PTEN. *Annu Rev Biochem* 2014; 83: 641-669 [PMID: 24905788 DOI: 10.1146/annurev-biochem-082411-113907]
- Lu G, Chen J, Espinoza LA, Garfield S, Toshiyuki S, Akiko H, Huppler A, Wang QJ. Protein kinase D 3 is localized in vesicular structures and interacts with vesicle-associated membrane protein 2. *Cell Signal* 2007; 19: 867-879 [PMID: 17196367 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.10.012]
- 薛月梅, 王志发. PTEN在消化道肿瘤中的研究进展. *中国医学创新* 2012; 10: 157-158
- Chagpar RB, Links PH, Pastor MC, Furber LA, Hawrysh AD, Chamberlain MD, Anderson DH. Direct positive regulation of PTEN by the p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 5471-5476 [PMID: 20212113 DOI: 10.1073/pnas.0908899107]
- Myers MP, Stolarov JP, Eng C, Li J, Wang SI, Wigler MH, Parsons R, Tonks NK. P-TEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 9052-9057 [PMID: 9256433 DOI: 10.1073/pnas.94.17.9052]
- Won SH, Lee HJ, Jeong SJ, Lee HJ, Lee EO, Jung DB, Shin JM, Kwon TR, Yun SM, Lee MH, Choi SH, Lü J, Kim SH. Tanshinone IIA induces mitochondria dependent apoptosis in prostate cancer cells in association with an inhibition of phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 1828-1834 [PMID: 21048307 DOI: 10.1248/bpb.33.1828]
- Molina JR, Agarwal NK, Morales FC, Hayashi Y, Aldape KD, Cote G, Georgescu MM. PTEN, NHERF1 and PHLPP form a tumor suppressor network that is disabled in glioblastoma. *Oncogene* 2012; 31: 1264-1274 [PMID: 21804599 DOI: 10.1038/onc.2011.324]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



生物电阻抗分析在胃癌患者放疗期间营养评估中的应用

丁慧萍, 汪琼, 吴焱, 钱泳, 凌轶群

丁慧萍, 汪琼, 吴焱, 钱泳, 凌轶群, 复旦大学附属肿瘤医院营养科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系 上海市 200032
丁慧萍, 营养师, 主要从事肿瘤营养及慢性病营养研究。

作者贡献分布: 此课题由凌轶群指导; 丁慧萍进行数据分析与论文撰写; 汪琼、吴焱及钱泳负责病例收集。

通讯作者: 凌轶群, 副主任医师, 200032, 上海市徐汇区东安路270号, 复旦大学附属肿瘤医院营养科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, catty71@hotmail.com

电话: 021-64175590

收稿日期: 2015-05-06 修回日期: 2015-07-01

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Validity of bioelectrical impedance analysis to assess nutritional status in patients with gastric cancer during radiotherapy

Hui-Ping Ding, Qiong Wang, Yan Wu, Yong Qian, Yi-Qun Ling

Hui-Ping Ding, Qiong Wang, Yan Wu, Yong Qian, Yi-Qun Ling, Department of Nutrition, Shanghai Cancer Center of Fudan University; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China

Correspondence to: Yi-Qun Ling, Associate Chief Physician, Department of Nutrition, Shanghai Cancer Center of Fudan University; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, 270 Dongan Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. catty71@hotmail.com

Received: 2015-05-06 Revised: 2015-07-01

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To study changes in body composition during radiotherapy for gastric cancer and explore the relationship between nutrition risk screen 2002 (NRS-2002) and changes in body composition.

METHODS: From June 2013 to June 2014, 40 patients with gastric cancer received radiotherapy in Department of Radiation, Shanghai Cancer Center. Body composition was evaluated during radiotherapy using multifrequency bioelectrical impedance analysis.

RESULTS: There were significant differences for changes in current weight (CW), body mass index (BMI), weight loss, fat mass index (FMI), fat-free mass index (FFMI), and body cell mass (BCM) during radiotherapy ($P < 0.05$). There was no significant difference in skeletal muscle mass (SM) or phase angle (PA) ($P > 0.05$). Changes in weight, FFMI, SM, and PA during radiotherapy significantly differed between patients with nutritional risk and those without.

CONCLUSION: Nutritional deterioration was found during radiotherapy and body composition was significantly decreased in patients with nutritional risk. It is very important to make rational nutritional plan and intervene effectively for gastrointestinal cancer patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Body composition; Bioelectrical impedance analysis; Gastric; Radiotherapy

Ding HP, Wang Q, Wu Y, Qian Y, Ling YQ. Validity of bioelectrical impedance analysis to assess nutritional status in patients with gastric cancer during radiotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3597-3603 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3597>

背景资料

胃癌患者的营养不良发生率很高, 营养不良患者的术后病死率、并发症的发生率和住院时间均高于营养状况良好者。人体成分分析对于手术患者的营养状况和预后评判有重要参考意义。本研究探讨胃癌患者放疗期间人体成分的变化, 以期对胃癌患者的营养干预提供合理的理论依据。

同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

■ 研究前沿

生物电阻抗(bioelectrical impedance analysis, BIA)是评估人体成分安全无创的方法。近年来研究表明, 人体成分分析对于手术患者的营养状况和预后评判有重要参考意义, 尤其在评价消化系、肺、胸膜和输尿管等肿瘤患者的人体组成和营养状况方面很有价值。

摘要

目的: 本研究探讨进展期胃癌患者放疗期间的人体成分变化及其与营养风险筛查评分值(nutrition risk screen 2002, NRS-2002)之间的相关性。

方法: 采用前瞻性的方法, 以2013-06/2014-06在复旦大学附属肿瘤医院放疗科40例胃癌患者作为研究对象。采用生物电阻抗方法分析患者放疗期间人体成分的变化, 同时进行营养风险筛查及评估。

结果: 放疗期间随着观察时间的变化, 体重(current weight, CW)、体质量指数(body mass index, BMI)、体质量丢失(weight loss)、脂肪组织指数(fat mass index, FMI)、去脂组织指数(fat-free mass index, FFMI)及体细胞量(body cell mass, BCM)差异均有统计学意义($P < 0.05$), 骨骼肌量(skeletal muscle mass, SM)及相位角(phase angle, PA)差异均无统计学意义($P > 0.05$); 无营养风险组(A组)26例, 有营养风险组(B组)14例, 两组在放疗期间体质量丢失, 去脂组织指数, 骨骼肌量, 相位角等人体成分指标变化差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 胃癌患者在放疗期间营养状况有不同程度的损伤, 且有营养风险的患者人体成分指标明显下降, 因此, 对放疗期间的患者进行营养风险筛查以及对营养风险的患者实施营养干预极为重要。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 人体成分; 生物电阻抗分析法; 胃癌; 放疗

核心提示: 胃癌患者在放疗期间营养状况有不同程度的损伤, 且有营养风险的患者人体成分指标明显下降, 因此, 对放疗期间的患者进行营养风险筛查以及对营养风险的患者实施营养干预极为重要。

丁慧萍, 汪琼, 吴焱, 钱泳, 凌轶群. 生物电阻抗分析在胃癌患者放疗期间营养评估中的应用. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3597-3603 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3597>

0 引言

肿瘤患者常存在营养不良, 约有40%的患者在确诊时已经出现不同程度的营养不良。胃癌患

者由于肿瘤所在位置的特殊性, 其营养不良的发生率较其他肿瘤患者更高。有研究^[1]发现, 营养不良患者的术后病死率、并发症的发生率和住院时间均高于营养状况良好者。生物电阻抗(bioelectrical impedance analysis, BIA)是评估人体成分安全无创的方法。近年来研究^[2]表明, 人体成分分析对于手术患者的营养状况和预后评判有重要参考意义, 尤其在评价消化系、肺、胸膜和输尿管等肿瘤患者的人体组成和营养状况方面很有价值^[3]。因此, 本研究旨在探讨胃癌患者放疗期间人体成分的变化, 并研究与营养风险筛查(nutrition risk screen 2002, NRS-2002)评分值之间的相关性, 从而为胃癌患者的营养干预提供合理的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 以2013-06/2014-06在复旦大学附属肿瘤医院放疗科住院行放疗的40例胃癌患者作为研究对象。其中, 男23例, 女17例, 年龄55.2岁±11.03岁。入选标准: (1)经病理检查确诊为胃癌, 已行根治性手术; (2)知晓病情; (3)具有良好的理解及沟通能力; (4)自愿参与本研究。排除标准: (1)合并其他肿瘤; (2)肿瘤复发; (3)心、肺、肾、肝功能不全者; (4)代谢性疾病者。所有纳入研究的患者均取得知情同意。所有研究对象在基线调查时进行营养风险筛查, NRS-2002评分值<3分为无营养风险, 分为无营养风险组(A组), NRS-2002评分值≥3分为有营养风险, 分为有营养风险组(B组)。

1.2 方法

1.2.1 营养风险筛查: 应用欧洲肠外肠内营养学会(European Society of Parenteral Enteral Nutrition, ESPEN)推荐的筛查工具NRS-2002进行营养风险筛查, 由专业调查人员对所有对象进行一般情况调查、人体测量及问诊, 填写营养风险筛查表格。

1.2.2 人体测量: 患者身高(height)测量精确到0.1 cm(赤足), 体质量(weight)精确到0.1 kg(赤足)。体质量指数(body mass index, BMI)(kg/m^2) = 体质量/身高²; 体质量丢失(weight loss)(%) = (通常体质量-目前体质量)/以往体质量×100。放疗前测量1次, 放疗开始后每周固定时间测量1次, 共测量6次。

1.2.3 人体成分分析: 采用韩国Biospace InbodyS10人体成分分析仪进行人体成分检测。测量指标包括脂肪组织(fat mass, FM)、去脂组织

表 1 研究对象基本情况 (mean ± SD)

一般资料	合计	男	女	P值
人数	40	23	17	
年龄(岁)	55.20 ± 11.03	57.93 ± 9.18	50.78 ± 12.89	≥0.05
身高(m)	1.66 ± 0.09	1.72 ± 0.06	1.56 ± 0.04	<0.05
体质量(kg)	59.50 ± 11.27	63.50 ± 11.68	52.89 ± 6.81	<0.05
BMI(kg/m ²)	21.53 ± 3.05	21.43 ± 3.04	21.53 ± 3.05	≥0.05

BMI: 体质量指数。

表 2 A组与B组基本情况 (mean ± SD)

一般资料	合计	A组	B组	P值
人数	40	26	14	
年龄(岁)	55.2 ± 11.03	54.67 ± 9.44	57.00 ± 15.90	≥0.05
身高(m)	1.66 ± 0.09	1.66 ± 0.10	1.65 ± 0.07	≥0.05
体质量(kg)	59.5 ± 11.27	63.22 ± 10.56	50.58 ± 7.86	<0.05
BMI(kg/m ²)	21.53 ± 3.05	22.79 ± 2.50	18.50 ± 2.24	<0.05

A组: 无营养风险组; B组: 有营养风险组。BMI: 体质量指数。

(free fat mass, FFM)、体细胞量(body cell mass, BCM)、骨骼肌量(skeletal muscle mass, SM)及相位角(phase angle, PA)等。所有研究对象测量前2 h禁食, 平卧5 min开始测量, 测量前用酒精将皮肤和电极接触点擦湿。本研究的人体成分仪器测定均由专人经过统一培训后进行操作。同人体测量时间。

脂肪组织指数(fat mass index, FMI), 去脂组织指数(fat-free mass index, FFMI)均用以下公式计算: $FFMI(kg/m^2) = FFM(kg)/height^2(m^2)$, $FMI(kg/m^2) = FM(kg)/height^2(m^2)$ ^[4]。

统计学处理 应用SPSS13.0软件对数据进行统计学分析。测量方法采用重复测定方差分析, 分别进行组内比较及组间比较, 测量值用mean ± SD表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料 研究对象基线资料如表1所示, 共40例胃癌患者纳入本研究, 其中男23例, 女17例, 年龄55.2岁 ± 11.03岁。身高和体质量分别为: 1.66 cm ± 0.09 cm和59.5 kg ± 11.2 kg, BMI为21.53 kg/m² ± 3.05 kg/m²。除身高, 体质量男性与女性之间差异有统计学意义($P < 0.05$)外, 其他差异均无统计学意义(表1)。如表2所示, A组26例, B组14例。除体质量、BMI在A组和B

组之间差异有统计学意义外, 其他差异均无统计学意义。

2.2 放疗期间人体成分变化 如表3所示, 放疗期间随着观察时间的变化, 体质量(current weight, CW)、BMI、体质量丢失、FMI、FFMI、BCM差异均有统计学意义($P < 0.05$), SM及PA差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 有无营养风险与人体成分变化的相关性 如表4所示, A组与B组在放疗期间人体成分变化整体都呈下降趋势, B组人体成分各指标低于A组。CW、BMI、体质量丢失、FFMI、SM、PA在两组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。如图1所示, 两组在放疗期间体质量的平均变化分别为: 3.53 kg ± 1.67 kg和5.53 kg ± 1.08 kg($P = 0.01$); FFMI在放疗期间的平均变化分别为: 2.49 kg/m² ± 2.91 kg/m²和3.05 kg/m² ± 1.97 kg/m²($P = 0.04$); SM在放疗期间的平均变化分别为1.33 kg ± 6.83 kg和2.44 kg ± 4.49 kg($P = 0.05$); PA在放疗期间的平均变化分别为: 2.47 ± 12.19和4.53 ± 14.57($P = 0.04$)。两组在放疗期间FMI和BCM的平均变化差异无统计学意义, 分别为: 5.33 kg/m² ± 13.54 kg/m²和4.65 kg/m² ± 16.49 kg/m²($P = 0.921$), 4.28 kg ± 5.77 kg和3.85 kg ± 2.27 kg($P = 0.862$)。

■ 相关报道

BIA是目前临床测量人体成分分析的常用技术, 在所观察的人体成分指标中, 体细胞量(body cell mass, BCM)和去脂组织(free fat mass, FFM)通常被认为是评价营养不良最有意义的指标。BCM是细胞内液体和蛋白质的总和, FFM指人体所有的无脂组织, 包括骨骼肌和水分。

应用要点

本研究采用韩国Biospace InbodyS10人体成分分析仪进行人体成分检测,旨在探讨胃癌患者放疗期间人体成分的变化,并研究与营养风险筛查评分值之间的相关性,从而为胃癌患者的营养干预提供合理的理论依据。

表 3 放疗期间人体成分变化 (mean ± SD)

变量	基线	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	5 wk	P值
体质量(kg)	60.06 ± 11.27	59.56 ± 11.27	59.10 ± 11.29	58.75 ± 11.33	58.16 ± 11.29	57.71 ± 11.23	<0.01
BMI(kg/m ²)	21.27 ± 3.05	21.33 ± 3.05	21.38 ± 3.08	21.28 ± 3.07	21.07 ± 3.03	20.92 ± 2.99	<0.01
体质量丢失(%)	0	0.86 ± 0.16	1.54 ± 1.13	2.07 ± 1.55	3.28 ± 1.55	4.03 ± 1.76	<0.01
脂肪组织指数(kg/m ²)	6.48 ± 2.30	6.43 ± 2.12	6.40 ± 2.30	6.46 ± 2.38	6.29 ± 2.12	6.02 ± 2.02	<0.05
去脂组织指数(kg/m ²)	15.30 ± 1.66	15.13 ± 1.66	15.08 ± 1.65	15.17 ± 1.67	15.11 ± 1.68	14.95 ± 1.61	<0.05
体细胞量(kg)	27.86 ± 5.21	27.31 ± 5.21	27.23 ± 5.20	27.37 ± 5.07	27.01 ± 4.96	26.67 ± 4.86	<0.05
骨骼肌量(kg)	39.78 ± 7.49	39.58 ± 7.49	39.46 ± 7.48	39.68 ± 7.34	39.36 ± 7.03	39.29 ± 6.83	≥0.05
相位角(°)	5.39 ± 1.03	5.35 ± 0.98	5.31 ± 1.03	5.39 ± 1.06	5.29 ± 0.94	5.24 ± 0.96	≥0.05

BMI: 体质量指数。

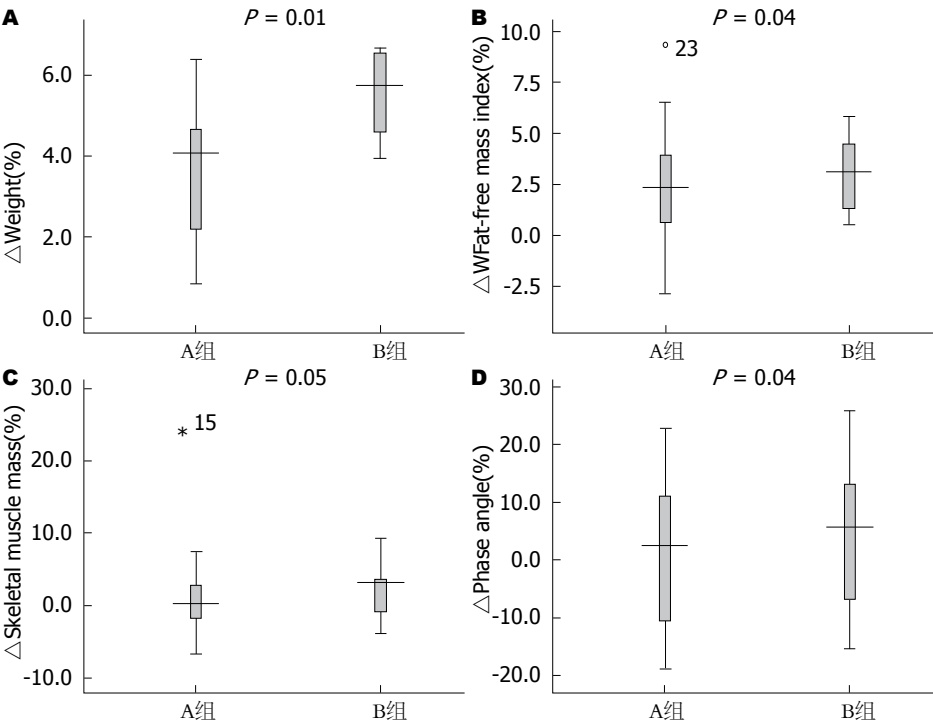


图 1 A组与B组在放疗期间人体成分的平均变化率。A组: 无营养风险组; B组: 有营养风险组。A: 体质量; B: 去脂组织指数; C: 骨骼肌量; D: 相位角。

3 讨论

目前大多数肿瘤的各阶段标准治疗都需要化疗、放疗或者放化疗联合治疗的介入。然而这两种治疗方法都存在各自不可避免的不良反应,这些不良反应可直接或间接地进一步损害患者的营养状态。患者的营养状态和放、化疗

互为影响,在放疗、化疗同时,将难以避免地产生急性和慢性毒性反应,部分不良反应与营养的摄取、吸收和利用障碍相关,导致肿瘤患者的营养不良。而营养状态不良的患者倾向出现更为严重的放化疗不良反应和较差的治疗效果^[5]。因此,我们前瞻性地观察了胃癌患者在

表 4 A组与B组人体成分变化比较 (mean \pm SD)

变量	分组	基线	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	5 wk
体质量(kg)	A	63.62 ±	62.72 ±	62.28 ±	62.00 ±	61.41 ±	61.00 ±
		10.56	10.56	10.47	10.42	10.41	10.32 ^a
	B	50.58 ±	50.58 ±	49.58 ±	49.00 ±	48.42 ±	47.83 ±
		7.86	7.86	8.28	8.34	8.13	7.88
BMI(kg/m ²)	A	22.79 ±	22.61 ±	22.45 ±	22.35 ±	22.13 ±	21.99 ±
		2.50	2.50	2.50	2.48	2.46	2.40 ^a
	B	18.49 ±	18.30 ±	18.18 ±	18.06 ±	17.87 ±	17.72 ±
		2.24	2.24	2.41	2.42	2.32	2.28
体质量丢失(%)	A	0	0.81 ±	1.35 ±	1.81 ±	2.90 ±	3.53 ±
			0.13	1.07	1.36	1.45	1.67 ^a
	B	0	1.01 ±	2.11 ±	2.84 ±	4.42 ±	5.54 ±
			0.15	1.19	1.96	1.37	1.08
脂肪组织指数(kg/m ²)	A	7.02 ±	6.95 ±	7.04 ±	6.95 ±	6.78 ±	6.50 ±
		2.30	2.30	2.32	2.04	2.08	2.01
	B	4.84 ±	4.77 ±	4.71 ±	4.86 ±	4.81 ±	4.59 ±
		1.43	1.43	1.68	1.60	1.56	1.31
去脂组织指数(kg/m ²)	A	15.83 ±	15.66 ±	15.56 ±	15.68 ±	15.62 ±	15.43 ±
		1.46	1.46	1.47	1.54	1.49	1.43 ^a
	B	13.70 ±	13.65 ±	13.63 ±	13.60 ±	13.54 ±	13.54 ±
		1.17	0.99	1.32	1.33	1.31	1.17
体细胞量(kg)	A	28.94 ±	28.39 ±	28.24 ±	28.43 ±	27.96 ±	27.61 ±
		5.32	5.32	5.32	5.19	5.04	4.93
	B	24.63 ±	24.17 ±	24.17 ±	24.15 ±	24.08 ±	23.85 ±
		3.47	3.67	3.20	3.71	3.47	2.66
骨骼肌量(kg)	A	41.33 ±	41.13 ±	40.88 ±	41.14 ±	40.68 ±	40.57 ±
		7.63	7.63	7.62	7.53	7.11	6.97 ^a
	B	35.44 ±	35.41 ±	35.27 ±	35.20 ±	35.15 ±	33.95 ±
		5.06	5.51	4.91	5.53	5.10	5.10
相位角(度)	A	5.53 ±	5.45 ±	5.58 ±	5.48 ±	5.36 ±	5.34 ±
		1.09	1.09	1.12	1.04	0.94	1.01 ^a
	B	5.10 ±	5.00 ±	4.98 ±	4.95 ±	4.90 ±	4.82 ±
		1.01	0.71	0.73	0.81	0.73	0.63

同行评价

本文研究BIA分析在胃癌患者放疗期间营养评估中的应用, 研究结果显示人体成分指标如骨骼肌量(skeletal muscle mass)、相位角(phase angle)等均能作为营养不良评价的参考指标。本研究选题切合实际, 为后续研究上述指标评价营养不良不良的临界值奠定基础。

A组: 无营养风险组; B组: 有营养风险组. BMI: 体质量指数.

放疗期间人体成分的变化,通过重复测定人体成分,探讨人体成分中评价营养状况最为合适的指标,并比较营养风险评分值与人体成分的相关性,为下一步实施营养干预提供依据。

在本项研究中应用BIA观察A组和B组两组患者在放疗期间人体成分的变化。BIA是目前临床测量人体成分分析的常用技术,在所观察的人体成分指标中,BCM和FFM通常被认为是评价营养不良最有意义的指标^[6]。BCM是细胞内液体和蛋白质的总和,FFM指人体所有的无脂组织,包括骨骼肌和水分。研究^[7]表明,FFM的降低与营养不良和年龄有关,而

且可作为肿瘤恶病质的风险因子。但是, FFM和FM会随着年龄、身高、体质量发生变化, 很难确定研究对象是否属于高或者低FFM和FM^[8]。VanItallie等^[9]表明未经身高校正的FFM和FM不足以评估营养状况。Kyle等^[8]研究发现, FFMi和FMI不同于FFM和FM, 消除了身高和体质量的影响, 而且设立了推荐范围。近年研究表明, FFMi和FMI在评价营养状况方面更为准确。因此, 本研究采用FFMi和FMI来评价胃癌患者在放疗期间的营养状况。本研究观察显示, FFMi在放疗期间, 随着观察时间的变化, 第1周开始下降, 第3周有上升, 之后又逐渐下

降, 到第5周达到最低, 整个趋势差异有统计学意义, 而FMI在整个放疗期间呈现与FFMI同样的变化. BCM在整个放疗期间, 整体变化趋势与FFMI相同, 差异有统计学意义. 组间比较观察显示, FFMI平均变化率在两组间差异有统计学意义, B组平均变化率明显高于A组.

放疗期间的体质量丢失是营养状况降低的早期信号^[10]. 本研究中, 体质量丢失在整个放疗期间, 呈现上升的趋势, 到放疗第5周达到最高. 我们的研究结果与Guren等^[11]的研究一致. FFMI、FMI、BCM在整体变化趋势中, 放疗第3周有上升趋势, 可能与在放疗初期, 患者的食欲减退和胃肠道的不良反应尚未出现, 饮食过程中会有意识地增加高蛋白高能量食物的摄入量, 因此在一定程度上补充了机体蛋白质的消耗有关.

不光FFMI和BCM在评估营养状况方面有意义, SM也是非常有价值的指标. Gonzalez等^[7]研究证明, 肌少症是较高死亡率的独立风险因子, 而这个结论是在多元COX分析中调整了其他公认的危险因素得出的. 其他研究^[12,13]表明, 低SM肿瘤患者在化疗过程中更易出现药物聚集及不良反应. 在肝硬化合并肝细胞癌患者中, 肌少症在控制了其他影响疾病严重程度的因素之后还是死亡率独立的风险因子^[14,15]. 因此, 研究^[16]一致推断, 与BMI相比, SM可更好的决定死亡率. 本研究中, SM的变化趋势与FFMI一致, 在放疗第1周开始下降, 第3周后开始上升, 然后又逐渐下降, 但是整个变化趋势差异无统计学意义. 组间比较显示, B组SM平均变化率要高于A组, 两者之间差异有统计学意义, 这与FFMI的变化一致. 因此, 有必要在放疗之前对有营养风险的患者实施营养干预, 以减缓在放疗期间营养指标的下降, 改善营养状况, 降低放疗的不良反应.

PA也是近年较热门的研究指标之一. PA可以反映细胞膜能力、细胞内外水分分布情况和BCM水平, 可以用来作为人体的营养指标, 且专业研究^[17]显示, 使用PA来预测艾滋病患者、肺癌患者、血透患者、恶质病患者的存活率和监测其疾病进程的能力要优于其他血清或营养体检指标. Paixão等^[18]对放疗期间的肿瘤患者做了一项前瞻性的研究, 与BMI相比, 发现体质量丢失与放疗期间PA的变化有密切的联系. 本研究中, PA在放疗期间的变化趋势与上述指标相似, 但是在我们的研究中整个

趋势差异无统计学意义. 此项结论可能与本研究样本量过少有关, 而且此次研究中未校正性别和年龄对PA的差异, 可在今后扩大样本量进一步深入地研究. B组在放疗期间PA平均变化率要高于A组, 差异有统计学意义. 整个放疗期间, 体质量、FFMI、SM、PA在两组之间差异有统计学意义, 有营养风险组人体成分平均变化率明显高于无营养风险组. 因此, 人体成分指标如PA、SM等均能作为营养不良评价的参考指标, 但有必要在今后进一步研究中增加样本量, 并判定上述指标评价营养不良的临界值.

总之, 本研究显示, 胃癌患者在放疗期间营养状况有不同程度的损伤, 人体成分指标在放疗期间总体都存在下降趋势, 这与国外很多研究结果相似. 有营养风险的患者人体成分指标明显下降. 因此, 对放疗期间的患者进行营养风险筛查以及对有营养风险和营养不良的患者实施营养干预极为重要.

4 参考文献

- 1 吴国豪, 刘中华, 郑烈伟, 全应军, 吴肇汉. 普外科住院患者营养状况评价及预后分析. *中华外科杂志* 2005; 43: 693-696
- 2 Malecka-Massalska T, Smolen A, Morshed K. Body composition analysis in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014; 271: 2775-2779 [PMID: 24264763 DOI: 10.1007/s00405-013-2815-3]
- 3 Desport JC, Preux PM, Bouteloup-Demange C, Clavelou P, Beaufrère B, Bonnet C, Couratier PP. Validation of bioelectrical impedance analysis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1179-1185 [PMID: 12716669]
- 4 Kyle UG, Pirlich M, Lochs H, Schuetz T, Pichard C. Increased length of hospital stay in underweight and overweight patients at hospital admission: a controlled population study. *Clin Nutr* 2005; 24: 133-142 [PMID: 15681111 DOI: 10.1016/j.clnu.2004.08.012]
- 5 章真. 如何在放化疗同期进行肿瘤患者的营养干预. *中国处方药* 2010; 105: 37-39
- 6 Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Ibi R, Okada T, Mutou M, Shiraishi S, Uchida Y, Otsuka M, Umeki Y, Oriishi T, Hayabuchi H, Tanaka S, Takakura M, Sata M. Body cell mass is a useful parameter for assessing malnutrition and severity of disease in non-ascitic cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma or esophageal varices. *Int J Mol Med* 2008; 22: 589-594 [PMID: 18949378]
- 7 Gonzalez MC, Pastore CA, Orlandi SP, Heymsfield SB. Obesity paradox in cancer: new insights provided by body composition. *Am J Clin Nutr* 2014; 99: 999-1005 [PMID: 24572565 DOI: 10.3945/ajcn.113.071399]
- 8 Kyle UG, Schutz Y, Dupertuis YM, Pichard C. Body composition interpretation. Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass

- index. *Nutrition* 2003; 19: 597-604 [PMID: 12831945 DOI: 10.1016/S0899-9007(03)00061-3]
- 9 VanItallie TB, Yang MU, Heymsfield SB, Funk RC, Boileau RA. Height-normalized indices of the body's fat-free mass and fat mass: potentially useful indicators of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 953-959 [PMID: 2239792]
- 10 Ravasco P, Monteiro-Grillo I, Vidal PM, Camilo ME. Dietary counseling improves patient outcomes: a prospective, randomized, controlled trial in colorectal cancer patients undergoing radiotherapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1431-1438 [PMID: 15684319 DOI: 10.1200/JCO.2005.02.054]
- 11 Guren MG, Tobiassen LB, Trygg KU, Drevon CA, Dueland S. Dietary intake and nutritional indicators are transiently compromised during radiotherapy for rectal cancer. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 113-119 [PMID: 16205744]
- 12 Massicotte MH, Borget I, Broutin S, Baracos VE, Leboulleux S, Baudin E, Paci A, Deroussent A, Schlumberger M, Antoun S. Body composition variation and impact of low skeletal muscle mass in patients with advanced medullary thyroid carcinoma treated with vandetanib: results from a placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 2401-2408 [PMID: 23543666 DOI: 10.1210/jc.2013-1115]
- 13 Prado CM, Lieffers JR, McCargar LJ, Reiman T, Sawyer MB, Martin L, Baracos VE. Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: a population-based study. *Lancet Oncol* 2008; 9: 629-635 [PMID: 18539529 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70153-0]
- 14 Montano-Loza AJ, Meza-Junco J, Prado CM, Lieffers JR, Baracos VE, Bain VG, Sawyer MB. Muscle wasting is associated with mortality in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 166-173, 173.e1 [PMID: 21893129 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.08.028]
- 15 Meza-Junco J, Montano-Loza AJ, Baracos VE, Prado CM, Bain VG, Beaumont C, Esfandiari N, Lieffers JR, Sawyer MB. Sarcopenia as a prognostic index of nutritional status in concurrent cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 861-870 [PMID: 23751844 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318293a825]
- 16 Kalantar-Zadeh K, Streja E, Molnar MZ, Lukowsky LR, Krishnan M, Kovesdy CP, Greenland S. Mortality prediction by surrogates of body composition: an examination of the obesity paradox in hemodialysis patients using composite ranking score analysis. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 793-803 [PMID: 22427612 DOI: 10.1093/aje/kwr384]
- 17 Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 49-52 [PMID: 16002799]
- 18 Paixão EM, Gonzalez MC, Ito MK. A prospective study on the radiation therapy associated changes in body weight and bioelectrical standardized phase angle. *Clin Nutr* 2015; 34: 496-500 [PMID: 24953772 DOI: 10.1016/j.clnu.2014.05.012]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



联合检测甲胎蛋白和高尔基体蛋白73(ELISA法)对原发性肝癌诊断价值的Meta分析

王俊岭, 李萍, 江智龙, 杨秋辉, 李斯, 刘丹

背景资料

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是导致肿瘤患者死亡的第三大因素。早期及时的诊断对提高PHC患者的生存率及改善预后非常重要。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是临床工作中应用较为普遍的PHC血清标志物,但其敏感度和特异度尚不令人满意。因此,亟需探索其他新的标志物来辅助肝癌的诊断。

王俊岭, 李萍, 杨秋辉, 天津医科大学研究生院 天津市 300070
 王俊岭, 李萍, 江智龙, 杨秋辉, 李斯, 刘丹, 天津市第二人民医院中西医结合肝病II科 天津市肝病医学研究所 天津市 300192

江智龙, 李斯, 刘丹, 天津中医药大学 天津市 300193

王俊岭, 在读硕士, 主要从事脂肪肝及肝癌的临床与基础研究。

作者贡献分布: 此课题由王俊岭与李萍设计; 研究过程由王俊岭与李萍完成; 检索文献由王俊岭、李斯及刘丹完成; 数据分析由王俊岭、江智龙及杨秋辉完成; 本论文写作由王俊岭完成; 李萍审核。

通讯作者: 李萍, 教授, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院中西医结合肝病II科, 天津市肝病医学研究所, 天津医科大学研究生院。tjplxg@163.com
 电话: 022-27468232

收稿日期: 2015-05-19 修回日期: 2015-06-08

接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

Diagnostic value of alpha-fetoprotein combined with Golgi protein 73 in primary hepatic carcinoma: A meta-analysis

Jun-Ling Wang, Ping Li, Zhi-Long Jiang, Qiu-Hui Yang, Si Li, Dan Liu

Jun-Ling Wang, Ping Li, Qiu-Hui Yang, Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Jun-Ling Wang, Ping Li, Zhi-Long Jiang, Qiu-Hui Yang, Si Li, Dan Liu, Department of Chinese Integrative Medicine II, Tianjin Second People's Hospital; Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300192, China

Zhi-Long Jiang, Si Li, Dan Liu, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine; Tianjin 300193, China

Correspondence to: Ping Li, Professor, Chief Physician, Department of Chinese Integrative Medicine II, Tianjin Second People's Hospital; Tianjin Institute of Hepatology; Graduate School of Tianjin Medical University, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. tjplxg@163.com

Received: 2015-05-19 Revised: 2015-06-08

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To perform a systematic review of the diagnostic value of Golgi protein 73 (GP73) combined with alpha-fetoprotein (AFP) in primary hepatic carcinoma.

METHODS: By searching PubMed, EMbase, Medline, Wanfang, CNKI and SinoMed databases from inception to February 2015, and manually searching the references of relevant papers, we retrieved both Chinese and English papers regarding combined detection of GP73 and AFP in primary hepatic carcinoma according to the inclusion and exclusion criteria. Then the quality and heterogeneity of the included studies were evaluated. Meta Disc1.4 and Stata12.0 software were used to do the meta-analysis.

RESULTS: Nineteen studies were included in our meta-analysis. The pooled sensitivity, specificity, the area under the curve (AUC) and Q index of AFP and GP73 alone were 0.58 (0.56-0.61), 0.84(0.83-0.86); 0.7642, 0.7052; 0.78(0.76-0.80), 0.97 (0.86-0.88); and 0.8848, 0.8153, respectively. The pooled sensitivity, specificity, AUC and Q index of combined AFP and GP73 were 0.88 (0.87-0.90), 0.82 (0.80-0.83), 0.9461, and 0.8853, respectively. The AUC and Q index of combined detection of GP73 and AFP were significantly higher than those of either alone ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Combined detection of GP73 and AFP has high diagnostic value in primary hepatic carcinoma.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

同行评议者

王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

Key Words: Alpha-fetoprotein; Golgi protein 73; Primary hepatic carcinoma; Meta-analysis

Wang JL, Li P, Jiang ZL, Yang QH, Li S, Liu D. Diagnostic value of alpha-fetoprotein combined with Golgi protein 73 in primary hepatic carcinoma: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3604-3613 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3604.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3604>

摘要

目的: 评价甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)联合高尔基体蛋白73(Golgi protein 73, GP73)检测对原发性肝癌诊断的价值, 以期临床医生提供参考。

方法: 检索PubMed、EMbase、Medline、万方数据知识服务平台、CNKI、中国生物医学文献数据库等中外数据库2015-02之前发表的, 关于AFP联合GP73检测对原发性肝癌诊断价值的研究, 并对纳入文献的参考文献进行二次检索。严格按照纳入标准和排除标准选择文献、提取数据, 并对纳入的文献行质量评价、异质性分析。采用Meta Disc1.4、Stata12.0软件进行Meta分析。

结果: 共纳入符合标准的文献19篇。AFP、GP73单项检测对原发性肝癌诊断合并后的敏感度、特异度、曲线下面积(area under the curve, AUC)、Q指数分别为0.58(0.56-0.61)、0.84(0.83-0.86)、0.7642、0.7052和0.78(0.76-0.80)、0.97(0.86-0.88)、0.8848、0.8153。AFP联合GP73检测合并后的敏感度、特异度、AUC、Q指数分别为0.88(0.87-0.90)、0.82(0.80-0.83)、0.9461、0.8853。联合检测的AUC、Q指数明显高于AFP、GP73单项检测, Z检验提示差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。

结论: AFP联合GP73检测对原发性肝癌的诊断价值较高, 对临床医生有一定的参考价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 甲胎蛋白; 高尔基蛋白73; 原发性肝癌; Meta分析

核心提示: 本Meta分析结果显示甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)联合高尔基体蛋白73(Golgi protein 73, GP73)对原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)诊断的曲线下面积(area under the curve)和Q指数均高于单项检测($P<0.05$), 提

示AFP、GP73联合检测对PHC的诊断价值较高, 对临床医生有一定的参考价值。

王俊岭, 李萍, 江智龙, 杨秋辉, 李斯, 刘丹. 联合检测甲胎蛋白和高尔基体蛋白73(ELISA法)对原发性肝癌诊断价值的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3604-3613 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3604.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3604>

0 引言

原发性肝癌(primary hepatic carcinoma, PHC)是世界上最常见的恶性肿瘤之一。有数据显示, 在2008年全球约748300新发肝癌患者和695900死亡患者中, 近一半发生在中国^[1]。其中以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最常见, 占PHC的80%左右, 其5年生存率不足5%^[2]。通常PHC患者早期症状不明显, 当被诊断时大部分已处于中晚期, 已经失去了最佳治疗时机。因此早期及时的诊断对提高PHC患者的生存率及改善预后非常重要。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是临床工作中应用较为普遍的PHC血清标志物, 但其敏感度和特异度分别为40%-65%和76%-96%不等^[3], 而且部分肝癌患者血清AFP常为阴性, 因此亟需探索其他新的标志物来辅助肝癌的诊断。高尔基体蛋白73(Golgi protein 73, GP73)是存在于高尔基体上的一种跨膜蛋白, 在肝癌患者的血清中呈现出高表达状态。有研究^[4-22]表明AFP联合GP73对PHC诊断的准确性较高, 但这些研究结果差异较大, 且多为单中心、小样本的资料, 结果的可信度较低。因此, 我们通过Meta分析的方法, 对国内外关于AFP联合GP73对PHC诊断准确性的研究进行定量的分析和综合评价, 以期临床医生提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 检索数据库包括: PubMed、EMbase、Medline、Springer Link、Elsevier、万方数据知识服务平台、CNKI、维普中文科技期刊数据库、中国生物医学文献数据库。检索截止时间2015-02。英文检索关键词包括: GP73、Golgi protein 73、Golgi phosphoprotein 2、Golgi membrane protein 1、primary hepatic carcinoma、hepatocellular carcinoma、liver cancer、tumor marker、diagnose。中文检索关键词包括: GP73、高尔基体蛋白73、原发性肝

■ 研究前沿

寻找PHC的血清标志物以期做到对肝癌的早期诊断是目前研究的热点和重点。由于肝癌的发病因素复杂、阶段较多, 使其在不同的阶段、不同机体的表现也不尽相同, 因此临床上一直以筛选和优化肿瘤检测组合为努力的方向。

■ 相关报道

有研究表明, AFP、高尔基体蛋白73(Golgi protein 73, GP73)联合检测优于单一的肿瘤标志物, 从而可提高诊断PHC的正确性。但该研究样本量较小且为单中心研究, 结果可信度不高。

癌、肝细胞癌、肿瘤标志物、肝脏肿瘤。为避免遗漏, 对纳入文献的参考文献进行二次检索。共纳入符合标准的文献19篇。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)研究类型: 国内外公开发表的关于AFP联合GP73检测对PHC的诊断试验研究; (2)研究对象: 病例组为以肝组织病理学确诊的PHC患者, 对照组为临床或病理确诊的非PHC患者(如肝炎或肝硬化患者、健康人等); (3)测定方法: 血清AFP以化学发光法测定, GP73以酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定; (4)能从文献获得完整的诊断四格表数据[真阳性(TP)、假阳性(FP)、真阴性(TN)、假阴性(FN)]。

1.2.2 排除标准: (1)病例组缺少或部分缺少金标准; (2)重复发表的文献中, 发表时间较早、质量较低或样本含量较少的文献; (3)文摘、讲座等非原始研究和基础研究; (4)学位论文、会议论文; (5)对照组中未同时包括肝脏良性疾病的; (6)病例组做过手术、放疗或化疗, 以及存在其他肿瘤的情况; (7)样本量<30。

1.2.3 资料提取: 由两位研究者各自阅读所检索到文献的题目及摘要, 除去明显不符合纳入标准的研究, 之后对可能符合纳入标准的文献进行全文的阅读, 以确定其是否符合纳入标准, 对存在分歧的文献, 通过讨论或由另外一位研究者决定其是否被纳入。由两位研究者独立地对符合纳入标准的文献进行资料提取, 填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 对于缺乏的资料通过与原文负责人联系予以补充。提取的主要资料包括: 文献编号、标题、第一作者、发表时间、研究国家、病例组诊断标准、检测方法、临界值(cut-off)、四格表数据(TP、FP、TN、FN)。随机选取10%的剔除文献阅读全文, 以检查文献的一致率。

1.2.4 文献质量评价: 使用2011年修订版诊断准确性研究的质量评价工具QUADAS-2(Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies 2)对文献质量进行评价^[23]。QUADAS-2工具主要由病例的选择, 待评价试验, 金标准, 病例流程和进展情况4个部分组成。所有组成部分均将评价其偏倚风险情况, 前3部分也将就其临床适用情况进行评价。在偏倚风险判断上纳入了标志性的问题, 根据每部分纳入的相关标志性问题回答“是”、“否”或“不确定”, 可对

应将偏倚风险等级判定为“低”、“高”或“不确定”。而临床适用性的判断未纳入标志性问题, 其主要是根据与评价问题的匹配程度, 按“高”、“低”、“不清楚”判定等级。文献评价由两名研究者各自独立完成, 存在争议时通过讨论或由另外1名研究者协助解决。

统计学处理 采用Meta Disc1.4、Stata12.0软件进行Meta分析。采用Rev Man5.3软件对纳入文献行质量评价。并检测纳入研究的敏感性和发表偏倚情况。使用Spearman相关分析行异质性分析, 若存在异质性, 行阈值效应的检测判断异质性是否由阈值效应引起, 若无阈值效应, 行Meta回归分析其异质性来源, 并采用随机效应模型对诊断准确性指标进行合并处理与分析; 反之若不存在异质性, 则采用固定效应模型行各指标的合并与分析。对敏感度、特异度、诊断性试验比值比(DOR)和Q指数等指标进行合并, 并计算SROC曲线下面积(area under the curve, AUC)。通过Z检验分析三者AUC、Q指数的差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 文献检索结果

2.1.1 文献筛选与资料提取: 经过在中、英文数据库的初步检索, 共检索出相关文献401篇。根据纳入和排除标准, 共纳入文献27篇。其中, 重复发表的文献4篇, 对照组只有健康者而不含非PHC患者的文献3篇, 非PHC患者未纳入最后的研究分析中的文献1篇, 最终纳入文献19篇。PHC组共1414例, 对照组共2681例。各研究的基本特征如表1。

2.1.2 纳入文献的质量评价: 应用QUADAS-2对纳入文献进行质量评价, 结果如图1。对所有纳入研究的偏倚风险进行判断显示, 16个研究在病理选择方面偏倚风险较低, 约占所有研究的84%; 在金标准方面低偏倚风险的研究约占79%; 而待评价试验方面低偏倚风险的研究约占47%, 高偏倚风险的研究仅占5%左右。对所纳入研究的临床适用性评价表明, 所有研究在金标准方面均具有高适用性; 约79%的研究在病理选择方面其适用性不清楚。

2.2 Meta分析

2.2.1 异质性分析: 以敏感度和特异度为效应量, 应用Q检验法, 对AFP、GP73单项检测及AFP联合GP73检测的异质性进行分析提示, 以

表 1 纳入文献的基本特征

作者	国家	肝癌例数/ 对照例数	AFP			GP73			AFP+GP73							
			TP	FP	FN	TN	cut-off (ng/mL)	TP	FP	FN	TP	FP	TN			
石玉玲等 ^[4] 2010	中国	73/107	39	8	34	99	10.6	48	5	25	102	123.2	58	10	15	97
张祖平等 ^[6] 2010	中国	64/96	40	8	24	88	200	52	7	12	89	88.5	61	10	3	86
费文莉等 ^[6] 2011	中国	157/171	106	30	51	141	50	122	39	35	132	70	154	16	3	155
Shi等 ^[7] 2011	中国	73/107	21	1	52	106	400	50	7	23	100	100	54	8	19	99
庄少华等 ^[8] 2012	中国	30/50	19	10	11	40	42.1	23	9	7	41	139.7	26	11	4	39
范公忍等 ^[9] 2012	中国	85/135	55	11	30	124	7.02	67	7	18	128	150	79	13	6	122
姚建华 ^[10] 2012	中国	57/63	25	1	32	62	20	50	6	7	57	150.8	53	7	4	56
贾保昌等 ^[11] 2012	中国	144/360	104	84	40	276	20	120	42	24	318	64	136	124	8	236
陈琳等 ^[12] 2012	中国	51/75	32	7	19	68	—	34	5	17	70	127.5	44	4	7	71
El Shafie等 ^[13] 2012	埃及	31/55	24	22	7	33	28.51	27	3	4	52	7.62	28	5	3	50
Zhou等 ^[14] 2012	中国	118/141	34	57	84	84	10.9	91	25	27	116	100	92	24	26	117
赵运胜等 ^[15] 2013	中国	50/80	26	6	24	74	72.7	36	4	14	76	108	18	0	32	80
杨爱华等 ^[16] 2013	中国	57/213	44	18	13	195	400	49	13	8	200	100.18	52	16	5	197
许奇美等 ^[17] 2014	中国	105/302	60	46	45	256	45.9	84	75	21	227	61.2	90	94	15	208
赵丽莉等 ^[18] 2014	中国	55/77	39	16	16	61	23	43	14	12	63	65	51	20	4	57
张进根等 ^[19] 2014	中国	65/332	35	51	30	281	20	48	38	17	294	81.08	60	56	5	276
吴玉等 ^[20] 2014	中国	77/100	48	21	29	79	18.2	66	14	11	86	58.9	70	30	7	70
徐向勇等 ^[21] 2014	中国	76/103	48	9	28	94	200	62	7	14	96	85.5	73	11	3	92
崔明亮等 ^[22] 2015	中国	46/114	26	17	20	97	20	34	14	12	100	100	40	18	6	96

AFP: 甲胎蛋白; GP73: 高尔基体蛋白73; TP: 真阳性值; FP: 假阳性值; TN: 真阴性值; FN: 假阴性值; cut-off: 临界值; -: 原文未提及。

上检测均存在异质性($P<0.05$)。

由于临界值不同导致敏感度、特异度、诊断优势比等的差异而产生阈值效应,因此首先检验是否存在阈值效应。研究中AFP单项检测的Spearman相关系数 = 0.435, $P = 0.063$; GP73单项检测的Spearman相关系数 = 0.109, $P = 0.658$; AFP联合GP73检测的Spearman相关系数 = 0.309, $P = 0.198$,提示AFP、GP73单项检测及AFP

创新亮点
虽有不少关于AFP和GP73联检对PHC早期诊断的研究,但结果参差不齐,且多为小样本、单中心的资料。本文通过Meta的方法对国内为公开发表的相关研究进行综合分析、系统评价,努力为临床医生提供较为可靠的临床证据,指导临床实践。

应用要点

AFP、GP73联合检测可对PHC做到早期诊断, 及时发现早期肝癌, 抓住最佳治疗时机, 以便改善患者预后, 提高生存率。

表 2 纳入文献的合并效应量

方法	敏感度	特异度	DOR	AUC	SE(AUC)	Q指数
AFP	0.58(0.56–0.61)	0.84(0.83–0.86)	10.01(6.32–15.86)	0.7635	0.0430	0.7046
GP73	0.78(0.76–0.80)	0.88(0.86–0.89)	29.39(21.21–40.71)	0.8883	0.0140	0.8189
AFP+GP73	0.88(0.86–0.89)	0.82(0.81–0.84)	60.74(38.13–96.78)	0.9436	0.0097	0.8821

DOR: 诊断比值比; AUC: 曲线下面积; SE(AUC): AUC的标准误; AFP: 甲胎蛋白; GP73: 高尔基体蛋白73. 括号内为95%可信区间。

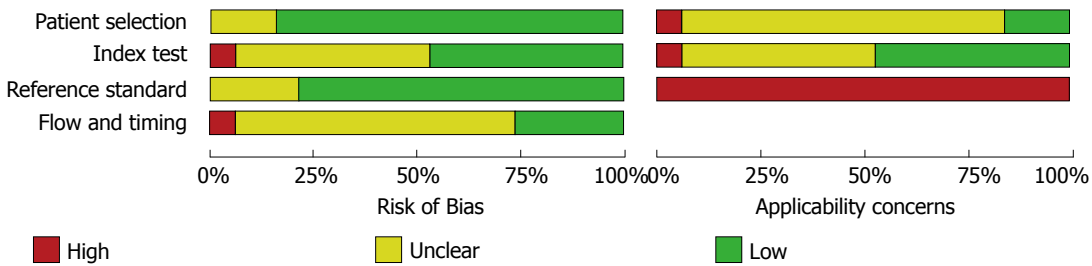


图 1 纳入文献的质量评价。

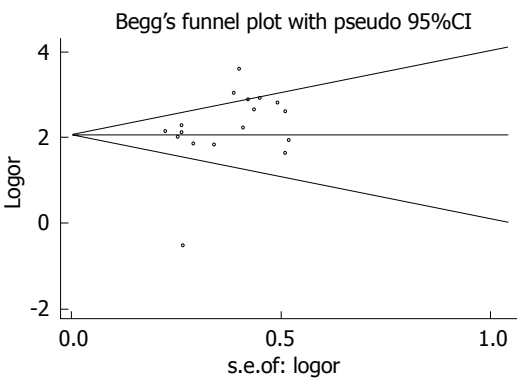


图 2 Begg漏斗图。

联合GP73检测均不存在阈值效应。

通过Meta回归分析AFP、GP73单项检测及AFP联合GP73检测的非阈值效应引起的异质性来源。将研究人群、研究地区、试剂来源、文献质量4个变量进行Meta回归分析, 均未发现有异质性。

2.2.2 敏感性分析: 从纳入研究中逐一剔除质量相对较差的文献后重新进行Meta分析, 结果显示前后合并效应间无显著性差异, 表明纳入研究的稳定性良好。

2.2.3 发表偏倚分析: 利用纳入文献的资料绘制Begg漏斗图(图2), 可见图中散点分布基本对称, 且散点大部分在95%可信区间内。进一步行Begg秩相关检验, $P = 0.221$, 行Egger线性回归检验, $P = 0.077$, 均未提示明显的发表偏倚。

2.2.4 合并效应量的Meta分析: 由于异质性分

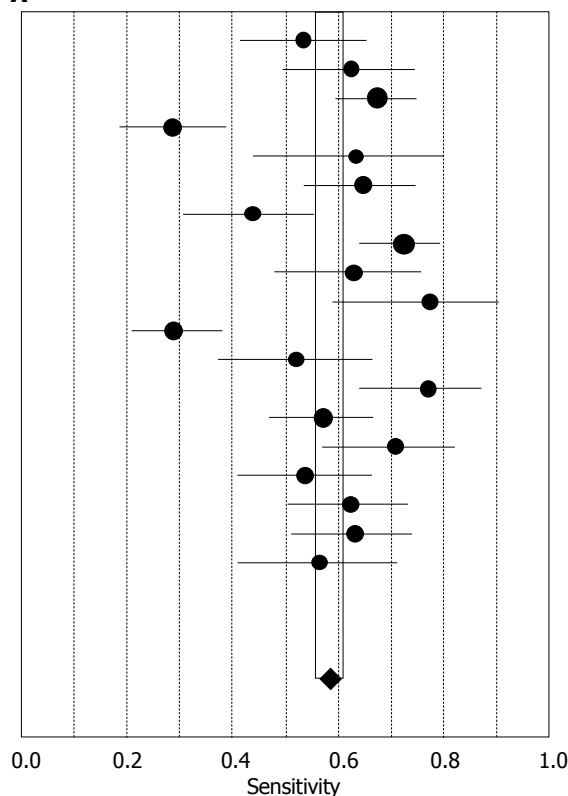
析提示AFP、GP73单项检测及AFP联合GP73检测的灵敏度、特异度、DOR均存在异质性, 因此行Meta分析合并效应量时采用随机效应模型。AFP、GP73单项检测及AFP联合GP73检测的灵敏度、特异度、DOR、AUC、AUC标准误SE(AUC)、Q指数如表2。3种检测方法的敏感度、特异度的森林图及SROC曲线如图3、4。

2.2.5 AFP联合GP73检测与另两种检测方法合并效应量的比较: AFP联合GP73检测对PHC的诊断, 合并后的敏感度为0.88(0.86-0.89), 高于AFP、GP73单项检测的敏感度[分别为0.58(0.56-0.61)、0.78(0.76-0.80)]; 而合并后的特异度为0.82(0.81-0.84), 略低于另两种检测方法[AFP 0.84(0.83-0.86)、GP73 0.88(0.86-0.89)]。AFP和GP73联合检测对PHC诊断SROC的AUC为0.9436, 进行Z检验提示, 明显高于AFP($Z = 4.16, P < 0.05$)和GP73($Z = 3.49, P < 0.05$)单项检测, 差异有统计学意义。AFP联合GP73检测的Q指数为0.8821, 明显>AFP、GP73单项检测时的Q指数(分别为0.7046, 0.8189), 进行Q指数的Z检验亦提示联合检测与AFP($Z = 4.75, P < 0.05$)、GP73($Z = 3.56, P < 0.05$)单项检测相比其诊断的准确性提高。

3 讨论

PHC早期症状、体征不明显, 极易漏诊, 而当确定诊断时多数已处于终末期, 失去了最佳治疗时机。因此, 对PHC的早期诊断尤为重要。血

A



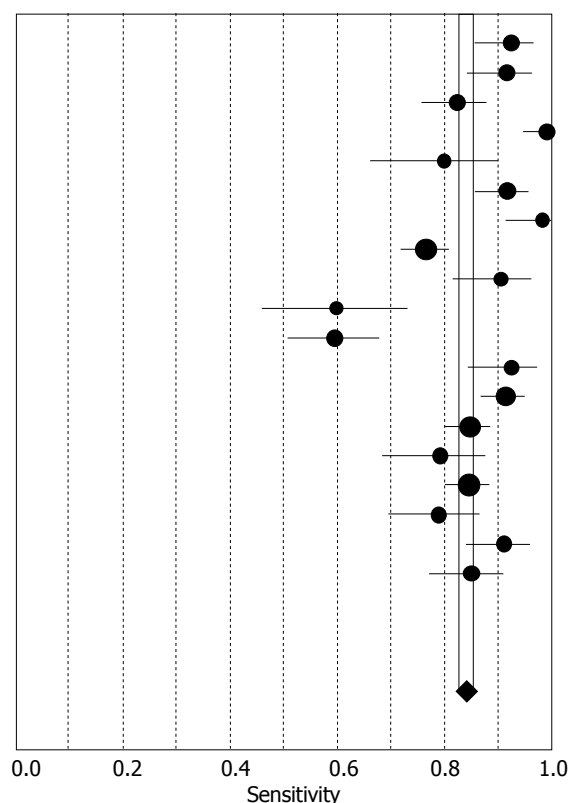
石玉玲
 张祖平
 赛文莉
 Y.Shi
 庄少华
 范公忍
 姚建华
 贾保昌
 陈琳
 Mona A El Shafie
 Zhenxian Zhou
 赵运胜
 杨爱华
 许奇美
 赵丽莉
 张进银
 吴玉
 徐向前
 崔冉亮

Sensitivity(95%CI)
 0.53(0.41–0.65)
 0.63(0.50–0.74)
 0.68(0.60–0.75)
 0.29(0.44–0.80)
 0.63(0.44–0.80)
 0.65(0.54–0.75)
 0.44(0.31–0.58)
 0.72(0.64–0.79)
 0.63(0.48–0.76)
 0.77(0.59–0.90)
 0.29(0.21–0.38)
 0.52(0.37–0.66)
 0.77(0.64–0.87)
 0.57(0.47–0.67)
 0.71(0.57–0.82)
 0.54(0.41–0.66)
 0.62(0.51–0.73)
 0.63(0.51–0.74)
 0.57(0.41–0.71)

■ 名词解释

高尔基体蛋白73(GP73): 是一种相对分子质量为 7.3×10^5 的跨膜糖蛋白, 该蛋白的编码基因位于人第9号染色体, 全长3042 bp, 主要表达于人类多种组织的上皮细胞, 正常肝脏组织表达甚微, 但在发生病变的肝细胞中表达上调。

B

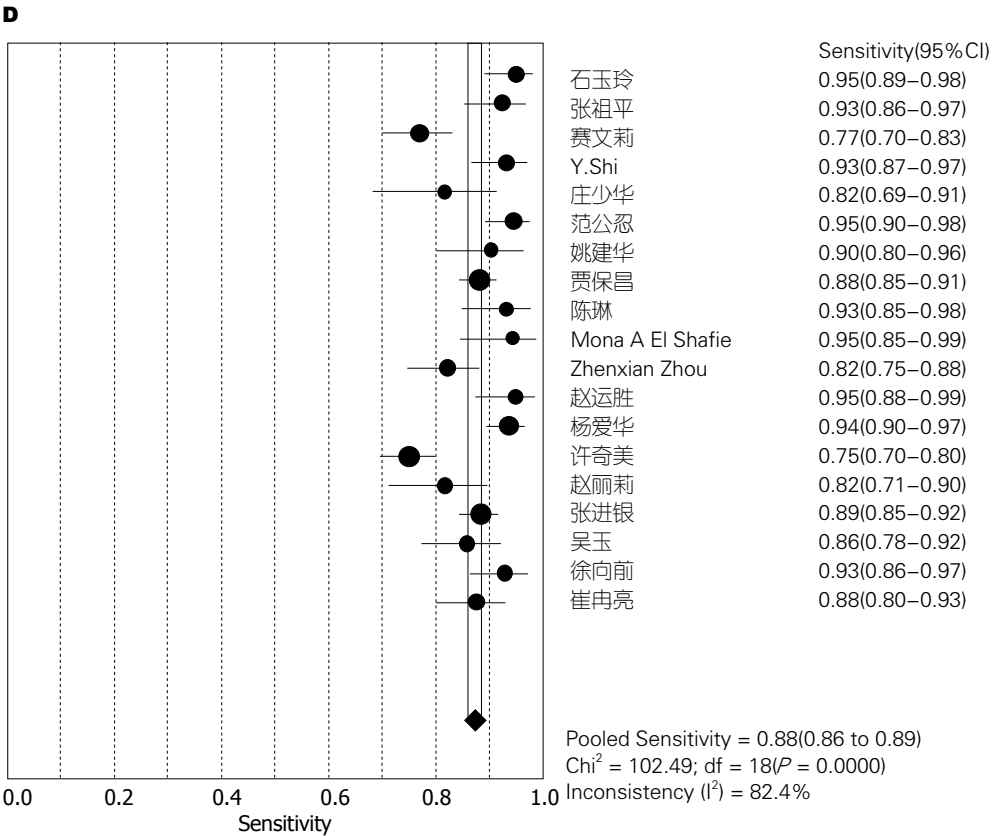
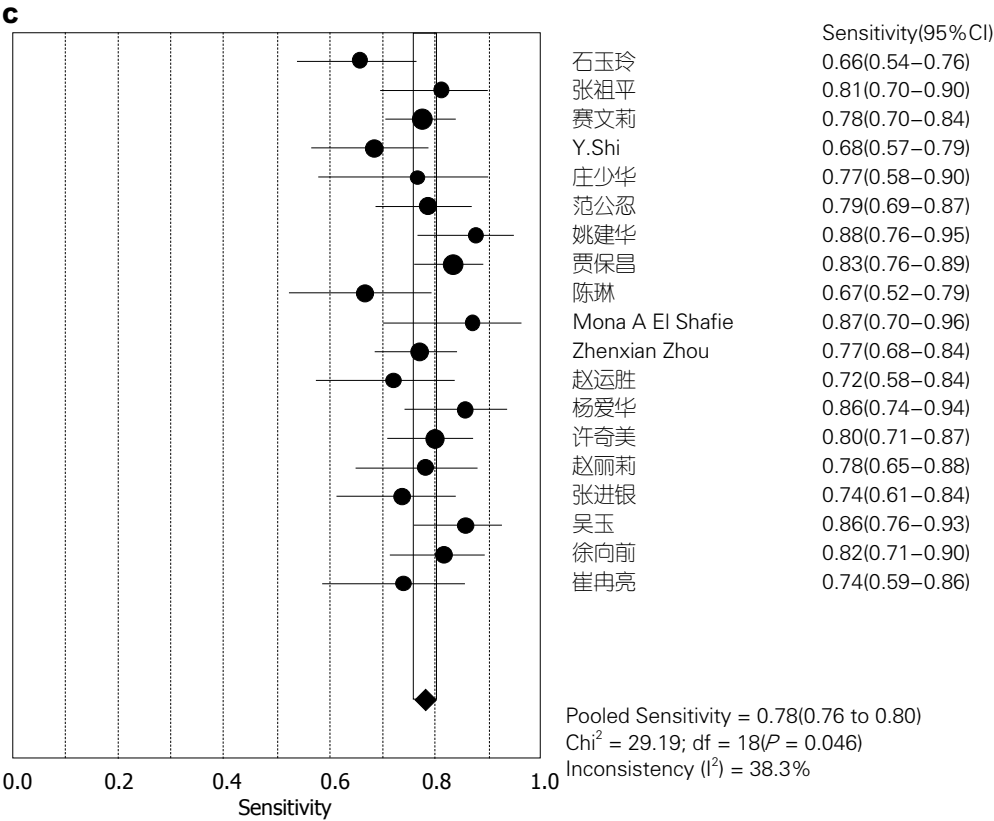


石玉玲
 张祖平
 赛文莉
 Y.Shi
 庄少华
 范公忍
 姚建华
 贾保昌
 陈琳
 Mona A El Shafie
 Zhenxian Zhou
 赵运胜
 杨爱华
 许奇美
 赵丽莉
 张进银
 吴玉
 徐向前
 崔冉亮

Sensitivity(95%CI)
 0.93(0.86–0.97)
 0.92(0.84–0.96)
 0.82(0.76–0.88)
 0.99(0.95–1.00)
 0.80(0.66–0.90)
 0.92(0.86–0.96)
 0.98(0.91–1.00)
 0.77(0.72–0.81)
 0.91(0.82–0.96)
 0.60(0.46–0.73)
 0.60(0.51–0.68)
 0.93(0.84–0.97)
 0.92(0.87–0.95)
 0.85(0.80–0.89)
 0.79(0.68–0.88)
 0.85(0.80–0.88)
 0.79(0.70–0.87)
 0.91(0.84–0.96)
 0.85(0.77–0.91)

同行评价

本文质量较好, Meta分析数据详尽, 可靠性较高, 希望以后能增加国内外高质量的文献并再次深入分析.



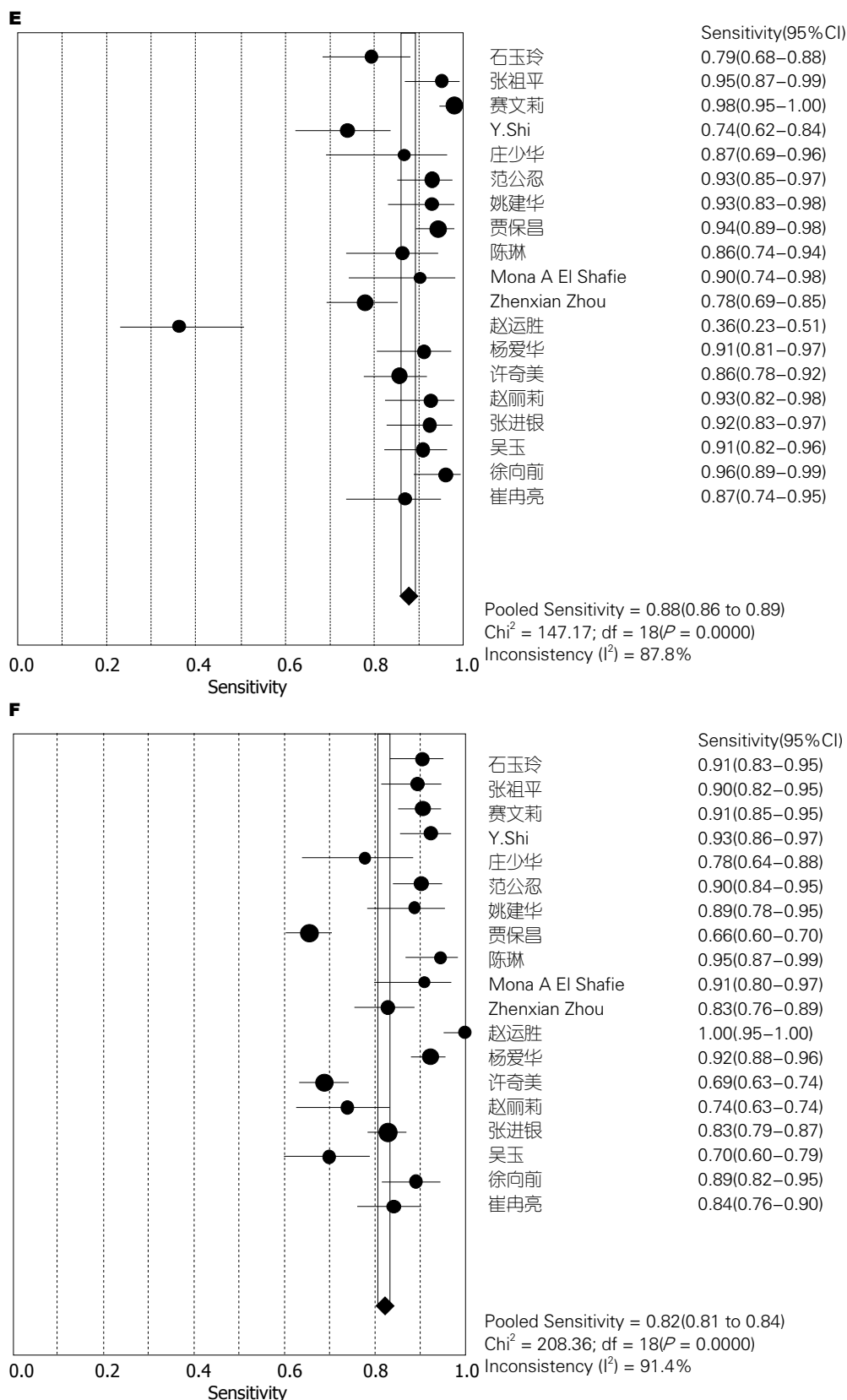


图 3 AFP、GP73单项及联合检测对PHC诊断的森林图。A, B: AFP敏感度、特异度的森林图; C, D: GP73敏感度、特异度的森林图; E, F: AFP+GP73敏感度、特异度的森林图。AFP: 甲胎蛋白; GP73: 高尔基体蛋白73; PHC: 原发性肝癌。

清AFP是目前临床工作中应用较为普遍的PHC肿瘤标志物, 但其对PHC诊断的准确性令人不

甚满意. 因此亟需寻找新的对PHC诊断价值更高的肿瘤血清标志物。

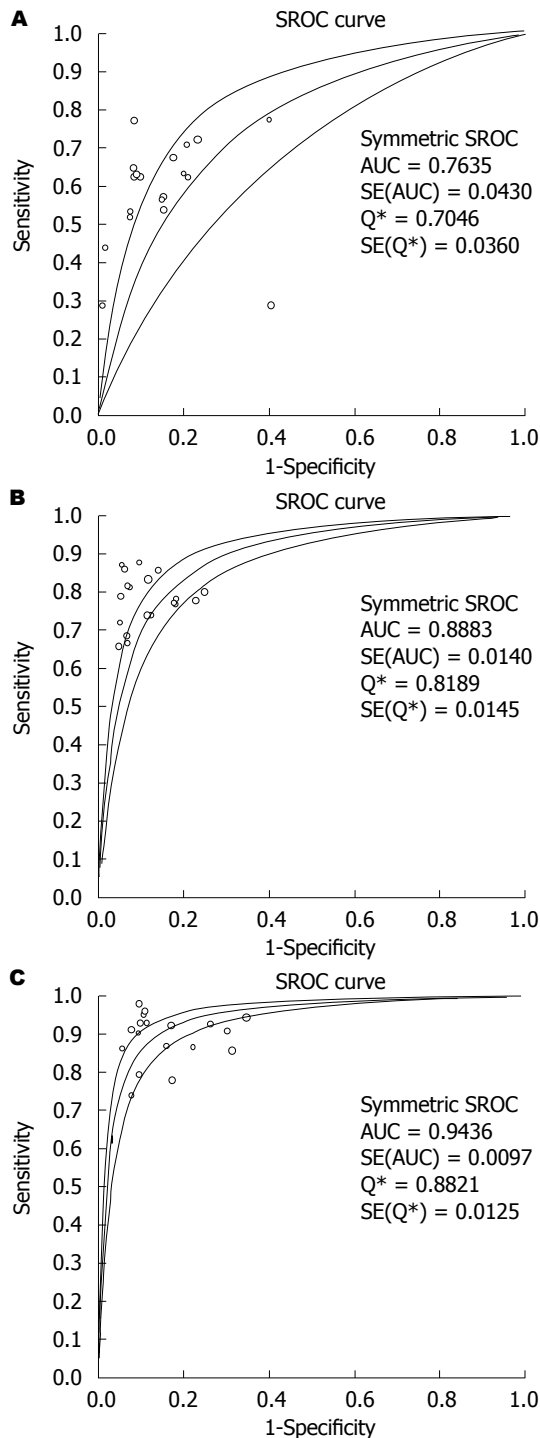


图 4 AFP、GP73单项及联合检测对PHC诊断的SROC曲线. A: AFP对PHC诊断的SROC曲线; B: GP73对PHC诊断的SROC曲线; C: AFP联合GP73检测对PHC诊断的SROC曲线. AFP: 甲胎蛋白; GP73: 高尔基体蛋白73; PHC: 原发性肝癌.

GP73因其易检测, 在PHC患者血清中表达量较高而备受关注. GP73是表达于高尔基体的一种跨膜蛋白, 于2000年被Kladney等^[24]首次发现并描述. GP73主要表达于胆管上皮细胞, 肝细胞表达甚少甚至不表达, 当肝细胞受到病

毒感染或受到酒精、药物等损害时, GP73的表达水平升高^[25]. Block等^[26]以美洲早癌PHC模型为研究对象发现, 患有PHC美洲早癌较非PHC组血清GP73显著升高. 在Marrero等^[27]的研究中共纳入了352例患者, 并分为肝癌组和肝硬化组来分别测定血清GP73水平, 结果表明肝癌组GP73水平显著高于肝硬化组, 且GP73对PHC的早期诊断价值优于AFP. 但由于单项检测AFP或GP73存在一定假阳性、假阴性的情况, 有学者建议AFP和GP73联合检测以提高对早期PHC的诊断价值^[4-22].

因ELISA方法较为简便, 能够同时检测大量样本, 更加有利于临床应用, 因此我们对采用ELISA方法检测的GP73, 并联合AFP检测的国内外研究进行Meta分析. 汇总结果显示, AFP联合GP73检测对PHC诊断的敏感度为0.88(0.86-0.89), 优于AFP、GP73单项检测[敏感度分别为0.58(0.56-0.61)、0.78(0.76-0.80)], 说明AFP联合GP73检测可使对PHC诊断的敏感度提高, 使漏诊率大大降低, 同时还可保持较高的特异度. SROC的曲线下面积, 可用来评价诊断实验的价值. 有研究^[28]表明AUC在异质性试验中具有非常稳健的检验效能. 对于某一诊断试验, AUC<0.5时无诊断价值, 在0.5-0.7时有较低的准确性, 在0.7-0.9是有较高的准确性, 当>0.9时诊断准确性最高^[29]. 我们的研究结果显示, AFP、GP73单项检测的AUC分别为0.7635、0.8883, 表明对PHC的诊断均具有较高的准确性; 当AFP和GP73联合检测时, 其AUC为0.9436, 较AFP、GP73单项检测准确性明显提高, Z检验提示差异有统计学意义($P<0.05$). Q指数为ROC曲线上敏感度与特异度相等时对应的点, 表示对所有研究指标的综合判断能力, 其值越大, 表明诊断试验的准确性越高. 我们的研究结果显示, AFP联合GP73检测的Q指数为0.8821, 明显>AFP、GP73单项检测时的Q指数(分别为0.7046, 0.8189), Z检验提示差异具有统计学意义($P<0.05$). 以上均提示AFP联合GP73检测对PHC具有较高的诊断价值.

此次Meta分析纳入的19个研究中, 1个来自埃及, 余均来自中国. 由于中国的研究在评价中占较大权重, 可能会带来一定的发表偏倚. 同时我们仅检索了中文和英文两种语言的研究, 其他语种的相关研究难免会有遗漏, 因此可能会造成语种的偏倚. 此外, 对AFP、GP73

联合检测的相关研究分析发现存在异质性, 但通过Meta回归分析并未发现异质性来源. 对各指标采用随机效应模型的合并虽可消除部分异质性的影响, 但在一定程度上影响了结果的可靠性.

4 参考文献

- 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]
- Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- Hu B, Tian X, Sun J, Meng X. Evaluation of individual and combined applications of serum biomarkers for diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 23559-23580 [PMID: 24317431 DOI: 10.3390/ijms141223559]
- 石玉玲, 曾兰兰, 李林海, 孙朝晖, 廖扬, 陈建芸. 高尔基体蛋白73及其基因检测对原发性肝癌诊断的价值. *中华医学检验杂志* 2010; 33: 507-512
- 张祖平, 张德忠, 吴耀震. 血清GP73联合AFP对PHC的早期诊断价值探讨. *放射免疫学杂志* 2010; 23: 205-206
- 赛文莉, 姚登福, 吴玮, 邱历伟, 杨君伶, 张海健, 陈洁, 严晓娣. 肝癌组织GP73过表达及血GP73异常对肝癌的诊断价值. *南通大学学报(医学版)* 2011; 31: 445-447
- Shi Y, Chen J, Li L, Sun Z, Zen L, Xu S, Zhang Y, Zhang L. A study of diagnostic value of golgi protein GP73 and its genetic assay in primary hepatic carcinoma. *Technol Cancer Res Treat* 2011; 10: 287-294 [PMID: 21517136 DOI: 10.7785/tcrt.2012.500205]
- 庄少华, 赵建妹. 血清GP73联合AFP在肝细胞癌诊断中的价值. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 1085-1088
- 范公忍, 李树玲, 胡学玲, 陈天宝, 曹建彪. 血清GP73检测在原发性肝癌诊断中的价值. *国际检验医学杂志* 2012; 33: 2656-2658
- 姚建华. 高尔基体蛋白73和甲胎蛋白联检在原发性肝癌诊断中的临床应用. *放射免疫学杂志* 2012; 25: 673-675
- 贾保昌, 罗小玲, 梁焱, 岳惠芬, 葛莲英, 袁卫平, 沈筱芸. 联合检测血清GP73和AFP对原发性肝癌诊断价值的探讨. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 19: 832-835
- 陈琳, 曹亚丽, 王峰, 吴月平, 邵建国. 肝癌患者血清高尔基体蛋白73检测及其意义. *国际检验医学杂志* 2012; 33: 2056-2057
- El Shafie MA, Fawzy AM, Al Monem EA, Abbass S, Zakaria DM, El Baz S. Golgi Protein 73 (GP73) as a novel serum marker for early detection of hepatocellular carcinoma in egyptian patients. *Life Sci J* 2012; 9: 823-830 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06733.x]
- Zhou ZX, Xia DN, Wang CW, Lin CQ, Zhao W, Dong C. Clinical evaluation of single or joint of golgi protein 73 and alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma diagnosing. *Chinese-German J Clin Oncol* 2012; 11: 650-654 [DOI: 10.1007/s10330-012-1072-z]
- 赵运胜, 张丽娜, 李洪臣, 崔辰莹, 吴侠. 血清GP73联合AFP和CA199检测在肝癌诊断中的临床意义. *中国肿瘤临床* 2013; 40: 29-31
- 杨爱华, 陆文, 张维. 血清高尔基体蛋白73在肝细胞肝癌早期诊断中的价值. *实用临床医药杂志* 2013; 17: 29-32
- 许奇美, 陈辉, 段智, 胡永斌, 周建华. GP73联合AFP及GGT- γ 检测对原发性肝癌的诊断价值. *中国现代医药杂志* 2014; 16: 23-26
- 赵丽莉, 喻航, 刘淑艳, 刘铁夫, 朱承雁, 陶娜, 王婷婷, 庄丽维. GP73、AFP-L3和AFP联合检测在原发性肝癌诊断中的价值. *医学临床研究* 2014; 31: 1737-1740
- 张进银, 胡万发, 王健, 魏红山. 高尔基体蛋白73单独及联合甲胎蛋白检测在肝细胞癌诊断中的价值. *传染病信息* 2014; 27: 296-298
- 吴玉, 徐霞. 高尔基体蛋白73在肝细胞癌早期诊断及进展中的应用价值. *中华生物医学工程杂志* 2014; 20: 17-19
- 徐向勇, 刘显畅, 李正峰, 祝成亮. 高尔基体蛋白联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌早期诊断中的价值. *中国医药导报* 2014; 11: 83-85
- 崔冉亮, 李悦国, 张鹏宇, 张鹏. 血清高尔基体蛋白73联合甲胎蛋白检测在原发性肝癌患者中的诊断价值. *中国肿瘤临床* 2015; 42: 222-225
- Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med* 2011; 155: 529-536 [PMID: 22007046 DOI: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009]
- Kladney RD, Bulla GA, Guo L, Mason AL, Tollefson AE, Simon DJ, Koutoubi Z, Fimmel CJ. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection. *Gene* 2000; 249: 53-65 [PMID: 10831838 DOI: 10.1016/S0378-1119(00)00136-0]
- Kladney RD, Cui X, Bulla GA, Brunt EM, Fimmel CJ. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 1431-1440 [PMID: 12029628 DOI: 10.1053/jhep.2002.32525]
- Block TM, Comunale MA, Lowman M, Steel LF, Romano PR, Fimmel C, Tennant BC, London WT, Evans AA, Blumberg BS, Dwek RA, Mattu TS, Mehta AS. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 779-784 [PMID: 15642945 DOI: 10.1073/pnas.0408928102]
- Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, Steel L, Mehta A, Fimmel CJ, Comunale MA, D'Amelio A, Lok AS, Block TM. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005; 43: 1007-1012 [PMID: 16137783 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.05.028]
- Walter SD. Properties of the summary receiver operating characteristic (SROC) curve for diagnostic test data. *Stat Med* 2002; 21: 1237-1256 [PMID: 12111876 DOI: 10.1002/sim.1099]
- Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988; 240: 1285-1293 [PMID: 3287615 DOI: 10.1126/science.3287615]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



急诊腹腔镜手术治疗胆总管结石合并轻、中度急性胆管炎的疗效

李颖, 朱斌, 李丹, 任宇, 王岩, 宫轲, 路夷平, 阿民布和, 张能维

■背景资料

腹腔镜胆总管探查取石术(common bile duct exploration, CBDE)近年广泛用于胆总管结石(common bile duct stones, CBDS)的治疗。对CBDS合并重度急性胆管炎, 国内外指南建议首选内镜下胆道引流。但对CBDS合并轻、中度急性胆管炎, 内镜或腹腔镜CBDE哪种治疗方法更好尚无定论。

李颖, 朱斌, 李丹, 任宇, 王岩, 宫轲, 路夷平, 阿民布和, 张能维, 北京大学第九临床医学院 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科 北京市 100038

李颖, 在读硕士, 主要从事急性胆道感染治疗的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由朱斌设计; 研究过程与数据分析由李颖、李丹、任宇、王岩、宫轲、路夷平、阿民布和、张能维及朱斌共同实施完成; 本论文写作由李颖与朱斌完成。

通讯作者: 朱斌, 教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁匠营10号, 北京大学第九临床医学院, 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科。binbinzhu99@sohu.com
 电话: 010-63926164

收稿日期: 2015-06-07 修回日期: 2015-07-01

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Efficacy of laparoscopic common bile duct exploration combined with laparoscopic cholecystectomy for treatment of common bile duct stones with mild to moderate acute cholangitis

Ying Li, Bin Zhu, Dan Li, Yu Ren, Yan Wang, Ke Gong, Yi-Ping Lu, Bu-He Amin, Neng-Wei Zhang

Ying Li, Bin Zhu, Dan Li, Yu Ren, Yan Wang, Ke Gong Yi-Ping Lu, Bu-He Amin, Neng-Wei Zhang, Peking University Ninth School of Clinical Medicine; Department of General Surgery, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Correspondence to: Bin Zhu, Professor, Chief Physician, Peking University Ninth School of Clinical Medicine; Department of General Surgery, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, 10 Tieyi Road, Yangfangdian Street, Haidian District, Beijing 100038, China. binbinzhu99@sohu.com

Received: 2015-06-07 Revised: 2015-07-01

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the outcomes of laparoscopic

common bile duct exploration (CBDE) combined with laparoscopic cholecystectomy (LC) for treatment of common bile duct stones (CBDS) with mild to moderate acute cholangitis.

METHODS: A retrospective clinical study was performed from January 2009 to December 2012. A total of 37 patients underwent laparoscopic CBDE with T-tube drainage and laparoscopic cholecystectomy (LC) for CBDS with mild to moderate acute cholangitis and gallbladder stones. Patients with severe cardiopulmonary co-morbidities were excluded. During laparoscopic CBDE, the relationship of the cystic duct to the CBD and common hepatic duct was clearly identified. Choledochoscopy and stones retrieval were not necessary in order to shorten operation time and to lower danger of the surgical procedure during laparoscopic CBDE. A drain was left at foramen of Winslow. Postoperative cholangiograms and/or choledochoscopy were accomplished in all the patients before T-tube removal, and retained stones were removed.

RESULTS: Laparoscopic CBDE and LC procedure was successful in all the 37 patients. Duration of the procedure was 105.54 min \pm 6.30 min. The mean diameter of the common bile duct was 12.86 mm \pm 0.58 mm. There were 14 (37.8%) cases of solitary and 23 (62.2%) cases of multiple CBDS, and 9 (24.32%) cases of acute and 28 (75.68%) cases of chronic cholecystitis. Postoperative hospital stay and whole hospital stay were 11.27 d \pm 0.82 d and 16.41 d \pm 1.03 d, respectively. Control of septic symptoms and improvement of laboratory data were

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

postoperatively achieved in all patients. There was no conversion to open common bile duct exploration, no major bile duct injuries and no mortality in this study. Overall, 4 cases of bile leak and 4 cases of retained stones were discovered. Bile leak was postoperatively cured by conservative therapy with a drain left, and the retained stones were retrieved postoperatively by choledochoscopy.

CONCLUSION: Laparoscopic CBDE with T-tube drainage and LC for the treatment of CBDS with mild to moderate acute cholangitis is safe and effective.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Choledocholithiasis; Laparoscopic common bile duct exploration; Acute cholangitis

Li Y, Zhu B, Li D, Ren Y, Wang Y, Gong K, Lu YP, Amin BH, Zhang NW. Efficacy of laparoscopic common bile duct exploration combined with laparoscopic cholecystectomy for treatment of common bile duct stones with mild to moderate acute cholangitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3614-3619 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3614>

摘要

目的: 探讨腹腔镜胆总管探查取石术(common bile duct exploration, CBDE)联合胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)治疗胆总管结石(common bile duct stones, CBDS)合并轻、中度急性胆管炎的安全性及有效性。

方法: 对2009-01/2012-12收治的37例胆总管结石伴CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者行腹腔镜CBDE联合LC。除外有重度急性胆管炎、上腹部手术史、严重心肺及其他影响全麻或手术等疾病的患者。常规四孔法完成经胆总管切开的腹腔镜CBDE、T管引流及LC。根据术前MRCP了解结石大小、数量和位置,用推挤、冲吸及胆道镜等方法取石,病情不稳定者,不行术中胆道镜取石。所有患者均不行术中胆道造影。Winslow孔处常规放置腹腔引流管。有胆道残余结石者,术后8 wk行胆道镜取石。

结果: 37例胆总管结石伴CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者,均顺利完成腹腔镜CBDE及LC。手术时间105.54 min \pm 6.30 min;胆总

管直径12.86 mm \pm 0.58 mm;单发CBDS 14例(37.8%),多发CBDS 23例(62.2%);术后胆囊病理结果,急性胆囊炎9例(24.32%),慢性胆囊炎28例(75.68%);术后住院天数为11.27 d \pm 0.82 d;总住院天数16.41 d \pm 1.03 d。腹腔镜CBDE术后胆管炎症状及体征明显缓解,实验室检查结果改善。无中转开腹、术后腹腔出血、胆道损伤、手术死亡及伤口感染。术后胆漏4例,经保守治疗治愈。术后胆道残余结石4例,术后经T管窦道胆道镜取净结石。

结论: 对部分CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者,腹腔镜CBDE及LC治疗是安全、有效及可行的。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆总管结石; 腹腔镜胆总管探查取石术; 急性胆管炎

核心提示: 腹腔镜胆总管探查取石术(common bile duct exploration, CBDE)联合胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy), 用于一部分胆总管结石(common bile duct stones)合并轻、中度急性胆管炎患者的治疗是安全、有效及可行的,腹腔镜CBDE术后患者胆管炎症状及体征明显缓解。

李颖, 朱斌, 李丹, 任宇, 王岩, 宫轲, 路夷平, 阿民布和, 张能维. 急诊腹腔镜手术治疗胆总管结石合并轻、中度急性胆管炎的疗效. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3614-3619 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3614>

0 引言

腹腔镜胆总管探查取石术(common bile duct exploration, CBDE)联合腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)是近年来受到国内外学者广泛认同和推荐的择期治疗胆总管结石合并胆总管结石(common bile duct stones, CBDS)的术式。Meta分析显示腹腔镜CBDE联合LC与经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)取石联合LC比较,两者在结石清除率、近期并发症发生率和死亡率等方面无明显差异,有相似的安全性及有效性^[1]。腹腔镜CBDE联合LC充分体现了微创手术的优势,术中使用胆道镜提高了结石的清除率,一次手术既同时处理了CBDS和胆囊结石,又保留了Oddi括约肌功能,是腹腔

■研究前沿

CBDS合并轻、中度急性胆管炎治疗方法的选择仍是本研究领域中的研究热点,前瞻性多中心的对照研究可提供高质量的循证医学证据。

■ 相关报道

随着腹腔镜技术水平的提高, Gholipour等将腹腔镜CBDE用于急性胆管炎的治疗并与开放性CBDE比较, 其能及时胆道减压、解除梗阻, 效果优于开放性CBDE. 但此研究未区分急性胆管炎的严重程度, 实际上重度急性胆管炎宜行内镜引流. 具体哪种治疗方法更好, 应根据患者病情、所在医院条件、医生ERCP水平及腹腔镜技术的熟练程度、治疗费用等综合考虑, 选用适当的治疗方法, 减少并发症的发生.

镜与胆道镜的完美结合. 对CBDS合并重度急性胆管炎, 多首选EST, 及时胆道减压、解除梗阻, 挽救生命, 然后再择期行LC. 但对CBDS合并轻、中度急性胆管炎, 国内外指南的建议是解除胆道梗阻及病因治疗, 未推荐腹腔镜CBDE, 具体哪种治疗方法更好尚无定论^[1-5]. 本文结合首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科2009-01/2012-12行经胆总管切开的腹腔镜CBDE联合LC治疗的37例CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者, 探讨急性胆管炎的腹腔镜治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 37例胆囊结石伴CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者, 其中男19例, 女18例; 年龄 65.44 ± 2.64 岁. 入院时有发热和/或寒战22例(59.5%), 黄疸20例(54.1%), 腹痛36例(97.3%)及胆道疾病史20例(54.1%). 术前根据中华医学会外科学分会胆道外科学组急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版)诊断轻、中度急性胆管炎, 轻度急性胆管炎对于支持治疗和抗菌治疗有效; 中度急性胆管炎对于支持治疗和抗菌治疗无效, 但不合并多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[3]. 急性胆管炎根据症状和体征中 ≥ 2 项+实验室检查+影像学检查, 即可诊断, 症状和体征包括胆道疾病史, 高热和/或寒战, 黄疸, 腹痛及腹部压痛(右上腹或中上腹)4项. 根据超声和/或磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)诊断胆囊结石及CBDS(本组患者均有MRCP阳性CBDS), 胆总管直径均 ≥ 8 mm. 重度急性胆管炎不包括在此研究内. 除外合并急性胰腺炎、弥漫性腹膜炎、有上腹部手术史、凝血功能障碍未纠正、严重心肺及其他影响全麻或手术等疾病的患者.

1.2 方法 全部治疗均有本科固定的医生按相同方法完成. 采用全身麻醉, 常规四孔法完成经胆总管切开的腹腔镜CBDE及LC, 先将胆囊管夹闭, 暂不切断以作牵引. 显露胆总管, 纵行剪开胆管前壁1.0 cm左右, 用推挤、冲吸等方法取石, 然后经剑突下或右肋缘下操作孔置入纤维胆道镜检查及取石, 为缩短手术时间, 取石时间控制在半小时之内, 不强调取净结石, 病情不稳定者, 不行术中胆道镜检查及取石. 对

所有患者均不行术中胆道造影. 然后放置相应粗细T管, 4-0号可吸收线间断缝合胆管切开处, 完成LC. 常规于Winslow孔处放置腹腔引流管, 将其与T管分别从右腋前线和肋缘下锁骨中线操作孔引出. 术后4-8 wk T管造影及MRCP诊断无结石残余后拔出T管; 若有结石残余则术后8 wk行胆道镜取石. 围手术期综合治疗包括应用广谱抗生素、补液、纠正水电解质酸碱平衡紊乱及凝血功能障碍, 处理心肺疾病等伴随疾病.

统计学处理 数据分析应用SPSS11.5统计软件, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间量的差异比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

37例CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者均顺利完成腹腔镜CBDE及LC. 胆总管直径 $12.86 \text{ mm} \pm 0.58 \text{ mm}$; 单发CBDS 14例(37.8%), 多发CBDS 23例(62.2%); 手术时间 $105.54 \text{ min} \pm 6.30 \text{ min}$; 术后胆囊病理结果为急性胆囊炎9例(24.32%)、慢性胆囊炎28例(75.68%). 无中转开腹、术后腹腔出血、胆道损伤、手术死亡及伤口感染. 术后胆漏4例, 引流量为5-200 mL, 引流时间3-5 d, 经保守治疗治愈. 术后胆道残余结石4例, 术后经T管窦道胆道镜取净结石, 术后住院天数为 $11.27 \text{ d} \pm 0.82 \text{ d}$, 总住院天数为 $16.41 \text{ d} \pm 1.03 \text{ d}$. 腹腔镜CBDE术后胆管炎症状及体征明显缓解, 实验室检查结果改善(表1).

3 讨论

急性胆管炎是CBDS的严重并发症之一, 其病程发展迅速, 有可能因脓毒症造成多器官功能障碍. 因此, 应及时准确对急性胆管炎做出诊断、严重程度评估, 并治疗. 根据典型的Charcot's三联征及Reynolds五联征, 临床诊断不难做出, 但此诊断标准缺少影像学检查等指标, 敏感性很低^[4]. 目前诊断多采用“Tokyo Guidelines 07版”或更新的“Tokyo Guidelines 13版”或中华医学会外科学分会胆道外科学组急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版)诊断急性胆管炎, 该指南从临床症状和体征、实验室检查及影像学检查等方面较系统、客观的对急性胆管炎及其严重程度做出评估^[3-8]. 本研究我们按照中华医学会外科学分

表 1 腹腔镜CBDE手术治疗轻、中度急性胆管炎患者前后实验室检查结果比较 (mean ± SD)

项目	CBDE术前	CBDE术后	P值
白细胞计数($\times 10^9/L$)	10.91 ± 0.62	6.98 ± 0.39	0.168
谷丙转氨酶(U/L)	188.86 ± 25.11	38.31 ± 6.75	0.003
谷草转氨酶(U/L)	180.75 ± 27.89	26.64 ± 2.29	0.837
总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	51.99 ± 6.21	17.20 ± 1.87	0.009
碱性磷酸酶(U/L)	172.97 ± 26.25	94.20 ± 8.17	0.006
γ -谷氨酰基转移酶(U/L)	435.53 ± 69.37	166.53 ± 28.59	0.000

CBDE: 胆总管探查取石术。

■ 创新盘点

腹腔镜CBDE联合LC能一次手术处理胆囊结石及CBDS, 缩短住院时间及降低住院费用。

会胆道外科学组的指南诊断轻、中及重度急性胆管炎。

随着腹腔镜技术水平的提高, 腹腔镜CBDE已用于急性胆管炎的治疗, 其能及时胆道减压、解除梗阻, 效果优于开放性CBDE^[9]。对轻、中及重度急性胆管炎, 具体哪种治疗方法更好? 目前的指南未推荐腹腔镜CBDE, 应根据患者病情、所在医院条件、医生ERCP水平及腹腔镜技术的熟练程度、治疗费用等综合考虑, 选用适当的治疗方法, 减少并发症的发生^[1-5]。Kiriya等^[4]报道腹腔镜CBDE联合LC一次处理CBDS合并胆囊结石的并发症及死亡率发生率(7.00%和0.19%)低于EST联合LC(13.5%和0.5%)^[1]。但腹腔镜CBDE组患者病情不如EST组严重, 不包括急诊、高龄、虚弱及伴随严重疾病不能耐受手术者, 值得注意。对重度急性胆管炎患者多急诊行内镜下的胆道引流术已成共识, 所以本组我们不包括重度急性胆管炎, 我们有选择性的对部分轻、中度急性胆管炎行腹腔镜CBDE, 除外了有上腹部手术史及伴随严重心肺等疾病不能耐受手术者, 这对手术的完成、手术并发症的预防及降低起了很重要的作用。另外, 本组胆管炎患者入院时诊断为轻、中度急性胆管炎, 部分患者保守治疗有效后, 我们仍然在该次入院行腹腔镜CBDE, 一次入院即处理了胆囊结石及CBDS, 避免了再次入院及手术。

腹腔镜CBDE可分为经胆囊管探查胆总管取石和经胆总管切开取石两种方法。前者术后恢复过程与单纯LC相同^[1]。在胆总管直径 $\geq 8\text{ mm}$ 时, 可采用经胆总管切开取石, 在证实CBDS已取净、胆道无明显炎症和胆管下端通畅时, 可以一期缝合胆总管, 从而避免T管相关的并发症。也可经胆总管切口或经胆

囊管放置胆总管内支架管通过十二指肠乳头, 扩大胆总管一期缝合的适应证。但在胆总管有炎症的情况下应放置T管引流, 其有助于减少胆管狭窄或胆漏的发生, 便于术后胆道残留结石的取出^[1,2]。急性胆管炎应以胆道引流及抢救生命为主, 考虑到手术的安全性及有效性。本研究我们对CBDS合并轻、中度急性胆管炎患者, 行经胆总管切开取石术, 胆总管切开后均放置T管。结果显示腹腔镜CBDE后, 胆管炎明显得到控制; 4例胆道残余结石术后也顺利取出, 说明该手术有很好的有效性。腹腔镜CBDE的并发症主要是胆漏、出血、胆道损伤及胆道残余结石等。MRCP检查对了解结石的大小、数量和位置很重要, 特别是对单个结石或结石数目少者, 根据术前MRCP基本上可以对术中结石是否取净做出准确判断。腹腔镜下取石使用坚硬的金属取石钳、取石勺或探子等, 有损伤胆道及Oddi括约肌的可能, 近年使用已逐渐减少, 代之以纤维胆道镜直视下的网篮取石等, 减少了相关并发症的发生。我们对急性胆管炎病情不稳定者尽量缩短手术时间, 根据病情的轻重决定是否使用胆道镜及取石, 如取石, 取石时间尽量控制在半小时以内, 不强调取净结石, 所有患者均不行术中胆道造影。

MRCP有助于胆道的解剖, 我们对所有患者均行术前MRCP检查。急性胆管炎时, 了解弄清楚胆道的解剖关系, 显露、确认胆囊管、肝总管及胆总管, 确保术野清晰是预防副损伤的关键之一^[10]。缝合胆总管时, 应确保均匀缝合胆管壁全层及打结牢固。手术结束时应缓慢放出腹腔气体, 在显示器直视下引出T管, 使之避免有张力或扭曲成角, 有助于胆漏的预防。急性胆管炎时, 胆总管壁炎性水肿, 术后T管周围

■ 同行评价

本文题目简单明了, 摘要明确, 引言条理清晰, 文字简明扼要。

缝合处易有少量胆汁渗漏, 所以我们对所有患者均常规于Winslow孔处放置腹腔引流管, 此也有助于胆漏的观察及治疗, 本组无中转开腹、腹腔内出血及胆道损伤等并发症; 4例胆漏患者均经腹腔引流保守治疗数天后痊愈。任何一种手术方法都是以提高疗效及减少并发症为原则, 开放性CBDE手术创伤较大, 应尽量避免中转开腹, 所以不具备腹腔镜CBDE手术能力时, 不应盲目开展。虽然本研究结果显示腹腔镜CBDE及T管引流术治疗轻、中度急性胆管炎是安全、有效及可行的。但是本研究不包括重症及伴随严重疾病不能耐受手术者。另外, 本研究病例数较少, 可能尚未遇到严重的并发症或死亡病例。

目前在治疗CBDS合并胆囊结石的有效性 & 安全性方面, 腹腔镜CBDE联合LC和EST联合LC两种方法结果相似, 但其各有优缺点, 特别是在急性胆管炎情况下, 术前必须综合考虑患者对手术的耐受能力、医院的条件及医生的内镜及腹腔镜技术水平等因素综合考虑, 采取个体化的治疗方案^[11-15]。由于腹腔镜CBDE联合LC能够在一次操作中同时处理CBDS和胆囊结石, 有住院时间短、治疗费用低、保留Oddi括约肌功能和远期并发症发生率低等优点, 所以被认为应该成为治疗CBDS合并胆囊结石的标准治疗方法, 应该成为外科医师努力的方向。

4 参考文献

- Bencini L, Tommasi C, Manetti R, Farsi M. Modern approach to cholecysto-choledocholithiasis. *World J Gastrointest Endosc* 2014; 6: 32-40 [PMID: 24567790 DOI: 10.4253/wjge.v6.i2.32]
- Overby DW, Apelgren KN, Richardson W, Fanelli R. SAGES guidelines for the clinical application of laparoscopic biliary tract surgery. *Surg Endosc* 2010; 24: 2368-2386 [PMID: 20706739 DOI: 10.1007/s00464-010-1268-7]
- 中华医学会外科分会胆道外科组. 急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版). *中华消化外科杂志* 2011; 10: 9-13
- Kiriyama S, Takada T, Strasberg SM, Solomkin JS, Mayumi T, Pitt HA, Gouma DJ, Garden OJ, Büchler MW, Yokoe M, Kimura Y, Tsuyuguchi T, Itoi T, Yoshida M, Miura F, Yamashita Y, Okamoto K, Gabata T, Hata J, Higuchi R, Windsor JA, Bornman PC, Fan ST, Singh H, de Santibanes E, Gomi H, Kusachi S, Murata A, Chen XP, Jagannath P, Lee S, Padbury R, Chen MF, Derveniz C, Chan AC, Supe AN, Liau KH, Kim MH, Kim SW. TG13 guidelines for diagnosis and severity grading of acute cholangitis (with videos). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 24-34 [PMID: 23307001 DOI: 10.1007/s00534-012-0561-3]
- 赵海鹰, 刘金钢. 腹腔镜手术治疗急性胆管炎合理选择及争议. *中国实用外科杂志* 2015; 35: 486-490
- Takada T, Strasberg SM, Solomkin JS, Pitt HA, Gomi H, Yoshida M, Mayumi T, Miura F, Gouma DJ, Garden OJ, Büchler MW, Kiriyama S, Yokoe M, Kimura Y, Tsuyuguchi T, Itoi T, Gabata T, Higuchi R, Okamoto K, Hata J, Murata A, Kusachi S, Windsor JA, Supe AN, Lee S, Chen XP, Yamashita Y, Hirata K, Inui K, Sumiyama Y. TG13: Updated Tokyo Guidelines for the management of acute cholangitis and cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 1-7 [PMID: 23307006 DOI: 10.1007/s00534-012-0566-y]
- Miura F, Takada T, Strasberg SM, Solomkin JS, Pitt HA, Gouma DJ, Garden OJ, Büchler MW, Yoshida M, Mayumi T, Okamoto K, Gomi H, Kusachi S, Kiriyama S, Yokoe M, Kimura Y, Higuchi R, Yamashita Y, Windsor JA, Tsuyuguchi T, Gabata T, Itoi T, Hata J, Liau KH. TG13 flowchart for the management of acute cholangitis and cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 47-54 [PMID: 23307003 DOI: 10.1007/s00534-012-0563-1]
- Okamoto K, Takada T, Strasberg SM, Solomkin JS, Pitt HA, Garden OJ, Büchler MW, Yoshida M, Miura F, Kimura Y, Higuchi R, Yamashita Y, Mayumi T, Gomi H, Kusachi S, Kiriyama S, Yokoe M, Lau WY, Kim MH. TG13 management bundles for acute cholangitis and cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 55-59 [PMID: 23307002 DOI: 10.1007/s00534-012-0562-2]
- Gholipour C, Shalchi RA, Abassi M. Efficacy and safety of early laparoscopic common bile duct exploration as primary procedure in acute cholangitis caused by common bile duct stones. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2007; 17: 634-638 [PMID: 17907977]
- Zhu B, Zhang Z, Wang Y, Gong K, Lu Y, Zhang N. Comparison of laparoscopic cholecystectomy for acute cholecystitis within and beyond 72 h of symptom onset during emergency admissions. *World J Surg* 2012; 36: 2654-2658 [PMID: 22806207 DOI: 10.1007/s00268-012-1709-7]
- Sharma A, Dahiya P, Khullar R, Soni V, Baijal M, Chowbey PK. Management of common bile duct stones in the laparoscopic era. *Indian J Surg* 2012; 74: 264-269 [PMID: 23730054 DOI: 10.1007/s12262-012-0593-6]
- ElGeidie AA, ElShobary MM, Naeem YM. Laparoscopic exploration versus intraoperative endoscopic sphincterotomy for common bile duct stones: a prospective randomized trial. *Dig Surg* 2011; 28: 424-431 [PMID: 22236538 DOI: 10.1159/000331470]
- 范羿, 范康川, 梁旭康. 微创时代胆总管结石的治疗选择. *中华普外科手术学杂志(电子版)* 2009; 3: 537-539
- Jang SE, Park SW, Lee BS, Shin CM, Lee SH, Kim JW, Jeong SH, Kim N, Lee DH, Park JK, Hwang JH. Management for CBD stone-related mild to moderate acute cholangitis: urgent versus elective ERCP. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2082-2087 [PMID: 23456495 DOI: 10.1007/s10620-013-2595-z]
- Zhu B, Wang Y, Gong K, Lu Y, Ren Y, Hou X,

Song M, Zhang N. Comparison of emergent versus elective laparoscopic common bile duct exploration for patients with or without nonsevere

acute cholangitis complicated with common bile duct stones. *J Surg Res* 2014; 187: 72-76 [PMID: 24398306 DOI: 10.1016/j.jss.2013.11.1115]

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》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)

腹腔镜与开腹胆总管探查术治疗胆总管结石的临床效果比较

尹碧辉

■背景资料

胆总管结石可引发急性和慢性胆管炎、全身感染、肝损害等多种严重疾病,需及时治疗。传统的开腹胆总管切除联合胆总管切开取石T管引流术在临床上应用较为广泛,但该术式创伤大、术后恢复时间长,已经逐渐被越来越成熟的腹腔镜技术所替代。

尹碧辉, 仙桃市第一人民医院普外科 湖北省仙桃市 433000
尹碧辉, 副主任医师, 主要从事肝胆胰胃肠外科研究。

作者贡献分布: 本文主要由尹碧辉写作完成。

通讯作者: 尹碧辉, 副主任医师, 433000, 湖北省仙桃市沔阳大道中段29号, 仙桃市第一人民医院普外科。ybhuihui@163.com
电话: 0728-3223533

收稿日期: 2015-03-05 修回日期: 2015-03-31

接受日期: 2015-04-02 在线出版日期: 2015-08-08

Efficacy of laparoscopic vs open common bile duct exploration in patients with choledocholithiasis

Bi-Hui Yin

Bi-Hui Yin, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Xiantao, Xiantao 433000, Hubei Province, China

Correspondence to: Bi-Hui Yin, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Xiantao, 29 Middle of Gaizhou Avenue, Xiantao 433000, Hubei Province, China. ybhuihui@163.com

Received: 2015-03-05 Revised: 2015-03-31

Accepted: 2015-04-02 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To compare the efficacy between laparoscopic and open common bile duct exploration in patients with choledocholithiasis.

METHODS: Ninety-six patients with choledocholithiasis were divided into a study group (50 cases) and a control group (46 cases). The study group received laparoscopic common bile duct exploration, and the control group received open common bile duct exploration.

The operative situation, postoperative situation, and complications were compared for the two groups.

RESULTS: There was no significant difference in operative time or bleeding volume between the two groups (130.33 min \pm 11.06 min vs 128.68 min \pm 10.88 min, 68.86 mL \pm 10.97 mL vs 70.92 mL \pm 11.26 mL, $P > 0.05$). The number of times of postoperative analgesia use, time to gastrointestinal function recovery, postoperative hospitalization duration, and total treatment cost for the study group were significantly lower than those for the control group (1.27 \pm 0.50 vs 1.68 \pm 0.72, 29.82 h \pm 5.69 h vs 34.91 h \pm 5.70 h, 7.22 d \pm 1.15 d vs 10.11 d \pm 1.33 d, 10068.44 \pm 113.08 vs 13025.75 \pm 116.20, $P < 0.05$). The rate of incision infection for the experiment group was significantly lower than that for the control group (0.00% vs 8.70%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Laparoscopic common bile duct exploration is associated with less surgical trauma, shorter postoperative recovery time and lower treatment cost than open common bile duct exploration in patients with choledocholithiasis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic common bile duct exploration; Open common bile duct exploration; Choledocholithiasis

Yin BH. Efficacy of laparoscopic vs open common bile duct exploration in patients with choledocholithiasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3620-3623

■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3620.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3620>

摘要

目的: 比较腹腔镜胆总管探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)与开腹胆总管探查术(open common bile duct exploration, OCBDE)治疗胆总管结石的临床效果。

方法: 随机抽取96例胆总管结石患者的临床资料, 按照实际手术方案分为实验组(LCBDE)50例和对照组(OCBDE)46例, 比较两组患者手术情况、术后情况以及并发症发生情况。

结果: 两组患者手术时间及术中出血量比较($130.33 \text{ min} \pm 11.06 \text{ min}$ vs $128.68 \text{ min} \pm 10.88 \text{ min}$)、($68.86 \text{ mL} \pm 10.97 \text{ mL}$ vs $70.92 \text{ mL} \pm 11.26 \text{ mL}$), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 实验组患者术后镇痛次数、胃肠功能恢复时间、术后住院时间及治疗总费用均显著低于对照组, ($1.27 \text{ 次} \pm 0.50 \text{ 次}$ vs $1.68 \text{ 次} \pm 0.72 \text{ 次}$)、($29.82 \text{ h} \pm 5.69 \text{ h}$ vs $34.91 \text{ h} \pm 5.70 \text{ h}$)、($7.22 \text{ d} \pm 1.15 \text{ d}$ vs $10.11 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$)、($10068.44 \text{ 元} \pm 113.08 \text{ 元}$ vs $13025.75 \text{ 元} \pm 116.20 \text{ 元}$), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 实验组患者术后切口感染发生率显著低于对照组, (0.00% vs 8.70%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: LCBDE与OCBDE比较, 创伤小、术后恢复时间短、治疗费用低, 是治疗胆总管结石的优选手术方案。

© 2015年版版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜胆总管探查术; 开腹胆总管探查术; 胆总管结石

核心提示: 本研究中实验组患者术后镇痛次数、胃肠功能恢复时间、术后住院时间及治疗总费用均显著低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

尹碧辉. 腹腔镜与开腹胆总管探查术治疗胆总管结石的临床效果比较. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3620-3623
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3620.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3620>

0 引言

胆总管结石常继发于胆囊结石, 因国内居民生

活水平和饮食习惯的改变发病率呈现逐年升高的趋势。胆总管结石可引发急性和慢性胆管炎、全身感染、肝损害等多种严重疾病, 需及时治疗^[1]。传统的开腹胆囊切除联合胆总管切开取石T管引流术在临床上应用较为广泛, 但该术式创伤大、术后恢复时间长, 已经逐渐被越来越成熟的腹腔镜技术所替代^[2]。现对仙桃市第一人民医院实施腹腔镜与开腹胆总管探查术(open common bile duct exploration, OCBDE)治疗胆总管结石的临床效果进行比较, 探讨腹腔镜胆总管探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)的临床优势, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 随机抽取2013-10/2014-10仙桃市第一人民医院收治的96例胆总管结石患者的临床资料。纳入标准: (1)符合《欧洲内镜外科协会关于胆总管结石诊断和治疗的临床应用指南》^[3]中胆总管结石相关诊断标准; (2)经常规超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)或内镜逆行胰胆管造影检查确诊; (3)无腹部手术史; (4)结石直径不超过2.0 cm; (5)肝内胆管内未见结石。排除标准: (1)合并严重胆管炎或高度充血水肿者; (2)局部黏连无法辨认胆总管者; (3)胆总管直径<5 mm者; (4)不耐受气腹压力或长时间手术者; (5)不能配合完成本次研究者。按照实际手术方案将96例患者分为实验组(LCBDE)50例和对照组(OCBDE)46例。

1.2 方法

1.2.1 术前治疗: 两组患者术前均给予保肝、利胆、解痉、抗生素、纠正水、电解质和酸碱平衡、营养支持及纠正凝血功能异常等综合治疗。

1.2.2 手术: 两组患者均采用气管插管静脉复合全身麻醉。实验组患者取仰卧位, 常规消毒铺巾, 麻醉起效后采用四孔法实施LCBDE: 于脐部上方取10 mm左右切口, 使用气腹针穿刺后建立气腹, 然后置入腹腔镜探查腹腔情况, 之后分别在剑突下、右锁骨中线肋缘下2-4 cm处和腋前线穿刺戳卡。抬高患者右侧身体20度, 向外侧牵拉胆囊壶腹部, 使胆囊三角展开, 然后使用无损伤钳按压肠管将胆囊三角暴露出。常规分离胆囊管及胆囊动脉并使用钛夹将胆囊颈管部夹闭, 使用电凝钩轻柔剥离胆囊, 注意为充分显露胆总管手术视野暂不将胆囊切

■ 研究前沿

传统的开腹胆总管探查手术虽然效果显著, 但对患者创伤较大、术后恢复时间较长、并发症也较多, 同时也容易造成胆道变形和结石再生。

■ 相关报道

临床研究表明,胆道感染、胆道梗阻、胆道异物、胆汁中蛋白代谢异常以及胆道系统的局部免疫反应均为诱发胆总管结石的主要危险因素。

表 1 两组患者临床资料比较

分组	n	性别		年龄(岁)	胆总管结石直径 (mm)	胆总管结石数量(个)		胆红素(μmol/L)		合并胆 囊结石
		男	女			≤2	>2	≤34.2	>34.2	
实验组	50	23	27	33.82±8.13	10.33±5.11	13	37	5	45	23
对照组	46	20	26	34.57±8.76	10.08±5.12	11	35	5	41	20

表 2 两组患者术后情况比较

分组	n	术后镇痛次数 (次)	胃肠功能恢复时间 (h)	术后住院时间 (d)	治疗总费用 (元)
实验组	50	1.27±0.50 ^a	29.82±5.69 ^a	7.22±1.15 ^a	10068.44±113.08
对照组	46	1.68±0.72	34.91±5.70	10.11±1.33	13025.75±116.20

^aP<0.05 vs 对照组.

表 3 两组患者术后并发症情况比较 n(%)

分组	n	胆瘘	术后出血	切口感染	腹腔脓肿
实验组	50	3(6.00)	1(2.00)	0(0.00) ^a	1(2.00)
对照组	46	2(4.35)	2(4.35)	4(8.70)	1(2.17)

^aP<0.05 vs 对照组.

除.在胆囊管和胆总管交汇处切开10-15 mm切口,然后置入胆道镜,采用冲洗法、网篮取石法取石,取石后探查胆总管、肝总管等部位是否有结石残留,若无结石残留则留置T管并缝合胆总管切口.使用可吸收夹将胆囊管近端夹闭,切断胆囊管后将胆囊取出,然后留置T管引流,常规关闭气腹逐层缝合切口.术后3 mo需常规复查胆总管造影,无明显异常者可将胆总管T管拔除.对照组取平卧位,麻醉起效后实施OCBDE,手术过程不再详述.

1.2.3 观察指标:记录两组患者手术情况(包括手术时间、术中出血量等),并比较两组患者术后镇痛次数、胃肠功能恢复时间、术后住院时间、治疗总费用以及并发症发生情况.

统计学处理 采用SPSS19.0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χ²检验.P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较 两组患者的临床资料比较,差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性(表1).

2.2 两组患者手术情况比较 两组患者手术时间及术中出血量比较(130.33 min±11.06 min vs 128.68 min±10.88 min)、(68.86 mL±10.97 mL vs 70.92 mL±11.26 mL),差异无统计学意义(P>0.05).

2.3 两组患者术后情况比较 实验组患者术后镇痛次数、胃肠功能恢复时间、术后住院时间及治疗总费用均显著低于对照组(P<0.05)(表2).

2.4 两组患者术后并发症情况比较 实验组患者术后切口感染发生率显著低于对照组,差异具有统计学意义(P<0.05);两组患者其余并发症发生率比较,差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

3 讨论

我国是胆道系统结石的高发地,随着国内居民生活水平的提高以及饮食结构的改变,该病的发生率还将不断升高^[4].临床研究^[5]表明,胆道感染、胆道梗阻、胆道异物、胆汁中蛋白代谢异常以及胆道系统的局部免疫反应均为诱发胆总管结石的主要危险因素.

目前,临床治疗胆总管结石的方案以手术治疗为主,保肝、利胆、解痉、抗生素、纠正水、电解质和酸碱平衡、营养支持及纠正凝血功能异常等综合治疗为辅,临床效果显著^[6].

但传统的OCBDE手术虽然效果显著,但对患者创伤较大、术后恢复时间较长、并发症也较多,同时也容易造成胆道变形和结石再生^[7].内镜括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)也是治疗胆总管结石的有效术式,创伤较小,但手术适应证范围小,成功率较低,在结石清除方面也有一定局限性,因此临床应用受到了限制^[8].腹腔镜技术为微创手术,在临床上已经逐渐替代了多种开放手术,赢得了临床医师的青睐.随着腹腔镜技术的不断成熟,LCBDE手术已经开始逐渐替代传统的OCBDE手术,其临床优势主要为:采取四孔法手术创伤小,手术应激对患者刺激小,术后容易恢复^[9];术中腹腔镜的使用不仅能够准确探查患者腹腔情况,也为手术提供了清晰准确的视野,即缩短了手术时间,也避免了解剖分离过程中的不必要损伤^[10];术中加用胆道镜,可准确探查胆总管中结石情况,为取石方式选择提供了便利,也避免了盲目取石所胆管造成的损伤^[11].

一般情况下腹腔镜手术与开腹手术比较,手术时间明显缩短,主要是由于节省了开腹、关腹的时间,另外腹腔镜手术视野更佳也节省了手术操作时间^[12].但LCBDE手术在胆道镜取石、术中留置胆道T管以及缝线打结时存在技术难点,对临床医师操作技巧和经验要求较高,一般临床医师需在上述方面需花费一定时间^[13].另外,腹腔镜虽然手术视野清晰准确,但对手术操作要求较高,术中一旦出血不好控制,因此在术中整体出血情况方面与开腹手术比较,并不占较大临床优势^[14].本研究中两组患者手术时间及术中出血量比较,差异无统计学意义($P>0.05$),与上述研究报道相符.

有临床研究^[15]指出,腹腔镜手术创伤小、术中对周围组织无大面积刺激(开腹手术有手套、纱布等的刺激)、对胃肠道刺激也小,因此术后疼痛较轻、胃肠功能恢复也较快,缩短了住院时间.本研究中实验组患者术后镇痛次数、胃肠功能恢复时间、术后住院时间及治疗总费用均显著低于对照组,差异具有统计学

意义($P<0.05$),与上述研究报道相符.朱信强等^[16]的研究指出LCBDE手术切口小、对周围组织不必要损伤小、手术刺激小,因此术后出血、感染等几率小.本研究中实验组患者术后切口感染发生率显著低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),也证实了这一点.

总之,与OCBDE比较,LCBDE创伤小、术后恢复时间短、治疗费用低,是治疗胆总管结石的优选手术方案.

同行评价

本文比较实施腹腔镜与开腹胆总管探查术治疗胆总管结石的临床效果,探讨腹腔镜胆总管探查术的临床优势,有一定科学价值和临床应用意义.

参考文献

- 1 颜禄斌,崔鸿斌,何秋明,谢良恩,沈阳,朱德力.胆总管结石的诊疗进展.中国普通外科杂志 2013; 22: 1074-1077
- 2 和华,李国祥.微创技术治疗胆总管结石的进展.中国微创外科杂志 2006; 6: 70-72
- 3 欧洲内镜外科协会.欧洲内镜外科协会关于胆总管结石诊断和治疗的临床应用指南.腹腔镜外科杂志 2008; 13: 179-180
- 4 张宗明.胆道外科疾病的诊治现状与进展.世界华人消化杂志 2008; 16: 1200-1204
- 5 吴付力.内镜治疗胆总管结石最新进展.当代医学 2014; 20: 11-12
- 6 应江波,李立波.胆总管结石的治疗进展.肝胆胰外科杂志 2010; 22: 522-524, 528
- 7 王广义,王英超,吕国悦.胆囊结石合并胆总管结石的现代外科治疗模式.世界华人消化杂志 2009; 17: 3579-3582
- 8 朱杰高,韩威,张忠涛,李建设.胆囊结石合并胆总管结石的治疗新进展.中国全科医学 2013; 16: 1702-1704
- 9 龚加明.胆总管结石的微创治疗研究进展.微创医学 2011; 6: 439-441
- 10 陈新桂,黄河,杨培生,姚志成,黄品助,刘波.腹腔镜下胆总管切开取石术治疗胆总管结石患者的临床研究.中华肝脏外科手术学电子杂志 2013; 2: 25-29
- 11 王晨,陶文雅,徐韦.腹腔镜联合胆道镜与开腹手术治疗胆总管结石临床对比研究.中国普通外科杂志 2013; 22: 230-232
- 12 方军,李兆申.胆总管结石内镜治疗的研究进展.肝胆外科杂志 2012; 20: 165-167
- 13 赵冬雨,成丽娅,沈宏,张宁.腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石合并胆总管结石的临床应用研究.中国普外基础与临床杂志 2013; 20: 793-796
- 14 宋光,刘连新,杨幼林.内镜与手术治疗胆总管结石的疗效比较.世界华人消化杂志 2008; 16: 3009-3011
- 15 程利民,刘洋,孙志德,刘淑敏,张学军.腹腔镜联合胆道镜与传统开腹手术治疗胆总管结石的临床疗效对比.世界华人消化杂志 2014; 22: 5699-5702
- 16 朱信强,丁闯,张明,管小青,陈焰.腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例.世界华人消化杂志 2012; 20: 2496-2499

编辑:韦元涛 电编:闫晋利



前列地尔联合腹腔灌洗治疗高脂血症性重症胰腺炎的临床疗效

吴林, 孔晓霞, 郑永平

■背景资料

高脂血症性胰腺炎(hyperlipidemia acute pancreatitis, HAP)已逐渐成为第二大胰腺炎发病原因, 仅次于胆源性胰腺炎。其发病与甘油三酯(triacylglycerol, TG)明显升高密切相关, 好发于中青年男性, 临床症状重且发展迅速, 血、尿淀粉酶升高常不明显, 极易误诊、漏诊, 死亡率高, 应引起大家的高度重视。

吴林, 郑永平, 汕头市中心医院消化内科 广东省汕头市 515031

孔晓霞, 汕头市中心医院妇产科 广东省汕头市 515031

吴林, 主治医师, 主要从事重症急性胰腺炎及肝纤维化的发病机制及治疗研究。

作者贡献分布: 此课题由吴林与郑永平设计; 研究过程由吴林与孔晓霞操作完成; 研究所用试剂由吴林提供; 数据分析由孔晓霞完成; 本论文写作由吴林完成。

通讯作者: 吴林, 主治医师, 515031, 广东省汕头市金平区外马路114号, 汕头市中心医院消化内科。wlin68@163.com

电话: 0754-88550450

收稿日期: 2015-06-02 修回日期: 2015-06-29

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Alprostadil combined with peritoneal lavage therapy for treatment of hyperlipidemic severe acute pancreatitis

Lin Wu, Xiao-Xia Kong, Yong-Ping Zheng

Lin Wu, Yong-Ping Zheng, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Shantou, Shantou 515031, Guangdong Province, China

Xiao-Xia Kong, Department of Gynecology and Obstetrics, Central Hospital of Shantou, Shantou 515031, Guangdong Province, China

Correspondence to: Lin Wu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Shantou, 114 Waima Road, Jinping District, Shantou 515031, Guangdong Province, China. wlin68@163.com

Received: 2015-06-02 Revised: 2015-06-29

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of alprostadil combined with peritoneal lavage therapy in the treatment of hyperlipidemic severe acute pancreatitis (HSAP).

METHODS: Twenty-seven patients with HSAP were randomly divided into two groups: a control group (13 patients) and a treatment group (14 patients). Both groups received the same conventional medical therapy, and the treatment group additionally received alprostadil and peritoneal lavage therapy (14 d as a cycle). Curative effects were compared between the two groups.

RESULTS: Compared with the control group, the time to patient's condition improvement ($5.55 \text{ d} \pm 3.12 \text{ d}$ vs $8.18 \text{ d} \pm 4.09 \text{ d}$, $4.14 \text{ d} \pm 2.94 \text{ d}$ vs $6.75 \text{ d} \pm 3.58 \text{ d}$), the time to improvement of triacylglycerol ($5.42 \text{ d} \pm 2.06 \text{ d}$ vs $8.28 \text{ d} \pm 3.55 \text{ d}$), total response rate (85.71% vs 61.54%), rates of complications (21.6% vs 38.5%) and mortality (7.14% vs 15.38%), average hospital stay ($23.84 \text{ d} \pm 7.54 \text{ d}$ vs $31.98 \text{ d} \pm 12.18 \text{ d}$), and total expenses of the medical treatment (34.56 ± 13.44 vs 41.29 ± 18.81) were significantly better in the treatment group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$).

CONCLUSION: Alprostadil combined with peritoneal lavage therapy is a safe and effective therapy for HSAP. It may become a basic choice for treating HSAP.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hyperlipidemia; Severe acute pancreatitis; Alprostadil; Peritoneal lavage therapy; Combination

Wu L, Kong XX, Zheng YP. Alprostadil combined with peritoneal lavage therapy for treatment of

■同行评议者

吕农华, 教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院

hyperlipidemic severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(22): 3624-3628 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3624>

摘要

目的: 观察前列地尔联合腹腔灌洗对高脂血症性重症胰腺炎(hyperlipidemia severe acute pancreatitis, HSAP)的治疗效果。

方法: 将27例HSAP患者随机分为对照组(13例)和治疗组(14例)。对照组给予内科常规治疗, 治疗组在对照组治疗方案基础上给予静脉滴注前列地尔及透析液腹腔灌洗治疗, 14 d为1疗程。对两组疗效进行比较。

结果: 治疗组在临床症状/体征缓解时间(5.55 ± 3.12 d vs 8.18 ± 4.09 d, 4.14 ± 2.94 d vs 6.75 ± 3.58 d)、血清甘油三酯(triacylglycerol, TG)好转时间(5.42 ± 2.06 d vs 8.28 ± 3.55 d)、首疗程总有效率(85.71% vs 61.54%)、并发症发生率(21.6% vs 38.5%)、死亡率(7.14% vs 15.38%)、平均住院时间(23.84 ± 7.54 d vs 31.98 ± 12.18 d)及医疗总费用(34.56 千元 ± 13.44 千元 vs 41.29 千元 ± 18.81 千元)等方面均优于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

结论: 前列地尔联合透析液腹腔灌洗治疗HSAP疗效可靠、安全, 可作为HSAP内科治疗的常规选择。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 高脂血症; 重症急性胰腺炎; 前列地尔; 腹腔灌洗; 联合

核心提示: 高脂血症性重症胰腺炎(hyperlipidemia severe acute pancreatitis, HSAP)的发病率逐年升高, 死亡率高, 缺乏治疗指南、规范指导。本研究联合前列地尔与腹腔灌洗治疗HSAP, 安全有效, 可作为HSAP的内科常规治疗选择。

吴林, 孔晓霞, 郑永平. 前列地尔联合腹腔灌洗治疗高脂血症性重症胰腺炎的临床疗效. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3624-3628 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3624>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常

见的一种急腹症, 大多数病例的病程呈自限性, 但约20%-30%的病例可进展为重症, 并发生器官功能衰竭, 死亡率高。随着生活水平的提高和生活方式的改变, 高脂血症性胰腺炎(hyperlipidemia acute pancreatitis, HAP)的发病率逐年上升, 已逐渐成为第二大胰腺炎发病原因, 仅次于胆源性胰腺炎。HAP的发病与血清甘油三酯(triacylglycerol, TG)明显升高密切相关, 好发于中青年男性, 临床症状相对较重且发展迅速, 血、尿淀粉酶升高常不明显, 极易出现误诊、漏诊, 造成治疗延误, 重症化、并发症发生率及复发率均较高, 应引起我们的高度重视。为此, 我们进行了此项前瞻性研究, 以期高脂血症性重症胰腺炎(hyperlipidemia severe acute pancreatitis, HSAP)的临床治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 2007-09/2013-01汕头市中心医院共收治HSAP患者27例, 其中男16例, 女11例。所有病例均符合中华医学会胰腺病学组制定的SAP诊断标准^[1]。病例入选标准为: 具有AP的临床表现(腹痛、恶心和呕吐等); 治疗前的血清TG值 ≥ 11.30 mmol/L, 或血清TG值5.65-11.30 mmol/L, 但血清高度乳浊, 甚至无法行生化及凝血功能检测; 有胰腺炎的影像学证据[计算机断层扫描(computed tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI), 重点为CT], 尤其是对于血尿淀粉酶不高或轻度升高的病例, 其诊断价值更高; 排除AP的其他致病因素如胆石症、乙醇、暴饮暴食、Oddi括约肌功能障碍、腹部外伤及手术、药物等。入选病例采用随机数字法分为治疗组(14例)和对照组(13例), 两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。试验方案经医院伦理委员会讨论一致通过, 所有入组患者均在试验前签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组按《中国急性胰腺炎诊治指南草案》建议, 给予吸氧、心电监护、禁食、胃肠减压、补液、质子泵抑制剂、抗生素、奥曲肽持续静脉泵入、抑制胰酶活性、胰岛素控制血糖、维持水、电解质及酸碱平衡、早期留置鼻空肠管行肠内营养等内科常规治疗。

治疗组在对照组治疗方案基础上给予前

■ 研究前沿

目前国内外尚无关于HAP的治疗指南发布。除急性胰腺炎常规的治疗措施外, 对HAP的治疗仍存在许多争议。虽然降低血TG是治疗HAP的核心环节, 但如何安全、有效地治疗HAP尚需要更深入地进行实验和临床研究。

■ 相关报道

临床研究发现, 使用前列地尔或腹腔灌洗治疗HAP疗效满意, 且不良反应轻, 值得临床推广应用。

■ 创新盘点

目前国内外已有不少关于使用前列地尔或腹腔灌洗治疗HAP的报道, 但关于联合前列地尔与腹腔灌洗治疗高脂血症性重症胰腺炎(hyperlipidemia severe acute pancreatitis, HSAP)的研究国内外尚未见相关报道。

表 1 两组患者一般情况比较

分组	n	年龄(岁)	男/女(n)	体质量指数(kg/m ²)	起病时间(h)	白细胞($\times 10^9$ /L)	淀粉酶(U/L)	TG(mmol/L)	CT分级(n)	
									D级	E级
治疗组	14	39	8/6	26 \pm 4.42	48.85 \pm 9.42	20.53 \pm 8.34	1820 \pm 506.54	20.34 \pm 6.88	9	5
对照组	13	40	7/6	26 \pm 4.42	50.26 \pm 10.68	19.65 \pm 7.49	1942 \pm 680.27	22.51 \pm 8.06	8	5

TG: 甘油三酯; CT: 计算机断层扫描。

表 2 两组患者疗效比较

分组	n	显效	有效	无效	首疗程总有效率(%)	并发症发生率(%)	死亡率(%)
治疗组	14	7	5	2	85.71 ^b	21.6 ^a	7.14 ^a
对照组	13	3	5	5	61.54	38.5	15.38

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 对照组。

列地尔(凯时, 北京泰德制药有限公司, 批号H10980024, 5 μg/支)10 μg+生理盐水100 mL, 静脉滴注, 1次/d, 14 d为1疗程; 并同时予腹膜透析液(广州百特医疗用品有限公司)腹腔灌洗治疗, 入院后24 h内行腹腔穿刺置管术作灌洗治疗, 根据患者病情及耐受性, 从小剂量开始, 每次灌注量约1000-2000 mL, 在腹腔内停留约1 h后引出, 灌洗3-5/d, 疗程约7-14 d。

1.2.2 疗效判定: 临床指标: 观察症状: 腹痛、腹胀、恶心、呕吐、肛门排气排便、发热、休克等, 以及体征: 腹部压痛、反跳痛、肌紧张、皮下瘀斑、肠鸣音等。

实验室指标: 血淀粉酶、尿淀粉酶、血常规、TG、肝肾功能、血糖、血钙、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、D-二聚体、降钙素原等。

临床疗效判定: 显效: 7 d内临床症状及体征消失或缓解、实验室指标基本正常; 有效: 14 d内临床症状及体征消失或缓解、实验室指标基本正常; 无效: 14 d病情无改善(包括临床症状、体征仍明显, TG未降至安全范围, CRP、D-二聚体、降钙素原等无下降趋势或继续升高)。首疗程总有效率 = (显效例数+有效例数)/组内总例数 \times 100%。

并发症发生率: 并发症主要为休克、败血症、肾功能不全、呼吸衰竭、胰腺假性囊肿、胰腺脓肿、胰性脑病等。并发症发生率 = (并发症发生例数)/组内总例数 \times 100%。死亡率: 死亡例数/组内总例数 \times 100%。

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 使用SPSS15.0统计分析软件, 采用成组设计资料的

检验, 计数资料采用 χ^2 检验, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床症状/体征缓解时间比较 治疗组在症状缓解时间(5.55 d \pm 3.12 d vs 8.18 d \pm 4.09 d, *P*<0.05)、体征消失时间(4.14 d \pm 2.94 d vs 6.75 d \pm 3.58 d, *P*<0.05)及肠鸣音恢复时间(7.26 d \pm 3.57 d vs 11.40 d \pm 6.12 d, *P*<0.01)等方面均优于对照组。

2.2 血清TG好转时间 经过1-2个疗程治疗后, 治疗组患者血清TG下降至安全范围(<5.65 mmol/L)时间(5.42 d \pm 2.06 d vs 8.28 d \pm 3.55 d, *P*<0.05)及恢复至正常范围(<1.70 mmol/L)时间(11.66 d \pm 4.34 d vs 18.81 d \pm 9.63 d, *P*<0.01)均显著快于对照组。

2.3 两组患者疗效比较 治疗组在总有效率、并发症发生率、死亡率等方面均优于对照组(*P*<0.05或*P*<0.01); 治疗组1例患者死亡, 患者为64岁男性, 就诊时间超过3 d, 有糖尿病、高脂血症不规则治疗史多年, 入院经积极治疗后临床表现、生化指标好转, 但患者肺损伤严重, 最终并发呼吸衰竭死亡(表2)。

2.4 两组患者医疗成本比较 治疗组患者在平均住院天数(23.84 d \pm 7.54 d vs 31.98 d \pm 12.18 d, *P*<0.05)、医疗总费用(34.56千元 \pm 13.44千元 vs 41.29千元 \pm 18.81千元, *P*<0.05)方面均明显低于对照组。

3 讨论

高脂血症引起的AP呈逐年上升趋势, 广东地

区HAP的发病率10年间升高了2.6倍^[2]. HAP与TG升高密切相关, 而单纯的高胆固醇并不引起胰腺炎. 目前认为, 大多数情况下, 轻至中度血脂升高继发于胰腺炎, 而重度TG升高(≥ 5.65 mmol/L)可诱发胰腺炎, 且大约有20%-30%的HAP进展为HSAP. HAP的发病机制尚不完全明确^[3], 其可能发病机制是^[4-8]: (1)游离脂肪酸的毒性作用: 胰腺及胰周高浓度的TG被胰脂肪酶水解, 局部产生大量游离脂肪酸, 诱发酸中毒, 激活胰蛋白酶原, 导致胰腺发生严重的自身消化; 游离脂肪酸的皂化作用使胰腺间质崩解, 胰腺发生自溶, 释放更多的有毒物质进入循环; 游离脂肪酸对胰腺腺泡细胞和毛细血管内皮细胞有直接的细胞不良反应; 另外, 游离脂肪酸可通过加强肿瘤坏死因子等细胞因子的毒性引起生物膜损伤, 膜通透性增高, 加重胰腺缺血坏死; (2)微循环障碍: 过高浓度的TG增加血液黏滞度, 导致胰腺微循环障碍; 高TG损伤胰腺血管内皮细胞, 使内皮合成与分泌具有扩血管作用的前列环素I₂(prostacyclin I₂, PGI₂)减少, 同时高TG可激活血小板, 释放大量的具有强烈缩血管作用的血栓素A₂(thromboxane A₂, TXA₂), 导致TXA₂/PGI₂失衡, 加重微循环障碍; 血清脂质颗粒聚集堵塞胰腺微血管; SAP时, 血浆成分在多种炎症因子作用下大量渗出, 进一步加剧胰腺微循环障碍; (3)其他: 如炎症反应、氧化应激、钙超载、基因多态性^[9,10]、代谢异常等方面. 由此我们可以总结出HAP治疗的关键在于早期阻断炎症介质的继续吸收、迅速降低腹腔内压力及改善胰腺微循环.

前列地尔注射液(凯时)是以直径为0.2 μ m的脂微球作为前列腺素E₁的载体, 将前列腺素E₁运送到特定病变部位, 靶向扩张内脏血管, 改善胰腺微循环; 同时可以抑制多种内外源性刺激引起的胰腺分泌, 稳定溶酶体膜, 抑制胰酶释放^[11-13], 对TXA₂有较强拮抗作用, 能抑制血小板聚集和活化, 防止血栓形成^[14,15]. 此外, 前列地尔还具有对注射局部血管刺激小、在肺部的失活率低、生物利用度高等优点.

腹腔灌洗治疗可将HSAP患者腹腔内各种炎症介质、生物活性物质及坏死物质等随引流液一起排出体外, 减少毒素及细菌移位, 并能通过腹膜透析作用将血液中有毒物质一并排出体外, 能有效减轻胰腺及全身的炎症反应,

迅速降低腹腔内压力, 降低器官衰竭的发生率.

本研究在SAP内科常规治疗基础上, 加用前列地尔及透析液腹腔灌洗治疗27例HSAP患者, 结果显示: 治疗组在临床症状/体征缓解时间、血清TG好转时间、总有效率、并发症发生率、死亡率、平均住院时间及医疗总费用等方面均优于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 提示前列地尔联合腹腔灌洗治疗HSAP能更快缓解临床症状、体征, 使血清TG尽快降至安全范围, 提高治愈率, 降低并发症发生及死亡率, 值得临床推广应用.

4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中华消化杂志 2004; 24: 190
- 贾林. 高脂血症性胰腺炎的临床特征及其诊治. 现代消化及介入杂志 2007; 12: 199-201
- Subramaniam S, Zell JA, Kunz PL. Everolimus causing severe hypertriglyceridemia and acute pancreatitis. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11: 5-9 [PMID: 23307976]
- 王刚, 孙备, 姜洪池. 高脂血症急性胰腺炎的研究进展. 中国普通外科杂志 2005; 14: 777
- Kim BK, Kim MJ, Chang WC, Yoo KH, Shin YG, Chung CH. Recurrent acute pancreatitis in a patient with type IIb hyperlipoproteinemia: a case report and review of the literature in Korea. *Yonsei Med J* 2006; 47: 144-147 [PMID: 16502498 DOI: 10.3349/ymj.2006.47.1.144]
- Wang Y, Sternfeld L, Yang F, Rodriguez JA, Ross C, Hayden MR, Carriere F, Liu G, Hofer W, Schulz I. Enhanced susceptibility to pancreatitis in severe hypertriglyceridaemic lipoprotein lipase-deficient mice and agonist-like function of pancreatic lipase in pancreatic cells. *Gut* 2009; 58: 422-430 [PMID: 18936103 DOI: 10.1136/gut.2007.146258]
- 刘忠铭. 高脂血症性急性胰腺炎诊断及治疗. 重庆医学 2010; 39: 36-37
- 梁志海, 唐国都. 高脂血症性急性胰腺炎发病机制的研究进展. 国际消化病杂志 2013; 33: 32-34
- Chang YT, Chang MC, Su TC, Liang PC, Su YN, Kuo CH, Wei SC, Wong JM. Association of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) mutation/variant/haplotype and tumor necrosis factor (TNF) promoter polymorphism in hyperlipidemic pancreatitis. *Clin Chem* 2008; 54: 131-138 [PMID: 17981921 DOI: 10.1373/clinchem.2007.093492]
- Chang YT, Chang MC, Su TC, Liang PC, Su YN, Kuo CH, Wei SC, Wong JM. Lipoprotein lipase mutation S447X associated with pancreatic calcification and steatorrhea in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 591-596 [PMID: 19034041 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181734a30]
- Sakai Y, Hayakawa T, Kondo T, Shibata T, Kitagawa M, Sobajima H, Naruse S, Ohnishi ST. Protective effects of a prostaglandin E₁ oligomer on taurocholate-induced rat pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7: 591-595 [PMID: 1486188 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1992.tb01491.x]
- 朱峰, 孙为豪, 傅熙玲. 前列地尔治疗急性胰腺炎临

应用要点

本研究发现前列地尔联合腹腔灌洗治疗HSAP能更快缓解临床症状、体征, 使血清TG尽快降至安全范围, 提高治愈率, 降低并发症发生及死亡率, 值得临床推广应用.

■ 同行评价

本文为临床使用前列地尔和腹腔灌洗治疗急性胰腺炎提供了证据支持, 有一定学术价值。

- 13 床疗效观察. 临床荟萃 2003; 18: 1055-1057
佟晶洁, 刘小燕, 傅增洋. 前列地尔对糖尿病肾病患者血液流变学及尿白蛋白作用的观察. 中华实用诊断与治疗杂志 2008; 22: 592-594
- 14 赵晓晏, 夏时海. 血小板活化因子与急性胰腺炎的发生和治疗. 世界华人消化杂志 2001; 9: 958-960
- 15 夏亮, 吕农华. 胰腺微循环障碍与重症急性胰腺炎发病的关系. 中华消化杂志 2006; 26: 284-286

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》修回稿须知

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核核稿; (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。

DcR3、CA19-9联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值

杨健, 张旭, 张立峰, 朱东明, 张子祥, 张逸, 李德春, 周健

杨健, 张旭, 张立峰, 朱东明, 张子祥, 张逸, 李德春, 周健,
苏州大学附属第一医院普外科 江苏省苏州市 215006
杨健, 在读硕士, 主要从事胰腺癌基础与临床研究。

江苏省卫生厅医学科研基金资助项目, No. Q201402

作者贡献分布: 课题由杨健、张旭及周健设计; 研究过程由杨健、张旭、张立峰及张逸操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由朱东明提供; 数据分析由张子祥与李德春完成; 本文写作由杨健与周健完成。

通讯作者: 周健, 副主任医师, 215006, 江苏省苏州市十梓街188号, 苏州大学附属第一医院普外科, zhoujian06@suda.edu.cn
电话: 0512-67780107

收稿日期: 2015-05-25 修回日期: 2015-06-22

接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-08

Clinical value of combined detection of serum decoy receptor 3 and CA19-9 in diagnosis of pancreatic cancer

Jian Yang, Xu Zhang, Li-Feng Zhang,
Dong-Ming Zhu, Zi-Xiang Zhang, Yi Zhang,
De-Chun Li, Jian Zhou

Jian Yang, Xu Zhang, Li-Feng Zhang, Dong-Ming Zhu, Zi-Xiang Zhang, Yi Zhang, De-Chun Li, Jian Zhou, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Supported by: Medical Research Foundation of Jiangsu Provincial Health Department, No. Q201402

Correspondence to: Jian Zhou, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. zhoujian06@suda.edu.cn
Received: 2015-05-25 Revised: 2015-06-22

Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To assess the clinical value of combined detection of serum decoy receptor 3 (DcR3) and CA19-9 in the diagnosis of pancreatic cancer.

METHODS: Serum samples were collected from 90 pancreatic cancer patients, 20 pancreatic benign tumor patients and 20 healthy persons. Serum DcR3 levels were detected by ELISA, and serum CA19-9 levels were detected by eletro-chemiluminescent immunoassay. The receiver operating characteristic (ROC) curve was constructed to evaluate the diagnostic value and predict the resectability of pancreatic cancer.

RESULTS: The median serum levels of DcR3 and CA19-9 were 37.75 pg/mL and 202.29 kU/L, respectively, in the pancreatic cancer group, and they were significantly higher than those in patients with benign tumors or healthy persons ($P < 0.01$ for both). The area under ROC curves (AUC) of DcR3 and CA19-9 were 0.81 and 0.89, respectively, and AUC of combined detection of two markers produced the highest diagnostic yield (AUC = 0.95). For predicting resectability of pancreatic cancer, AUC values of DcR3 and CA19-9 were 0.68 and 0.59, respectively, however, AUC of combined detection of the two markers was 0.73.

CONCLUSION: The levels of serum DcR3 and CA19-9 are significantly elevated in pancreatic cancer patients. The combined detection of DcR3 and CA19-9 may be helpful to the diagnosis and predicting resectability of pancreatic cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic neoplasms; DcR3; CA19-9; Tumor markers

背景资料

胰腺癌是一种发病隐匿、发展迅速、预后极差的消化系统肿瘤。针对胰腺癌诊断及术后评估指标一直在研究中, CA19-9在胰腺癌的诊治中发挥重要作用, 但仍存在许多不足。因此, 临床上需要发现新的肿瘤标志物, 通过联合检测来提高胰腺癌诊断及手术切除率的敏感性和特异性。

同行评议者

江建新, 教授, 主任医师, 湖北省肿瘤医院肝胆胰脾外科

■ 研发前沿

胰腺癌具有早期诊断困难、手术切除率低的特点, 血清肿瘤标志物检测是一种无创而且有效的诊断和评估方法, 单指标检测在胰腺癌诊断方面存在很多不足. 诱骗受体3(decy receptor 3, DcR3)是一种分泌性蛋白, 在血清中长期稳定存在, 因此联合检测胰腺癌血清中DcR3和CA19-9对胰腺癌诊断及手术可切除性具有重要的评估作用.

Yang J, Zhang X, Zhang LF, Zhu DM, Zhang ZX, Zhang Y, Li DC, Zhou J. Clinical value of combined detection of serum decoy receptor 3 and CA19-9 in diagnosis of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3629-3633 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3629>

摘要

目的: 探讨血清中诱骗受体3(decy receptor 3, DcR3)和CA19-9联合检测对胰腺癌诊断的临床价值.

方法: 收集90例胰腺癌、20例胰腺良性肿瘤患者及20例健康对照组血清, 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法测定DcR3水平, 电化学发光免疫分析法测定血清CA19-9水平, 采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估他们对胰腺癌诊断和可切除性判断的临床价值.

结果: 胰腺癌患者血清DcR3和CA19-9水平分别为37.75 pg/mL和202.29 kU/L, 明显高于胰腺良性肿瘤组和健康对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$). DcR3和CA19-9诊断胰腺癌的曲线下面积(area under ROC curves, AUC)分别为0.81和0.89, 两者联合检测的AUC为0.95. DcR3和CA19-9对胰腺癌科切除性判断的AUC分别为0.68和0.59, 两者联合检测的AUC为0.73.

结论: DcR3和CA19-9在胰腺癌患者血清中升高, 两者联合检测有助于提高胰腺癌诊断价值和可切除性的判断.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺肿瘤; 诱骗受体3; CA19-9抗原; 肿瘤标志物

核心提示: 本研究探讨血清中诱骗受体3(decy receptor 3, DcR3)和CA19-9联合检测对胰腺癌的诊断及可切除性的价值, 结果显示DcR3和CA19-9在胰腺癌患者血清中升高, 两者联合检测有助于提高胰腺癌诊断价值和可切除性的判断.

杨健, 张旭, 张立峰, 朱东明, 张子祥, 张逸, 李德春, 周健. DcR3、CA19-9联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3629-3633 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3629>

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的消化系肿瘤之一, 手术切除率仅为15%-20%, 5年生存率为5%左右^[1,2]. 临床上常用CA19-9、CA50、CA12-5等肿瘤标志物诊断胰腺癌, 以CA19-9意义较大, 但受个体差异及机体内环境的影响, 其敏感性和特异性均不高. 诱骗受体3(decy receptor 3, DcR3)是肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族成员, 其氨基酸序列中缺乏跨膜结构, 是一种分泌性蛋白, 在正常组织和血清中不表达或微量表达, 但在多种肿瘤组织和血清中可以出现高表达^[3-5]. DcR3具有抑制凋亡和促进肿瘤细胞免疫逃逸的双重功能, 在肿瘤的发生、发展中发挥着重要的作用. 本研究检测了90例胰腺癌患者血清中DcR3和CA19-9水平, 旨在探讨DcR3、CA19-9联合检测对胰腺癌的诊断价值和可切除性的评估.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01/2013-12苏州大学附属第一医院普外科的胰腺癌患者90例, 其中男57例, 女33例, 年龄39-77岁, 平均61岁±12岁. 根据美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)TNM分期(2010), I期23例, II期37例, III期12例, IV期18例. 可手术切除经病理证实60例, 通过术中探查判断肿瘤无法切除9例, 通过影像学计算机断层扫描(computed tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)发现存在转移或其他远处转移而不可切除21例. 20例胰腺良性肿瘤包括黏液性囊腺瘤10例, 浆液性囊腺瘤6例, 乳头状瘤2例, 胰岛细胞瘤2例, 另选择20例健康志愿者作为健康对照组.

1.2 方法 收集各组患者术前及健康者的血清, DcR3水平测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA)方法, ELISA试剂盒购自BD公司, 按照试剂盒说明书操作. CA19-9水平的测定采用电化学发光免疫分析法, 正常参考范围0-37 kU/L.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学处理, DcR3和CA19-9水平以中位数表示, 采用Kruskal-Wallis H 检验、Spearman分析进行组间比较及相关性分析. 应用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线和

■ 相关报道

DcR3具有抑制凋亡和促进肿瘤细胞免疫逃逸的双重功能, 在肿瘤的发生、发展中发挥着重要的作用. 研究表明DcR3在胰腺癌组织和血清中均高表达, 并在血清中可与胰腺良性肿瘤及正常对照组区分.

表 1 各组中DcR3和CA19-9水平的比较

分组	n	DcR3(pg/mL)		CA19-9(kU/L)	
		中位数	范围	中位数	范围
胰腺癌组	90	37.75	3.18-98.58	202.29	6.23-877.48
胰腺良性肿瘤组	20	8.64	3.31-36.49	13.57	3.45-211.25
健康对照组	20	8.17	3.18-17.47	8.30	2.15-30.46

DcR3: 诱骗受体3.

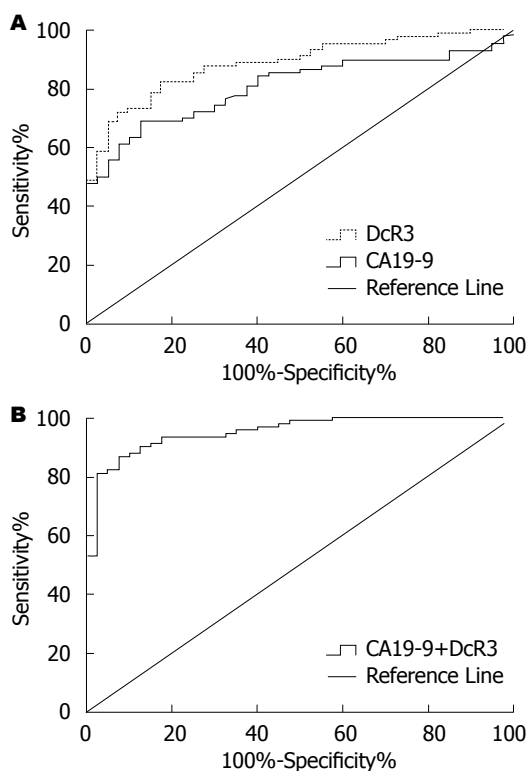


图 1 DcR3、CA19-9单独及联合诊断胰腺癌的ROC曲线. A: DcR3、CA19-9诊断胰腺癌的ROC曲线; B: 联合检测诊断胰腺癌的ROC曲线. DcR3: 诱骗受体3.

逐步Logistic回归结果的ROC曲线计算曲线下面积(area under ROC curves, AUC), 分析单指标及联合检测的效能. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组血清DcR3和CA19-9水平 表1显示, 胰腺癌患者血清DcR3水平明显高于各胰腺良性肿瘤以及健康对照组($P<0.01$), 胰腺良性肿瘤患者组和健康对照组血清DcR3水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$). 胰腺癌患者血清CA19-9水平明显高于胰腺良性肿瘤组和健康对照组($P<0.01$), 同时胰腺良性肿瘤组血清

CA19-9水平与健康对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$). 相关性分析显示, 胰腺癌患者血清DcR3和CA19-9水平无明显相关性($r=0.041$, $P>0.05$).

2.2 DcR3与CA19-9联合检测在诊断胰腺癌中的价值 基于Logistic回归的ROC曲线分析单个标志物及联合检测的评价结果示, 两种标志物单项检测的结果表明CA19-9的敏感度82.22%, 特异度82.50%, DcR3的敏感度68.89%, 特异度87.50%, 联合检测的敏感度87.78%, 特异度90.00%, 提示联合检测较为理想. DcR3、CA19-9诊断胰腺癌的AUC分别为0.81(95%CI: 0.74-0.88), 0.89(95%CI: 0.83-0.94), DcR3、CA19-9联合检测的AUC为0.95(95%CI: 0.91-0.98), 以两者联合检测的效能最佳(图1).

2.3 DcR3与CA19-9联合检测对胰腺癌可切除性的判断 60例可切除患者中DcR3和CA19-9的水平分别为31.66 pg/mL和163.72 kU/L, 明显低于不可切除的患者(DcR3: 72.22 pg/mL; CA19-9: 366.99 kU/L), 差异均有统计学意义($P<0.01$). 根据ROC曲线分析DcR3、CA19-9单指标对胰腺癌可切除性判断的AUC分别为0.68(95%CI: 0.56-0.81), 0.59(95%CI: 0.46-0.73) 诊断价值较低, 而联合检测对胰腺癌可切除性判断的AUC为0.73(95%CI: 0.62-0.84), 对胰腺癌可切除性判断的意义为中等(图2).

3 讨论

DcR3最早是Pitti等^[6]于1998年发现的与TNFR高度同源的凋亡抑制因子, 其氨基酸序列中缺乏跨膜结构, 是一种分泌性蛋白. DcR3基因定位于染色体20q13.3, 全长11.14 kb, 由271个氨基酸残基组成, 包括4个半胱氨酸残基富集区和1个N-糖基化位点. DcR3能竞争性结合Fas配体(Fas ligand, FasL)、肿瘤坏死因子样配体

■ 创新盘点

有学者提出胰腺癌生物学特性与术前评估可切除性的思考, 以及文献报道血清CA19-9水平对胰腺癌可切除性判断的临床意义, 但多数是单一性指标去判定, 本文探讨在胰腺癌患者血清中联合检测DcR3、CA19-9对胰腺癌诊断和可切除性的评估价值.

■ 应用要点

DcR3在国外已经被用于多种恶性肿瘤的临床诊治过程、治疗前后判断疗效和新的相关药物的研发. 由于血清中DcR3的检测具有操作简单方便, 创伤小, 费用低的优势, 是潜在的临床诊断指标.

名词解释

诱骗受体: 诱骗受体家族包括3个成员, DcR1、DcR2和DcR3, 通过阻断凋亡信号发挥抑制凋亡的作用, 与DcR3在肿瘤中高表达不同, DcR1和DcR2主要分布在正常组织和细胞中。

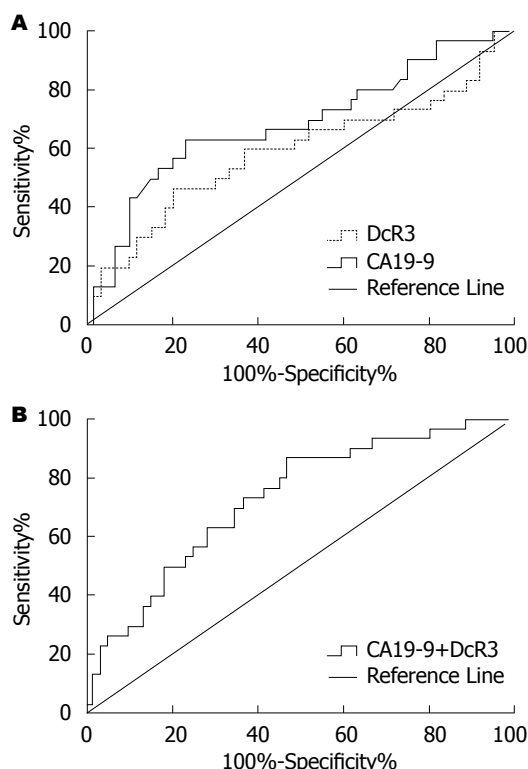


图 2 DcR3、CA19-9单独及联合判断胰腺癌可切除性的ROC曲线。A: DcR3、CA19-9判断胰腺癌可切除性的ROC曲线; B: 联合检测判断胰腺癌可切除性的ROC曲线。DcR3: 诱骗受体3。

1A(tumor necrosis factor ligand-like 1A, TL1A)和T细胞上可诱导表达的、与单纯疱疹病毒糖蛋白D竞争结合单纯疱疹病毒侵入介体的淋巴毒素类似物(lymphotoxin analogues, LIGHT), 发挥抑制凋亡和促进肿瘤细胞免疫逃逸的双重作用^[7-9]。Wu等^[10]研究发现急性感染和健康者血清中DcR3阴性率为96.9%, 而恶性肿瘤患者血清中DcR3阳性率为55.0%, 提示DcR3可作为鉴别肿瘤和炎症的标志物之一。我们前期的研究^[11]发现胰腺癌患者血清中DcR3水平明显高于正常健康者和良性肿瘤组, 并且胰腺癌组织中DcR3的表达与血清中DcR3的表达呈正相关关系。

CA19-9是唾液酸化的Lewis抗原, 正常胰腺组织分泌极少, 当Lewis抗原阳性的胰管、胆管、胃肠道上皮细胞发生恶变时分泌亢进, 是针对胰腺癌临床应用最多和最有价值的肿瘤标志物, 但在急性炎症、胆道梗阻、肝硬化等疾病时也有不同程度的升高^[12]。此外, 在分化差的肿瘤中CA19-9的表达水平也较低。因此, 选择包括CA19-9在内的两种及以上的血清肿瘤标志物进行联合检测, 有助于胰腺癌的

诊断和术前评估^[13,14]。

本研究结果显示, DcR3、CA19-9单项检测以及联合检测的AUC分别为0.81、0.89和0.95, 表明联合检测能提高胰腺癌的诊断效能。同时研究表明DcR3和CA19-9水平在胰腺癌患者血清中分别独立升高, 并无相关性, 可能与这两种标志物在细胞中不同的合成途径有关, 因此在诊断上具有互补性, 为两者的联合检测的合理性提供了理论依据。此外, 通过ROC曲线对胰腺癌可切除性进行评估, DcR3和CA19-9单项检测的AUC分别为0.68和0.59, 诊断价值较低, 而两者联合检测AUC为0.73, 诊断价值中等。CA19-9对胰腺癌可切除性判断的效能较低, 与CA19-9的蛋白骨架有关, 其抗原决定簇是Lewis抗原的衍生物, 而人群中Lewis血型抗原阴性率在10%左右, 这部分胰腺癌患者血清中CA19-9水平较低^[15]。DcR3作为一种分泌性蛋白, 在血清中长期稳定表达, 是鉴别肿瘤和炎症的标志物之一, 与CA19-9的表达特性无重叠性。因此, 联合检测相对单项检测能获得更多的信息, 一方面互相补充, 支持诊断; 另一方面增加术前评估的手段, 通过结合影像学资料, 减少手术的盲目性。

参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
- 2 Del Chiaro M, Segersvrd R, Lohr M, Verbeke C. Early detection and prevention of pancreatic cancer: is it really possible today? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 12118-12131 [PMID: 25232247 DOI: 10.3748/wjg.v20.i34.12118]
- 3 Tong J, Ao R, Wang Y, Chang B, Wang BY. Prognostic and clinicopathological differences of DcR3 in gastrointestinal cancer: evidence from meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 3096-3105 [PMID: 25356187]
- 4 Bedewy AM, Elgammal MM, Bedewy MM, El-Maghraby SM. Assessing DcR3 expression in relation to survivin and other prognostic factors in B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2013; 92: 1359-1367 [PMID: 23652586 DOI: 10.1007/s00277-013-1775-4]
- 5 Zong L, Chen P, Wang DX. Death decoy receptor overexpression and increased malignancy risk in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4440-4445 [PMID: 24764685 DOI: 10.3748/wjg.v20.i15.4440]
- 6 Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, Roy M, Kischkel FC, Dowd P, Huang A, Donahue CJ, Sherwood SW, Baldwin DT, Godowski PJ, Wood WI, Gurney AL, Hillan KJ, Cohen RL,

- Goddard AD, Botstein D, Ashkenazi A. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396: 699-703 [PMID: 9872321 DOI: 10.1038/25387]
- 7 Gill RM, Hunt JS. Soluble receptor (DcR3) and cellular inhibitor of apoptosis-2 (cIAP-2) protect human cytotrophoblast cells against LIGHT-mediated apoptosis. *Am J Pathol* 2004; 165: 309-317 [PMID: 15215185 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63298-1]
- 8 Takahashi M, Miura Y, Hayashi S, Tateishi K, Fukuda K, Kurosaka M. DcR3-TL1A signalling inhibits cytokine-induced proliferation of rheumatoid synovial fibroblasts. *Int J Mol Med* 2011; 28: 423-427 [PMID: 21537832 DOI: 10.3892/ijmm.2011.687]
- 9 Zhou J, Song S, He S, Wang Z, Zhang B, Li D, Zhu D. Silencing of decoy receptor 3 (DcR3) expression by siRNA in pancreatic carcinoma cells induces Fas ligand-mediated apoptosis in vitro and in vivo. *Int J Mol Med* 2013; 32: 653-660 [PMID: 23846297 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1437]
- 10 Wu Y, Han B, Sheng H, Lin M, Moore PA, Zhang J, Wu J. Clinical significance of detecting elevated serum DcR3/TR6/M68 in malignant tumor patients. *Int J Cancer* 2003; 105: 724-732 [PMID: 12740925]
- 11 周健, 宋世铎, 朱东明, 赵华, 李德春, 张子祥. 诱骗受体3在胰腺癌组织中的表达及意义. *肿瘤防治研究* 2013; 40: 1143-1146
- 12 Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 266-270 [PMID: 17097848]
- 13 胡应霞, 张海蓉, 石围, 唐君瑞. 血浆miR-210联合血清肿瘤标志物对胰腺癌的诊断价值. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 147-152
- 14 田力, 王晓艳, 沈守荣. 肿瘤标志物CA199、CA242、CEA、CA125联合检测在胰腺癌诊断中的意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3047-3050
- 15 Kim JE, Lee KT, Lee JK, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. Clinical usefulness of carbohydrate antigen 19-9 as a screening test for pancreatic cancer in an asymptomatic population. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 182-186 [PMID: 14731128 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03219.x]

■同行评价

本文探讨在胰腺癌患者血清中联合检测DcR3、CA19-9的表达水平,并分析与胰腺癌诊断及可切除性的相关性,得出结论DcR3和CA19-9在胰腺癌患者血清中升高,两者联合检测有助于提高胰腺癌诊断价值和可切除性的判断。实验设计及结果处理合理,具有一定的创新性和临床意义。

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》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)

二氧化碳应用于结肠息肉高频电凝电切术的临床效果

王颖, 苏连明, 刘丽, 宋彬彬, 陈爱东

■背景资料

结肠息肉电切术常规注入空气, 术中术后均有不同程度的腹痛腹胀, 甚至难以忍受。CO₂气腹已经广泛应用于腹腔镜技术, 本研究以空气为对照, 评价CO₂应用于结肠息肉高频电凝电切术的安全性及有效性。

王颖, 苏连明, 刘丽, 宋彬彬, 陈爱东, 黑龙江省牡丹江医学院红旗医院消化内科 黑龙江省牡丹江市 157011

王颖, 主任医师, 主要从事胃肠镜下疾病治疗相关研究。

牡丹江市科学技术计划基金资助项目, No. z2014s013

作者贡献分布: 此课题由王颖、苏连明及刘丽设计; 研究过程由王颖、苏连明、宋彬彬及陈爱东操作完成; 本论文数据分析及写作由王颖与苏连明完成。

通讯作者: 苏连明, 主治医师, 157011, 黑龙江省牡丹江市爱民区通乡路5号, 牡丹江医学院红旗医院消化内科。

sulianming1981@163.com

电话: 0453-6582076

收稿日期: 2015-04-21 修回日期: 2015-07-07

接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-08

Clinical effects of application of carbon dioxide in high-frequency electrocoagulation resection of colonic polyps

Ying Wang, Lian-Ming Su, Li Liu, Bin-Bin Song, Ai-Dong Chen

Ying Wang, Lian-Ming Su, Li Liu, Bin-Bin Song, Ai-Dong Chen, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang Province, China

Supported by: Mudanjiang Science and Technology Project, No. z2014s013

Correspondence to: Lian-Ming Su, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical College, 5 Tongxiang Road, Aimin District, Mudanjiang 157011, Heilongjiang Province, China. sulianming1981@163.com

Received: 2015-04-21 Revised: 2015-07-07

Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To evaluation the efficacy and safety of application of carbon dioxide (CO₂) in high-frequency electrocoagulation of colonic polyps.

METHODS: One hundred and forty patients

who received treatment for intestinal polyps at our hospital were randomly divided into an CO₂ group ($n = 70$) and an air group ($n = 70$). The patients in the two groups received CO₂ and air injection upon polyp resection, respectively. The arterial partial pressure of CO₂ was recorded before, during and after enteroscopy. The visual analogue score (VAS) scale was used to assess the severity of abdominal distension and pain at 1, 3, 6 and 24 h after colonoscopy examination. The time of procedure and the rate of patient satisfaction at 24 h were also compared.

RESULTS: Electrocoagulation of colonic polyps was successful in all patients in the two groups. There was no significant difference in the arterial partial pressure of CO₂ before, during or after enteroscopy between the CO₂ group and air group ($38.91 \text{ mmHg} \pm 5.02 \text{ mmHg}$ vs $38.52 \text{ mmHg} \pm 4.40 \text{ mmHg}$, $40.54 \text{ mmHg} \pm 4.82 \text{ mmHg}$ vs $38.87 \text{ mmHg} \pm 4.58 \text{ mmHg}$, $39.46 \text{ mmHg} \pm 5.15 \text{ mmHg}$ vs $38.74 \text{ mmHg} \pm 4.21 \text{ mmHg}$) ($P > 0.05$). The average VAS scores at 1, 3 and 6 h were significantly lower in the CO₂ group than in the air group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the time of procedure between the two groups ($P > 0.05$). The rate of patient satisfaction at 24 h was significantly higher in the CO₂ group.

CONCLUSION: High-frequency electrocoagulation of colonic polyps with CO₂ injection can obviously relieve postoperative abdominal pain and distension and improve the satisfaction of patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■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

Key Words: Carbon dioxide; Colonic polyps; High-frequency electrocoagulation; Clinical research

Wang Y, Su LM, Liu L, Song BB, Chen AD. Clinical effects of application of carbon dioxide in high-frequency electrocoagulation resection of colonic polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3634-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3634.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3634>

全有效, 值得临床推广使用.

王颖, 苏连明, 刘丽, 宋彬彬, 陈爱东. 二氧化碳应用于结肠息肉高频电凝电切术的临床效果. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3634-3637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3634.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3634>

摘要

目的: 本实验以空气为对照, 结肠息肉高频电凝电切术时注入CO₂, 观察其安全性与有效性.

方法: 将140例接受肠息肉治疗患者随机分成CO₂组(70例)和空气组(70例), 息肉切除时分别注入CO₂和空气, 记录每组患者肠镜检查前、检查过程中及检查后的动脉血CO₂分压, 采用直观模拟评分(visual analog score, VAS)量表对结肠镜检查检查后1、3、6和24 h腹胀腹痛严重程度进行评分并记录, 记录两组患者完成时间及24 h后满意度, 组间比较采用 t 检验, 计数资料用 χ^2 检验进行统计学分析.

结果: 两组患者均顺利完成息肉电切术, CO₂组血CO₂分压检查前(38.91 mmHg \pm 5.02 mmHg)、检查中(40.54 mmHg \pm 4.82 mmHg)及检查后(39.46 mmHg \pm 5.15 mmHg)与空气组血CO₂分压检查前(38.52 mmHg \pm 4.40 mmHg)、检查中(38.87 mmHg \pm 4.58 mmHg)及检查后(38.74 mmHg \pm 4.21 mmHg)对比无统计学差异($P>0.05$); 而检查中、后1、3和6 h的CO₂组患者腹胀腹痛程度平均VAS分值均明显低于空气组($P<0.05$). 两组患者完成时间无统计学差异($P>0.05$); CO₂组患者24 h后满意度调查明显优于空气组.

结论: 结肠息肉高频电凝电切术中注入CO₂可明显减轻患者术中术后腹痛腹胀, 不会引起CO₂潴留, 不影响治疗时间, 提高患者满意度, 值得临床推广使用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 二氧化碳; 结肠息肉; 高频电凝电切术; 临床研究

核心提示: CO₂气体应用于结肠息肉高频电凝电切术可减轻患者术中术后腹痛腹胀, 不会引起CO₂潴留, 不影响治疗时间, 提高患者满意度, 安

0 引言

结肠镜是消化内科诊治大肠疾病的重要手段, 可作为肠道疾病的常规检查, 亦可通过高频电凝电切术治疗大肠息肉, 在大肠疾病的诊治中起着越来越重要的作用, 结肠息肉电切时常规注入空气, 术中术后均有不同程度的腹痛腹胀, 甚至难以忍受^[1]. 近年来有研究^[2,3]报道, CO₂应用于结肠镜检查效果良好, 但CO₂应用于结肠息肉高频电凝电切术的临床研究甚少^[4]. 本研究以空气为对照, 评价CO₂应用于结肠息肉高频电凝电切术的安全性及有效性.

1 材料和方法

1.1 材料 选取牡丹江医学院红旗医院消化内科住院行肠息肉(息肉数量均 >5 枚, 直径 <2 cm)治疗患者140例, 其中男88例, 女52例, 平均年龄为46.4岁, 随机分为CO₂组($n=70$ 例)和空气组($n=70$ 例), 肠治疗前均签署知情同意书. 排除病例: (1)有心脏及呼吸系统疾病史或急性发作(可能影响CO₂潴留者均排出); (2)按照肠治疗禁忌证排出.

1.2 方法

1.2.1 操作过程: 所有患者检查前均给予禁食、磷酸钠盐45 mL+1000 mL水晚早各一次口服洗肠, 检测生命体征, 凝血常规及输血前四项, 空气组常规注入空气作为结肠的膨胀气体, CO₂组注入CO₂气体作为结肠的膨胀气体, 两组患者均由经验丰富的内镜医师操作, 均完成息肉电切术, 所有患者均不应用麻醉药物及镇静药物, 同时持续性监测并记录血压、心率、脉搏及血氧饱和度, 分别检测并记录每组患者肠镜检查前、检查过程中及检查后的动脉血CO₂分压(通过血气分析检测).

1.2.2 观察指标: 观察两组患者在检查过程中及结束后腹痛的情况, 采用100 mm直观模拟评分(visual analog score, VAS)量表对疼痛严重程度进行评分, VAS量表的分值为0-100分, 低分-无痛苦, 高分-痛苦, 在内镜检查结束时及检查结

■ 研究前沿

本项目主要研究应用CO₂替代空气进行结肠息肉电切的安全性及有效性, 研究热点是否能引起高碳酸血症及减少患者腹胀腹痛症状.

■ 相关报道

中南大学刘德良副教授先后报道了CO₂应用于结肠镜检查的动物实验、临床研究、及结肠息肉切除术的研究, 均取得了满意效果.

■ 创新亮点

目前在结肠镜治疗中注入空气已成为全世界绝大多数地方的标准方法。近几年来, 已有少量的应用CO₂作为注气媒介进行结肠镜检查的文献报道, 但其安全性与有效性尚有待进一步的评价。

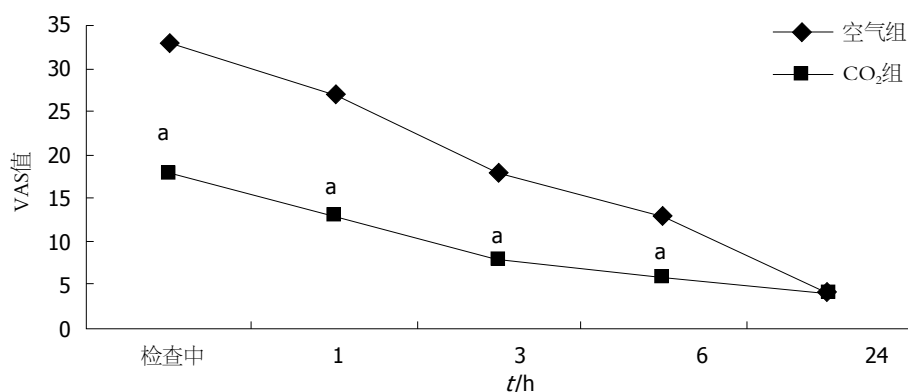


图1 空气组与CO₂组各时点腹痛平均VAS分值的比较。^a $P < 0.05$ vs 空气组. VAS: 直观模拟评分。

束后1、3、6、24 h对患者疼痛严重程度进行评估, 并填写VAS量表^[5]. 记录两组患者完成时间及24 h后满意度。

统计学处理 采用SPSS13.0软件, 计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用 t 检验, 计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组检查过程中动脉血CO₂分压情况 所有结肠镜检查患者均完成息肉电切术, 无出血穿孔等并发症, 检查前、中、后监测血压、脉搏及呼吸均正常. 两组(空气组、CO₂组)检查中(38.87 mmHg±4.58 mmHg、40.54 mmHg±4.82 mmHg)、检查结束时(38.74 mmHg±4.21 mmHg、39.46 mmHg±5.15 mmHg)的CO₂分压与检查前(38.52 mmHg±4.40 mmHg、38.91 mmHg±5.02 mmHg)经统计学 t 检验比较均无显著差异。

2.2 2组VAS分值的比较 两组治疗时及治疗后各时点腹痛平均VAS分值的比较, CO₂组在检查后1、3、6 h腹痛平均VAS分值均显著低于空气组(均 $P < 0.05$), 检查后24 h两组间比较差异无显著性(图1)。

2.3 2组操作时间及满意度比较 两组(空气组、CO₂组)患者操作时间(28.46 min±8.30 min、27.54 min±6.0 min)无统计学差异, CO₂组24 h后满意度调查(88.4%)明显优于空气组(68.7%)($P < 0.05$)。

3 讨论

结肠息肉内镜下治疗已经成为消化内科常规治疗方法, 再行结肠镜治疗时需要注入足量的气体, 而空气就是近年来各家医院行结肠镜治疗时常规注入的气体, 但空气中占75%的是氮

气, 无法被人体吸收, 必须从肛门排出, 受结肠排空的影响, 空气在肠腔中停留时间较长, 作用于肠壁内压力感受器, 患者结肠镜治疗后数小时甚至数天仍感腹胀腹痛, 特别是腹腔镜手术史肠管黏连患者, 术后腹部胀痛更加明显, 影响患者生活质量^[6,7], 甚至影响医患关系, 持续的腹胀腹痛引起患者情绪激动, 对医务人员人身安全有一定威胁可能, 因此寻求更为安全的、患者舒适度更高、能减少医患矛盾的结肠镜治疗注气媒介成为众多消化内科医师关注的热点^[8]。

已有国外学者报道^[9,10], 注入CO₂进行结肠镜治疗可减少患者检查术后的腹痛不适, 而在我国, CO₂气腹虽然广泛应用于腹腔镜技术, 目前关于CO₂应用于结肠镜的相关报道甚少, 刘德良、廖江涛等先后报道了结直肠黏膜下切除和内镜黏膜下层剥离术中注入CO₂的安全性及有效性^[11,12]。

CO₂是一种无色、无味、不可燃、极易溶于血液及其他体液的气体, 既可快速从肠腔吸收, 又易于通过肺呼吸排出体外(在单位分压差下, CO₂通过呼吸膜的扩散速率比O₂快20倍左右^[13]), 可减轻因空气滞留引起的腹胀腹痛, 同时对肠壁的血流干扰极少, 能减少肠壁局部缺血的危险性^[14,15]. 本研究结果显示, CO₂组患者术中、术后1、3、6 h及腹痛腹胀明显低于空气组($P < 0.05$), 而治疗后24 h两组患者腹胀、腹痛无显著差异($P > 0.05$), 分析可能与24 h后空气已基本排空有关, 这证实了应用CO₂进行结肠镜治疗可减轻患者腹痛腹胀, 但是CO₂是一种窒息性气体, 在空气中, 若含量达到10%体积时, 就会使人呼吸逐渐停止, 最后窒息死亡, 注入的CO₂在体内是否会滞留, 是否可导致

■ 应用要点

CO₂已广泛应用于腹腔镜, 通过本实验, 希望CO₂在结肠镜中更加广泛应用, 彻底减轻患者对于肠镜检查的恐惧, 使肠道疾病得到及时、准确的诊治。

高碳酸血症和酸中毒, 一直是此项研究的关键所在, 本研究结果显示2组患者检查中、后CO₂分压与检查前CO₂分压无明显差异($P>0.05$), 且两组患者均无出血穿孔等并发症, 提示CO₂应用于结肠镜治疗是安全的, 这与Lin^[16]报导一致, 结肠镜内镜下黏膜剥离切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)及内镜黏膜下层剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗时注入CO₂是安全的, 并可降低并发症发生。

总之, 在进行结肠息肉高频电凝电切术时注入CO₂是安全有效的, 值得临床推广应用。

4 参考文献

- 苗志国, 齐鲁楠, 黎乐群. 二氧化碳注入在结肠镜检查中的Meta分析. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2501-2505
- 艾永华, 陈嘉雯. 肠易激综合征结肠镜检查中灌注CO₂舒适度及安全性评价. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2466-2469
- 方军, 李兆申. 二氧化碳气体在消化内镜诊疗中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 718-720
- Bassan MS, Holt B, Moss A, Williams SJ, Sonson R, Bourke MJ. Carbon dioxide insufflation reduces number of postprocedure admissions after endoscopic resection of large colonic lesions: a prospective cohort study. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 90-95 [PMID: 22867448 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.004]
- 刘雄祥, 刘德良, 李杰, 欧大联, 周芝元. 应用二氧化碳进行结肠镜检查的安全性及有效性评价. 中南大学学报 2009; 34: 825-829
- 范惠珍, 盛建文, 姚礼庆, 姜新宇. 二氧化碳减轻结肠镜检查术后腹痛的临床研究. 中国临床医学 2010; 17: 42-44
- Chen YJ, Lee J, Puryear M, Wong RK, Lake JM, Maydonovitch CL, Belle L, Moawad FJ. A randomized controlled study comparing room air with carbon dioxide for abdominal pain, distention, and recovery time in patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterol Nurs* 2014; 37: 273-278 [PMID: 25078041]
- 陈英, 杜斌, 杨春敏, 范勤, 韩全利, 李静, 贾敏, 于妍. 二氧化碳灌注提高老年患者结肠镜检查舒适度的随机对照研究. 胃肠病学 2012; 17: 288-292
- Yamano HO, Yoshikawa K, Kimura T, Yamamoto E, Harada E, Kudou T, Katou R, Hayashi Y, Satou K. Carbon dioxide insufflation for colonoscopy: evaluation of gas volume, abdominal pain, examination time and transcutaneous partial CO₂ pressure. *J Gastroenterol* 2010; 45: 1235-1240 [PMID: 20635100 DOI: 10.1007/s00535-010-0286-5]
- Hsu WF, Hu WH, Chen YN, Lai HH, Chen MK, Chang LC, Tu CH, Chou CK, Wang HP, Wu MS, Chiu HM. Carbon dioxide insufflation can significantly reduce toilet use after colonoscopy: a double-blind randomized controlled trial. *Endoscopy* 2014; 46: 190-195 [PMID: 24573730 DOI: 10.1055/s-0034-1365016]
- 李娟, 刘德良, 汤雅静. 结直肠黏膜下切除术中注入二氧化碳的安全性及有效性. 中国内镜杂志 2013; 19: 593-596
- 廖江涛, 李娟, 陈钢. 结肠EMR及ESD术中使用CO₂的有效性评估. 大家健康 2013; 7: 90-91
- 朱大年. 生理学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 166
- Cleland A, Carryer J, La Grow S. Carbon dioxide insufflation during colonoscopy: a randomised controlled trial. *N Z Med J* 2013; 126: 87-94 [PMID: 24154773]
- 刘雄祥, 刘德良, 刘文. 二氧化碳介导结肠镜检查的动物实验研究. 中国内镜杂志 2012; 18: 242-245
- Lin HJ. Carbon dioxide insufflation for colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 799 [PMID: 24120339 DOI: 10.1016/j.gie.2013.05.007]

■名词解释

结肠息肉: 凡从黏膜表面突出到肠腔的息肉状病变, 在未确定病理性质前均称为息肉, 按病理可分为: 腺瘤样息肉(包括乳头状腺瘤)、炎性息肉、错构瘤型息肉、其他, 如黏膜肥厚增生形成增生性息肉, 淋巴组织增生, 类癌等疾患。

■同行评价

本研究内容属前瞻性队列研究, 有较好的创新性和实用性, 设计合理, 数据可靠, 结论可信。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响

冯秀娟, 蔡惠芳, 唐学萍

背景资料

结肠癌属于胃肠道常见恶性肿瘤, 其在国内的发病率有逐年增高趋势。结肠癌术后患者需要接受化疗治疗, 但在治疗过程中由于疾病的疼痛、化疗的不适等诸多问题给患者心理带来巨大的压力, 患者常常伴有绝望紧张、心境悲观、情绪低沉、消极厌世等负性心理反应, 更有甚者会产生轻生念头, 患者的心理状态在化疗期间发挥着巨大的作用。

冯秀娟, 蔡惠芳, 唐学萍, 嘉善县第一人民医院消化内科浙江省嘉兴市 314100

冯秀娟, 主管护师, 主要从事消化内科疾病的护理工作与研究。
 作者贡献分布: 冯秀娟主要负责课题的设计与管理工作; 蔡惠芳负责研究过程的组织与试剂的提供; 唐学萍负责论文的写作与数据的处理。

通讯作者: 冯秀娟, 主管护师, 314100, 浙江省嘉兴市嘉善县罗星街道体育南路1218号, 嘉善县第一人民医院消化内科。
 chenjuhua2009@126.com

电话: 0573-84289636

收稿日期: 2015-05-13 修回日期: 2015-06-19

接受日期: 2015-06-29 在线出版日期: 2015-08-08

Impact of individualized psychological nursing intervention on quality of life and personality in colonic cancer patients on postoperative chemotherapy

Xiu-Juan Feng, Hui-Fang Cai, Xue-Ping Tang

Xiu-Juan Feng, Hui-Fang Cai, Xue-Ping Tang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jiashan County, Jiaying 314100, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Xiu-Juan Feng, Nurse-in-Charge, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jiashan County, 1218 Tiyu South Road, Luoxing Street, Jiashan County, Jiaying 314100, Zhejiang Province, China. chenjuhua2009@126.com

Received: 2015-05-13 Revised: 2015-06-19

Accepted: 2015-06-29 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To explore the impact of individualized psychological nursing intervention on personality characteristics and quality of life in surgical patients with colonic cancer on chemotherapy.

METHODS: One hundred and twenty colonic cancer patients who underwent postoperative chemotherapy from June 2013 to August 2014 were randomly divided into an intervention group and a control group. The intervention group received routine nursing care and individualized psychological intervention, and the control group received conventional care only. The Eysenck Personality Questionnaire, Self-rating Anxiety Scale (SAS), Self-rating Depression Scale (SDS) and SF-60 Questionnaire were used to assess the changes in personality characteristics and quality of life of patients.

RESULTS: Psychoticism (P), Extraversion (E), Neuroticism (N), and Lie (L) scores before intervention had no significant differences between the two groups ($t = 1.113, 1.047, 1.034, 0.958, P = 0.266, 0.274, 0.302, 0.328$), but were significantly lower in the intervention group after intervention than in the control group ($t = 2.940, 3.047, 3.296, 3.481, P = 0.004, 0.003, 0.002, 0.001$). SAS and SDS scores before intervention had no significant differences between the two groups ($t = 1.278, 1.392, P = 0.009, 0.005$), but were significantly lower in the intervention group after intervention than in the control group ($t = 2.583, 2.814, P = 0.009, 0.005$). General health, physical function, physical function, social function, bodily pain, energy, mental health, and emotional function scores before intervention had no significant differences between the two groups ($P = 0.428, 0.471, 0.509, 0.562, 0.617, 0.638, 0.704, 0.729$), but showed significant differences after intervention ($P = 0.048, 0.046, 0.043, 0.038, 0.032, 0.026, 0.022, 0.016$).

同行评议者

杨会, 副主任护师, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

CONCLUSION: Individualized psychological nursing intervention can improve the quality of life and personality characteristics in colonic cancer patients on postoperative chemotherapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Psychological nursing intervention; Colonic cancer; Personality; Quality of life

Feng XJ, Cai HF, Tang XP. Impact of individualized psychological nursing intervention on quality of life and personality in colonic cancer patients on postoperative chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3638-3642 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3638>

摘要

目的: 探讨个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响, 旨在寻求合适的护理方法以改善结肠癌患者生活质量。

方法: 选取2013-06/2014-08接受结肠癌术后化疗治疗的患者120例, 按随机数表法分成干预组60例和对照组60例。对照组采取常规护理, 干预组在常规护理的基础上进行针对性的心理护理干预, 手术结束后连续进行5 mo的护理干预。两组在术前和术后5 mo分别进行艾森克人格成人问卷(Eysenck Personality Questionnai, EPQ)、焦虑自评表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)、抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)问卷和简明健康问卷SF-60生活质量调查, 分析患者治疗前后在人格特征、心理状态和生活质量上的变化。

结果: 结果显示, 干预前两组患者的心理变态量表(Psychoticism, P, 又称精神质)、内外倾向量表(Extraversion, E)、情绪性量表(Neuroticism, N)、效度量表(Lie, L)评分比较差异无统计学意义($t = 1.113$ 、 1.047 、 1.034 、 0.958 , $P = 0.266$ 、 0.274 、 0.302 、 0.328), 干预后干预组患者的P、E、N、L量表评分低于对照组($t = 2.940$ 、 3.047 、 3.296 、 3.481 , $P = 0.004$ 、 0.003 、 0.002 、 0.001); 干预前两组患者的SAS和SDS评分比较无差异($t = 1.278$ 、 1.392 , $P = 0.009$ 、 0.005), 干预后干预组各评分明显低于对照组($t = 2.583$ 、 2.814 , $P = 0.009$ 、 0.005); 干预

前两组患者的一般健康状况、生理职能、生理机能、社会功能、躯体疼痛、精力、精神健康、情感职能评分比较差异无统计学意义($P = 0.428$ 、 0.471 、 0.509 、 0.562 、 0.617 、 0.638 、 0.704 、 0.729), 干预后干预组患者的一般健康状况、生理职能、生理机能、社会功能、躯体疼痛、精力、精神健康、情感职能明显高于对照组($P = 0.048$ 、 0.046 、 0.043 、 0.038 、 0.032 、 0.026 、 0.022 、 0.016)。

结论: 个体化心理护理干预能影响结肠癌术后化疗患者的人格特征并有效改善其焦虑、抑郁症状和生活质量。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 个体化心理护理干预; 结肠癌; 人格特征; 生活质量

核心提示: 结肠癌患者在手术后, 负面情绪明显, 治疗效果明显受心理反应影响。个体化心理护理干预, 可以影响结肠癌术后化疗患者的人格特征, 并有效改善患者焦虑、抑郁症状和生活质量。

冯秀娟, 蔡惠芳, 唐学萍. 个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3638-3642 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3638>

0 引言

结肠癌属于胃肠道常见恶性肿瘤, 且随着人群膳食结构、生活习惯的改变, 其在国内的发病率有逐年增高趋势^[1]。有研究^[2]表明, 癌症属于身心疾病, 结肠癌患者术后, 尤其是化疗期间存在着明显的负性情绪, 外界治疗很大程度上受心理反应的影响。近年来, 随着医学技术尤其是心理护理的迅速发展, 个体化心理护理干预得到了广泛的应用。作为反映机体预后重要指标的生活质量, 受到了人们越来越多的重视^[3-5]。本研究关注个性化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响, 旨在为临床康复及护理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择浙江省嘉善县第一人民医院2013-06/2014-08接受结肠癌术后化疗治疗的患者120例。纳入标准: 经病理学确诊为结肠

■ 相关报道

有关个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响相关研究报道较少, 传统的结肠癌术后护理为常规护理方式, 护理过程简单, 但对于患者术后的负面情绪、性格特征以及生活质量改善情况不佳。

应用要点

近年来,随着医学技术尤其是心理护理的迅速发展,个体化心理护理干预得到了广泛的应用。作为反映机体预后重要指标的生活质量,受到了人们越来越多的重视。该研究表明,个体化心理护理干预在改善结肠癌患者术后的负面情绪、性格特征以及生活质量情况效果良好,值得在结肠癌患者术后的护理工作中进一步推广并应用。

癌;尚在进行化疗治疗;患者具有基本的阅读和理解能力。排除标准:有心脏或其他严重躯体性疾病患者;有精神病史患者;有智力或理解、记忆、精神异常等认知障碍者。其中男68例,女52例,年龄36-75岁,平均54.43岁±3.6岁;小学及以下文化程度35例,中学文化程度64例,大专及以上21例。按随机数表法分为干预组与对照组各60例,对照组:男33例,女27例,平均年龄54.07岁±3.20岁,小学及以下17例,中学31例,大专及以上12例;干预组:男35例,女25例,平均年龄54.51岁±3.80岁,初中及以下18例,高中33例,大专及以上9例。两组患者在性别、年龄、文化教育程度等一般资料方面比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 护理干预: 对照组给予传统常规护理和指导,干预组在此基础上采取以下个体化心理护理干预措施。(1)建立良好的护患关系:护士应主动与患者沟通,认真耐心倾听患者感受,及时从心理、生理等方面综合了解患者;要坚持以真诚、热心的态度、温和的语言对患者关心、爱护,给予足够的支持鼓励,增强患者战胜疾病的信心,使患者主动积极配合化疗和护理;(2)认知心理干预:通过讲座、谈话、分发小册子等方式对患者及家属采取认知行为心理干预措施,科学提高患者家属的护理水平,使患者和家属对结肠癌及治疗使用的药物、化疗过程、化疗方式有所了解。提高患者对疾病的认知程度,加强治疗的信心。化疗结束后,引导患者保持较好的心态,必要时可以通过散步、看电视、听音乐、深呼吸、向家人倾诉等方式保持心情愉悦,促进机体尽快康复;(3)营造良好的温馨环境:为患者营造宁静和谐的化疗环境,使化疗室保持整洁干净,可通过摆放鲜花、盆景,放置清新剂等创造良好的室内环境,让患者在视觉、嗅觉上得到放松,帮助患者保持愉悦的心情;(4)引导患者找到自身存在的价值,可向患者提供治疗成功的案例,帮助患者从他人医治成果的案例中重拾信心。对于病情趋于稳定的患者可引导其回到正常的岗位中,为社会、家庭做一些力所能及的事情,让患者体会到自身的价值;(5)建立亲情支持干预:患者病情的恢复状况与家庭的关心、支持密不可分,家庭照护者应发挥亲情的力量激励患者保持乐观的心态,同时每天坚持陪伴患者

进行半个小时到一个小时的户外活动,增强患者体质,促进健康恢复。

1.2.2 评定标准: (1)患者干预前后人格特征评定:对120例患者结肠癌手术前、后5 mo分别发放艾森克人格成人问卷(Eysenck Personality Questionnai, EPQ),包括4个分量表:内外倾量表(Extraversion, E),情绪性量表(Neuroticism, N),心理变态量表(Psychoticism, P, 又称精神质)和效度量表(Lie, L),根据患者对不同的问题回答是否计分,答是加1分,答否减1分,按照总分判断患者性格特征,共发放问卷240份,回收240份,回收率100%;(2)患者干预前后负性心理评定:对120例患者结肠癌手术前、后5 mo分别采用焦虑自评表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)、抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)来测定患者的抑郁、焦虑状况先由患者自评,然后由专业护理人员进行评分, SAS标准分 ≥ 50 分表示有焦虑症状, SDS标准分 ≥ 53 分表示有抑郁症状,共发放问卷240份,回收240份,回收率100%;(3)患者干预前后生活质量评分:对120例患者结肠癌手术前、后5 mo分别发放简明健康问卷SF-36(由美国医学研究所研制,总共包括8个维度:一般健康状况评价、生理功能、生理职能、社会功能、躯体疼痛、精力、精神健康及情感职能各维度得分范围为0-100分,评分越高说明患者健康状态越好),共发放问卷240份,回收240份,回收率100%。

统计学处理 数据输入SPSS16.0统计软件,两组均数间的比较均采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者EPQ结果比较 两组患者EPQ调查结果显示,干预前两组患者的4个量表评分比较差异无统计学意义($P>0.05$),干预后干预组患者的4个量表各评分明显低于对照组(表1)。

2.2 两组患者负性心理状态结果比较 结肠癌术后两组化疗患者负性心理状态结果显示,干预前干预组和对照组患者的SAS和SDS评分比较差异无统计学意义(54.23分±8.02分 vs 54.12分±8.76分; 55.62分±9.32分 vs 56.42分±9.87分, 均 $P>0.05$),干预后干预组患者的SAS和SDS评分明显低于对照组(45.57分±7.89分 vs 52.42分±6.78分, 46.62分±9.89分 vs 54.21分

表 1 艾森克人格问卷结果比较 ($n = 60$, mean \pm SD, 分)

分量表	干预前		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	干预后		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	干预组	对照组			干预组	对照组		
P量表	5.97 \pm 2.16	5.83 \pm 3.02	1.113	0.266	2.83 \pm 1.16	5.03 \pm 3.46	2.940	0.004
E量表	9.83 \pm 1.16	9.89 \pm 1.36	1.047	0.274	6.21 \pm 2.14	8.87 \pm 2.26	3.047	0.003
N量表	6.52 \pm 1.65	6.67 \pm 1.33	1.034	0.302	6.78 \pm 1.97	8.72 \pm 2.11	3.296	0.002
L量表	9.90 \pm 1.72	9.84 \pm 1.75	0.958	0.328	9.43 \pm 1.17	10.83 \pm 1.16	3.481	0.001

P: 心理变量表; E: 内外倾向量表; N: 情绪性量表; L: 和效度量表。

表 2 两组患者生活质量评分结果比较 ($n = 60$, mean \pm SD, 分)

评定指标	干预前		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	干预后		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	干预组	对照组			干预组	对照组		
一般健康状况	69.73 \pm 3.45	67.63 \pm 3.47	0.944	0.428	78.67 \pm 3.78	69.37 \pm 4.50	1.963	0.048
生理职能	63.24 \pm 4.56	62.24 \pm 3.56	0.937	0.471	78.36 \pm 5.67	69.52 \pm 4.31	1.999	0.046
生理机能	65.72 \pm 2.63	66.78 \pm 3.62	0.827	0.509	79.15 \pm 4.42	70.21 \pm 3.27	2.034	0.043
社会功能	65.73 \pm 2.07	64.78 \pm 2.10	0.805	0.562	75.63 \pm 4.76	69.25 \pm 4.20	2.085	0.038
躯体疼痛	73.73 \pm 3.34	72.56 \pm 3.45	0.783	0.617	77.65 \pm 3.46	73.25 \pm 3.32	2.153	0.032
精力	68.71 \pm 2.46	69.72 \pm 2.23	0.726	0.638	77.56 \pm 5.67	72.16 \pm 4.28	2.275	0.026
精神健康	71.78 \pm 3.67	73.46 \pm 4.01	0.693	0.704	81.65 \pm 3.15	74.15 \pm 3.21	2.394	0.022
情感职能	69.89 \pm 3.56	68.72 \pm 3.62	0.615	0.729	79.54 \pm 2.09	72.34 \pm 2.08	2.417	0.016

± 8.26 分, 均 $P < 0.01$).

2.3 患者生活质量评分结果比较 患者干预前后生活质量评分比较结果显示, 干预前两组患者的一般健康状况、生理职能、生理机能等评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 干预后干预组各评分明显高于对照组($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

3.1 个体化心理护理干预能有效改善患者人格特征 目前, 结肠癌术后患者需要接受化疗治疗, 但在治疗过程中由于疾病的疼痛、化疗的不适等诸多问题给患者心理带来巨大的压力, 患者人格特征可能会受到极大影响。护理人员配合患者了解自身病情, 鼓励患者多做术后放松训练, 理解和支持患者, 使患者对自身病情有一个积极正确的认识; 对患者的个体化心理护理不仅仅局限于照顾患者, 还使患者通过自己付出的劳动认识到自身存在价值, 对生活产生信心和动力, 培养美好的业余爱好, 培养对生活的热爱, 有效改善患者人格特征。P分量分数高可能是孤独、难以适应外部环境, 不近人情, 感觉迟钝; E分量分数高表示人格外向, 热爱交际、爱冒险, 分值低表示好静, 富于内省,

情绪比较稳定; N分量反映的是正常行为, 与病症无关。分数高可能是焦虑、有强烈的情绪反应; L分量测试掩饰性、假托或自身隐蔽。两组患者EPQ调查结果显示, 干预组患者在接受个体化心理干预护理后在人格特征上P、E、N、L量表分值普遍降低, 情绪趋于稳定, 心理抗压能力和环境适应性有所提高^[6,7], 且干预后两组患者的P、E、N、L 4个量表评分比较有统计学差异($P < 0.05$), 表明个体化心理护理干预能有效改善患者人格特征。

3.2 个体化心理干预护理能有效减轻患者负性情绪 结肠癌患者在术后接受化疗时情绪易于波动, 容易出现不良心理反应, 尤其是焦虑、抑郁, 而在化疗过程中出现的呕吐、肝肾功能损坏等更会加重患者的不良情绪^[8,9]。然而这些负性情绪如果得不到适时恰当的处理, 会对患者的治疗产生不好的影响, 甚至会降低机体免疫力加速病理过程, 降低生存率。对结肠癌术后化疗患者进行个体化心理护理干预, 可帮助患者改善焦虑、抑郁等不良情绪, 减少其心理压力和负担, 逐渐树立起对生活的信心和希望。个体化心理护理, 从整体护理观点出发, 准确区别不同患者的年龄、性别、教育程度、工作情况等

■ 同行评价

本研究探讨个体化心理护理干预对结肠癌术后化疗患者人格特征及生活质量的影响, 有一定的新颖性。

情况的差别, 深度了解患者焦虑抑郁产生的原因及时间, 制定有目的、有计划、具有针对性和特异性的个体化心理护理方案, 并据此对患者进行心理护理。结肠癌术后两组化疗患者负性心理状态结果显示, 干预后两组患者的SAS和SDS评分比较有统计学差异($P<0.05$), 表明个体化心理干预护理能有效减轻患者负性情绪。

3.3 个体化心理干预护理能有效改善患者生活质量 随着现代医学的发展, 疾病患者的心理状态在医学界受到了越来越多的重视, 疾病的治疗方式更加完善, 在提高生存率的同时更注重生存质量, 心理护理在现代护理中发挥着重要的作用^[10-14]。人体免疫系统受内分泌系统及神经系统的双重控制, 焦虑抑郁等负性反应不仅让患者拒绝配合治疗, 更为严重的是使患者内分泌及植物神经系统失调, 细胞免疫力、应激反应能力严重降低, 甚至会加速病理进程, 对患者的后续治疗及生活质量造成极大的危害。在个体化心理护理干预中, 护理人员运用科学的心理护理技能, 采取合理的心理干预手段缓解患者的不良情绪, 帮助患者保持积极心态, 从而提高患者的治疗自主性, 更好地配合治疗, 同时也加强了患者对医护人员的信任^[15-18]。心理干预中的认知教育, 可有效提高患者的认知能力, 矫正患者和家属错误的信息和消极信念, 稳定其情绪心态, 从而促使患者树立战胜疾病的信心, 提高治愈率。患者干预前后生活质量评分比较结果显示, 干预后两组患者的一般健康状况、生理职能、生理机能等评分比较差异有统计学意义($P<0.05$), 表明个体化心理干预护理能有效改善患者生活质量。

总之, 在常规治疗基础上充分重视结肠癌术后化疗患者的心理状态, 发挥个体化心理护理干预的主动性、支持性、指导性, 可明显改善患者人格特征, 缓解患者负性情绪, 提高治疗效果, 改善生活质量。

4 参考文献

- 王文锐. 中西医结合护理干预对结肠癌患者围手术期康复效果的影响. 天津: 天津中医药大学, 2013
- 吴美爱, 张伟红, 黄樟生, 王憬. 心理护理干预对大肠癌化疗期患者焦虑及生活质量的影响. 中国实用护理杂志 2010; 26: 54-55
- 王云霞. 心理护理干预对癌症化疗患者心理及生活质量的影响. 求医问药(下半月刊) 2013; 11: 235-235
- 林晓珊, 梁妙英, 雷丽婵, 陈明华, 陈玉娣. 心理护理干预对改善非小细胞肺癌化疗患者不良心理状态及生活质量的影响. 国际护理学杂志 2013; 32: 2839-2841
- 颜小珍. 心理护理干预对骨折后抑郁焦虑患者心理状态和生活质量的影响. 中国实用护理杂志 2011; 27: 77-78
- 邱锡坚, 王凯, 黄耀球, 陈县, 许美华. 心理护理干预对卵巢癌患者生活质量的影响. 中国实用护理杂志 2010; 26: 18-21
- 严彩莲. 心理护理干预对宫颈癌患者心理状况及生活质量的影响. 齐鲁护理杂志 2012; 18: 96-97
- 刘林. 心理护理干预对ICU患者情绪和生活质量的影响. 国际护理学杂志 2013; 32: 352-354
- 董媛媛, 吴育云, 霍世英. 心理护理干预对慢性心力衰竭患者焦虑抑郁和生活质量的影响. 检验医学与临床 2014; 11: 2781-2783
- 张丽娜. 心理护理对乳腺癌患者术后生活质量的影响. 环球中医药 2013; 6: 185-186
- 李麦秋. 护理干预对结肠癌患者抑郁焦虑状态的影响. 南华大学学报(医学版) 2008; 36: 565-566
- 潘延娟, 张官田. 结肠癌患者的术前、术后护理体会. 中国社区医师(医学专业半月刊) 2009; 11: 182
- Schneider SM, Hood LE. Virtual reality: a distraction intervention for chemotherapy. *Oncol Nurs Forum* 2007; 34: 39-46 [PMID: 17562631]
- 李瑛, 贾懿锋. 结肠癌根治术78例的护理. 中国误诊学杂志 2008; 8: 3392
- Renouf T, Leary A, Wiseman T. Do psychological interventions reduce preoperative anxiety? *Br J Nurs* 2014; 23: 1208-1212 [PMID: 25492436 DOI: 10.12968/bjon.2014.23.22.1208]
- Weinstein AG, Henrich CC. Psychological interventions helping pediatric oncology patients cope with medical procedures: a nurse-centered approach. *Eur J Oncol Nurs* 2013; 17: 726-731 [PMID: 23725658 DOI: 10.1016/j.ejon.2013.04.003]
- Xiao JX, Mei R. [Effect of nursing intervention on improving quality of life of patients with advanced schistosomiasis]. *Zhongguo Xuexi Chongbing Fangzhi Zazhi* 2013; 25: 519-20, 523 [PMID: 24490369]
- 梁鼎英. 结肠癌患者术后护理的研究进展. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 767-768

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



回顾性分析经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂104例

魏巍, 李保琴, 李荣先, 彭昕

魏巍, 李保琴, 李荣先, 彭昕, 新乡市中心医院肛肠科 河南省新乡市 453000
魏巍, 主治医师, 主要从事结直肠功能性疾病的诊断与治疗研究.

作者贡献分布: 此课题由魏巍与李荣先设计; 研究过程及数据分析由魏巍、李保琴及彭昕操作完成; 本论文写作由魏巍完成.

通讯作者: 魏巍, 主治医师, 453000, 河南省新乡市金穗大道56号, 新乡市中心医院肛肠科. weew120@126.com
电话: 0373-2041093

收稿日期: 2015-05-07 修回日期: 2015-07-05

接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-08

Comparison of transabdominal and transperineal procedures for complete rectal prolapse: Analysis of 104 cases

Wei Wei, Bao-Qin Li, Rong-Xian Li, Xin Peng

Wei Wei, Bao-Qin Li, Rong-Xian Li, Xin Peng, Department of Anorectal Medicine, the Central Hospital of Xinxiang, Xinxiang 453000, He'nan Province, China
Correspondence to: Wei Wei, Attending Physician, Department of Anorectal Medicine, the Central Hospital of Xinxiang, 56 Jinsui Avenue, Xinxiang 453000, He'nan Province, China. weew120@126.com

Received: 2015-05-07 Revised: 2015-07-05

Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-08

Abstract

AIM: To evaluate and compare the clinical outcomes of transabdominal and transperineal surgical procedures for patients with complete rectal prolapse.

METHODS: A retrospective study was performed of patients with complete rectal prolapse who received surgical treatment at the Central Hospital of Xinxiang between March 1995 and May 2014. Patients were classified according to

the type of operation: transabdominal procedure ($n = 64$) and transperineal procedure ($n = 40$). Clinical effects were compared for the two groups.

RESULTS: There were more young patients and males in the transabdominal group than in the transperineal group. Compared with the transperineal group, the transabdominal group had longer operating time ($165 \text{ min} \pm 67 \text{ min}$ vs $70 \text{ min} \pm 38 \text{ min}$, $P < 0.001$), longer hospital stay ($10 \text{ d} \pm 4 \text{ d}$ vs $7 \text{ d} \pm 2 \text{ d}$, $P < 0.001$), but a lower overall recurrence rate (6.3% vs 15.0% , $P < 0.05$). The overall rate of complications was similar between the two groups (10.9% vs 6.8% , $P > 0.05$). The patients in the transabdominal group complained more frequently of constipation than of incontinence, conversely, in the transperineal group of incontinence than of constipation.

CONCLUSION: The two approaches for treating complete rectal prolapse did not differ with regard to postoperative morbidity, but recurrence occurs frequently among patients in the transperineal group. Surgeons should carefully assess the condition of patients before operation and select the appropriate surgical approach for treating complete rectal prolapse.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal prolapse; Transabdominal; Transperineal; Procedure

Wei W, Li BQ, Li RX, Peng X. Comparison of transabdominal and transperineal procedures for complete rectal prolapse: Analysis of 104 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3643-3647 URL:

背景资料

直肠脱垂是一种功能性疾病, 以直肠脱出肛门外为主要特征, 完全性直肠脱垂表现为直肠全层脱出。该病多见于发育不良幼儿、年老衰弱者以及营养不良患者, 往往伴随长期便秘病史, 并伴有不同程度的大便失禁。

同行评议者

郑建勇, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京消化病医院消化外科

■ 研究前沿

目前有超过一百种不同的治疗完全性直肠脱垂的手术方法, 但就手术入路方式而言, 可分为经腹途径和经会阴途径。外科医师应根据患者的年龄、伴随疾病、直肠脱垂情况以及自身对术式的熟练程度选择合适的手术方法治疗完全性直肠脱垂。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3643.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3643>

摘要

目的: 探讨比较经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂的临床效果。

方法: 选取1995-03/2014-05在新乡市中心医院肛肠科住院治疗的完全性直肠脱垂患者104例, 患者被分为经腹手术组($n = 64$)和经会阴手术组($n = 40$)。对两组患者术后相关指标进行观察, 并进行统计学分析。

结果: 在经腹手术组中, 年轻男性患者多于经会阴手术组。经腹手术组手术时间和($165 \text{ min} \pm 67 \text{ min}$ vs $70 \text{ min} \pm 38 \text{ min}$, $P < 0.001$)住院时间($10 \text{ d} \pm 4 \text{ d}$ vs $7 \text{ d} \pm 2 \text{ d}$, $P < 0.001$)高于经会阴手术组, 但经腹手术组总复发率低于经会阴手术组(6.3% vs 15.0% , $P < 0.05$)。两组患者并发症总发生率相近(10.9% vs 6.8% , $P > 0.05$)。在经腹手术组中, 患者术后出现便秘的情况较多见, 而在经会阴手术组中, 患者术后出现大便失禁的情况则更多见。

结论: 两种手术方式术后并发症发生率相近。但在复发率方面, 经会阴手术组高于经腹手术组。外科医师术前应仔细评估患者病情, 选择合适的手术方法来治疗完全性直肠脱垂。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 直肠脱垂; 腹部; 会阴部; 手术

核心提示: 本次回顾性研究通过比较分析经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂的临床疗效, 结果显示经会阴手术复发率相对较高, 但手术时间及住院时间短, 创伤相对较小。而经腹手术复发率相对较低, 但创伤较大, 术后恢复周期较长。

■ 相关报道

经会阴手术复发率与手术方式有关, Michalopoulos等报道Delorme's手术的复发率为0%-20%, Cirocco等报道Altemeier's手术复发率为4%-38%。经腹手术组复发率与医师的手术经验有关, Shin及Ahmad等认为经腹手术的学习曲线与复发率相关。

魏巍, 李保琴, 李荣先, 彭昕. 回顾性分析经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂104例. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3643-3647 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3643.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i22.3643>

0 引言

直肠脱垂是一种功能性疾病, 以直肠脱出肛门外为主要特征, 完全性直肠脱垂表现为直肠全层脱出^[1]。该病多见于发育不良幼儿、年老衰弱者以及营养不良患者, 往往伴随长期便秘病

史, 并伴有不同程度的大便失禁^[2]。该病主要采用外科手术治疗, 目前有超过一百种不同的治疗完全性直肠脱垂的手术方法, 但就手术入路方式而言, 可分为经腹途径和经会阴途径^[3]。在本次回顾性研究中, 我们通过分析比较经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂患者的临床资料, 评价两种手术方式术后临床效果。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究通过了新乡市中心医院伦理委员会的伦理审批, 所有参加入组的患者均为自愿并签署知情同意书。选取1995-03/2014-05在新乡市中心医院肛肠科住院治疗的完全性直肠脱垂患者104例。患者被分为经腹手术组($n = 64$)和经会阴手术组($n = 40$)。经会阴手术组中患者年龄大于经腹手术组, 且女性患者占多数。而经腹手术组患者中年轻男性多于经会阴手术组。两组患者一般临床资料如表1。

1.2 方法

1.2.1 手术: 两组患者均进行必要的全身和专科检查。经腹手术包括开放和腹腔镜下直肠缝合固定术或不伴乙状结肠切除术。具体手术过程简要概括为: 游离并上提直肠, 将直肠后壁用不可吸收丝线缝合固定在骶骨岬^[4]。经会阴手术包括Delorme's手术和Altemeier's手术, 具体操作过程不再详述。所有手术由同一手术团队完成。

1.2.2 评价指标: 随访资料来自于患者医疗文书、门诊复查以及电话随访记录。观察指标包括: (1)功能性指标: 便秘、大便失禁及肛门直肠压力测定结果。便秘评价采用Agachan评分系统^[5], 大便失禁评价采用Wexner评分系统^[6]。术后便秘和大便失禁结果被分为: 无、改善、未改善和加重, 我们将未改善与加重两种情况定义为持续便秘或大便失禁状态。肛门直肠压力测定于术前和术后3-6 mo进行; (2)手术指标: 包括手术时间、住院时间、并发症及复发率。并发症根据出现的早晚及严重程度, 被分为: 早期严重或轻微并发症(术后2 mo之内), 后期严重或轻微并发症(术后2 mo或者更长时间)。严重并发症是指需要外科干预或者住院治疗的。复发是指在门诊复查或电话随访中直肠全层脱垂性复发或者脱垂症状的复发。

统计学处理 研究数据采用SPSS19.0统计

表 1 两组一般临床资料比较

临床资料	经腹手术组 (n = 64)	经会阴手术组 (n = 40)	P值
年龄(岁)	52 ± 17	67 ± 12	<0.001
性别(男/女)	36/28	13/27	<0.001
病程(年)	11 ± 12	16 ± 17	0.09
脱垂长度(cm)	6.25 ± 2.68	5.24 ± 2.83	0.07
脱垂可还纳(%)	61(95.3)	38(95.0)	0.94
手术主要原因(%)			0.29
便秘	17(26.6)	16(40.0)	
大便失禁	13(20.3)	12(27.5)	
脱垂	17(26.6)	3(7.5)	
其他 ¹	17(26.6)	10(25.0)	

¹包括: 肛门出血、直肠嵌顿、肛门疼痛以及脱垂复发。

学软件处理。统计学分析计量资料以mean ± SD表示, 两组间比较采用t检验。计数资料用率(%)表示, 率的比较采用 χ^2 检验。利用二元逻辑回归进行单变量分析用来评价后期严重并发症的风险。5年无复发间期(recurrence-free period, RFP)采用Kaplan-Meier法(生存曲线)计算, 比较采用时序检验。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者手术方式、手术时间及住院时间 在经腹手术组64例患者中, 48例接受单纯直肠缝合固定术, 另外16例同时接受乙状结肠切除术, 共有26例采用腹腔镜技术(20例单纯直肠缝合固定术, 另外6例同时接受乙状结肠切除术)。在经会阴手术组40例患者中, 36例采用Delorme's手术, 另外4例采用Altemeier's手术。两组均无术后死亡病例。手术时间经腹手术组与经会阴手术组相比为: 165 min ± 67 min vs 70 min ± 38 min, $P < 0.001$ 。住院时间经腹手术组与经会阴手术组相比为: 10 d ± 4 d vs 7 d ± 2 d, $P < 0.001$ 。

2.2 并发症 两组中均没有出现心脏、呼吸及肾脏等系统并发症。两组轻微并发症及严重并发症发生率相似(轻微: 10% vs 7%, $P = 0.78$; 严重: 2% vs 4%, $P = 0.59$)。单变量分析显示手术入路方式与四种并发症发生率之间没有相关性(表2)。然而在经腹手术组中, 直肠缝合固定伴乙状结肠切除术后严重并发症发生率高于单纯直肠缝合固定术(35.3% vs 8.5%, $P =$

0.009)。

2.3 复发率 经腹手术组中位随访时间为26 mo (7-87 mo), 经会阴手术组中位随访时间为22 mo (8-65 mo)。两组复发的特点不同, 在经腹手术组, 复发取决于手术医师的经验。1995-1997年4例接受开放式直肠缝合固定术患者中有1例复发(25%), 当时正是我们刚开展此类手术的时期, 之后没有复发的病例再出现。另外在2008-2010年5例接受腹腔镜下直肠缝合固定术的患者中有1例复发(20%), 当时我们刚开展腹腔镜结直肠手术。我们2011-2014年腹腔镜手术治疗直肠脱垂的总复发率为6.7%(1/15), 这个数字与腹腔镜手术开展之前我们开放式手术的复发率一致。在经会阴手术组, 复发率取决于手术方式。4例接受Altemeier's手术的患者中有1例复发(25.0%), 而36例接受Delorme's手术的患者中只有5例复发(13.9%)。总复发率经腹手术组与经会阴手术组相比为: 6.3% vs 15.0% ($P < 0.030$), 而5年RFP经腹手术组与经会阴手术组相比为: 89.3% ± 5.5% vs 79.4% ± 8.0% ($P < 0.020$)。

2.4 便秘及大便失禁情况 经腹手术组和经会阴手术组各有21例和17例患者术后出现持续便秘或大便失禁状态。经腹手术组与经会阴手术组相比, 术后持续便秘例数(13例 vs 6例, $P = 0.490$)和术后持续大便失禁例数(8例 vs 11例, $P = 0.054$)均有显著性差异。

2.5 肛门直肠压力测定情况 两组术后最大静息压(maximal resting pressure, MRP)平均值均高于术前(术后 vs 术前, 经腹组: 30.6 mmHg vs

■ 创新亮点

本文通过比较分析经腹与经会阴手术治疗完全性直肠脱垂的临床疗效, 发现经会阴手术对于年老体弱、一般情况较差的患者来说是一种不错的选择。而腹腔镜直肠悬吊固定术因其微创、并发症小、复发率低的特点逐渐成为经腹手术的主流术式。

■ 应用要点

本研究通过长期随访观察发现经会阴手术复发率与手术方式的选择有关。而经腹手术复发率与医师的手术经验有关, 并且患者的年龄和直肠脱垂的长度是选择手术方式的重要考虑因素。这为直肠脱垂手术的整体评估提供了新的思路, 具有一定的临床指导意义。

■名词解释

滑动病学说：因腹腔内压力增高及盆底组织松弛，直肠膀胱陷凹或直肠子宫陷凹处直肠前腹膜反折部被推向下移位，将直肠前壁压入直肠壶腹，最后脱出肛门外。
肠套叠学说：套叠始于直肠乙状结肠交界处，在腹压增加，盆底松弛等因素影响下，套叠部分不断下移，最终使直肠由肛门外脱出。

表 2 两组患者术后并发症比较 *n*(%)

种类	经腹手术组 <i>n</i> = 64)	经会阴手术组 <i>n</i> = 40)	<i>P</i> 值
早期轻微并发症(例)	12(18.8)	5(12.5)	0.40
伤口感染	4	2	
尿潴留	4	1	
排便疼痛	3	1	
便血	1	1	
早期严重并发症(例)	4(5.8)	1(2.5)	0.38
肠梗阻	3		
吻合口瘘	1		
肛门狭窄		1	
后期轻微并发症(例)	6(9.4)	2(5.0)	0.42
尿潴留	2		
性功能障碍	4	2	
后期严重并发症(例)	9(14.1)	3(7.5)	0.30
肠梗阻	2		
吻合口狭窄	3	2	
切口疝	3		
直肠阴道瘘	1		
直肠穿孔		1	

24.6 mmHg, *P*<0.05; 经会阴组: 24.4 mmHg vs 16.7 mmHg, *P*<0.05), 但术后MRP平均值仍旧低于正常MRP值范围(40-70 mmHg). 两组肛管最大收缩压、直肠最小感觉容积、直肠最大耐受容积、初始排便容积、肛门高压带长度以及括约肌长度等其他肛门直肠压力测定指标手术前后保持不变.

3 讨论

目前直肠脱垂确切的发病机制还不清楚, 但有两个学说比较流行, 即滑动病学说和肠套叠学说^[7]. 西方的研究数据显示^[8,9], 直肠脱垂在女性中更普遍, 超过80%的患者为女性. 在本研究中, 男女患者比例相近(男/女: 47.1%/52.9%), 但在70岁以上患者中, 女性所占比例达到80%(女/男: 80.6%/19.4%). 我们和西方在性别发生率方面的差异由什么导致, 目前还不清楚, 生活方式不同可能是原因之一. 不过, 我们不是基于人口调查的研究, 还需要更大范围的流行病学调查来支持这一结论.

在本研究中, 经腹手术组患者年龄小于经会阴手术组, 而直肠脱垂长度大于经会阴手术组. 患者的年龄和直肠脱垂的长度是我们选择手术方式较重要的考虑因素, 其他一些研究也支持了这一观点^[10-12]. 在术后并发症方面, 其

与患者因素(年龄、性别等)之间没有显著相关性. 但7例接受直肠缝合固定伴乙状结肠切除术的患者有6例(85.7%)出现后期严重并发症, 我们认为直肠缝合固定伴乙状结肠切除术是发生后期严重并发症的危险因素之一. 虽然有报道显示^[13,14]该术式能够显著改善患者术前便秘症状, 但外科医师应该清楚其出现后期严重并发症的风险. 在复发率方面, 经会阴手术组随访时间较短(比经腹手术组平均少4 mo), 如果与经腹手术组随访时间相同的话, 经会阴手术组的复发率可能会更高. 我们发现在经会阴手术组患者中, 复发率与手术方式有关. 先前的报道也支持了这一观点, 例如: Delorme's手术的复发率为0%-20%^[15], 而Altemeier's手术复发率为4%-38%^[16]. 在经腹手术组患者中, 复发率与医师的手术经验有关, 一些研究^[17,18]也认为经腹手术的学习曲线与复发率相关. 因此我们建议外科医师应加强经腹手术(无论开放手术还是腹腔镜手术)的熟练程度, 以降低复发率. 在经腹手术组中, 持续便秘者比持续大便失禁者更普遍. 而在经会阴手术组中, 持续大便失禁者比持续便秘者更常见. 这表明患者术前便秘或者大便失禁症状直接影响手术入路的选择. 本研究中肛门直肠压力测定结果显示两组除MRP值外, 其他功能性测定指标手术前

后保持不变。而MRP值术后虽然升高, 但是仍旧低于正常值范围。因此, 我们认为利用肛门直肠压力测定检查预测完全性直肠脱垂患者术后肛门直肠功能的意义不大。

总之, 经会阴手术治疗完全性直肠脱垂复发率相对较高, 但手术时间及住院时间短, 创伤相对较小, 对于年老体弱、一般情况较差的患者来说是一种不错的选择。而经腹手术治疗完全性直肠脱垂复发率相对较低, 但创伤较大, 术后恢复周期较长。但随着腹腔镜技术的日臻成熟, 腹腔镜直肠悬吊固定术因其微创、并发症小、复发率低的特点获得广泛接受^[19,20]。外科医师应根据患者的年龄、伴随疾病、直肠脱垂情况以及自身对术式的熟练程度选择合适的手术方法治疗完全性直肠脱垂。

4 参考文献

- 1 高春芳. 现代结直肠手术学. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 460
- 2 Riansuwan W, Hull TL, Bast J, Hammel JP, Church JM. Comparison of perineal operations with abdominal operations for full-thickness rectal prolapse. *World J Surg* 2010; 34: 1116-1122 [PMID: 20127331 DOI: 10.1007/s00268-010-0429-0]
- 3 Qaradaghy SH, Hawramy TA, Nore BF, Abdullah KH, Muhammad RA, Zangana MO, Saleh JM, Ismael DN. Longitudinal plication--a surgical strategy for complete rectal prolapse management. *BMC Surg* 2014; 14: 17 [PMID: 24655367 DOI: 10.1186/1471-2482-14-17]
- 4 魏东. 腹腔镜结直肠手术学. 北京: 人民军医出版社, 2012: 147-150
- 5 Agachan F, Chen T, Pfeifer J, Reissman P, Wexner SD. A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 681-685 [PMID: 8646957]
- 6 Jorge JM, Wexner SD. Etiology and management of fecal incontinence. *Dis Colon Rectum* 1993; 36: 77-97 [PMID: 8416784]
- 7 Gourgiotis S, Baratsis S. Rectal prolapse. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 231-243 [PMID: 17021747]
- 8 Fleming FJ, Kim MJ, Gunzler D, Messing S, Monson JR, Speranza JR. It's the procedure not the patient: the operative approach is independently associated with an increased risk of complications after rectal prolapse repair. *Colorectal Dis* 2012; 14: 362-368 [PMID: 21692964 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02616.x]

- 9 Bordeianou L, Hicks CW, Kaiser AM, Alavi K, Sudan R, Wise PE. Rectal prolapse: an overview of clinical features, diagnosis, and patient-specific management strategies. *J Gastrointest Surg* 2014; 18: 1059-1069 [PMID: 24352613 DOI: 10.1007/s11605-013-2427-7]
- 10 Madiba TE, Baig MK, Wexner SD. Surgical management of rectal prolapse. *Arch Surg* 2005; 140: 63-73 [PMID: 15655208]
- 11 Hatch Q, Steele SR. Rectal prolapse and intussusception. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42: 837-861 [PMID: 24280403 DOI: 10.1016/j.gtc.2013.08.002]
- 12 Jones OM, Cunningham C, Lindsey I. The assessment and management of rectal prolapse, rectal intussusception, rectocele, and enterocoele in adults. *BMJ* 2011; 342: c7099 [PMID: 21285185 DOI: 10.1136/bmj.c7099]
- 13 Melton GB, Kwaan MR. Rectal prolapse. *Surg Clin North Am* 2013; 93: 187-198 [PMID: 23177071 DOI: 10.1016/j.suc.2012.09.010]
- 14 Varma M, Rafferty J, Buie WD. Practice parameters for the management of rectal prolapse. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 1339-1346 [PMID: 21979176 DOI: 10.1097/DCR.0b013e3182310f75]
- 15 Michalopoulos A, Papadopoulos VN, Panidis S, Apostolidis S, Mekras A, Duros V, Ioannidis A, Stavrou G, Basdanis G. Surgical management of rectal prolapse. *Tech Coloproctol* 2011; 15 Suppl 1: S25-S28 [PMID: 21887563 DOI: 10.1007/s10151-011-0747-8]
- 16 Cirocco WC. The Altemeier procedure for rectal prolapse: an operation for all ages. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1618-1623 [PMID: 21178855 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f22cef]
- 17 Shin T, Rafferty JF. Laparoscopy for benign colorectal diseases. *Clin Colon Rectal Surg* 2010; 23: 42-50 [PMID: 21286290 DOI: 10.1055/s-0030-1247857]
- 18 Ahmad M, Sileri P, Franceschilli L, Mercer-Jones M. The role of biologics in pelvic floor surgery. *Colorectal Dis* 2012; 14 Suppl 3: 19-23 [PMID: 23136820 DOI: 10.1111/codi.12045]
- 19 Formijne Jonkers HA, Draaisma WA, Wexner SD, Broeders IA, Bemelman WA, Lindsey I, Consten EC. Evaluation and surgical treatment of rectal prolapse: an international survey. *Colorectal Dis* 2013; 15: 115-119 [PMID: 22726304 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03135.x]
- 20 Wijffels N, Cunningham C, Dixon A, Greenslade G, Lindsey I. Laparoscopic ventral rectopexy for external rectal prolapse is safe and effective in the elderly. Does this make perineal procedures obsolete? *Colorectal Dis* 2011; 13: 561-566 [PMID: 20184638 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2010.02242.x]

同行评价

本文结合临床, 分析合理, 具有一定的临床指导意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



中老年消化系肿瘤患者血清C反应蛋白与各肿瘤标志物联合检测的临床意义

邱杰, 唐合兰, 李静, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏

■背景资料

C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一项极为敏感的指标, 在多种恶性肿瘤中表达都升高, 且与肿瘤的进展及复发明显相关, 尤其是对于恶性肿瘤的早期发现有一定临床意义。炎症与感染是诱发肿瘤的重要因素, 机体受到感染后即可在血清中检测到CRP, 故CRP具有极高的敏感性, 但CRP的特异性不够高, 不能单独作为中老年消化系肿瘤的诊断指标, 需要与其他肿瘤标志物(tumor marker, TM)联合检测才可以。

邱杰, 河北北方学院 河北省张家口市 075000

唐合兰, 李静, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏, 中国人民解放军空军总医院东楼消化科 北京市 100142

邱杰, 在读硕士, 主要从事胃肠动力学的研究。

作者贡献分布: 此课题由杨春敏与邱杰提出和设计; 研究过程由邱杰、唐合兰、颜伟及杨春敏操作完成; 研究所用试剂及工具由唐合兰、李静、颜伟及葛淑静提供; 数据分析由邱杰、杨春敏及唐合兰完成; 本论文写作由邱杰与唐合兰完成。

通讯作者: 杨春敏, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院东楼消化科。chunmyang@sina.com

电话: 010-66928118

收稿日期: 2015-05-14 修回日期: 2015-06-26

接受日期: 2015-06-28 在线出版日期: 2015-08-08

Diagnostic value of combined detection of serum C-reactive protein and tumor markers in elderly patients with gastrointestinal tumors

Jie Qiu, He-Lan Tang, Jing Li, Wei Yan, Shu-Jing Ge, Chun-Min Yang

Jie Qiu, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

He-Lan Tang, Jing Li, Wei Yan, Shu-Jing Ge, Chun-Min Yang, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force, PLA, Beijing 100142, China

Correspondence to: Chun-Min Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force, PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. chunmyang@sina.com

Received: 2015-05-14 Revised: 2015-06-26

Accepted: 2015-06-28 Published online: 2015-08-08

■同行评议者

陆斌, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of C-reactive protein (CRP) and tumor markers in

elderly patients with gastrointestinal tumors.

METHODS: CRP, carcino-embryonic antigen (CEA), antigen 125 (CA 125), antigen 19-9 (CA19-9), and alpha-fetoprotein (AFP) were detected in 79 elderly gastrointestinal tumor patients and 30 healthy controls. The diagnostic sensitivity and specificity of these indexes, alone or combination of any two, were calculated.

RESULTS: Serum levels of CRP, CEA, CA19-9, CA125, and AFP in gastrointestinal tumor patients were significantly higher than those in the normal control group. The sensitivities of CRP, CEA, CA19-9, CA125, and AFP were 64.56%, 26.58%, 49.37%, 37.97%, and 12.70%, respectively. The sensitivities of combined assay of CRP and CEA, CRP and CA125, and CRP and AFP were 73.98%, 78.00% and 67.3%, respectively, which were higher than those of any single tumor markers.

CONCLUSION: The detection of CRP, combined with other tumor markers, plays an important role in the early diagnosis of gastrointestinal tumors in elderly patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: C-reactive protein; Tumor Marker; Gastrointestinal tumor; Elderly

Qiu J, Tang HL, Li J, Yan W, Ge SJ, Yang CM. Diagnostic value of combined detections of serum C-reactive protein and tumor markers in elderly patients with gastrointestinal tumors. *Shijie Huaren*

Xiaohua Zazhi 2015; 23(22): 3648-3652 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3648.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3648>

摘要

目的: 探讨C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及各种肿瘤标志物(tumor marker, TM)单项或两两联合检测在中老年消化系肿瘤患者中的诊断价值及其临床意义。

方法: 检测79例中老年消化系肿瘤患者血清CRP及癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、糖类抗原125(serum antigen 125, CA125)、糖类抗原19-9(serum antigen 19-9, CA19-9)、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP), 计算各单项指标及两两联合后的灵敏度、特异度或符合率, 用SPSS19.0进行统计分析, 结合临床得出结论。

结果: 中老年消化系肿瘤患者CRP、CEA、CA19-9、CA125、AFP测定值均高于正常对照组($P < 0.05$); CRP、CEA、CA19-9、CA125、AFP对中老年消化系肿瘤的灵敏度分别为: 64.56%、26.58%、49.37%、37.97%、12.70%; 各指标之间两两联合检测, CRP与CA19-9灵敏性最高, 为82.10%, CRP与CEA、CA125、AFP联合检测的敏感性分别为73.98%、78.00%、67.30%。

结论: CRP对于消化系肿瘤的早期发现有一定临床意义, CRP与TM联合检测, 对中老年消化系肿瘤的检测有很好的互补性。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: C反应蛋白; 肿瘤标志物; 消化系肿瘤; 中老年

核心提示: 本文主要通过整体分析中老年消化系肿瘤患者血清C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及各项肿瘤标志物(tumor marker, TM)水平发现, 血清CRP对于中老年肿瘤患者具有极高的敏感性, 与特异性较高的TM联合检测, 可提高肿瘤检出率。

邱杰, 唐合兰, 李静, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏. 中老年消化系肿瘤患者血清C反应蛋白与各种肿瘤标志物联合检测的临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(22): 3648-3652 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3648.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3648>

0 引言

根据国际癌症研究所(International Agency for Research on Cancer, IARC)报告, 全世界每年死于恶性肿瘤的患者中, 消化系肿瘤占35%^[1]. 在中国, 城市居民恶性肿瘤列居全死因第1位, 农村则列居第2位^[2], 胃癌居于农村地区男、女性发病谱的首位. 由此可见, 消化系肿瘤发病率位居恶性肿瘤前列, 严重威胁我国人民的身体健康^[3-6]. 恶性肿瘤的发病率50岁开始上升, 65岁后上升趋势明显加快, 80岁达高峰后有所下降, 其中消化系肿瘤发病年龄45岁以上居多^[7,8]. 随着世界人口老龄化的加重, 癌症的发病率和死亡率也随之显著上升. 根据全国各地肿瘤流行病学显示, 中老年恶性肿瘤患病率如下: 胃癌25.35%、肝癌10.60%、大肠癌6.91%, 中老年消化系恶性肿瘤患病率仅次于肺癌, 严重威胁着中老年人群的生活质量^[9]. 恶性肿瘤的早期发现、早诊断、早治疗对改善中老年癌症患者的预后极为重要的意义。

C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一种典型的急性时相蛋白, 当机体受到感染、创伤、炎症、组织损伤或微生物入侵时, 血浆中的CRP的表达急剧上升. 临床中老年消化系肿瘤患者血清CRP常有非炎性升高^[10], 本文主要通过整体分析中老年消化系肿瘤患者血清CRP及各项肿瘤标志物(tumor marker, TM)水平来探讨CRP对于中老年消化系肿瘤患者的临床意义及CRP与各TM联合检测的临床价值, 以探索一种更为敏感的肿瘤指标, 提高中老年癌症患者检出率。

1 材料和方法

1.1 材料 搜集2012-04/2015-04北京市空军总医院50岁以上中老年消化系肿瘤患者共79例, 男45例, 平均年龄62.12岁, 女34例, 平均年龄60.75岁, 其中, 胰腺癌33例, 结直肠癌22例, 胃癌24例, 恶性肿瘤的诊断标准参照《中国常见恶性肿瘤诊治规范》^[11], 并经影像学、胃镜、病理等检查确诊, 患者知情同意, 并经医院伦理委员会批准. CRP检测采用免疫透射比浊法测定, 仪器为美国Beckman公司提供的Unicel DXC-800生化分析仪, 试剂及质控物由北京尚柏生物公司提供. TM采用瑞士罗氏公司电化学发光免疫分析仪检测, 试剂为该公司配套试

■ 研究前沿

老年胃肠道肿瘤是近年研究热点, 随着年龄的增加, 发病率也呈现上升趋势, 而目前尚没有对于胃癌和结肠癌的TM金标准. 近年来各学者将各TM联合检测以提高肿瘤检出率, 但因为选取的研究方法、样本选择、数据处理方法等的差异, 研究结果差异也较大, 如何选取一种高敏感性又特异性的肿瘤检测指标, 以提高肿瘤检出率成为亟待解决的问题。

■ 相关报道

胡晓爱、姚娇等通过将TM联合检测以提高肿瘤检出率, 具有较高的临床价值, 因TM对于胃癌、结直肠癌单项指标检测并没有金标准, 可以考虑通过联合各TM来提高敏感性。

■创新亮点

本文通过联合检测, 将具有更高敏感性的血清CRP含量与特异性较高的TM两两联合检测, 以期寻找一种特异性、敏感性更高的检测方法, 从而提高肿瘤检出率。

■应用要点

该文主要通过检测中老年消化系肿瘤患者血清CRP和相关TM的表达水平, 探讨CRP与各TM联合检测在中老年消化系肿瘤诊断中的临床价值, 以提高中老年癌症患者检出率。

表 1 CRP、CEA、CA19-9、CA125、AFP在中老年消化系肿瘤患者中的表达 (mean ± SD)

分组	n	CRP(mg/L)	CEA(μ/mL)	CA125(μ/mL)	AFP(μ/mL)	CA19-9(μ/mL)
对照组	30	4.36 ± 4.10	1.98 ± 1.90	13.33 ± 9.62	3.76 ± 2.54	10.91 ± 7.50
胃癌	24	27.77 ± 39.30 ^a	62.56 ± 1.98 ^a	23.88 ± 25.74 ^a	31.82 ± 106.50 ^a	95.15 ± 316.85 ^a
结直肠癌	22	35.81 ± 42.86 ^a	20.90 ± 24.22 ^a	128.12 ± 387.01 ^a	2.27 ± 0.91 ^a	88.30 ± 131.60 ^a
胰腺癌	33	44.20 ± 56.23 ^a	7.72 ± 7.20 ^a	87.54 ± 97.72 ^a	6.04 ± 6.30 ^a	312.36 ± 309.87 ^a

^aP<0.05 vs 对照组. CRP: C反应蛋白; CEA: 癌胚抗原; CA125: 糖类抗原125; AFP: 甲胎蛋白。

剂. 各试剂均在有效期内使用, 操作方法严格按照说明书进行。

1.2 方法

1.2.1 取材: 患者入院后, 空腹12 h, 抽取空腹外周静脉血4 mL, 静置45 min后离心, 提取上层清液, 置于Eppendorf管内于-80 ℃冻存, 待检。同时静脉血送临床血液室行血常规检查, 排除感染可能性。

1.2.2 参考值: 指标正常参考范围CRP 0-10 mg/L, 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP) 0-10 U/mL, 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA) 0-10 U/mL, 糖类抗原19-9(serum antigen 19-9, CA19-9) 0-31 U/mL, 糖类抗原125(serum antigen 125, CA125) 0-35 U/mL。

1.2.3 评价: 对于诊断和筛选试验的评价, 主要从试验的真实性及可靠性进行评价, 灵敏度、特异度是反映试验真实性的重要指标, 符合率主要反映试验的可靠性。灵敏度(sensitivity, SE): 又称“真阳性率”, 指将实际有病的人正确地判断为患者的能力, 理想实验应为100%; 灵敏度(%) = 真阳性例数/(真阳性例数+真阴性例数)×100%。特异度(specificity, SP): 又称“真阴性率”, 指将实际未患某病的人正确地判断为非患者的能力, 理想实验应为100%; 特异度(%) = 假阴性例数/(假阳性例数+假阴性例数)×100%。符合率: 如果试验测量的是诸如阳性和阴性、正常和异常这样的定性指标时, 则可用符合率来表示可靠性, 符合率越高, 可靠性越好; 符合率 = (真阳性例数+假阴性例数)/(真阳性例数+假阳性例数+真阴性例数+假阴性例数)×100%。并联试验(parallel test): 并联试验指同时做几个试验时, 只要其中一个阳性, 即判为阳性的试验方法, 并联可提高试验的灵敏度, 减少漏诊率, 阴性预测值升高, 但同时特异性下降^[12]。

统计学处理 数据处理均在SPSS19.0中进

表 2 各指标灵敏度、特异度、符合率分析(n1/n)

指标	灵敏度	特异度	符合率
CRP	64.56(51/79)	90.00(27/30)	71.56(78/109)
CEA	26.58(21/79)	93.33(28/30)	44.95(49/109)
CA19-9	49.37(39/79)	96.66(29/30)	62.38(68/109)
CA125	37.97(30/79)	96.66(29/30)	54.13(59/109)
AFP	12.70(10/79)	96.66(29/30)	33.03(36/109)

CRP: C反应蛋白; CEA: 癌胚抗原; CA125: 糖类抗原125; AFP: 甲胎蛋白。

行, 数据首先采用Kolmogorov-Smirnov进行正态性检验及方差齐性分析, 计量资料均符合正态分布, 以mean±SD表示, 组间比较采用t检验, 敏感性、特异性、有效诊断率用χ²检验, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 中老年消化系肿瘤患者与正常对照组比较 中老年消化系肿瘤(胃癌、结直肠癌、胰腺癌)患者各指标(CRP、CEA、CA125、AFP、CA19-9)测定值均高于正常对照组(P<0.05)(表1)。

2.2 CRP与各TM灵敏度、特异度、符合率分析 中老年消化系肿瘤患者CRP阳性率较高, 相对于TM来讲灵敏度、符合率较高。但CRP特异性低于TM。CA19-9阳性率相对于其他TM阳性率、灵敏性均较高(表2)。

2.3 各指标两两联合检测的灵敏度及特异度 各指标两两联合检测, 与单项灵敏度水平较高者比较, 联合检测的灵敏度都有所提高, 尤其是CRP联合CA19-9(82.10%)、CRP联合CA125(78.00%)、CA19-9联合CEA(62.83%)、CA19-9联合CA125(68.60%)、CEA联合CA125(54.46%) 灵敏度升高更明显(表3)。

3 讨论

CRP是由肝脏合成的一种急性时相蛋白, 是非

表 3 各指标两两联合检测灵敏度、特异度分析 (%)

指标	联合灵敏度	联合特异度
CRP+CEA	73.98	84.00
CRP+CA19-9	82.10	87.00
CRP+CA125	78.00	87.00
CRP+AFP	67.30	87.00
CEA+CA19-9	62.83	90.21
CEA+CA125	54.46	90.21
CEA+AFP	32.16	90.21
CA19-9+CA125	68.60	93.43
CA19-9+AFP	53.22	93.43
CA125+AFP	42.68	93.43

CRP: C反应蛋白; CEA: 癌胚抗原; CA125: 糖类抗原125; AFP: 甲胎蛋白.

特异性免疫机制的一部分, 正常情况下含量极低, 其表达水平与炎症的出现及进展密切相关. CRP的临床应用相当广泛, 可用于感染性疾病的诊断与鉴别、抗生素的疗效的评价等. 近年来, 国内外许多文献报道了CRP在多种疾病诊断及治疗中的临床价值. 如王巍等^[13]证实CRP与2型糖尿病及糖尿病肾病的发生明显相关, McSorley等^[14]的研究证实卵巢癌患者血清中存在高浓度的CRP, 支持了慢性炎症导致卵巢癌变的假说, Wieland等^[15]研究证实在恶性肿瘤中定量CRP相较于良性肿瘤反应更为敏感, 治疗后良性肿瘤血清CRP下降幅度明显大于恶性肿瘤. 研究^[16,17]表明, CRP是一项极为敏感的指标, 在多种恶性肿瘤中的表达升高, 且与肿瘤的进展及复发明显相关, 尤其是对于恶性肿瘤的早期发现有一定临床意义.

对于肿瘤与CRP联系的机制, 有研究^[18]认为CRP可促进肿瘤细胞增殖, 抑制肿瘤细胞凋亡. 当机体受到病原体侵入时, 形成急性炎症, 如果不能及时诊治, 则渐发展为慢性炎症, 持续性炎症反应可通过DNA损伤或促炎症因子引起细胞转化, 从而导致慢性炎症及肿瘤的生成^[19], 在这个过程中, CRP可识别并结合由受损组织释放的毒性分子, 并受炎性因子、肿瘤坏死因子及白介素-6的调节, 在急性炎症期迅速释放入血, 进入血液循环, CRP可以结合多种微生物, 激活补体经典途径, 使C3b沉积在微生物表面^[20], 因此, CRP在吞噬有毒物质和介导细胞毒性方面有着重要作用^[21], 可见CRP的检测在肿瘤炎症早期有极为重要的临床价值.

炎症与感染是诱发肿瘤的重要因素, 机体受到感染后6-12 h即可在血清中检测到CRP, 48 h后达到峰值^[22], 故CRP具有极高的敏感性, 但由表1可以看出, CRP的特异性不够高, 不能单独作为中老年消化系肿瘤的诊断指标.

TM是指在肿瘤发生和增殖过程中, 由肿瘤细胞生物合成、释放或者是宿主对癌类反应性的一类物质. TM可用于肿瘤的筛查、诊断、分期及治疗疗效的监测等^[23]. 老年胃肠道肿瘤是近年研究热点, 随着年龄的增加, 发病率也呈现上升趋势^[24], 而目前尚没有对于胃癌和结肠癌的TM金标准, 本研究中老年消化系肿瘤患者血清CA19-9相对于AFP、CEA和CA125灵敏性及特异性均较高, 与国内文献报道一致^[25], 为一项重要的消化系TM. 由表1看出, TM对于肿瘤的特异性高, 但是单个TM敏感性不高, 不能满足临床要求, 往往需要结合其他标志物或者影像学、临床症状等其他手段综合考虑.

近年将各TM联合检测以提高肿瘤检出率已成为研究热点, 但因为选取的研究方法、样本选择、数据处理方法等的差异, 研究结果差异也较大^[26-31], 本研究针对于中老年患者, 将各指标两两联合检测, 由表2可以看出, 联合检测后的灵敏性明显提高, 其中CRP与CA19-9联合检测灵敏性最高, 侧面反映出中老年患者感染因素是癌性病变产生的重要方面, 其具体机制尚待研究. 将敏感性高的CRP与特异性高的TM联合检测, 对于中老年消化系肿瘤有一定临床意义, 如果中老年患者出现无明显感染性因素而CRP显著升高, 其他TM无异常时, 应进一步行影像学检查排除癌性病变; 如果患者已确诊为消化道癌症, 可通过结合CRP水平及各TM进一步判断病情发展. CRP与TM联合检测, 大大提高了消化系癌症的检出率. 对于中老年消化系肿瘤的早发现、早诊断、早治疗有一定临床意义. 另外, 中老年人体质虚弱, 尤其是肿瘤患者, 易发生炎症反应, 而中老年人敏感性差, 发生炎症反应时往往白细胞并不高, CRP则具有更高的敏感性, 对于肿瘤患者感染情况有很好的应用价值^[32], 可协助临床诊治, 避免延误病情.

本研究的临床意义在于: (1)中老年消化系肿瘤患者往往伴随有血清CRP的升高; (2)中老年患者若出现除外明显感染因素的血清CRP升高时, 应考虑到肿瘤性因素, 可继续完善检查, 明确诊断; (3)可将CRP与各TM联合检测以

名词解释

并联试验(parallel test): 并联试验指同时做几个试验时, 只要其中一个阳性, 即判为阳性的试验方法, 并联可提高试验的灵敏度, 减少漏诊率, 阴性预测值升高.

■ 同行评价

本文主要通过检测中老年消化系肿瘤患者血清CRP和相关TM的表达水平,探讨CRP与各TM联合检测在中老年消化系肿瘤诊断中的临床价值,以提高中老年癌症患者检出率。研究内容具有较好的临床应用价值,有望提高中老年患者消化系统肿瘤的检出率,但临床应用有待扩大病例数检测后得以证实。

指导临床,用于肿瘤高危人群的筛查。另外,国内外已有研究^[33-34]证实,CRP与肿瘤的发生、发展及预后相关,但是否在中老年患者此特征会表现得更为明显,或在中老年患者中此特征会有何变化尚需进一步探讨。

4 参考文献

- Parkin DM, Läärä E, Muir CS. Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int J Cancer* 1988; 41: 184-197 [PMID: 3338870 DOI: 10.1002/ijc.2910410205]
- 王鹤, 乔友林. 老年恶性肿瘤流行病学病因及预防. *中华老年多器官疾病杂志* 2005; 9: 170-171
- Chen WQ, Zheng RS, Zhang SW, Li N, Zhao P, Li GL, Wu LY, He J. Report of incidence and mortality in china cancer registries, 2008. *Chin J Cancer Res* 2012; 24: 171-180 [PMID: 23359321 DOI: 10.1007/s11670-012-0171-2]
- Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Zeng H, Zou X. Report of cancer incidence and mortality in China, 2010. *Ann Transl Med* 2014; 2: 61 [PMID: 25333036 DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.04.05]
- 于皆平, 沈志祥, 罗和生. 实用消化病学. 北京: 科学出版社, 1999: 70-100, 429-503, 590-607, 651-719
- 曾红梅, 陈万青. 中国癌症流行病学与防治研究现状. *化学进展* 2013; 25: 1415-1420
- 邓美玲, 迟炳周. 上消化道恶性肿瘤784例内镜及临床分析. *中国现代医生* 2008; 46: 136-137
- 于素香, 李艳涛, 杨亮, 全玲, 侯冰洁, 马孝民, 敦华, 邸玉然, 王斌. 上消化道癌内镜筛查220例恶性肿瘤临床病理分析. *医学美学美容(中旬刊)* 2014; (6): 528-529
- 施培培, 常桂娟, 杨红妮. 中老年恶性肿瘤217例临床分析. *实用医技杂志* 1997; 4: 884-885
- 乔庆红, 傅颖, 郭春林, 张柱. 血沉、C反应蛋白、CEA检测在消化道恶性肿瘤中的意义. *中国实用医药* 2015; 10: 47-48
- 中华人民共和国卫生部. 中国常见恶性肿瘤诊治规范. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1990
- 叶冬青. 医学科研方法与临床流行病学. 合肥: 安徽大学出版社, 2003: 279-288
- 王巍, 曹久妹, 沈琳辉, 赵咏桔. 老年2型糖尿病患者尿白蛋白排泄率与高敏C反应蛋白的相关性研究. *上海医学* 2007; 30: 834-836
- McSorley MA, Alberg AJ, Allen DS, Allen NE, Brinton LA, Dorgan JF, Pollak M, Tao Y, Helzlsouer KJ. C-reactive protein concentrations and subsequent ovarian cancer risk. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 933-941 [PMID: 17400857 DOI: 10.1097/01.AOG.0000257126.68803.03]
- Wieland A, Kerbl R, Berghold A, Schwinger W, Mann G, Urban C. C-reactive protein (CRP) as tumor marker in pediatric and adolescent patients with Hodgkin disease. *Med Pediatr Oncol* 2003; 41: 21-25 [PMID: 12764738 DOI: 10.1002/mpo.10286]
- Zahlten-Hinguranage A, Goldschmidt H, Cremer FW, Egerer G, Moehler T, Witte D, Bernd L, Sabo D, Zeifang F. Preoperative elevation of serum C-reactive protein is predictive for prognosis in

- myeloma bone disease after surgery. *Br J Cancer* 2006; 95: 782-787 [PMID: 16969356]
- Chiu HM, Lin JT, Chen TH, Lee YC, Chiu YH, Liang JT, Shun CT, Wu MS. Elevation of C-reactive protein level is associated with synchronous and advanced colorectal neoplasm in men. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2317-2325 [PMID: 18844617 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01952.x]
- 刘霄, 唐菁, 李笃军. C-反应蛋白在肿瘤发生发展中的作用. *生命的化学* 2011; 31: 868-870
- 李菁, 朱元明, 刘玉兰. 炎症与肿瘤关系研究进展. *中国医药导刊* 2007; 9: 217-219
- Wolbink GJ, Bossink AW, Groeneveld AB, de Groot MC, Thijs LG, Hack CE. Complement activation in patients with sepsis is in part mediated by C-reactive protein. *J Infect Dis* 1998; 177: 81-87 [PMID: 9419173 DOI: 10.1086/513803]
- Aziz N, Fahey JL, Detels R, Butch AW. Analytical performance of a highly sensitive C-reactive protein-based immunoassay and the effects of laboratory variables on levels of protein in blood. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 652-657 [PMID: 12853400 DOI: 10.1128/cdli.10.4.652-657.2003]
- 茹文渊. 血清CRP与肿瘤标志物联合检测在消化系统肿瘤疾病诊断中的意义. *现代诊断与治疗* 2014; 25: 2084-2085
- 赵文华. 肿瘤标志物. *中国肿瘤* 1996; 5: 26-27
- 魏武杰, 洪娅丽, 陈松, 谭兴平. 结直肠癌患者化疗前后肿瘤标志物及血脂和CRP的变化及意义. *中国实验诊断学* 2014; 18: 1157-1159
- 高建军. 消化道疾病血清CRP与肿瘤标志物的联合检测意义及其ROC曲线评估. 大连: 大连医科大学, 2007
- 龙驰, 胡义德, 曹正怀. 血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测结果在结直肠癌诊断中的价值. *第三军医大学学报* 2012; 34: 13-15
- 胡晓爱, 曹广斌, 王卫. 血清肿瘤标志CEA和CA724联合检测在结直肠癌诊断中的应用. *中国实用医药* 2011; 6: 54-55
- 姚娇, 郑智明, 林素香, 徐宁, 黄宪章, 庄俊华. CEA和CA724联合检测在结直肠癌诊断中的应用. *实用医学杂志* 2011; 27: 2252-2254
- 王莉, 贾志凌, 柴丽娜, 李红英, 于忠和. 血清肿瘤标志物检测在胃癌术后监测中的意义. *第三届中国肿瘤内科大会教育集暨论文集*, 2009: 1
- 郭勤华, 敖海燕, 蔡清华, 赵婉婷, 黄芳, 徐淑端. CEA、CA199和CA72-4联合检查在结直肠癌诊断中的价值. *国际检验医学杂志* 2013; 34: 896-897
- 陈志红. CEA、CA19-9、CA724和CA242联合检测在结肠癌中的应用价值. *中国医药指南* 2013; 11: 216-217
- 李克锋. 肿瘤患者不可忽视CRP的检测. *实用医技杂志* 2007; 14: 2416-2416
- Chung YC, Chang YF. Serum C-reactive protein correlates with survival in colorectal cancer patients but is not an independent prognostic indicator. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 369-373 [PMID: 12655256 DOI: 10.1097/00042737-200304000-00006]
- Guillem P, Triboulet JP. Elevated serum levels of C-reactive protein are indicative of a poor prognosis in patients with esophageal cancer. *Dis Esophagus* 2005; 18: 146-150 [PMID: 16045574 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2005.00474.x]

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506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_{1/2},Vmax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: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

■ 《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行,每月8、18、28日出版。

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角码号。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,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

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

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

■ 《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2015-01-15/17
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>

2015-06-08/21
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/>

蔡全才 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属长海医院临床流行病学
与循证医学中心

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院

陈贻胜 教授
福建省立医院

程英升 教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科

崔清波 副高职
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

姜春萌 教授
大连医科大学附属第二医院

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

靳雁 副主任护师
中国人民解放军第四军医大学西京医院

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

吕宾 教授
浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)

吕农华 教授
南昌大学第一附属医院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)

彭亮 副教授
中山大学附属第三医院感染科

单信芝 副主任护师
青岛大学附属医院消化内科

沈克平 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院

孙学英 教授
哈尔滨医科大学第一附属医院

唐文富 教授
四川大学华西医院中西医结合科

王春英 副主任护师
山东省肿瘤医院

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

王俊平 教授
山西省人民医院消化科

王明荣 研究员
中国医学科学院肿瘤医院

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院

杨江华 副教授
芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张力为 教授
新疆医科大学第一附属医院

张敏 副主任护师
山东大学齐鲁医院消化内镜中心

郑培永 研究员
上海中医药大学附属龙华医院

郑素军 副教授
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

《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

