

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

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2015 年 11 月 18 日 第 23 卷 第 32 期 (Volume 23 Number 32)**



**32 / 2015**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

## 编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》2015-2017年度编辑委员会，由1039位专家组成。其中，上海市146位、北京市130位、江苏省81位、广东省69位、湖北省53位、辽宁省48位、山东省45位、浙江省42位、陕西省40位、黑龙江省34位、福建省29位、四川省30位、河北省28位、天津市28位、广西壮族自治区21位、贵州省22位、湖南省21位、安徽省20位、河南省20位、吉林省20位、甘肃省18位、江西省18位、云南省17位、重庆市17位、新疆维吾尔自治区15位、山西省10位、海南省8位、内蒙古自治区3位、宁夏回族自治区2位、青海省2位、香港特别行政区1位及美国1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
纪小龙教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思凤教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

池肇春教授

迟宝荣教授

迟雁副教授

褚传莲副教授

崔立红教授

戴菲副主任医师

丁浩主治医师

丁士刚教授

丁雯瑾主治医师

丁震副主任医师

董蕾教授

董卫国教授

杜雅菊主任医师

杜奕奇副教授

段志军教授

樊冬梅副主任医师

樊晓明教授

范一宏主任医师

冯百岁教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关晓辉主任医师

郭津生主任医师

郭晓钟教授

韩双印主任医师

韩英教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

郝微微主任医师

郝英霞主任医师

何继满教授

黄杰安主任医师

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

黄志刚主任医师

霍丽娟主任医师

季光教授

季国忠教授

贾国葆副教授

贾林教授

菅向东主任医师

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

蒋波涛副主任医师

蒋益主任医师

金博主任医师

金海燕教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李兆申教授

梁洁副教授

林军教授

林琳教授

林志辉教授

刘爱群副主任医师

刘冰熔教授

刘德良教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘亮明副教授

刘鹏飞主任医师

刘平教授

刘文天教授

龙云主治医师

芦永福副教授

罗和生教授

罗素霞主任医师

吕农华教授

吕小平教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

毛华教授

孟庆华教授

孟祥军主任医师

缪应雷主任医师

宁守斌主任医师

牛春燕教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

钦丹萍教授

曲宝戈主任医师

任粉玉教授

沙杰副主任医师

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

沈卫东副主任医师

施瑞华教授

石定主任医师

石振东副主任医师

时永全教授

宋军副教授

孙自勤教授

汤绍辉教授

唐世刚教授

唐映梅副主任医师

田德安教授

田宇彬教授

庾必光教授

宛新建副教授

汪安江副主任医师

汪余勤副主任医师

王承党教授

王江滨教授

王良静研究员

王蓉主任医师

王甦副教授

王蔚虹教授

王晓娣主任医师

王志荣教授

王忠莉主任医师

吴晓玲副主任医师

夏金荣主任医师

夏时海教授

向晓星主任医师

谢会忠教授

辛永宁副教授

徐灿副教授

徐辉主任医师

徐可树教授

徐萍教授

许翠萍主任医师

许钟副主任医师

薛博瑜教授

阳学风教授

杨建民教授

杨长青教授

姚定康教授

叶丽萍教授

于珮主任医师

展玉涛主任医师

张福奎主任医师

张国顺主任医师

张国顺主任医师

张海蓉教授

张锦华主任医师

张明鑫主治医师

张庆瑜教授

张秋瓚主任医师

张涛副主任医师

张伟副主任医师

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

## 消化外科学

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

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

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

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

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

## 消化感染病学

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



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

庄英杰主任医师

### 消化中医药学

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

### 消化肿瘤学

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

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

周福有教授  
周建奖教授  
朱永良研究员

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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



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

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

#### 消化病理学

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

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

#### 消化护理学

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

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

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

## 目次

2015年11月18日 第23卷 第32期 (总第508期)

## 述评

- 5093 胃食管反流病的外科治疗策略

林昌伟, 李小荣

- 5101 全能干细胞在肝脏方向分化研究的进展

吉斐, 胡安斌

- 5107 自噬-非酒精性脂肪肝病的治疗新靶向

毛雨晴, 樊晓明

- 5113 糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展

周赛君, 于德氏, 于珮

## 基础研究

- 5123 年龄因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响

邱媛媛, 王伟恒, 胡江峰, 沈思, 朱樑

- 5133 地塞米松对重症急性胰腺炎肝损伤大鼠EPRS的影响

陈丽舒, 杨元生, 陈垦, 陈杏苑, 谢文瑞, 王晖

## 临床研究

- 5141 FLOT1蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义

曹传林, 李太原, 曹超, 熊强强, 江群广, 刘东宁

- 5148 原发性肝癌患者血清中miR-21和miR-1247-5p的表达检测

张议心, 王利新, 李元杰, 徐广贤

- 5157 肠易激综合征患者肠黏膜VIPR、CGRPR的变化情况

罗和生, 聂仁, 张法灿, 梁列新, 张国

- 5164 Wee1及p-Wee1对大肠癌增殖的调控机制

文玉, 李晓燕, 罗娟

## 文献综述

- 5171 内镜黏膜下剥离术治疗早期食管癌及癌前病变的进展

陈延方, 赵晔, 施瑞华

- 5177 结节性胃炎与幽门螺杆菌的研究进展

高鹏, 刘敏, 周永宁

- 5184 非甾体类抗炎药相关性小肠损伤研究进展  
刘晨晨, 樊叶, 张振玉
- 5190 简述功能性消化不良动物模型的建立与评价方法  
吴震宇, 张声生, 张恒玉, 杨雪

## 研究快报

- 5196 神经酰胺在非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞脂质沉积中的作用  
胡杨, 刘朝霞, 傅念, 吴清, 阳学风, 刘浩雷
- 5201 FXR在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况  
王洁萍, 张孟瑜, 李波, 夏先明

## 临床经验

- 5207 质量反馈理论对食管癌辅助化疗患者癌因性疲乏及生存质量的影响  
林芹, 何宁宁, 石海杰
- 5213 六味五灵片联合恩替卡韦治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床疗效  
洪海洲
- 5217 一氧化氮水平对肝硬化患者心功能的评估价值  
纪文静, 梁灿灿, 丁永年, 熊静平, 白洁
- 5222 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术与十二指肠乳头球囊扩张术在治疗胆总管结石中的比较  
席利力, 高鸿亮, 排组拉·沙拉依阿当, 姚萍
- 5228 富含精氨酸肠内营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响  
张海军
- 5233 鼻饲大黄治疗烧伤休克患者并胃肠功能障碍的临床疗效  
张静涛, 徐刚
- 5238 幽门螺杆菌感染与胰岛素抵抗水平关系的Meta分析  
岳春艳, 杨彩哲, 刘朝阳, 杨殷

## 病例报告

- 5250 内镜下切除食管良性颗粒细胞瘤2例  
刘婉, 朱海航, 徐永居, 卜平

## 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 – II 志谢世界华人消化杂志编委



## 消 息

- 5100 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
5122 《世界华人消化杂志》正文要求  
5132 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
5147 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
5221 《世界华人消化杂志》栏目设置  
5227 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
5237 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事  
5254 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

## 封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 樊晓明, 教授, 主任医师, 博士, 博士生导师, 201508, 上海市金山区龙航路1508号, 复旦大学附属金山医院消化内科. 主要从事消化系肿瘤的化学预防和肝纤维化防治的机制研究. 曾分别在美国Medical University of South Carolina消化病中心, 美国Mayo clinic, 英国University College London Hospitals和美国Johns Hopkins医院消化科研修. 现为上海市医学重点建设专科负责人, 上海市医学会消化系病分会委员, 上海市医学会消化内镜分会委员, 上海市医学会医疗鉴定专家. 近年主持并完成了上海市卫生局3项和上海市科委课题3项. 在国内外杂志发表文章70篇, 发表SCI论文30篇. 主编专著2本. 担任世界华人消化杂志、*World Journal of Gastroenterology*、*World Journal of Hepatology*及多个国内外期刊的审稿人.

## 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 2015-11-18

原刊名 新消化病学杂志

## 期刊名称

世界华人消化杂志

## 国际标准连续出版物号

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

## 主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

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

## 特别声明

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

## 定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

## Contents

Volume 23 Number 32 November 18, 2015

## EDITORIAL

- 5093 Surgical treatment of gastroesophageal reflux disease

*Lin CW, Li XR*

- 5101 Hepatic differentiation of pluripotent stem cells

*Ji F, Hu AB*

- 5107 Autophagy, a new target for non-alcoholic fatty liver disease therapy

*Mao YQ, Fan XM*

- 5113 Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus

*Zhou SJ, Yu DM, Yu P*

## BASIC RESEARCH

- 5123 Impact of age on acute alcohol induced liver injury and hepatocyte apoptosis

*Qiu YY, Wang WH, Hu JF, Shen S, Zhu L*

- 5133 Dexamethasone treatment upregulates glutamyl prolyl tRNA synthetase expression in liver tissue of rats with severe acute pancreatitis-associated liver injury

*Chen LS, Yang YS, Chen K, Chen XY, Xie WR, Wang H*

## CLINICAL RESEARCH

- 5141 Clinical significance of flotillin-1 overexpression in human gastric cancer

*Cao CL, Li TY, Cao C, Xiong QQ, Jiang QG, Liu DN*

- 5148 Changes and significance of serum miR-21 and miR-1247-5p levels in patients with primary liver cancer

*Zhang YX, Wang LX, Li YJ, Xu GX*

- 5157 Expression of colonic vasoactive intestinal peptide receptor and calcitonin gene-related peptide receptor in irritable bowel syndrome

*Luo HS, Nie R, Zhang FC, Liang LX, Zhang G*

- 5164 Regulatory effect of Wee1 on proliferation of colorectal cancer cells

*Wen Y, Li XY, Luo J*

## REVIEW

- 5171 Endoscopic submucosal dissection for treatment of early esophageal cancer and precancerous lesions

*Chen YF, Zhao Y, Shi RH*

- 5177 Correlation of nodular gastritis with
- Helicobacter pylori*
- infection

*Gao P, Liu M, Zhou YN*

- 5184 Advances in research of non-steroidal anti-inflammatory drugs induced small intestinal injury

*Liu CC, Fan Y, Zhang ZY*

- 5190 Establishment and evaluation of animal models of functional dyspepsia

*Wu ZY, Zhang SS, Zhang HY, Yang X*

### **RAPID COMMUNICATION**

- 5196 Role of ceramide in hepatic lipid accumulation in rats with non-alcoholic fatty liver disease

*Hu Y, Liu ZX, Fu N, Wu Q, Yang XF, Liu HL*

- 5201 Farnesyl X receptor expression in rat bile duct cancer

*Wang JP, Zhang MY, Li B, Xia XM*

### **CLINICAL PRACTICE**

- 5207 Effect of quality feedback theory based nursing on cancer related fatigue and quality of life in esophageal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy

*Lin Q, He NN, Shi HJ*

- 5213 Clinical efficacy of Liuweiwuling tablets combined with entecavir in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B

*Hong HZ*

- 5217 Value of nitric oxide level in assessment of cardiac function in patients with cirrhosis

*Ji WJ, Liang CC, Ding YN, Xiong JP, Bai J*

- 5222 Endoscopic sphincterotomy vs endoscopic papillary balloon dilation for retrieval of common bile duct stones

*Xi LL, Gao HL, Paizula•Shalayiadang, Yao P*

- 5228 Effect of arginine-rich enteral nutrition support on prognosis of patients with severe brain injury

*Zhang HJ*

- 5233 Clinical efficacy of nasogastrically administered rhubarb for gastrointestinal dysfunction after burn shock

*Zhang JT, Xu G*

- 5238 Meta-analysis of relationship between *Helicobacter pylori* infection and level of insulin resistance

*Yue CY, Yang CZ, Liu CY, Yang Y*

### **CASE REPORT**

- 5250 Endoscopic resection of benign esophageal granular cell tumors: Report of two cases

*Liu W, Zhu HH, Xu YJ, Bo P*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 23 Number 32 November 18, 2015

### APPENDIX

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

### ACKNOWLEDGMENT

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

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Ming Fan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jinshan Hospital, Fudan University, 1508 Longhang Road, Jinshan District, Shanghai 201508, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** November 18, 2015

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, 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](mailto: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](mailto: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](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access, please contact the editorial office.

## 胃食管反流病的外科治疗策略

林昌伟, 李小荣

林昌伟, 李小荣, 中南大学湘雅三医院甲状腺、胃肠外科  
湖南省长沙市 410013

李小荣, 教授, 主任医师, 主要从事消化系统肿瘤发病及转移机制研究。

作者贡献分布: 本文由林昌伟查阅文献并总结撰写; 李小荣批阅修改并审核。

通讯作者: 李小荣, 教授, 主任医师, 博士生导师, 410013, 湖南省长沙市岳麓区桐梓坡路138号, 中南大学湘雅三医院甲状腺、胃肠外科。lixiaorong@medmail.com.cn  
电话: 0731-88618232

收稿日期: 2015-04-28

修回日期: 2015-05-15

接受日期: 2015-05-28

在线出版日期: 2015-11-18

### Surgical treatment of gastroesophageal reflux disease

Chang-Wei Lin, Xiao-Rong Li

Chang-Wei Lin, Xiao-Rong Li, Department of Thyroid and Gastrointestinal Surgery, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hu'nan Province, China

Correspondence to: Xiao-Rong Li, Professor, Chief Physician, Department of Thyroid and Gastrointestinal Surgery, the Third Xiangya Hospital of Central South University, 138 Tongzipo Road, Yuelu District, Changsha 410013, Hu'nan Province, China. lixiaorong@medmail.com.cn

Received: 2015-04-28

Revised: 2015-05-15

Accepted: 2015-05-28

Published online: 2015-11-18

### Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is a very common foregut disease prevalent

worldwide. The prevalence of GERD has risen strikingly over the past decades, causing substantial health and economic burdens. Due to high rates of recurrent reflux symptoms, reoperations and complications, surgical therapy of GERD did not attach enough attention in its early stage. However, surgical therapy for GERD was subsequently revolutionized by the development of anti-reflux surgical techniques and the introduction and popularization of minimally invasive surgeries. Anti-reflux surgery has gradually proved to be a well-documented, effective, therapeutic option for GERD by long-term follow-up studies. In order to improve results and to reduce unwanted effects, surgeons should master the indications of surgery and techniques of anti-reflux surgery. Besides, choosing appropriate candidates and surgical approach is also crucial for outcomes. However, limited by the regional economy and surgeon's skill, the use of anti-reflux surgery is still very limited. The aim of this review is to analyze and discuss the current spectrum of surgical therapy of GERD, and to provide orientation for surgeons in the challenging therapy of GERD.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Surgical treatment; Fundoplication; Bariatric surgery; Endoscopic anti-reflux surgery; LINX

Lin CW, Li XR. Surgical treatment of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5093-5100 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5093.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5093>

### 背景资料

胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 是一种十分常见的消化系统疾病, 外科抗反流手术是 GERD 治疗的重要手段。外科医师应熟练掌握各抗反流手术技巧, 准确选择手术病例和外科治疗方案, 从而减少手术并发症和术后 GERD 的复发率。

### 同行评议者

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

## ■ 研发前沿

过去的20年里, 抗反流术式不断推陈出新, 出现了胃底折叠术, 减肥手术等经典抗反流术式。外科手术治疗已成为GERD患者临床治疗的一个重要补充。随着内镜技术的不断发展, 抗反流手术进入了微创外科时代, 让广大GERD患者受益。

## 摘要

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种十分常见的消化系统疾病, 近年来其发病率在我国乃至世界范围内都逐年上升, 严重危害人们的身心健康。由于早期外科治疗存在较多术后并发症, 个别术式术后复发率高, 导致外科治疗GERD并未得到足够的重视。近年来随着外科抗反流手术技术的持续改进和腔镜技术的广泛开展, 外科治疗逐渐被大量的长期随访研究证实具有良好的安全性和有效性。为获得最佳的外科治疗效果, 外科医师应熟练掌握各种抗反流手术技巧, 并能在病例选择和外科手术治疗方案的选择中做出最佳抉择。从而尽可能地减少手术并发症, 降低术后GERD的复发率。但受到地区经济和外科医师技术水平差异性的限制, 不同区域所能开展的外科手术治疗方案不尽相同。鉴于此, 本文将对国内外常用胃食道反流病的各外科手术治疗方案作一综述, 探讨各外科手术方案的优缺点, 以期临床医生外科治疗的病例选择和手术方案提供有益的参考。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃食管反流病; 外科治疗; 胃底折叠术; 减肥手术; 内镜抗反流手术; LINX

**核心提示:** 外科抗反流手术是胃食管反流病治疗的重要手段。本文将对胃食道反流病的各外科手术治疗方案作一综述, 探讨各外科手术方案的优缺点, 以期临床医生外科治疗的病例选择和手术方案提供有益的参考。

林昌伟, 李小荣. 胃食管反流病的外科治疗策略. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5093-5100 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5093.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5093>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指由于胃内容物异常反流到食管, 甚至进入口腔和肺部, 进而引起黏膜损伤, 伴或不伴临床症状的一种疾病<sup>[1]</sup>。近年来, GERD的发病率居高不下, 甚至是有所上升。来自美国的一项研究<sup>[2]</sup>显示, GERD的发病率相对于20世纪90年代, 上升了50%。其中北美的发病率最高, 为19.8%, 欧洲和中东分别为15.2%和14.4%, 东亚地区发病率最低, 为5.2%。而Tan

等<sup>[3]</sup>和Jiang等<sup>[4]</sup>的研究表明, 我国GERD的发病率为5%-10%, 严重影响人们的生命质量和生活质量。根据内镜下观察食管黏膜是否有损伤、病变, GERD被分为三大类型: 非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)<sup>[5]</sup>。GERD最为典型的临床表现为烧心和反流, 不典型的临床症状包括胸痛、嗝气、上腹饱胀不适、咽部异物感等<sup>[6]</sup>。此外部分患者还会出现食管外症状, 如慢性咳嗽、咽喉炎、哮喘等<sup>[7]</sup>。

GERD的发病机制, 可以分为反流物对食管黏膜的损伤作用增强和食管抗反流防御机制减弱两部分。针对反流物对食管黏膜的损伤作用增强, 我们可以采取药物治疗, 如抑酸性药物。通过降低胃酸分泌, 从而减弱反流物对食管黏膜的损伤作用。而针对食管抗反流防御机制减弱这一发病机制, 人们则设计并实施了抗反流手术。通过手术增加食管下端压力, 减少胃内容物反流。

短期和长期临床疗效观察实验均已证实, 药物治疗GERD是一种行之有效的治疗手段, 也是目前针对GERD治疗的主要方法之一<sup>[8]</sup>。尤其是以质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)为代表的抑酸类药物的疗效最为显著, 可以显著缓解GERD患者的临床症状, 提高生活质量<sup>[9]</sup>。因此药物治疗已经成为大多数GERD患者治疗的首选。但是, 仍有接近30%的患者, 经过系统的药物保守治疗后, 无法达到预期的治疗效果<sup>[10]</sup>。尤其是以胃内容物反流到食管、口腔为主要症状的患者, 药物治疗几乎是无效的。而且, 流行病学研究也显示, 长期服用PPI类药物会出现许多不良反应, 如疲倦乏力, 肠道菌群过度生长, 肌肉痛、皮肤感觉异常, 腹泻, 肺炎等<sup>[11]</sup>, 甚至会增加服药者的心血管疾病风险<sup>[12]</sup>。

在此背景下, 外科手术治疗成为GERD患者临床治疗的一个重要补充, 为GERD患者带来了福音。过去的20年里, 各种不同的抗反流术式不断推陈出新, 出现了胃底折叠术, 减肥手术等经典抗反流术式。更为振奋人心的是, 随着内镜技术的不断发展, 抗反流手术进入了微创外科时代。随着这些手术的广泛开展, 让广大GERD患者受益、对生活重燃希望, 为临床治疗GERD开创了一个全新的时代。鉴于抗反流手术已经成为GERD治疗方案中不可或缺



的重要组成部分, 本文将对GERD外科手术治疗的最新研究进展作一综述。

## 2 GERD手术指征

对于已经确诊为GERD的患者, 需经过充分的术前评估, 满足以下条件之一的, 方可进行抗反流手术治疗: (1)内科药物治疗失败, 包括服药后症状控制不理想, 抑酸治疗后存在胃内容物反流, 无法耐受药物不良反应等; (2)虽然内科药物治疗疗效确切, 但患者想进一步提高生活质量, 不愿长期服用药物, 或者患者无法负担长期服药的高昂费用<sup>[13]</sup>; (3)存在GERD并发症, 如BE、消化性溃疡。目前对于无症状的BE是否需要手术干预仍存有争议。但是对于已经出现化生现象的BE, 手术治疗的效果要优于内科药物治疗<sup>[14]</sup>; (4)伴有食管外临床表现, 如哮喘、声音嘶哑、咳嗽、胸痛等<sup>[15]</sup>。

## 3 术前准备

在实施抗反流手术之前, 对患者进行充分的术前评估是十分必要的。 (1)食管镜、胃镜检查。患者术前需做食管镜、胃镜检查, 以明确GERD诊断。同时还能发现食管、胃的黏膜病变, 取活检明确病变性质; (2)24 h食管测酸。对于食管镜无法明确诊断GERD的患者, 24 h食管测酸检查有助于GERD诊断的确立。注意在做该项检查前患者需停止服用抑酸药物1 wk以上; (3)食管测压。该项检查对于胃底折叠术、LINX术十分重要, 可用于评估患者是否适合这两种手术治疗; (4)钡餐。可以很好的观察到食管轮廓, 帮助术前判断是否存在食管裂孔疝。

## 4 外科治疗的方式

**4.1 胃底折叠术** GERD的外科手术治疗, 最常用的手术方式是Nissen胃底折叠术。这是以1956年实施第1例360°胃底折叠术的Dr. Rudolph Nissen的名字进行命名的一种抗反流术式<sup>[16]</sup>。最初的Nissen手术是将胃底的前、后壁均折叠包裹在食管周围, 折叠过程中采用的是36-Fr探条支撑食管, 并没有离断胃短血管, 也没有对膈脚进行修补。之后的数十年过程中, 有不少学者主张要离断胃短血管, 其中最著名的当属DeMeester等<sup>[17]</sup>。但目前的多中心研究<sup>[18]</sup>表明: 离断胃短血管并不是该手术中不可或缺

的一步。而对于术中发现存在膈肌裂孔, 则是主张使用网片修补, 但因注意网片的选择和并发症的预防<sup>[19]</sup>。

Nissen胃底折叠术通过对食管远端2 cm进行加压, 增强食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)的张力, 修复膈肌和食管远端之间的解剖结构, 从而达到抗反流作用。这种手术方式最常见的术后并发症是吞咽困难和吞气综合征。为了尽量减少这种并发症, Donahue医生改为使用50-Fr的探条支持食管, 并对膈疝进行修补<sup>[20]</sup>。尽管如此, 360°胃底折叠术所引起的术后并发症, 如吞咽困难、吞气综合征、腹胀等, 在部分患者中仍比较严重。尤其是吞咽困难, 个别患者甚至需要通过内镜下食管扩张才能纠正这一并发症<sup>[21]</sup>。在这之后, Rossetti对这一术式进行了改良, 用胃底的前壁折叠包裹食管下段, 成为Rossetti改良式胃底折叠术<sup>[22]</sup>。这种改良的胃底折叠术被相当一部分的外科医生用来代替Nissen胃底折叠术的术式。

除此之外, 部分胃底折叠术也可见于临床。其中以部分胃底前壁折叠术(Dor术)、部分胃底后壁折叠术(Toupet术)较为著名。Dor术是把胃底从食管的前壁拉向食管右侧壁进行缝合的部分胃底折叠术。Toupet术是将食管两侧胃组织分别缝合固定于食管两侧壁, 在食管后壁的270°部分胃底折叠, 是目前临床最常用的部分胃底折叠术术式<sup>[23,24]</sup>。研究表明, 部分胃底前壁折叠术和部分胃底后壁折叠术的临床预后并无差异<sup>[25]</sup>。部分胃底折叠术的疗效与Nissen全胃底折叠术相比较也无差异, 但短期研究显示术后吞咽困难的发生率胃底全折叠术要比部分胃底折叠术高(8% vs 0%)<sup>[26]</sup>。Mardani等<sup>[27]</sup>对137例经受抗反流手术治疗的GERD患者进行长达18年的术后随访, 证实完全胃底折叠术和部分胃底折叠术都能保持长期有效的抗反流作用, 且在术后并发症方面并无差异。但部分胃底折叠术在手术操作上更为简单易行。

值得注意的是, 目前的研究<sup>[28]</sup>已经明确证实肥胖和GERD密切相关。对于同时伴有肥胖的GERD患者(体质量指数>30 kg/m<sup>2</sup>), Telem等<sup>[29]</sup>胃底折叠术的失败率较体质量在正常范围内的GERD患者要高得多。针对肥胖患者, 减肥手术已经被证实是能使肥胖患者的体质量明显下降的一种外科治疗方法, 在肥胖治疗中扮演着

## ■ 相关报道

Gutschow等以自问自答的形式, 对手术方案的选择、术中操作的细节处理等作详细阐述。同时, 作者还详细回顾和展望了GERD外科治疗技术的发展。

**■创新盘点**

本文较为全面、系统的回顾了GERD外科抗反流手术的优缺点, 为临床医生外科治疗的病例选择和手术方案提供有益的参考。

重要角色<sup>[30]</sup>。根据改变正常解剖结构的差异性, 减肥手术又被分为多种。常见的术式有Roux-en-Y胃旁路手术、袖状胃切除手术、胃束带手术等<sup>[31,32]</sup>。而对于同时伴有肥胖的GERD患者, 减肥手术不但能降低体质量, 还能有效抑制反流<sup>[33]</sup>。但是不同的减肥手术有不同的优缺点, 对于治疗伴有肥胖的GERD不同患者前, 需充分了解病情, 做出最优选择。

Roux-en-Y胃旁路手术在治疗伴有肥胖的GERD时疗效最为显著, 且不会改变His角, 也不会增加胃内压力。Tutuian<sup>[34]</sup>研究证实, Roux-en-Y胃旁路手术对于由肥胖引起的GERD, 疗效最为显著。更为重要的是, 针对曾实施过抗反流手术术后复发或者手术失败的肥胖患者, Roux-en-Y胃旁路手术也是这类患者再次手术的良好选择<sup>[35]</sup>。袖状胃切除手术目前对于治疗伴有肥胖的GERD的疗效还存在争议, 有研究<sup>[36]</sup>表明, 实施袖状胃切除手术后降低患者体质量, 同时减轻GERD的临床症状。也有研究<sup>[37]</sup>表明, 袖状胃切除手术会加重了GERD的临床症状。但总体而言, 更多学者们认为, 袖状胃切除手术后会增加胃内压力, 改变His角解剖, 加重GERD症状。胃束带手术也是一个能有效降低体质量达到减肥目的手术。Woodman等<sup>[38]</sup>研究发现, 胃束带手术术后80%的患者表示GERD的症状有明显减轻。而de Jong等<sup>[39]</sup>通过对20个研究中3307个患者进行Meta分析, 发现胃束带手术术后GERD的反流症状会明显改善, 但也有部分患者会出现新的GERD症状。值得注意的是, Sleeve及band并不专门用于治疗GERD。

而随着腹腔镜技术在20世纪80年代的开展和普及, 外科医生开始探索腹腔镜技术在抗反流手术中的应用。1991年, Dallemagne等<sup>[40]</sup>开展了第1例腹腔镜辅助下Nissen胃底折叠术。在腹腔镜辅助下Nissen胃底折叠术开展的初期, 人们对其的安全性、可靠性、疗效性等各个方面都持有怀疑态度, 质疑腹腔镜辅助下Nissen式胃底折叠术会增加手术时间, 折叠效果不可靠。但是随着腹腔镜技术的发展和多中心临床实验的实施, 人们逐渐认识到, 腹腔镜辅助下Nissen胃底折叠术是安全有效可行的。与传统的Nissen胃底折叠术相比较而言, 腹腔镜下实施手术能更有助于患者的术后恢复, 缩短住院时间, 减少手术并发症的出现。当然, 腹腔镜下手术也意味着平均手术时间更长, 再次手术机

会增加, 且对外科医生的手术经验和技巧要求更高。但是总体而言, 腹腔镜辅助下Nissen胃底折叠术是值得肯定推广的<sup>[41]</sup>。除此之外, 腹腔镜辅助技术也可应用于减肥手术, 比如腹腔镜辅助下Roux-en-Y胃旁路手术, 取得了很好的手术效果<sup>[42]</sup>。

**4.2 抗反流装置置入术** 由于传统胃底折叠术存在许多术后并发症, 人们开始研究采用外置装置增加食管下端括约肌张力, 抑制反流症状。最早的抗反流装置出现在20世纪70年代。抗反流装置相比较于传统的抗反流手术而言, 对施术者的技能要求相对较低。大样本研究<sup>[43]</sup>也证实抗反流装置对GERD的治疗效果, 与传统的抗反流手术相仿。但是, 抗反流装置的置入, 同样也面临着并发症: 吞咽困难。除此之外, 还将面临抗反流装置的移位、局部组织腐蚀作用等特殊并发症。据文献报道<sup>[44]</sup>, 因为这些并发症而导致二次手术移除抗反流装置的病例数, 占总数的10%-20%。使人们一度对这一抗反流术式失去信心。

LINX抗反流装置的研发使人们对抗反流装置重拾信心。LINX置入术是在腹腔镜辅助下进行的一种抗反流手术。2010年, Bonavina等<sup>[45]</sup>报道了44例患者接受LINX抗反流装置置入术。术中将特殊的磁珠串(钛合金制成)环绕在食管下段, 从而形成一个物理性抗反流屏障。该术式既不需改变胃的解剖结构, 又不会对局部组织产生腐蚀作用。而且, 由于LINX抗反流装置是由含有弱磁性的磁珠构成, 在静息状态下可以自然闭合, 起到抗反流作用。在进食时, 通过食团的物理挤压作用, 可以扩张食管, 减少吞咽困难并发症的出现。因此, LINX抗反流装置的出现, 大大降低了传统抗反流装置的术后并发症。目前该技术目前已在欧美国家广泛开展。通过术后的4年随访, 87.5%的GERD患者对置入LINX抗反流装置后的生活状况感到满意, 80%的患者表示术后无需再服用PPI类抗酸药物。鉴于LINX抗反流装置在治疗GERD所初步显示出的安全性和可靠性, 采用LINX抗反流装置治疗GERD有可能成为未来GERD外科抗反流治疗的主要术式。

**4.3 内镜下抗反流手术** 腹腔镜辅助下抗反流手术所展现出来的微创手术优势, 让人们将更大的研究热情投入到微创抗反流手术的研发中。近年来除了腹腔镜辅助治疗GERD之外, 内

镜微创技术治疗GERD也取得了巨大的发展, 他是一种很有前景的新治疗方法. 内镜下治疗GERD目前主要有3类: 内镜腔内胃食管成形术、内镜下射频治疗和内镜下注射治疗. 总的来说, 内镜治疗主要是通过降低胃食管His角的顺应性和短暂性松弛次数, 达到抗反流的作用. 而采用内镜治疗的GERD患者, 必须在术前明确无巨大膈疝, 没有广泛的Barrett食管化生, 没有严重的食管炎症和溃疡等<sup>[46]</sup>.

内镜腔内胃食管成形术目前有多种辅助设备参与实施. 早期是通过EndoCinch或者plicator的缝合装置在胃底进行腔内折叠治疗. EndoCinch最早的用于治疗GERD的内镜缝合装置, 在操作过程中需要两个内镜同时进行. 在内镜下于胃食管交界处进行黏膜折叠, 形成皱褶以挡胃肠内容物的反流, 达到治疗目的. Plicator全层折叠器先在牵引器的帮助下进入食管, 然后在胃镜下使用折叠器在胃贲门处进行折叠, 形成褶皱. 近期的研究表明, 采用EndoCinch或者plicator设备治疗GERD, 短期反流症状控制疗效明显, 但长期作用效果并不可靠, 易出现缝线松动等, 远期疗效差, 目前应用的越来越少. 通过内镜下缝合系统EsophyX实施经口不切开胃底折叠术(transoral incisionless fundoplication, TIF)是近年研究的热点. EsophyX装置是一个带有内镜插入孔道的管型装置, 通过180°弯曲后到达HIS角部位. 然后用一个可360°螺旋转动的牵引针把Z线附近的全层组织旋转下拉3-5 cm. 最后由牵引器尖端伸出一个附着于缝合针上的加固器进行固定, 并在胃腔内形成全层折叠的抗反流瓣, 既能修补膈疝, 又能增加LES压力, 降低胃食管His角的顺应性, 从而起到有效抗反流作用<sup>[47]</sup>. 尤其适合膈疝直径在2 cm以下的GERD患者, 美国胃肠内镜外科医师学会证实其短期疗效显著, 可用于膈疝不大于2 cm的GERD患者<sup>[48]</sup>, Testoni等<sup>[49]</sup>随访6年后证实EsophyX治疗GERD对某些患者疗效仍有效.

射频治疗是通过射频治疗仪的电极产生射频电流, 射频电流在局部组织内转化为热能(65℃-85℃), 热能刺激导致LES肌破坏、再生, 食管胶原分子短缩, 胶原结构重建, 重塑食管下段LES肌和胃贲门结构, 降低胃食管His角的顺应性. 同时射频能量破坏食管肌层内迷走神经节, 阻断短暂的LES松弛的诱发, 减少LES

肌短暂性松弛的次数, 从而抑制反流. 代表性的射频设备是Stretta射频治疗仪. 美国胃肠内镜外科医师学会推荐对于年龄在18岁以上, 具有典型烧心、反流症状6 mo以上, 且药物治疗无效或者不理想的成年人, 如果不愿实施腹腔镜胃底折叠术, 可以推荐采用内镜下射频治疗. 术前需明确患者无严重的食管炎, 膈疝不大于2 cm, 无吞咽困难, 无自身免疫疾病史, 无自身凝血障碍等<sup>[50]</sup>.

内镜下注射治疗是将一种生物可溶性物质或者硬化剂注射到LES肌的黏膜下或者肌层, 从而达到降低胃食管His角的顺应性, 抑制反流的作用. 市场上先后出现过诸如Enteryx、Gatekeeper等内镜下注射系统. 在短期疗效观察中, 内镜下注射治疗显示出良好的抗反流效果和安全性<sup>[51]</sup>. 但Enteryx系统内镜下注射治疗易将硬化剂误注射入纵隔内其他组织, 从而引起相关器官功能障碍, 甚至死亡. 而Gatekeeper内镜下注射系统的治疗效果差, 抑制反流作用弱. 导致这些内镜下注射治疗系统已逐渐退出市场<sup>[52]</sup>.

鉴于以上研究结果, 目前对于内镜治疗GERD的长期有效性仍有待进一步研究证实.

## 5 结论

长期大量的随访已经证实外科手术治疗对于GERD的治疗是安全有效的. 而Nissen胃底折叠术仍是目前外科治疗GERD的金标准, 术后5年对反流症状的控制满意度能达到80%-90%. 相比于长期服用药物控制反流症状, 抗反流手术的实施显得更为合适可靠. 但外科抗反流手术治疗也不是毫无缺点的. 文献报道约有4%-8%的患者会在胃底折叠术后出现复发, 甚至是在反流的基础上还出现了吞咽困难、早饱、腹胀等<sup>[53]</sup>. 因此, 术前对于外科抗反流手术患者的选择以及外科手术方案的选择是尤为重要的. 此外, 外科医师的手术技能水平也是影响术后并发症和术后复发率的一个很重要的影响因素.

## 6 参考文献

- Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 308-328; quiz 329 [PMID: 23419381 DOI: 10.1038/ajg.2012.444]
- Rubenstein JH, Chen JW. Epidemiology of

## 同行评价

本文较全面地反映了目前胃食管反流的治疗现状.



- gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 1-14 [PMID: 24503355 DOI: 10.1016/j.gtc.2013.11.006]
- 3 Tan VP, Wong BC, Wong WM, Leung WK, Tong D, Yuen MF, Fass R. Gastroesophageal Reflux Disease: Cross-Sectional Study Demonstrating Rising Prevalence in a Chinese Population. *J Clin Gastroenterol* 2015 Mar 6. [Epub ahead of print] [PMID: 25751371]
- 4 Jiang X, Lü FF, Wang WC, Liu YL. [The characteristics of gastroesophageal reflux disease overlapping with functional bowel diseases in gastrointestinal clinic]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2013; 52: 806-810 [PMID: 24378054]
- 5 Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. [The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global, evidence-based consensus paper]. *Z Gastroenterol* 2007; 45: 1125-1140 [PMID: 18027314]
- 6 Lee D, Lee KJ, Kim KM, Lim SK. Prevalence of asymptomatic erosive esophagitis and factors associated with symptom presentation of erosive esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 906-912 [PMID: 23834193 DOI: 10.3109/00365521.2013.812236]
- 7 Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1900-1920; quiz 1943 [PMID: 16928254]
- 8 Sigterman KE, van Pinxteren B, Bonis PA, Lau J, Numans ME. Short-term treatment with proton pump inhibitors, H2-receptor antagonists and prokinetics for gastro-oesophageal reflux disease-like symptoms and endoscopy negative reflux disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 5: CD002095 [PMID: 23728637 DOI: 10.1002/14651858.CD002095.pub5]
- 9 Holtmann G, Bigard MA, Malfertheiner P, Pounder R. Guidance on the use of over-the-counter proton pump inhibitors for the treatment of GERD. *Int J Clin Pharm* 2011; 33: 493-500 [PMID: 21472476 DOI: 10.1007/s11096-011-9489-y]
- 10 Bredenoord AJ. New therapies for gastroesophageal reflux disease. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2010; 56: 129-138 [PMID: 20485251]
- 11 Orr WC, Goodrich S, Wright S, Shepherd K, Mellow M. The effect of baclofen on nocturnal gastroesophageal reflux and measures of sleep quality: a randomized, cross-over trial. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 553-559, e253 [PMID: 22404184 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01900.x]
- 12 von Rahden BH, Scheurlen M, Filser J, Stein HJ, Germer CT. [Newly recognized side-effects of proton pump inhibitors. Arguments in favour of fundoplication for GERD?]. *Chirurg* 2012; 83: 38-44 [PMID: 21909830 DOI: 10.1007/s00104-011-2173-x]
- 13 Stefanidis D, Hope WW, Kohn GP, Reardon PR, Richardson WS, Fanelli RD. Guidelines for surgical treatment of gastroesophageal reflux disease. *Surg Endosc* 2010; 24: 2647-2669 [PMID: 20725747 DOI: 10.1007/s00464-010-1267-8]
- 14 Spechler SJ. Does Barrett's esophagus regress after surgery (or proton pump inhibitors)? *Dig Dis* 2014; 32: 156-163 [PMID: 24603402 DOI: 10.1159/000357184]
- 15 Zhang CC, Wang ZG, Wu JM, Ji F, Gao X, Hu ZW. The laparoscopic nissen fundoplication eliminates obstructive sleep apnea syndrome due to gastroesophageal reflux disease. *Indian J Surg* 2013; 75: 326-328 [PMID: 24426606 DOI: 10.1007/s12262-012-0660-z]
- 16 NISSEN R. [A simple operation for control of reflux esophagitis]. *Schweiz Med Wochenschr* 1956; 86: 590-592 [PMID: 13337262]
- 17 DeMeester TR, Bonavina L, Albertucci M. Nissen fundoplication for gastroesophageal reflux disease. Evaluation of primary repair in 100 consecutive patients. *Ann Surg* 1986; 204: 9-20 [PMID: 3729589]
- 18 Engström C, Jamieson GG, Devitt PG, Watson DI. Meta-analysis of two randomized controlled trials to identify long-term symptoms after division of the short gastric vessels during Nissen fundoplication. *Br J Surg* 2011; 98: 1063-1067 [PMID: 21618497 DOI: 10.1002/bjs.7563]
- 19 Gutschow CA, Hölscher AH. Surgical treatment of gastroesophageal reflux disease. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 661-667 [PMID: 22526414 DOI: 10.1007/s00423-012-0952-6]
- 20 Donahue PE, Samelson S, Nyhus LM, Bombeck CT. The floppy Nissen fundoplication. Effective long-term control of pathologic reflux. *Arch Surg* 1985; 120: 663-668 [PMID: 4004552]
- 21 Yang H, Meun C, Sun X, Watson DI. Outcome following management of dysphagia after laparoscopic anti-reflux surgery. *World J Surg* 2012; 36: 838-843 [PMID: 22302282 DOI: 10.1007/s00268-011-1416-9]
- 22 Rossetti M, Hell K. Fundoplication for the treatment of gastroesophageal reflux in hiatal hernia. *World J Surg* 1977; 1: 439-443 [PMID: 910451]
- 23 Toupet A. [Technic of esophago-gastroplasty with phrenogastropepy used in radical treatment of hiatal hernias as a supplement to Heller's operation in cardiospasm]. *Mem Acad Chir (Paris)* 1963; 89: 384-389 [PMID: 13993831]
- 24 Lundell L. Surgical therapy of gastro-oesophageal reflux disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 947-959 [PMID: 21126706 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.09.006]
- 25 Rawlings A, Soper NJ, Oelschlager B, Swanson L, Matthews BD, Pellegrini C, Pierce RA, Pryor A, Martin V, Frisella MM, Cassera M, Brunt LM. Laparoscopic Dor versus Toupet fundoplication following Heller myotomy for achalasia: results of a multicenter, prospective, randomized-controlled trial. *Surg Endosc* 2012; 26: 18-26 [PMID: 21789646 DOI: 10.1007/s00464-011-1822-y]
- 26 Patti MG, De Pinto M M, Tong J, Wang A, Mulvihill SJ, Way LW. Comparison of laparoscopic total and partial fundoplication for gastroesophageal reflux. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 309-314; discussion 314-315 [PMID: 9834363]
- 27 Mardani J, Lundell L, Engström C. Total or posterior partial fundoplication in the treatment of GERD: results of a randomized trial after 2 decades of follow-up. *Ann Surg* 2011; 253: 875-878 [PMID: 21451393 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182171c48]
- 28 Doulami G, Triantafyllou S, Natoudi M, Albanopoulos K, Leandros E, Zografos G, Theodorou D. GERD-Related Questionnaires and



- Obese Population: Can They Really Reflect the Severity of the Disease and the Impact of GERD on Quality of Patients' Life? *Obes Surg* 2015; 25: 1882-1885 [PMID: 25708239]
- 29 Telem DA, Altieri M, Gracia G, Pryor AD. Perioperative outcome of esophageal fundoplication for gastroesophageal reflux disease in obese and morbidly obese patients. *Am J Surg* 2014; 208: 163-168 [PMID: 24881017 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2014.02.010]
  - 30 Paulus GF, de Vaan LE, Verdam FJ, Bouvy ND, Ambergen TA, van Heurn LW. Bariatric surgery in morbidly obese adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg* 2015; 25: 860-878 [PMID: 25697125 DOI: 10.1007/s11695-015-1581-2]
  - 31 Gloy VL, Briel M, Bhatt DL, Kashyap SR, Schauer PR, Mingrone G, Bucher HC, Nordmann AJ. Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2013; 347: f5934 [PMID: 24149519 DOI: 10.1136/bmj.f5934]
  - 32 Mechanick JI, Yodanis A, Jones DB, Garvey WT, Hurley DL, McMahon MM, Heinberg LJ, Kushner R, Adams TD, Shikora S, Dixon JB, Brethauer S. Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient--2013 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery. *Obesity* (Silver Spring) 2013; 21 Suppl 1: S1-27 [PMID: 23529939 DOI: 10.1002/oby.20461]
  - 33 Tutuian R. Effects of bariatric surgery on gastroesophageal reflux. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 434-438 [PMID: 24867157 DOI: 10.1097/MOG.000000000000083]
  - 34 Tutuian R. Obesity and GERD: pathophysiology and effect of bariatric surgery. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 205-212 [PMID: 21424733 DOI: 10.1007/s11894-011-0191-y]
  - 35 Perry Y, Courcoulas AP, Fernando HC, Buenaventura PO, McCaughan JS, Luketich JD. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for recalcitrant gastroesophageal reflux disease in morbidly obese patients. *JLS* 2004; 8: 19-23 [PMID: 14974657]
  - 36 Burgerhart JS, Schotborgh CA, Schoon EJ, Smulders JF, van de Meeberg PC, Siersema PD, Smout AJ. Effect of sleeve gastrectomy on gastroesophageal reflux. *Obes Surg* 2014; 24: 1436-1441 [PMID: 24619293 DOI: 10.1007/s11695-014-1222-1]
  - 37 Chiu S, Birch DW, Shi X, Sharma AM, Karmali S. Effect of sleeve gastrectomy on gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Surg Obes Relat Dis* 2011; 7: 510-515 [PMID: 21130052 DOI: 10.1016/j.soard.2010.09.011]
  - 38 Woodman G, Cywes R, Billy H, Montgomery K, Cornell C, Okerson T. Effect of adjustable gastric banding on changes in gastroesophageal reflux disease (GERD) and quality of life. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 581-589 [PMID: 22356120 DOI: 10.1185/03007995.2012.666962]
  - 39 de Jong JR, Besselink MG, van Ramshorst B, Gooszen HG, Smout AJ. Effects of adjustable gastric banding on gastroesophageal reflux and esophageal motility: a systematic review. *Obes Rev* 2010; 11: 297-305 [PMID: 19563457 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2009.00622.x]
  - 40 Dallemagne B, Weerts JM, Jehaes C, Markiewicz S, Lombard R. Laparoscopic Nissen fundoplication: preliminary report. *Surg Laparosc Endosc* 1991; 1: 138-143 [PMID: 1669393]
  - 41 Peters MJ, Mukhtar A, Yunus RM, Khan S, Pappalardo J, Memon B, Memon MA. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing open and laparoscopic anti-reflux surgery. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1548-1561; quiz 1547, 1562 [PMID: 19491872 DOI: 10.1038/ajg.2009.176]
  - 42 Frezza EE, Ikramuddin S, Gourash W, Rakitt T, Kingston A, Luketich J, Schauer P. Symptomatic improvement in gastroesophageal reflux disease (GERD) following laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Endosc* 2002; 16: 1027-1031 [PMID: 11984683]
  - 43 Hill AD, Walsh TN, Bolger CM, Byrne PJ, Hennessy TP. Randomized controlled trial comparing Nissen fundoplication and the Angelchik prosthesis. *Br J Surg* 1994; 81: 72-74 [PMID: 8313128]
  - 44 Jalil O, Zia MK, Hassn A, Morcos P. Laparoscopic Nissen fundoplication for the management of failed Angelchik prosthesis. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2011; 21: 77-80 [PMID: 21190477 DOI: 10.1089/lap.2010.0363]
  - 45 Bonavina L, Saino G, Lipham JC, Demeester TR. LINX(®) Reflux Management System in chronic gastroesophageal reflux: a novel effective technology for restoring the natural barrier to reflux. *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6: 261-268 [PMID: 23814607 DOI: 10.1177/1756283X13486311]
  - 46 Narsule CK, Wee JO, Fernando HC. Endoscopic management of gastroesophageal reflux disease: a review. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 144: S74-S79 [PMID: 22513318 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2012.03.025]
  - 47 Thomson MA. Endoscopic approaches to the treatment of GERD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53 Suppl 2: S11-S13 [PMID: 22235451]
  - 48 Smith CD. SAGES clinical spotlight review: endoluminal treatments for gastroesophageal reflux disease (GERD). *Surg Endosc* 2013; 27: 2655-2657 [PMID: 23689835 DOI: 10.1007/s00464-013-3011-7]
  - 49 Testoni PA, Testoni S, Mazzoleni G, Vailati C, Passaretti S. Long-term efficacy of transoral incisionless fundoplication with Esophyx (Tif 2.0) and factors affecting outcomes in GERD patients followed for up to 6 years: a prospective single-center study. *Surg Endosc* 2015; 29: 2770-2780 [PMID: 25480624]
  - 50 Auyang ED, Carter P, Rauth T, Fanelli RD. SAGES clinical spotlight review: endoluminal treatments for gastroesophageal reflux disease (GERD). *Surg Endosc* 2013; 27: 2658-2672 [PMID: 23801538 DOI: 10.1007/s00464-013-3010-8]
  - 51 Johnson DA, Ganz R, Aisenberg J, Cohen LB, Deviere J, Foley TR, Haber GB, Peters JH, Lehman GA. Endoscopic, deep mural implantation of Enteryx for the treatment of GERD: 6-month follow-up of a multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 250-258 [PMID: 12591037]
  - 52 Cicala M, Gabbriellini A, Emerenziani S, Guarino MP, Ribolsi M, Caviglia R, Costamagna G. Effect of

- endoscopic augmentation of the lower oesophageal sphincter (Gatekeeper reflux repair system) on intraoesophageal dynamic characteristics of acid reflux. *Gut* 2005; 54: 183-186 [PMID: 15647177]
- 53 Yamamoto SR, Hoshino M, Nandipati KC, Lee TH,

Mittal SK. Long-term outcomes of reintervention for failed fundoplication: redo fundoplication versus Roux-en-Y reconstruction. *Surg Endosc* 2014; 28: 42-48 [PMID: 24196537 DOI: 10.1007/s00464-013-3154-6]

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》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、特别行政区和美国的1039位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

## 全能干细胞在肝脏方向分化研究的进展

吉斐, 胡安斌

吉斐, 胡安斌, 中山大学附属第一医院器官移植中心 广东省广州市 510080

胡安斌, 教授, 主要从事肝脏移植、肝脏外科、胰腺移植及小肠移植等研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81371693, 81172831  
广州市产学研协同创新重大专项民生科技项目, No. 2060404  
广东省科技计划基金资助项目, Nos. 2013B010404016, 2012B031800257  
广东省自然科学基金资助项目, No. S2013010015935

作者贡献分布: 本文综述由吉斐在胡安斌指导下完成; 胡安斌修改并审校。

通讯作者: 胡安斌, 教授, 硕士生导师, 510080, 广东省广州市越秀区中山二路58号, 中山大学附属第一医院器官移植中心。  
anbinh@163.com  
电话: 020-87755766

收稿日期: 2015-04-29  
修回日期: 2015-05-26  
接受日期: 2015-08-04  
在线出版日期: 2015-11-18

### Hepatic differentiation of pluripotent stem cells

Fei Ji, An-Bin Hu

Fei Ji, An-Bin Hu, Organ Transplant Center, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81371693, 81172831; People's Welfare Scientific and Technological Projects of Guangzhou City, No. 2060404, Scientific and Technological Projects of Guangdong Province, Nos. 2013B010404016, 2012B031800257; Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. S2013010015935

Correspondence to: An-Bin Hu, Professor, Organ Transplant Center, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 58 Zhongshan Er Road, Yuexiu District, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. anbinh@163.com

Received: 2015-04-29  
Revised: 2015-05-26  
Accepted: 2015-08-04  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

Pluripotent stem cell mainly contain two types: embryonic stem cell (ESC) and induced pluripotent stem cell (iPSC). Their hepatic differentiation and application in transplantation may make them serve as new seed cells for replacement therapy and become an effective adjunctive therapy for end-stage hepatic diseases. Recently, great progress has been made in the research of stem cell technology. For example, iPSCs can maintain pluripotency, and the application of iPSCs can avoid the ethical issues associated with the use of ESCs. The research of differentiation of stem cells has greatly shifted from differentiation into hepatic single-cell lineage to differentiation into liver tissues. All of these can improve the development of replacement therapy, and update the basic knowledge of ectogenesis of the liver.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Embryonic stem cells; Induced pluripotent stem cells; Liver; Differentiation

Ji F, Hu AB. Hepatic differentiation of pluripotent stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5101-5106  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5101.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5101>

### 摘要

全能干细胞主要包括胚胎干细胞(embryonic

### 背景资料

肝脏移植是终末期肝病的唯一有效疗法, 但由于供肝的不足, 大部分病患需替代治疗, 肝细胞和肝脏组织等肝功能替代物也急需新的来源, 全能干细胞由于其全能分化性和无限增殖能力的特性而备受关注。

### 同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

## ■ 研究前沿

全能干细胞向肝脏的分化研究显示分化形成的肝脏组织除了肝细胞和胆管上皮细胞出现外, 还有内皮细胞和血管生成标志物血管内皮生长因子受体1、CD31/血小板内皮细胞黏附分子1的表达, 并出现了许多脉管网状结构, 其间分布着白蛋白(albumin)阳性的类肝系细胞和CK19阳性的胆管上皮细胞。

stem cell, ESC)和自体诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)两类, 其在肝脏方向的分化及移植应用, 可为肝细胞替代治疗提供新的细胞来源, 有望成为终末期肝病的有效辅助疗法。近年干细胞技术在肝脏领域研究进展迅速, 如iPSC可在保留全能分化性的同时大大减轻ESC应用面临的伦理及免疫排斥问题, 同时干细胞分化水平也逐渐从肝系细胞的单细胞状态提升到肝脏组织的高度。这些进展一方面推动了肝功能替代治疗技术进步; 另一方面也促进了肝脏器官体外发育基础理论的丰富和更新。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胚胎干细胞; 自体诱导多能干细胞; 肝脏; 分化

**核心提示:** 近些年干细胞技术在肝脏领域研究进展迅速, 全能干细胞可为肝细胞替代治疗提供新的细胞来源, 有望成为终末期肝病的有效辅助疗法, 同时干细胞分化水平也逐渐从肝系细胞的单细胞状态提升到肝脏组织的高度, 从而促进了肝功能替代治疗技术的进步。

吉斐, 胡安斌. 全能干细胞在肝脏方向分化研究的进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5101-5106 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5101.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5101>

## 0 引言

病毒性肝炎和药物等原因导致的肝功能衰竭等终末期肝病, 肝脏移植是其唯一有效疗法<sup>[1-4]</sup>。目前全球约有5亿肝病患者需肝功能替代治疗, 大部分患者由于供肝严重不足等原因而无法施行肝移植<sup>[5-9]</sup>, 急需肝细胞移植和生物人工肝等肝功能过渡替代治疗<sup>[10-12]</sup>。因此, 肝细胞和肝脏组织等肝功能替代物也急需新的来源。胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)是来源于囊胚内细胞团的全能干细胞, 具备全能分化性和无限增殖能力<sup>[13-15]</sup>, 很早即体现了向肝细胞分化的能力, 但分化移植应用面临的伦理及排斥问题仍未解决。自体诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是将自体成体细胞导入重编程基因, 使细胞重编程并去分化达到ESC分化水平的干细胞技术<sup>[16]</sup>, 可在具备全能分化性和向肝细胞分化的同时, 大大减轻ESC应用所面临的伦理和排斥问题<sup>[17,18]</sup>。同时, 就分

化技术和水平而言, ESC和iPSC在肝脏方向的分化, 也从单细胞状态逐渐向肝脏组织水平进展提高, 从而体现了干细胞本身和其分化技术水平的进步, 本文就这方面的进展做一分析和评价。

## 1 ESC和iPSC向肝细胞分化

**1.1 ESC向肝细胞的分化** ESC最初从小鼠囊胚中的内细胞团分离建系, 具有分化为所有组织类型和细胞的潜能。肝细胞属内胚层消化上皮细胞, 其分化需内皮细胞、中胚层细胞和间质细胞的诱导。这种协同诱导方式可在ESC体外首先发育形成的拟胚体(embryoid body, EB)阶段实现, EB是ESC体外重演胚胎发育部分过程的产物, 类似体内囊胚阶段并包含三胚层细胞。早期, Hamazaki等<sup>[19]</sup>将ESC体外培养5 d形成的EB贴壁培养于培养板中, 再模拟体内肝脏发育所需的生长因子, 依次加入成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和制瘤素(oncostatin, OSM)等并分别作为早、中、晚期诱导剂, 连续诱导9 d后分析结果, 发现实验组检测到6-磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate, G6P)和酪氨酸氨基转移酶(tyrosineaminotransferase, TAT)两种成熟肝细胞酶的基因表达, 白蛋白(albumin, ALB)的表达量也提高9.5倍, 进一步检测表明培养系统中分化出现了成熟肝细胞。在此阶段, 其他研究者包括本课题组也通过EB阶段定向分化获得肝细胞和胆管细胞等, 在我们的肝细胞分离和再培养系统中, 我们将肝细胞和胆管细胞的分化效率提高到72.6%<sup>[20]</sup>和7.4%<sup>[21]</sup>, 为细胞修复和肝脏组织工程学提供了丰富的细胞来源。

后来, Ishii等<sup>[22]</sup>研究了EB阶段对ESC向肝细胞分化的影响, 发现联合激活素A(activin A)诱导分化时, 不经过EB阶段的ESC分化效果更好, 还发现Activin A和Wnt3a一起可以加快限定性内胚层的形成并能诱导更多类肝细胞的产生<sup>[23,24]</sup>。FGF和骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMPs)在肝诱导过程中有着重要意义, 两者联合使用可有效的促进ALB的表达<sup>[25,26]</sup>, 同时可以观察到肝性标志物上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)、细胞角蛋白(cytokeratin, CK)7、CK19表达阳性的细胞成簇出现<sup>[27]</sup>。

## ■ 相关报道

Hu等报道上皮型钙黏蛋白(E-cad)通过促进细胞黏附和降低细胞分化增殖中的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)水平, 而使胚胎干细胞(embryonic stem cell)在向肝方向分化时保持三维立体结构, 从而有利于肝脏组织的形成。



1.2 iPSC向肝细胞的分化 2007-11, 日本和美国科学家<sup>[28,29]</sup>分别宣布发现利用反转录病毒将*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*和*c-myc*基因导入人体皮肤细胞, 转化得到与ESC功能相同的全能干细胞, 称为iPSC. iPSC具有和ESC类似的功能, 细胞处于原始状态, 分化能力强且具有无限增殖能力, 并避开了ESC研究中面临的伦理和法律问题<sup>[30]</sup>. 同时, 因为来源于自体细胞, 移植应用亦可避免免疫排斥问题. 由于以上优点, iPSC出现后迅速成为干细胞分化及移植研究中的新兴力量<sup>[30]</sup>.

同ESC类似, iPSC可在某些化学物质或者诱导因子作用下向肝细胞分化. 诱导过程一般分三个步骤<sup>[31-35]</sup>, 首先Activin A、Wnt3a或*Foxa2*可将iPSC转化为限定性内胚层细胞, 并促进其转化为肝前体细胞, 随后, 肝细胞特异生长因子FGFs、BMPs以及HGF可使其向肝系细胞分化, OSM和地塞米松(dexamethasone, DXM)使其分化为成熟的类肝细胞. 利用RT-PCR或者免疫荧光方法可检测到诱导后的类肝细胞表达肝性标志物ALB、甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)、CK8/18/19、肝细胞功能蛋白细胞色素P450 1A2(cytochrome P450 1A2, CYP1A2)以及转甲状腺素蛋白(transferrin, TTR)并且具有尿素合成和糖原储备能力<sup>[18,36]</sup>. Ogawa等<sup>[37]</sup>研究发现在培养基中加入环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)能够有效促进iPSC向类肝细胞分化和成熟, Ratzliff等<sup>[38]</sup>将ESC和iPSC与小鼠胚胎成纤维细胞(Swiss 3T3细胞)进行3D共培养, 发现其分泌的I型胶原能够显著促进类肝细胞的成熟. 细胞呈多边形或立方形肝细胞形态, 出现双核或多核细胞核, 胞浆丰富呈索状排列, 电镜下还可看到丰富的线粒体、过氧化物酶体、脂质体、完整的高尔基体以及微绒毛和囊泡, 肝细胞侧面还有与毛细胆管分布相一致的连接复合体. 最后, 将分化的肝细胞移植体内, 发现肝细胞可以整合到受体肝组织内并进一步发挥成熟肝细胞功能<sup>[39]</sup>.

## 2 干细胞向肝脏组织的分化

目前, ESC向肝系细胞的诱导分化已经取得很大进展, 但分化细胞多呈单细胞状态而不能形成肝组织, 国外Ogawa等<sup>[37]</sup>曾报道ESC分化为肝细胞组织化现象, Tsutsui等<sup>[40]</sup>检测到小鼠

ESC分化为肝组织, 发现分化的肝组织不仅能够表达*Cyp2b5*、*Cyp2b10*和*Cyp3a11*等基因, 还能表达肝特异性的*Cyp7a1*, 从而证明了肝组织的存在. 另外, 我们研究<sup>[41]</sup>结果显示ESC分化形成的肝脏组织除了肝细胞和胆管上皮细胞出现外, 还有内皮细胞和血管生成标志物血管内皮生长因子受体1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR-1)、CD31/血小板内皮细胞黏附分子1(platelet endothelial cell adhesion molecule 1, PECAM-1)的表达, 并出现了许多脉管网状结构<sup>[42]</sup>, 其间分布着ALB阳性的类肝系细胞和CK19阳性的胆管上皮细胞. 从功能学和形态学上均提示, 分化系统中形成了包含肝细胞、胆管上皮细胞、内皮细胞和血管网在内的类肝脏组织结构. 我们进一步研究<sup>[42]</sup>表明上皮型钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)通过促进细胞黏附和降低细胞分化增殖中的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)水平, 而使ESC在向肝方向分化时保持三维立体结构, 从而有利于肝脏组织的形成.

在早期肝脏分化过程中, 来自前肠内胚层的肝特异性细胞分化形成肝芽需要内胚层上皮细胞、间质细胞以及内皮细胞的相互作用, 因此, 采用共培养的方式能模拟发育进程中的细胞的相互作用以及影响. 研究<sup>[42]</sup>显示ESC或分化的ESC与肝脏非实质细胞、胎肝细胞共培养, 对于ESC向肝细胞分化具有重要意义. 但目前共培养如何影响分化进程和细胞表型, 仍然不很清楚. Hui等<sup>[43]</sup>与Takebe等<sup>[44,45]</sup>将人iPSC与间质细胞、脐静脉内皮细胞、间充质干细胞共培养, 48 h后分化成立体结构的细胞簇, PCR检测示肝特异性基因表达, 并检测到间质细胞相关的FGF和BMP信号通路表达上调, 表明间质细胞相关的旁分泌对肝芽的形成非常重要. 进一步将体外培养形成的肝芽植入裸鼠体内, 移植后48 h即可发现肝芽新生血管与受体血管相连并有血流灌注, 新生血管在形态和密度上跟成熟肝脏血管相似, 功能性血管形成后进一步刺激肝芽的成熟从而形成肝脏组织. 显微镜下可看到肝索状结构, 并表达细胞间紧密连接蛋白1(zona occludens 1, ZO1)、ALB、CK8/18、ASGR1(asialoglycoprotein receptor 1)以及IV型胶原. 将该类肝组织移植后, 血中ALB浓度较前期报道的ALB浓度高

### ■创新盘点

全能干细胞在肝脏的分化从单细胞状态逐渐向肝脏组织水平进展提高, 体现了干细胞本身和其分化技术水平的进步, 为终末期肝病的治疗提供新思路.

## 应用要点

对遗传性肝脏疾病采用干细胞进行基因介入治疗是最新发展起来并具有广泛应用前景的肝脏病治疗策略, 对终末期肝病的治疗采用干细胞分化形成的人工肝脏器官进行器官移植, 这些对于病毒性肝炎高发的中国具有长远意义。

5-10倍, 细胞色素P450功能活性增强, 并显著改善了小鼠肝损伤模型的预后。

## 3 干细胞向肝组织分化的应用前景

各种原因所致的肝功能不全与肝功能衰竭严重威胁着人类健康, 肝细胞移植及生物人工肝在肝病治疗中取得了一定研究进展。目前以干细胞为基础的肝病治疗主要包括肝脏基因表达或蛋白分泌异常的疾病, 包括遗传疾病、代谢缺陷性疾病、凝血障碍疾病。有学者<sup>[46]</sup>将ESC经过诱导分化, 再与肝非实质细胞进一步共培养, 经过*ALB*启动子驱动荧光蛋白表达并进行富集, 将种入该细胞的肝支持设备整体移植入受损的肝脏组织中, 明显改善了肝衰竭小鼠的存活率。另有报道<sup>[47]</sup>将能够在*AFP*启动子作用下表达Hyg/EGFP的转基因ESC经过诱导, 分化成表达AFP的内胚叶细胞并移植入肝衰竭小鼠, 可以明显改善动物的短期存活率。

另外, iPSC来源的肝细胞在肝癌细胞株或肝细胞进行药物的筛选研究中也具有重要的作用, 尤其是来源于具有不同细胞色素P450多肽个体的iPSC来源的肝细胞在预测新药物的肝毒性方面具有重要价值<sup>[48]</sup>, 并且疾病特异性iPSC来源的肝细胞可以用来进行新药物的开发和研究<sup>[49,50]</sup>。

## 4 展望及存在的问题

ESC和iPSC的无限增殖能力、多向分化潜能以及外源基因高效转染系统的建立为其诱导分化产生肝细胞的研究奠定了坚实的基础, 长远来看, 对肝功能衰竭疾病采用ESC或iPSC分化形成人工肝脏器官以用于器官移植治疗也将成为可能。另外, 对遗传性肝脏疾病采用干细胞基因介入治疗, 也是最新发展并具有广泛应用前景的肝脏病治疗策略。因此, 全能干细胞向肝脏方向分化研究已经取得很大进展, 相信也很快将会为肝细胞移植、肝组织工程以及生物人工肝脏器官等治疗手段提供有效的细胞来源。但是, 该领域研究也存在很多问题, 如不同的诱导体系分化得到肝脏在基因、蛋白表达、成熟程度和功能等方面存在较大的差异, 经过转入外源基因后的iPSC和经过体外培养后, 再输入体内亦会产生排斥反应, 并仍有致畸的可能, 这些都是下一步研究亟需解决的理论和技术难题。

## 5 结论

全能干细胞在肝脏方向的分化研究具有广阔的临床应用前景, 但距临床应用还有一定距离, 随着研究水平的提高和深入, 其在肝脏疾病的研究和治疗方面的作用将突显, 尤其对于我国病毒性肝炎高发的状况具有更长远的意义。

## 6 参考文献

- Gonzalez SA, Keffe EB. Chronic viral hepatitis: epidemiology, molecular biology, and antiviral therapy. *Front Biosci* (Landmark Ed) 2011; 16: 225-250 [PMID: 21196168 DOI: 10.2741/3685]
- Starzl TE, Fung JJ. Themes of liver transplantation. *Hepatology* 2010; 51: 1869-1884 [PMID: 20235333 DOI: 10.1002/hep.23595]
- Schwartz RE, Fleming HE, Khetani SR, Bhatia SN. Pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells. *Biotechnol Adv* 2014; 32: 504-513 [PMID: 24440487 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.01.003]
- Jaurigue MM, Cappell MS. Therapy for alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2143-2158 [PMID: 24605013 DOI: 10.3748/wjg.v20.i9.2143]
- Regalia K, Zheng P, Sillau S, Aggarwal A, Bellevue O, Fix OK, Prinz J, Dunn S, Biggins SW. Demographic factors affect willingness to register as an organ donor more than a personal relationship with a transplant candidate. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 1386-1391 [PMID: 24519521 DOI: 10.1007/s10620-014-3053-2]
- Perera MT, Mirza DF, Elias E. Liver transplantation: Issues for the next 20 years. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24 Suppl 3: S124-S131 [PMID: 19799690 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06081.x]
- Merion RM, Sharma P, Mathur AK, Schaubel DE. Evidence-based development of liver allocation: a review. *Transpl Int* 2011; 24: 965-972 [PMID: 21615548 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2011.01274.x]
- Howard K, Jan S, Rose JM, Wong G, Irving M, Tong A, Craig JC, Chadban S, Allen RD, Cass A. Community preferences for the allocation of donor organs for transplantation: a discrete choice study. *Transplantation* 2015; 99: 560-567 [PMID: 25700169 DOI: 10.1097/TP.0000000000000365]
- Roach DR, Garrett WM, Welch G, Caperna TJ, Talbot NC, Shapiro EM. Magnetic cell labeling of primary and stem cell-derived pig hepatocytes for MRI-based cell tracking of hepatocyte transplantation. *PLoS One* 2015; 10: e0123282 [PMID: 25856627 DOI: 10.1371/journal.pone.0123282]
- Chen AA, Thomas DK, Ong LL, Schwartz RE, Golub TR, Bhatia SN. Humanized mice with ectopic artificial liver tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 11842-11847 [PMID: 21746904 DOI: 10.1073/pnas.1101791108]
- Dhawan A, Strom SC, Sokal E, Fox IJ. Human hepatocyte transplantation. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 525-534 [PMID: 20645072 DOI: 10.1007/978-1-60761-688-7\_29]
- Fox IJ, Roy-Chowdhury J. Hepatocyte transplantation. *J Hepatol* 2004; 40: 878-886 [PMID: 15311111 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.05.011]

- 15158325 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.04.009]
- 13 O'Leary T, Heindryckx B, Lierman S, van Bruggen D, Goeman JJ, Vandewoestyne M, Deforce D, de Sousa Lopes SM, De Sutter P. Tracking the progression of the human inner cell mass during embryonic stem cell derivation. *Nat Biotechnol* 2012; 30: 278-282 [PMID: 22371082 DOI: 10.1038/nbt.2135]
  - 14 Amit M, Itskovitz-Eldor J. Methods for the Derivation of Human Embryonic Stem Cell Lines[M]//Atlas of Human Pluripotent Stem Cells. Humana Press, 2012: 1-14
  - 15 Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147 [PMID: 9804556 DOI: 10.1126/science.282.5391.1145]
  - 16 Vogel G. Breakthrough of the year. Reprogramming Cells. *Science* 2008; 322: 1766-1767 [PMID: 19095902 DOI: 10.1126/science.322.5909.1766]
  - 17 Dalgetty DM, Medine CN, Iredale JP, Hay DC. Progress and future challenges in stem cell-derived liver technologies. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G241-G248 [PMID: 19520740 DOI: 10.1152/ajpgi.00138.2009]
  - 18 Espejel S, Roll GR, McLaughlin KJ, Lee AY, Zhang JY, Laird DJ, Okita K, Yamanaka S, Willenbring H. Induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes have the functional and proliferative capabilities needed for liver regeneration in mice. *J Clin Invest* 2010; 120: 3120-3126 [PMID: 20739754 DOI: 10.1172/JCI43267]
  - 19 Hamazaki T, Iiboshi Y, Oka M, Papst PJ, Meacham AM, Zon LI, Terada N. Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vitro. *FEBS Lett* 2001; 497: 15-19 [PMID: 11376655 DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02423-1]
  - 20 Hu AB, Cai JY, Zheng QC, He XQ, Shan Y, Pan YL, Zeng GC, Hong A, Dai Y, Li LS. High-ratio differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes in vitro. *Liver Int* 2004; 24: 237-245 [PMID: 15189275 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2004.0910.x]
  - 21 Hu AB, He XS, Cai JY, Zheng QC, Lei TN, Guo ZG. Hepatic differentiation of mouse ES cells into BE cells in vitro. *Cell Biol Int* 2006; 30: 459-465 [PMID: 16600644 DOI: 10.1016/j.cellbi.2006.01.006]
  - 22 Ishii T, Fukumitsu K, Yasuchika K, Adachi K, Kawase E, Suemori H, Nakatsuji N, Ikai I, Uemoto S. Effects of extracellular matrixes and growth factors on the hepatic differentiation of human embryonic stem cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G313-G321 [PMID: 18535293 DOI: 10.1152/ajpgi.00072.2008]
  - 23 Hay DC, Fletcher J, Payne C, Terrace JD, Gallagher RC, Snoeys J, Black JR, Wojtacha D, Samuel K, Hannoun Z, Pryde A, Filippi C, Currie IS, Forbes SJ, Ross JA, Newsome PN, Iredale JP. Highly efficient differentiation of hESCs to functional hepatic endoderm requires ActivinA and Wnt3a signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 12301-12306 [PMID: 18719101 DOI: 10.1073/pnas.0806522105]
  - 24 Behbahan IS, Duan Y, Lam A, Khoobyari S, Ma X, Ahuja TP, Zern MA. New approaches in the differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells toward hepatocytes. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 748-759 [PMID: 21336836 DOI: 10.1007/s12015-010-9216-4]
  - 25 Si-Tayeb K, Noto FK, Nagaoka M, Li J, Battle MA, Duris C, North PE, Dalton S, Duncan SA. Highly efficient generation of human hepatocyte-like cells from induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2010; 51: 297-305 [PMID: 19998274 DOI: 10.1002/hep.23354]
  - 26 Cai J, Zhao Y, Liu Y, Ye F, Song Z, Qin H, Meng S, Chen Y, Zhou R, Song X, Guo Y, Ding M, Deng H. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells. *Hepatology* 2007; 45: 1229-1239 [PMID: 17464996 DOI: 10.1002/hep.21582]
  - 27 Brolén G, Sivertsson L, Björquist P, Eriksson G, Ek M, Semb H, Johansson I, Andersson TB, Ingelman-Sundberg M, Heins N. Hepatocyte-like cells derived from human embryonic stem cells specifically via definitive endoderm and a progenitor stage. *J Biotechnol* 2010; 145: 284-294 [PMID: 19932139 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.11.007]
  - 28 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861-872 [PMID: 18035408 DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.019]
  - 29 Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin IL, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318: 1917-1920 [PMID: 18029452 DOI: 10.1126/science.1151526]
  - 30 Zacharias DG, Nelson TJ, Mueller PS, Hook CC. The science and ethics of induced pluripotency: what will become of embryonic stem cells? *Mayo Clin Proc* 2011; 86: 634-640 [PMID: 21719620 DOI: 10.4065/mcp.2011.0054]
  - 31 Song Z, Cai J, Liu Y, Zhao D, Yong J, Duo S, Song X, Guo Y, Zhao Y, Qin H, Yin X, Wu C, Che J, Lu S, Ding M, Deng H. Efficient generation of hepatocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells. *Cell Res* 2009; 19: 1233-1242 [PMID: 19736565 DOI: 10.1038/cr.2009.107]
  - 32 Sullivan GJ, Hay DC, Park IH, Fletcher J, Hannoun Z, Payne CM, Dalgetty D, Black JR, Ross JA, Samuel K, Wang G, Daley GQ, Lee JH, Church GM, Forbes SJ, Iredale JP, Wilmot I. Generation of functional human hepatic endoderm from human induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2010; 51: 329-335 [PMID: 19877180 DOI: 10.1002/hep.23335]
  - 33 Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep* 2013; 1: 57-64 [PMID: 24648894]
  - 34 Ng S, Schwartz RE, March S, Galstian A, Gural N, Shan J, Prabhu M, Mota MM, Bhatia SN. Human iPSC-derived hepatocyte-like cells support Plasmodium liver-stage infection in vitro. *Stem Cell Reports* 2015; 4: 348-359 [PMID: 25660406 DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.01.002]
  - 35 Chen YF, Tseng CY, Wang HW, Kuo HC, Yang VW, Lee OK. Rapid generation of mature hepatocyte-like cells from human induced

# ■名词解释

上皮间质转化(EMT):是指上皮细胞在特定的生理和病理情况下向间质细胞转化的现象。



# 同行评价

随着对干细胞包括全能干细胞的认识深入, 对再生医学的发展起到了极大的推动作用。肝脏作为人体重要的实质脏器, 干细胞在其生理、病理过程中有着广泛而复杂的功能。本文对全能干细胞在肝脏的分化方面的研究进展以及自己的研究结果进行了简要评述与总结, 提出干细胞的临床应用前景与需要解决的关键问题, 有参考价值, 使用文献较新。

- pluripotent stem cells by an efficient three-step protocol. *Hepatology* 2012; 55: 1193-1203 [PMID: 22095466 DOI: 10.1002/hep.24790]
- 36 Chaudhari P, Prasad N, Tian L, Jang YY. Determination of Functional Activity of Human iPSC-Derived Hepatocytes by Measurement of CYP Metabolism. *Methods Mol Biol* 2014 Nov 20. [Epub ahead of print] [PMID: 25410290 DOI: 10.1007/7651\_2014\_145]
- 37 Ogawa S, Surapisitchat J, Virtanen C, Ogawa M, Niapour M, Sugamori KS, Wang S, Tamblyn L, Guillemette C, Hoffmann E, Zhao B, Strom S, Laposa RR, Tyndale RF, Grant DM, Keller G. Three-dimensional culture and cAMP signaling promote the maturation of human pluripotent stem cell-derived hepatocytes. *Development* 2013; 140: 3285-3296 [PMID: 23861064 DOI: 10.1242/dev.090266]
- 38 Ratzliff V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L, Podevin P, Lacorte JM, Bernhardt C, Bruckert E, Grimaldi A, Poynard T. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology* 2008; 135: 100-110 [PMID: 18503774 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.078]
- 39 Bokhari M, Carnachan RJ, Cameron NR, Przyborski SA. Novel cell culture device enabling three-dimensional cell growth and improved cell function. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 354: 1095-1100 [PMID: 17276400 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.01.105]
- 40 Tsutsui M, Ogawa S, Inada Y, Tomioka E, Kamiyoshi A, Tanaka S, Kishida T, Nishiyama M, Murakami M, Kuroda J, Hashikura Y, Miyagawa S, Satoh F, Shibata N, Tagawa Y. Characterization of cytochrome P450 expression in murine embryonic stem cell-derived hepatic tissue system. *Drug Metab Dispos* 2006; 34: 696-701 [PMID: 16415121 DOI: 10.1021/bm-01124a005]
- 41 Hu A, Shang C, Li Q, Sun N, Wu L, Ma Y, Jiao X, Min J, Zeng G, He X. Epithelial-mesenchymal transition delayed by E-cad to promote tissue formation in hepatic differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro. *Stem Cells Dev* 2014; 23: 877-887 [PMID: 24266635 DOI: 10.1089/scd.2013.0354]
- 42 Fox IJ, Duncan SA. Engineering liver tissue from induced pluripotent stem cells: a first step in generating new organs for transplantation? *Hepatology* 2013; 58: 2198-2201 [PMID: 24114924 DOI: 10.1002/hep.26737]
- 43 Hui EE, Bhatia SN. Micromechanical control of cell-cell interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 5722-5726 [PMID: 17389399 DOI: 10.1073/pnas.0608660104]
- 44 Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, Zhang RR, Ueno Y, Zheng YW, Koike N, Aoyama S, Adachi Y, Taniguchi H. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 2013; 499: 481-484 [PMID: 23823721 DOI: 10.1038/nature12271]
- 45 Takebe T, Zhang RR, Koike H, Kimura M, Yoshizawa E, Enomura M, Koike N, Sekine K, Taniguchi H. Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nat Protoc* 2014; 9: 396-409 [PMID: 24457331 DOI: 10.1038/nprot.2014.020]
- 46 Soto-Gutiérrez A, Kobayashi N, Rivas-Carrillo JD, Navarro-Alvarez N, Zhao D, Okitsu T, Noguchi H, Basma H, Tabata Y, Chen Y, Tanaka K, Narushima M, Miki A, Ueda T, Jun HS, Yoon JW, Lebkowski J, Tanaka N, Fox IJ. Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 1412-1419 [PMID: 17086173 DOI: 10.1038/nbt1257]
- 47 Ishii T, Yasuchika K, Machimoto T, Kamo N, Komori J, Konishi S, Suemori H, Nakatsuji N, Saito M, Kohno K, Uemoto S, Ikai I. Transplantation of embryonic stem cell-derived endodermal cells into mice with induced lethal liver damage. *Stem Cells* 2007; 25: 3252-3260 [PMID: 17885077 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0199]
- 48 Heppner KM, Perez-Tilve D. GLP-1 based therapeutics: simultaneously combating T2DM and obesity. *Front Neurosci* 2015; 9: 92 [PMID: 25852463 DOI: 10.3389/fnins.2015.00092]
- 49 Yamanaka S. A fresh look at iPS cells. *Cell* 2009; 137: 13-17 [PMID: 19345179 DOI: 10.1016/j.cell.2009.03.034]
- 50 Zhou WL, Medine CN, Zhu L, Hay DC. Stem cell differentiation and human liver disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2018-2025 [PMID: 22563188 DOI: 10.3748/wjg.v18.i17.2018]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## 自噬-非酒精性脂肪肝病的治疗新靶向

毛雨晴, 樊晓明

毛雨晴, 樊晓明, 复旦大学附属金山医院消化内科 上海市 201508

樊晓明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肝损伤、肝纤维化等消化系统疾病及消化系肿瘤的化学预防及信号传导研究。

上海市卫生局基金资助项目, No. 2010075  
上海市自然科学基金资助项目, No. 11ZR1405700  
上海市医学重点专科建设计划基金资助项目, No. ZK2012B20

作者贡献分布: 本文由毛雨晴评述; 樊晓明审阅。

通讯作者: 樊晓明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 201508, 上海市金山区龙航路1508号, 复旦大学附属金山医院消化内科。  
xiaomingfan57@hotmail.com  
电话: 021-57949999-490

收稿日期: 2015-04-30  
修回日期: 2015-06-01  
接受日期: 2015-06-10  
在线出版日期: 2015-11-18

### Autophagy, a new target for non-alcoholic fatty liver disease therapy

Yu-Qing Mao, Xiao-Ming Fan

Yu-Qing Mao, Xiao-Ming Fan, Department of Gastroenterology, Jinshan Hospital, Affiliated of Fudan University, Shanghai 201508, China

Supported by: Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 2010075; Foundation of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality, No. 11ZR1405700; Foundation of Key Clinical Discipline Construction Program of Shanghai Municipality, No. ZK2012B20

Correspondence to: Xiao-Ming Fan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jinshan Hospital, Affiliated of Fudan University, 1508 Longhang Road, Jinshan District, Shanghai 201508, China. xiaomingfan@hotmail.com

Received: 2015-04-30  
Revised: 2015-06-01

Accepted: 2015-06-10  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

The importance of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has increased among human liver diseases with the change of diet structure in recent decades worldwide. NAFLD occurs as a spectrum from simple hepatic steatosis, steatohepatitis to cirrhosis, and even hepatocellular carcinoma. Although the molecular mechanisms of NAFLD have been intensively investigated, effective therapeutic methods are still lacking. Autophagy is a cell survival mechanism for self-digesting excess or defective organelles, which are used for materials and energy recycling. Recent studies have revealed that autophagy is closely linked to NAFLD. Autophagy reduces intracellular lipid droplets by enclosing them and fusing with lysosomes for degradation. Furthermore, autophagy is involved in attenuating inflammation and fibrosis, even hepatoma. However, autophagy is regarded as a double-edged sword, and the relationship between autophagy and NAFLD is controversial.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Autophagy; Steatosis; Steatohepatitis; Fibrosis; Carcinogenesis

Mao YQ, Fan XM. Autophagy, a new target for non-alcoholic fatty liver disease therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5107-5112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5107>

### ■背景资料

非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是目前常见的一种肝病, 经历从单纯脂肪变, 炎症损伤, 纤维化甚至肝癌的自然病程。目前除饮食控制和锻炼, 仍缺乏其治疗的有效药物。而自噬是细胞内自我消化的一种机制, 在许多系统疾病中都有作用。目前认为自噬是一把双刃剑。

### ■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

## ■ 研发前沿

自噬作为NAFLD治疗的新靶向, 将成为研究热点. 但自噬在噬脂性和脂质合成, 减轻炎症和细胞死亡, 激活星状细胞和降解胶原蛋白, 促进肿瘤或抑制肿瘤生长等方面都存在矛盾. 自噬的最佳时间, 程度, 是否存在组织或细胞特异性, 能否选择性被抑制, 都将成为亟待解决的问题.

## 摘要

随着饮食结构和生活方式的改变, 非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)在人类肝病谱中, 占据越来越重要的地位. NAFLD经历由单纯脂肪变性, 脂肪性肝炎、肝纤维化甚至肝癌的自然病程. 虽然NAFLD的分子机制已经被深入研究, 但目前仍缺乏有效的药物治疗方法. 自噬作为一种细胞内的自我保护机制, 能将细胞内损伤或多余的细胞成分进行自我消化, 并为细胞器重新合成提供物质和能量循环的过程, 可能在多种疾病的发生, 发展及治疗中起到重要作用. 研究表明, 自噬与NAFLD密切相关. 但是自噬是一把双刃剑, 目前与NAFLD的关系仍存在争议.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 非酒精性脂肪肝病; 自噬; 单纯脂肪变性; 脂肪性肝炎; 肝纤维化; 肝癌

**核心提示:** 自噬是一把双刃剑, 体现在单纯脂肪病变、炎症、纤维化及肿瘤等病变过程. 自噬或能通过吞噬降解脂滴减轻肝细胞内脂肪含量, 却在脂质和合成和成熟分化中起到作用. 自噬能减少细胞能量消耗, 改善炎症反应, 但过度自噬会导致细胞死亡. 自噬为纤维化中关键细胞-星状细胞的活化提供能量, 同时在细胞外基质的降解起到重要作用. 自噬能通过细胞死亡方式抑制肿瘤发展, 却也能帮助肿瘤度过能量缺乏的难关. 如果能合理利用, 自噬或能成为非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease)治疗的新靶点.

## ■ 相关报道

自噬是目前研究热点. 目前关于自噬和脂肪肝的研究主要着眼于自噬的吞噬功能. 多数研究认为自噬能通过增加细胞内脂滴降解减轻脂肪肝, 而关于自噬在脂质合成中作用的研究仍不多. 自噬在炎症损伤及肿瘤方面作用的研究也存在争议. 在纤维化方面, 多数研究认为自噬为星状细胞活化提供能量, 对自噬在胶原降解方面的研究仍较少.

毛雨晴, 樊晓明. 自噬-非酒精性脂肪肝病的治疗新靶向. 世界华人消化杂志. 2015; 23(32): 5107-5112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5107>

## 0 引言

研究表明, 自噬在非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生及发展起到最重要调节作用. 自噬能降解肝细胞内脂滴, 并减轻细胞炎症反应, 从而改善NAFLD病变. 此外, 自噬在肝纤维化及肝癌中也有调节作用. 自噬或能成为治疗NAFLD的新靶向.

## 1 NAFLD

NAFLD是全世界非常普遍的一种慢性肝病.

随着饮食结构和生活习惯的改变, 在肝脏疾病谱中占据日益重要的地位. NAFLD定义为排除过量饮酒或使用促脂肪变性药物, 遗传异常等引起肝脂肪变性的继发性因素后经影像学或组织学证据表明肝脏脂肪变性的肝病综合征, 经历由单纯脂肪性变发展为肝炎、肝硬化甚至肝癌的自然病程<sup>[1]</sup>. NAFLD与胰岛素抵抗、2型糖尿病有密切关系<sup>[2]</sup>. 研究<sup>[3]</sup>表明, NAFLD较非NAFLD患者而言, 有更高患动脉粥样硬化的风险, 并可能成为动脉硬化独立的危险因素. 目前, 除了饮食控制和健康锻炼, NAFLD仍缺乏有效的药物治疗方法.

## 2 自噬

自噬是一种依赖于溶酶体降解系统的对多余或损伤细胞器的自我消化过程, 为细胞合成新的细胞器提供原料及能量循环. 在正常情况下自噬表达较少, 但易受环境影响, 在饥饿、感染及肿瘤等情况下自噬表达增加, 通过降解损伤细胞器及错误折叠蛋白获得能量. 根据自噬发生机制和功能的不同可以分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)<sup>[4]</sup>. 但自噬是一把双刃剑<sup>[5]</sup>, 过度自噬激活会加重细胞损伤及死亡, 被称为II型程序性细胞死亡. 自噬的发生主要经过4个过程: 自噬膜形成, 自噬体形成, 自噬体运输及自噬溶酶体形成、降解过程<sup>[6]</sup>. 目前大于30种自噬相关的基因(autophagy related gene, Atg)在酵母中被发现, 部分在哺乳动物中存在同源体<sup>[7]</sup>. 微管相关轻链蛋白3(microtubule associated protein light chain 3, LC3)是自噬的主要生物标记蛋白<sup>[8]</sup>. 自噬相关的信号调节通路主要包括I型磷脂酰丝氨酸3激酶/蛋白激酶B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/PKB)通路, 负向调节自噬发生<sup>[9]</sup>; III型PI3K/Beclin-1通路, 正向调节自噬发生<sup>[10]</sup>; 腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)通路, 促进自噬过程<sup>[11]</sup>.

## 3 自噬和单纯脂肪变

3.1 自噬促进脂滴分解 研究<sup>[12]</sup>表明, 自噬能降解肝细胞内的脂滴, 从而改善脂肪肝. 这个过程可以成为噬脂性(lipophagy). 细胞内的脂滴被双膜结构的自噬小体包围, 并转运到溶酶体结合成为自噬溶酶体从而降解成为游离

脂肪酸. 增加的脂肪酸通过线粒体 $\beta$ 氧化, 产生能量<sup>[13]</sup>. Singh等<sup>[14]</sup>研究发现, 在脂肪酸刺激肝细胞形成脂肪肝的模型中, 3-甲基腺嘌呤(3-methyl adenine, 3-MA)干预组较未干预的细胞内脂质含量明显增加, 脂滴颗粒增大. 这一结果在体内模型中也得到证实. 自噬相关基因*Atg5*敲除的小鼠高脂饮食后比正常鼠肝细胞内脂质含量明显增加. 相反, 自噬激动剂-雷帕霉素刺激, 能明显降低肝细胞内的脂质含量<sup>[15]</sup>. 甲状腺激素, 人体主要的促进代谢的激素, 或能够通过增加自噬促进细胞内脂质的氧化分解, 而这种作用能被*Atg5*所阻断<sup>[16]</sup>. 最近研究还发现, 咖啡能够降低体内和体外脂肪肝模型中的脂质含量和 $\beta$ -羟基丁酸, 一种脂肪的分解产物, 并且增加LC3II, 即自噬活性增加的生物标记, 提示咖啡能通过增加自噬而达到改善脂肪肝的作用. 不仅如此, 肝细胞*Atg5*基因敲除后, 细胞内脂质含量明确增加,  $\beta$ 羟基丁酸含量下降, 提示脂肪分解也下降<sup>[17]</sup>. 此外, 自噬还能降低细胞内胆固醇水平, 在预防动脉硬化可能有保护作用<sup>[18]</sup>. 上述研究都表明自噬能促进脂滴的降解减轻脂肪肝.

**3.2 自噬调节脂肪合成和脂肪组织分化** 虽然多数研究支持自噬能促进脂滴降解减轻脂肪肝, 但是也有研究<sup>[8,19]</sup>认为, 自噬作为一种体内保护性的机制, 在脂质的合成以及脂肪组织的成熟分化都起到重要作用. Goldman等<sup>[20]</sup>研究发现, 敲除白色脂肪组织中的自噬基因7(*Atg7*)的小鼠比野生型小鼠的体型更小, 脂肪组织中在光镜下可见更多更小的脂肪细胞, 其内呈多腔室结构, 电镜下可见更多的线粒体. 相反, 野生型小鼠脂肪组织的细胞更大, 数量更少, 呈单腔结构, 电镜下线粒体较少. 这些结构, 自噬在白色脂肪组织的合成及线粒体稳态有重要作用. 在小鼠实验中敲除*Atg7*发现脂质的合成受到影响<sup>[21]</sup>. 类似地, Ma等<sup>[22]</sup>发现, 敲除小鼠*FIP200*基因, 一个哺乳动物自噬相关复合体1的核心亚单位基因, 在高脂饮食诱导脂肪肝后, 和正常鼠诱导脂肪肝后相比, 肝脏的脂质含量明显下降, 并且脂肪从头合成的酶也有所下调. 自噬不仅在脂肪合成中有作用, 并在白色脂肪组织的成熟和分化中发挥作用. 研究<sup>[23]</sup>表明敲除*Atg5*的小鼠胚胎纤维母细胞不能完成向脂肪细胞分化的过程, 大多形成较小的脂滴然后死亡. 此外, 线粒体稳态在脂肪分化过程中也

有作用. 在脂质合成和白色脂肪组织分化的早期, 脂肪细胞内的线粒体数量较多, 可能因线粒体氧化能为脂肪合成和分化提供能量和底物, 而在成熟脂肪细胞中的线粒体较少, 或许与对能量和底物的需求降低有关<sup>[24]</sup>. 而自噬能吞噬多余的线粒体, 称为线粒体自噬, 敲除自噬基因的细胞不能完成脂肪合成与分化合成, 或许与打破线粒体稳态有关.

研究发现自噬还能抑制白色脂肪组织向棕色脂肪组织的分化. 敲除脂肪组织*Atg7*基因降低了白色脂肪含量, 增加棕色脂肪含量<sup>[25]</sup>. 而棕色脂肪组织更易于氧化, 提供能量. 从而抑制自噬能减少脂肪组织储存, 促进氧化.

总之, 自噬在脂肪的合成、分化与降解中均存在调节作用, 其结构可能与综合效应有关, 也与自噬作用的部位有关.

#### 4 自噬和非酒精性脂肪肝

长期脂毒性能导致肝细胞损伤, 由单纯脂肪变性发展为脂肪性肝炎. 自噬首先作为一种细胞内的保护机制, 能改善细胞的炎症损伤. 过多游离脂肪酸的氧化超出线粒体的氧化能力造成氧化应激, 产生氧自由基(reactive oxygen species, ROS), 损伤线粒体并导致ROS的累积<sup>[26,27]</sup>. 自噬能通过线粒体自噬吞噬降解损伤的线粒体, 减轻细胞氧化应激<sup>[27]</sup>. 同样, 过多未折叠蛋白的积累会增加内质网应激而损伤细胞<sup>[28,29]</sup>, 自噬能通过内质网自噬降解多余的未折叠蛋白, 通过减轻内质网应激改善细胞损伤<sup>[30]</sup>.

但是, 自噬是一把双刃剑, 过度自噬会导致细胞死亡, 被称为II型程序性细胞死亡. 抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤基因-2(*B cell lymphoma 2*, *Bcl-2*)与自噬相关蛋白Beclin-1相结合, 抑制了自噬, 而某些损伤因素导致*Bcl-2*和Beclin-1解离, 分别促进了凋亡和自噬, 导致细胞损伤<sup>[10,31-34]</sup>. 但自噬与炎症和凋亡的关系仍存在争议, 可能与自噬的程度, 发生的时间及细胞和组织类型有关, 需要进一步研究.

#### 5 自噬和纤维化

非酒精性脂肪肝发生后, 机体通过自我修复, 促进细胞间基质的分泌与累积, 逐渐发展为肝纤维化. 而星状细胞是促进肝纤维化的主要细胞, 能合成和分泌细胞基质. 研究<sup>[35]</sup>表明, 自噬能为星状细胞的活化提供能量, 从而促进肝纤

#### ■ 创新盘点

通过单纯脂肪病变, 非酒精性脂肪肝, 肝纤维化及肝癌几个方面概况了自噬在其中的作用并总结其矛盾之处, 提出假设和疑问, 并非单纯叙述, 为进一步的研究提供一定思路.



**应用要点**  
为自噬在NAFLD中作用的进一步研究提供一定的思路。

维化。四氯化碳诱导的肝纤维化的小鼠中, 自噬相关蛋白表达增加, 伴随星状细胞中脂滴的减少。相反, 敲除小鼠的自噬相关基因*Atg5*后, 小鼠肝纤维化程度明显减轻, 并且星状细胞中脂滴含量增加, 推测自噬能通过降解星状细胞中的脂滴为其活化提供能量, 促进肝纤维化<sup>[36]</sup>。但是早期研究<sup>[37-39]</sup>发现, 雷帕霉素, 一种mTOR(mammalian target of rapamycin)的抑制剂, 能促进自噬, 却能减轻肝纤维化程度。这与雷帕霉素的直接抑制增殖作用有关或是间接自噬抑制作用有关仍有争议, 需要进一步研究。增加自噬基因敲除小鼠的研究, 及基因敲除鼠中提取的原代星状细胞的研究, 或有更大意义<sup>[40]</sup>。

自噬不仅与星状细胞活化有关, 还可能与胶原蛋白降解有关<sup>[41,42]</sup>。研究<sup>[42]</sup>发现, 药物或基因方法抑制自噬增加小鼠肾脏和肾系膜细胞中I型胶原蛋白的含量, 提示自噬或能促进I型胶原蛋白的降解。

纤维化是机体对组织炎症损伤后的保护反应, 通过增加细胞外基质修复损伤组织。而自噬作为一种细胞保护机制, 能减轻细胞炎症损伤, 或与降解胶原蛋白协同, 减轻肝纤维化。但自噬能激活干星状细胞, 促进肝纤维化。我们假设自噬如果能在星状和其他纤维化细胞中被选择性抑制, 这种选择性抑制剂将成为抗纤维化的理想药物。自噬与肝纤维化的复杂关系仍有争议, 需要进一步研究。

## 6 自噬和肿瘤

NAFLD最终有发展成肝癌的可能。自噬与肿瘤的关系也非常复杂, 犹如一把双刃剑。Liang等<sup>[43]</sup>最早提出自噬相关蛋白Beclin-1与肿瘤抑制有关。*Beclin-1*基因敲除的小鼠增加了自发性肝癌发生的风险<sup>[44]</sup>。此外, 许多肿瘤抑制基因如*PTEN*、*TSC1*和*TSC2*能通过抑制mTOR促进自噬, 推测自噬能抑制肿瘤。相反, 生长相关蛋白I型PI3K/Akt, 通过促进mTOR抑制自噬, 却能激活癌基因<sup>[45]</sup>。自噬作为细胞保护机制, 能帮助机体度过饥饿及应激环境, 或能为肿瘤细胞在营养缺乏的环境中提供能量, 甚至促进其生长<sup>[46,47]</sup>。自噬最终促进或抑制肿瘤, 目前仍无确定结论<sup>[47,48]</sup>。

## 7 结论

NAFLD是非常普遍的慢性肝病, 经历从单纯脂肪病变、非酒精性脂肪肝炎、肝纤维化甚

至肝癌的演变过程。自噬作为一种细胞保护机制, 与脂肪肝有着密切关系。但是目前自噬与NAFLD的关系仍不十分清楚, 需要进一步研究。自噬或能降解肝细胞内脂滴, 减轻细胞炎症反应, 促进细胞内胶原蛋白降解, 从而成为治疗NAFLD的新靶点。但自噬是一把双刃剑, 其可能带来的不良反应也须考虑, 如自过度自噬或增加细胞损伤, 促进星状细胞活化促进纤维化等。

## 8 参考文献

- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764 DOI: 10.1002/hep.25762]
- Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology* 2014; 59: 713-723 [PMID: 23929732 DOI: 10.1002/hep.26672]
- Kim D, Choi SY, Park EH, Lee W, Kang JH, Kim W, Kim YJ, Yoon JH, Jeong SH, Lee DH, Lee HS, Larson J, Therneau TM, Kim WR. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with coronary artery calcification. *Hepatology* 2012; 56: 605-613 [PMID: 22271511 DOI: 10.1002/hep.25593]
- Cuervo AM, Bergamini E, Brunk UT, Dröge W, French M, Terman A. Autophagy and aging: the importance of maintaining "clean" cells. *Autophagy* 2005; 1: 131-140 [PMID: 16874025 DOI: 10.4161/auto.1.3.2017]
- Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004; 306: 990-995 [PMID: 15528435 DOI: 10.1126/science.1099993]
- Rautou PE, Mansouri A, Lebrec D, Durand F, Valla D, Moreau R. Autophagy in liver diseases. *J Hepatol* 2010; 53: 1123-1134 [PMID: 20810185 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.006]
- Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research. *Cell* 2010; 140: 313-326 [PMID: 20144757 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.028]
- Lapierre LR, Silvestrini MJ, Nuñez L, Ames K, Wong S, Le TT, Hansen M, Meléndez A. Autophagy genes are required for normal lipid levels in *C. elegans*. *Autophagy* 2013; 9: 278-286 [PMID: 23321914 DOI: 10.4161/auto.22930]
- Murrow L, Debnath J. Autophagy as a stress-response and quality-control mechanism: implications for cell injury and human disease. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 105-137 [PMID: 23072311 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-163918]
- Mukhopadhyay S, Panda PK, Sinha N, Das DN, Bhutia SK. Autophagy and apoptosis: where do they meet? *Apoptosis* 2014; 19: 555-566 [PMID: 24415198 DOI: 10.1007/s10495-014-0967-2]
- Takagi H, Matsui Y, Hirotsu S, Sakoda H, Asano



- T, Sadoshima J. AMPK mediates autophagy during myocardial ischemia in vivo. *Autophagy* 2007; 3: 405-407 [PMID: 17471015 DOI: 10.4161/auto.4281]
- 12 Liu K, Czaja MJ. Regulation of lipid stores and metabolism by lipophagy. *Cell Death Differ* 2013; 20: 3-11 [PMID: 22595754 DOI: 10.1038/cdd.2012.63]
  - 13 Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism. *Science* 2010; 330: 1344-1348 [PMID: 21127245 DOI: 10.1126/science.1193497]
  - 14 Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, Tanaka K, Cuervo AM, Czaja MJ. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009; 458: 1131-1135 [PMID: 19339967 DOI: 10.1038/nature07976]
  - 15 Lin CW, Zhang H, Li M, Xiong X, Chen X, Chen X, Dong XC, Yin XM. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol* 2013; 58: 993-999 [PMID: 23339953 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.01.011]
  - 16 Sinha RA, You SH, Zhou J, Siddique MM, Bay BH, Zhu X, Privalsky ML, Cheng SY, Stevens RD, Summers SA, Newgard CB, Lazar MA, Yen PM. Thyroid hormone stimulates hepatic lipid catabolism via activation of autophagy. *J Clin Invest* 2012; 122: 2428-2438 [PMID: 22684107 DOI: 10.1172/JCI60580]
  - 17 Sinha RA, Farah BL, Singh BK, Siddique MM, Li Y, Wu Y, Ilkayeva OR, Gooding J, Ching J, Zhou J, Martinez L, Xie S, Bay BH, Summers SA, Newgard CB, Yen PM. Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice. *Hepatology* 2014; 59: 1366-1380 [PMID: 23929677 DOI: 10.1002/hep.26667]
  - 18 Ouimet M. Autophagy in obesity and atherosclerosis: Interrelationships between cholesterol homeostasis, lipoprotein metabolism and autophagy in macrophages and other systems. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 1124-1133 [PMID: 23545567 DOI: 10.1016/j.bbalip.2013.03.007]
  - 19 Kim KH, Jeong YT, Oh H, Kim SH, Cho JM, Kim YN, Kim SS, Kim do H, Hur KY, Kim HK, Ko T, Han J, Kim HL, Kim J, Back SH, Komatsu M, Chen H, Chan DC, Konishi M, Itoh N, Choi CS, Lee MS. Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. *Nat Med* 2013; 19: 83-92 [PMID: 23202295 DOI: 10.1038/nm.3014]
  - 20 Goldman S, Zhang Y, Jin S. Autophagy and adipogenesis: implications in obesity and type II diabetes. *Autophagy* 2010; 6: 179-181 [PMID: 20110772 DOI: 10.4161/auto.6.1.10814]
  - 21 Zhang Y, Goldman S, Baerga R, Zhao Y, Komatsu M, Jin S. Adipose-specific deletion of autophagy-related gene 7 (atg7) in mice reveals a role in adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 19860-19865 [PMID: 19910529 DOI: 10.1073/pnas.0906048106]
  - 22 Ma D, Molusky MM, Song J, Hu CR, Fang F, Rui C, Mathew AV, Pennathur S, Liu F, Cheng JX, Guan JL, Lin JD. Autophagy deficiency by hepatic FIP200 deletion uncouples steatosis from liver injury in NAFLD. *Mol Endocrinol* 2013; 27: 1643-1654 [PMID: 23960084 DOI: 10.1210/me.2013-1153]
  - 23 Baerga R, Zhang Y, Chen PH, Goldman S, Jin S. Targeted deletion of autophagy-related 5 (atg5) impairs adipogenesis in a cellular model and in mice. *Autophagy* 2009; 5: 1118-1130 [PMID: 19844159 DOI: 10.4161/auto.5.8.9991]
  - 24 Goldman SJ, Zhang Y, Jin S. Autophagic degradation of mitochondria in white adipose tissue differentiation. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14: 1971-1978 [PMID: 21126221 DOI: 10.1089/ars.2010.3777]
  - 25 Singh R, Xiang Y, Wang Y, Baikati K, Cuervo AM, Luu YK, Tang Y, Pessin JE, Schwartz GJ, Czaja MJ. Autophagy regulates adipose mass and differentiation in mice. *J Clin Invest* 2009; 119: 3329-3339 [PMID: 19855132 DOI: 10.1172/JCI39228]
  - 26 Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12: 9-14 [PMID: 21179058 DOI: 10.1038/nrm3028]
  - 27 Zhang Y, Qi H, Taylor R, Xu W, Liu LF, Jin S. The role of autophagy in mitochondria maintenance: characterization of mitochondrial functions in autophagy-deficient *S. cerevisiae* strains. *Autophagy* 2007; 3: 337-346 [PMID: 17404498 DOI: 10.4161/auto.4127]
  - 28 Masaki R, Yamamoto A, Tashiro Y. Cytochrome P-450 and NADPH-cytochrome P-450 reductase are degraded in the autolysosomes in rat liver. *J Cell Biol* 1987; 104: 1207-1215 [PMID: 3106362 DOI: 10.1083/jcb.104.5.1207]
  - 29 Yang L, Wu D, Wang X, Cederbaum AI. Cytochrome P450E1, oxidative stress, JNK, and autophagy in acute alcohol-induced fatty liver. *Free Radic Biol Med* 2012; 53: 1170-1180 [PMID: 22749809 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.06.029]
  - 30 Yin XM, Ding WX, Gao W. Autophagy in the liver. *Hepatology* 2008; 47: 1773-1785 [PMID: 18393362 DOI: 10.1002/hep.22146]
  - 31 Patingre S, Tassa A, Qu X, Garuti R, Liang XH, Mizushima N, Packer M, Schneider MD, Levine B. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 2005; 122: 927-939 [PMID: 16179260 DOI: 10.1016/j.cell.2005.07.002]
  - 32 Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Beclin 1 interactome controls the crosstalk between apoptosis, autophagy and inflammasome activation: impact on the aging process. *Ageing Res Rev* 2013; 12: 520-534 [PMID: 23220384 DOI: 10.1016/j.arr.2012.11.004]
  - 33 Wei Y, Sinha S, Levine B. Dual role of JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 in autophagy and apoptosis regulation. *Autophagy* 2008; 4: 949-951 [PMID: 18769111 DOI: 10.4161/auto.6788]
  - 34 Komiya K, Uchida T, Ueno T, Koike M, Abe H, Hirose T, Kawamori R, Uchiyama Y, Kominami E, Fujitani Y, Watada H. Free fatty acids stimulate autophagy in pancreatic  $\beta$ -cells via JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 401: 561-567 [PMID: 20888798 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.09.101]
  - 35 Hernández-Gea V, Friedman SL. Autophagy fuels tissue fibrogenesis. *Autophagy* 2012; 8: 849-850 [PMID: 22617442 DOI: 10.4161/auto.19947]
  - 36 Hernández-Gea V, Ghiassi-Nejad Z, Rozenfeld R, Gordon R, Fiel MI, Yue Z, Czaja MJ, Friedman SL. Autophagy releases lipid that promotes fibrogenesis by activated hepatic stellate cells in mice and in human tissues. *Gastroenterology* 2012;

## 名词解释

自噬: 是一种依赖于溶酶体降解系统的对多余或损伤细胞器的自我消化过程, 为细胞合成新的细胞器提供原料及能量循环。自噬同时也被称为 II 型程序性细胞死亡, 过度自噬会引起细胞死亡。

# 同行评价

本文关注自噬在NAFLD中研究进展, 比较详细的描述了自噬在单纯脂肪变性、脂肪性肝炎、肝纤维化甚至肝癌的自然病程中的作用, 文笔流畅, 参考全面, 对于了解自噬在NAFLD中研究进展有一定参考价值。

- 142: 938-946 [PMID: 22240484 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.044]
- 37 Gummert JF, Ikonen T, Morris RE. Newer immunosuppressive drugs: a review. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1366-1380 [PMID: 10361877]
- 38 Patsenker E, Schneider V, Ledermann M, Saegesser H, Dorn C, Hellerbrand C, Stickel F. Potent antifibrotic activity of mTOR inhibitors sirolimus and everolimus but not of cyclosporine A and tacrolimus in experimental liver fibrosis. *J Hepatol* 2011; 55: 388-398 [PMID: 21168455 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.044]
- 39 Zhu J, Wu J, Frizell E, Liu SL, Bashey R, Rubin R, Norton P, Zern MA. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology* 1999; 117: 1198-1204 [PMID: 10535884 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70406-3]
- 40 Thoen LF, Guimarães EL, Grunsven LA. Autophagy: a new player in hepatic stellate cell activation. *Autophagy* 2012; 8: 126-128 [PMID: 22082960 DOI: 10.4161/auto.8.1.18105]
- 41 Ishida Y, Yamamoto A, Kitamura A, Lamandé SR, Yoshimori T, Bateman JF, Kubota H, Nagata K. Autophagic elimination of misfolded procollagen aggregates in the endoplasmic reticulum as a means of cell protection. *Mol Biol Cell* 2009; 20: 2744-2754 [PMID: 19357194 DOI: 10.1091/mbc.E08-11-1092]
- 42 Kim SI, Na HJ, Ding Y, Wang Z, Lee SJ, Choi ME. Autophagy promotes intracellular degradation of type I collagen induced by transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1. *J Biol Chem* 2012; 287: 11677-11688 [PMID: 22351764 DOI: 10.1074/jbc.M111.308460]
- 43 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402: 672-676 [PMID: 10604474 DOI: 10.1038/45257]
- 44 Qu X, Yu J, Bhagat G, Furuya N, Hibshoosh H, Troxel A, Rosen J, Eskelinen EL, Mizushima N, Ohsumi Y, Cattoretti G, Levine B. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003; 112: 1809-1820 [PMID: 14638851 DOI: 10.1172/JCI20039]
- 45 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132: 27-42 [PMID: 18191218 DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.018]
- 46 Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, Mukherjee C, Shi Y, Gélinas C, Fan Y, Nelson DA, Jin S, White E. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell* 2006; 10: 51-64 [PMID: 16843265 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.06.001]
- 47 Bhutia SK, Mukhopadhyay S, Sinha N, Das DN, Panda PK, Patra SK, Maiti TK, Mandal M, Dent P, Wang XY, Das SK, Sarkar D, Fisher PB. Autophagy: cancer's friend or foe? *Adv Cancer Res* 2013; 118: 61-95 [PMID: 23768510 DOI: 10.1016/B978-0-12-407173-5.00003-0]
- 48 Chen P, Cescon M, Bonaldo P. Autophagy-mediated regulation of macrophages and its applications for cancer. *Autophagy* 2014; 10: 192-200 [PMID: 24300480 DOI: 10.4161/auto.26927]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



## 糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展

周赛君, 于德民, 于珮

周赛君, 于德民, 于珮, 天津医科大学代谢病医院糖尿病肾病血液透析科 卫生部激素与发育重点实验室 天津市 300070

于珮, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事糖尿病慢性并发症发病机制研究。

天津市科技支撑重大基金资助项目, No. 13ZCZDSY01300  
天津市卫生局科技支撑重大基金资助项目,  
No. 2012KG135

作者贡献分布: 述评撰写由周赛君完成; 于德民与于珮负责述评指导与审核。

通讯作者: 于珮, 教授, 主任医师, 300070, 天津市和平区同安道66号, 天津医科大学代谢病医院糖尿病肾病血液透析科, 卫生部激素与发育重点实验室: yupeit@tjmu.edu.cn  
电话: 022-23333222

收稿日期: 2015-04-28

修回日期: 2015-06-12

接受日期: 2015-06-24

在线出版日期: 2015-11-18

### Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus

Sai-Jun Zhou, De-Min Yu, Pei Yu

Sai-Jun Zhou, De-Min Yu, Pei Yu, Department of Diabetic Nephropathy Hemodialysis, Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Key Fund, No. 13ZCZDSY01300; Tianjin Health Bureau Science and Technology Key Fund, No. 2012KG135

Correspondence to: Pei Yu, Professor, Chief Physician, Department of Diabetic Nephropathy Hemodialysis, Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, 66 Tongan

Street, Heping District, Tianjin 300070, China. yupeit@tjmu.edu.cn

Received: 2015-04-28

Revised: 2015-06-12

Accepted: 2015-06-24

Published online: 2015-11-18

### Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is frequently seen in the type 2 diabetes mellitus (T2DM) population. Insulin resistance is the pathophysiologic bridge which links T2DM and NAFLD. Coexistence of both diseases indicates more severe diseases and higher risk of death. As a result, it is urgent to effectively control NAFLD in patients with T2DM. The advent of glucagon like peptide-1 (GLP-1) agonists and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors brings new hope for effectively managing NAFLD in T2DM patients. Bariatric surgery provides obese T2DM patients with a powerful means to treat NAFLD. The discovery of adipokines such as adiponectin and fibroblast growth factor 21 (FGF21) may point to a new research direction for NAFLD. In this paper, we present therapeutic options currently available for NAFLD in T2DM patients as well as the present research progress in NAFLD with T2DM, with regards to epidemiology and pathophysiologic links between them.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Type 2 diabetes mellitus; Nonalcoholic fatty liver disease; Therapeutic options

Zhou SJ, Yu DM, Yu P. Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type

### ■背景资料

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)和非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是目前亟待解决的两大大公共卫生问题,且NALFD在T2DM人群中广泛流行。二者合并发病,可显著增加患者肝脏相关死亡和心血管死亡风险。因此有效防治T2DM患者NALFD刻不容缓。

### ■同行评议者

郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科; 刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所



## ■ 研发前沿

目前GLP-1R/GCGR双受体激动剂,在动物实验中,展示出良好的改善糖代谢、减少能量摄入、降低体质量等作用;脂联素、成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21)等脂肪因子在动物试验中也表现出良好的改善能量代谢和肝脏病理组织学变化,但脂肪因子类走进临床还需要大量的研究。

2 diabetes mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(32): 5113-5122 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5113>

## 摘要

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)在2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)人群中广泛流行。胰岛素抵抗架起了T2DM和NAFLD间相互联系的病理生理桥梁。两者合并发病,预示着病情的加重和死亡风险的增加,有效防治T2DM患者NAFLD刻不容缓。胰高糖素样多肽-1(glucagon like peptide-1, GLP-1)受体激动剂、二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)抑制剂等药物的问世给T2DM合并NAFLD的防治带来的新希望;外科减肥手术的成功开展为肥胖的T2DM合并NAFLD的治疗提供强有力的手段;脂联素、成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)等脂肪因子的发现为研发防治T2DM合并NAFLD的药物提供新的方向。本文结合T2DM合并NAFLD的流行病学、二者的病理生理联系等特点,系统阐述了T2DM患者NAFLD治疗手段以及研究现状。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 2型糖尿病; 非酒精性脂肪肝病; 防治

**核心提示:** 胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)相互联系的生理机制。既可安全降糖,又可改善IR、控制体质量,改善肝脏的病理转归的防治手段在T2DM患者NAFLD的防治中具有良好的应用前景。

周赛君, 于德民, 于佩. 糖尿病非酒精性脂肪肝防治新进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5113-5122 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5113>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、肥胖、高胰岛素血症等密切相关,无过量饮酒史、以肝细胞脂肪变性和脂质储积为特征的临床病理综合征,亦被认为是代谢综合征的肝脏表现<sup>[1]</sup>。根

据NAFLD病理进展情况可分为:单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、脂肪性肝纤维化/肝硬化、肝癌<sup>[2]</sup>。随着肥胖和T2DM患病率的急速上升,NAFLD的在世界范围内,尤其在T2DM人群中广泛流行,已成为导致肝损害的主要肝脏疾患,也是导致患者发生心血管死亡风险增加的重要危险因素<sup>[3-5]</sup>。因此有效防治NAFLD对降低糖尿病NAFLD患者肝病相关死亡和心血管死亡具有极其重要的意义。本文就NAFLD在糖尿病患者中的流行病学、二者相互联系的病理机制以及目前NAFLD治疗手段及研究现状等进行了系统阐述。

## 1 NAFLD在T2DM人群的流行情况

随着人们生活水平的提高、生活方式的改变,T2DM与NAFLD患病率急速上升,已成为严重影响人类健康的两大公共卫生问题,二者间的密切关系也得到了越来越多的关注<sup>[1]</sup>。西方国家的流行病学数据显示,NAFLD在普通成人中的发病率为20%-30%<sup>[3,6]</sup>,而在糖尿病人群中则高达43%-60%<sup>[7,8]</sup>。我国的研究数据亦表明,NAFLD在T2DM患者当中广泛流行:朱方超等<sup>[9]</sup>研究数据显示,我国大中城市普通成人中NAFLD的患病率为20%;糖尿病患者中的NAFLD的发病率为54.73%<sup>[10]</sup>;而住院的T2DM患者NAFLD的患病率高达61%-70%<sup>[11,12]</sup>。因此,NAFLD在T2DM人群中具有高患病率的特点。

## 2 T2DM与NAFLD相互联系的病理机制

NAFLD的发病机制尚未完全阐明,但是胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)依然是目前公认的NAFLD发病的核心环节<sup>[13]</sup>。而肥胖则是导致IR最常见原因。IR导致高胰岛素血症和胰岛素受体后信号通路异常,进而导致脂肪合成增加,游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)产生增多。而FFA水平的升高,可抑制胰岛素的促脂解作用,从而导致肝脏脂质输出减少和甘油三酯(triglycerides, TG)的合成增多,导致肝脏内TG大量积聚和脂肪样变<sup>[14]</sup>。因此,肝脏内脂肪沉积是IR的结果。而肝脏内脂肪的蓄积进而导致FFA在线粒体内被过量氧化,产生过多的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS),进而激活氧化应激<sup>[15]</sup>和一系列相关的炎症通路,从而导致大量炎症因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α的产生

和释放, 进一步加剧线粒体损伤. 氧化应激、炎性细胞因子的释放及线粒体功能异常等, 进而使脂肪变性的肝脏进一步发生炎症、坏死和纤维化<sup>[1]</sup>.

IR亦是T2DM重要的致病机制. 糖尿病甚至糖尿病前期时, 升高的血糖为TG的合成提供了大量的底物, 进一步促进肝脏内TG的合成和蓄积<sup>[16]</sup>. 此外, NAFLD亦是IR、T2DM独立的危险因素<sup>[17]</sup>.

因此, T2DM和NAFLD间具有密切的病理生理联系, 而IR架起了二者相互联系的病理生理桥梁; 氧化应激和炎性损伤则是二者重要的损伤机制.

### 3 T2DM与NAFLD间相互关系

**3.1 T2DM对NAFLD的影响** T2DM对NAFLD病情的进展起着重要的作用. 研究<sup>[18]</sup>显示, T2DM可导致NAFLD患者发生肝硬化的风险增加1.8-2.8倍, 发生肝癌的风险增加1.86-4.00倍. 并且T2DM亦是NAFLD患者肝病相关死亡的独立危险因素<sup>[16]</sup>. 因此, 上述研究结果提示T2DM是导致NAFLD病情进展和恶化的因素. NAFLD患者同时并发T2DM, 则预示着NAFLD发展为肝硬化、肝癌等终末期肝病甚至死亡等风险明显增加.

**3.2 NAFLD对T2DM的影响** T2DM可促进NAFLD的发生和发展, 而NAFLD的出现又可提高了T2DM的风险, 并且使血糖更难控制. 研究<sup>[19]</sup>显示: NAFLD患者IR、脂代谢紊乱程度显著高于非NAFLD, 并且NAFLD可升高糖尿病患者空腹血糖的水平达10%-20%<sup>[16]</sup>. NAFLD还可加重T2DM患者糖尿病肾病和糖尿病视网膜病变等微血管并发症<sup>[20]</sup>, 同时也明显增加T2DM发生心脑血管疾病和外周血管疾病等大血管并发症的风险<sup>[21]</sup>. 更重要的是, NAFLD可显著增加T2DM患者的死亡风险. 研究<sup>[22]</sup>显示T2DM合并NAFLD较同年龄、同性别的糖尿病患者发生全因死亡的风险增加达70%, 其中主要的死亡原因为缺血性心脏病、恶性肿瘤以及肝病相关死亡.

因此, T2DM和NAFLD间有着密切的关系, 二者在病情上相互促进, 可形成恶性循环. 二者的合并发病预示着患者病情的加重和死亡风险的明显增加, 有效防治T2DM患者NAFLD刻不容缓.

## 4 糖尿病NAFLD的防治

**4.1 基础治疗** 生活方式干预是T2DM防治的基础, 亦是目前唯一被公认的NAFLD有效防治方法<sup>[16]</sup>. 生活方式干预主要包括减轻体质量、加强锻炼、行为方式的改变等. 肥胖是T2DM合并NAFLD的重要致病因素, 减轻体质量是T2DM合并NAFLD的一线治疗方案<sup>[1]</sup>. 研究<sup>[23]</sup>显示, T2DM合并NAFLD患者, 平均体质量减轻4%-14%, 可显著改善患者的IR、降低血转氨酶的水平; T2DM合并NASH患者体质量减轻5%-10%, 可获得明显肝脏组织形态学的改善<sup>[24]</sup>. 因此, 减轻体质量对T2DM合并NAFLD的防治具有重要的意义.

研究<sup>[25]</sup>亦证实, NAFLD患者通过足量的运动同样能够获得降低转氨酶的水平 and 减轻肝脏脂肪样变的疗效, 并且这种获益独立于患者的体质量减轻之外. 但是目前学术界对于运动的强度对糖尿病NAFLD的防治作用尚存在争议. 有研究<sup>[26]</sup>认为有氧运动和耐力训练对T2DM合并NAFLD均具有重要的防治作用. Bacchi等<sup>[27]</sup>的研究比较了T2DM患者分别进行有氧运动和耐力训练肝脏脂肪含量的影响, 研究结果显示, 4 mo后两组患者肝脏脂肪含量降低均达25%. 然而亦有研究<sup>[28]</sup>证实, 增加高强度运动的时间可显著减轻肝硬化的进展, 而增加中等运动的强度并未获得同样的益处. 因此, 运动强度对T2DM合并NAFLD防治作用及其远期疗效的差异尚待进一步研究加以证实.

尽管生活方式的干预在NAFLD患者中取得了明显的疗效, 但是患者的依从性不佳的问题是亟待解决的难题. 有研究<sup>[29]</sup>调查了坚持有氧运动方案治疗的NAFLD患者的长期依从性, 研究结果显示, 能坚持2年的比例不到20%. 因此, 进行生活方式的干预, 关键可能还是需要建立患者健康生活行为方式. 但是探讨患者行为方式的改变对患者糖尿病NAFLD的防治作用的研究费时、费力, 研究成本很高, 难以在大规模的人群中实现. 但是一项小样本的人群研究<sup>[30]</sup>取得令人欣喜的结果, 该研究中入选患者每周均接受饮食和行为指导, 每个月接受运动指导, 肝脏磁共振显像结果显示: 4 mo后64%的患者肝脏脂肪含量减少了5%. 因此建立患者的健康的生活行为习惯是T2DM合并NAFLD基础治疗的关键.

**4.2 药物治疗** IR是联系T2DM和NAFLD关键的

## ■ 相关报道

Tai等系统介绍了NAFLD的流行情况、发病机制、诊断方法. 详细阐述了生活方式干预对糖尿病NAFLD的防治作用, 并概述了临床常用的药物.

### 应用要点

本文非常系统、全面地介绍了目前国内外T2DM合并NAFLD的防治手段、疗效、应用的局限性, 对T2DM合并NAFLD临床防治以及认识该领域目前的研究动向具有一定的意义。

病生理机制, 因此治疗T2DM合并NAFLD肝患者, 最佳的药物应该不仅是一种安全有效的降血糖药物, 还应是一种改善IR, 减轻氧化应激损伤, 从而改善脂肪肝转归的药物, 同时应该避免体质量增加和肝肾毒性。

**4.2.1 改善IR类降糖药物:** IR是T2DM和NAFLD有共同的病理生理基础, 改善IR在T2DM合并NAFLD的防治具有重要的意义。二甲双胍是T2DM患者首选降糖药物。二甲双胍可通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(ATP-activated protein kinase, AMPK)信号通路, 促进外周组织对葡萄糖的摄取, 促进肝糖原和脂肪的合成, 加速FFA的 $\beta$ -氧化, 具有潜在的改善NAFLD的药理作用<sup>[31,32]</sup>。然而临床研究<sup>[33]</sup>关于二甲双胍对NAFLD的治疗作用尚存在争议, 目前也尚无证据证实该药物可改善单纯NASH患者肝脏组织病理改变<sup>[34]</sup>。因此目前学术界对于二甲双胍是否推荐用于NAFLD甚至T2DM合并NAFLD的防治中尚持保守意见<sup>[35]</sup>。

经典的胰岛素增敏剂噻唑烷二酮类如吡咯列酮、罗格列酮等均被证实不仅可改善糖尿病合并NAFLD或单纯NAFLD患者肝脏脂肪样变以及生化指标<sup>[36,37]</sup>。然而该类物质是否同样能改善肝纤维化的发生, 尚待进一步研究加以证实<sup>[38]</sup>。FLIRT研究<sup>[39]</sup>纳入了63例NASH患者, 该研究结果显示, T2DM的存在则是患者对该类药物反应性不佳的预测指标。并且该类药物的潜在的不良反应如体质量的增加以及心血管病风险的增加, 以及停药以后肝酶的反弹等问题, 该类物质对于糖尿病合并NAFLD长期用药的安全性和有效性均有待于进一步研究。

**4.2.2 降脂药物:** 脂代谢紊乱是IR的重要原因, 降脂药物可降低患者血脂水平, 改善糖尿病患者IR。他汀类药物不仅可降低患者血胆固醇的水平, 还可降低糖尿病患者心血管死亡的风险, 对糖尿病NAFLD具有潜在的治疗作用, 然而一项荟萃分析<sup>[40]</sup>结果显示, 辛伐他汀和阿托伐他汀均不能改善NAFLD患者肝脏生化指标以及肝脏脂肪样变, 但是亦未观察到明显的不良反应。因此目前认为NAFLD不是他汀类药物的禁忌证。贝特类药物是改善患者血TG水平主要的降脂药物, 研究<sup>[41]</sup>证实依替米贝抑制胆固醇在小肠吸收, 降低低密度脂蛋白, 改善患者IR, 在NAFLD干预研究中取得了阳性结果。亦研究<sup>[42]</sup>比较了非诺贝特与易善复对NAFLD

的治疗作用, 研究结果显示非诺贝特治疗脂肪肝疗效明显优于易善复, 并无明显不良反应。

**4.2.3 抗氧化剂:** 氧化应激在糖尿病NAFLD导致肝损伤的重要机制, 抗氧化治疗可能是糖尿病NAFLD防治的手段之一。Vitamin E和vitamin C是临床常用的抗氧化剂。然而目前临床研究<sup>[43]</sup>数据显示, NAFLD患者给予vitamin E或vitamin C的干预, 并未获得血谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)水平的明显降低以及机体抗氧化物质水平的提高。临床荟萃分析结果提示: vitamin E仅仅适合无糖尿病、肝硬化以及肝脏活动性病变的成人NAFLD患者<sup>[16,44]</sup>。因此, 目前糖尿病合并NAFLD患者是否加用vitamin E或vitamin C等抗氧化剂治疗, 学术界尚无定论。

然而绿茶<sup>[45]</sup>、生姜<sup>[46]</sup>、大蒜<sup>[47]</sup>等具有抗氧化作用成分食物可显著改善NAFLD小鼠内脏脂肪的含量、改善IR、降低炎症因子的水平以及肝脏的脂肪样变。因此糖尿病患者NAFLD增加上述天然的抗氧化作用的食物可能对NAFLD防治具有一定的作用, 但是该结论尚待大样本的临床随机对照研究数据加以证实。

**4.2.4 GLP-1受体激动剂和DPP-4抑制剂:** 胰高糖素样多肽-1(glucagon like peptide-1, GLP-1)主要是由肠黏膜的L细胞分泌, 可通过与其受体相互作用, 不仅能够以葡萄糖浓度依赖性的方式促进胰岛素的分泌, 抑制胰高糖素的分泌, 促进肝脏、脂肪组织以及骨骼肌对葡萄糖的摄取, 发挥降糖作用; 还可通过延缓胃排空、抑制食欲, 从而减轻体质量, 增加胰岛素敏感性等生理活性<sup>[48]</sup>, 但是GLP-1可被二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)快速降解, 其在体内的半衰期仅有1-2 min, 若能抑制DPP-4的活性则可以增加的GLP-1的循环半衰期, 更好的发挥GLP-1的生理功能<sup>[49]</sup>。GLP-1受体激动剂如利拉鲁肽、埃塞那肽等集成了GLP-1生理活性、克服其的半衰期短的缺点, 因此目前GLP-1受体激动剂在T2DM中得到了广泛应用<sup>[50]</sup>。GLP-1受体激动剂通过抑制肝脂肪生成的作用, 通过激活AMPK信号通路, 降低肝脂肪蓄积和营养物诱发的肝脏炎症反应, 从而对NAFLD发挥治疗作用。此外, GLP-1激动剂还可通过显著地改善患者体质量, 从而改善NAFLD<sup>[51-53]</sup>。并且研究证实



GLP-1激动剂在减轻患者体质量的作用明显优于饮食控制和运动控制. 而DPP-4抑制剂因其可抑制GLP-1的降解, 延长GLP-1的作用时间, 发挥与GLP-1受体激动剂相似的作用. 此外DPP-4抑制剂还可通过减少硬脂酰辅酶A去饱和脂肪酶1(stearoyl-CoA desaturase 1, SCD-1)和增加肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体- $\alpha$ (peroxisome proliferators-activated receptor- $\alpha$ , PPAR- $\alpha$ )的表达, 从而减轻脂肪肝. 研究<sup>[54]</sup>证实沙格列汀治疗后, 患者体内葡萄糖氧化增加, 减少了脂肪酸的释放, 并且降低了TG水平, 减轻了脂肪酸氧化代谢的脂毒性. 研究<sup>[55]</sup>证实DPP-4抑制剂还可以改善糖尿病合并NAFLD患者肝功能以及肝纤维化程度.

上述研究都显示GLP-1受体激动剂和DPP-4抑制剂均具有改善T2DM合并NAFLD患者的体质量、减轻IR、良好的降糖等作用以及对肝脏的病理学转归. 该类药物是目前治疗T2DM合并NAFLD的一个新的切点, 值得引起临床关注, 但是其长期疗效和安全性尚待更多循证医学证据加以评估.

此外, 胃泌素调节素(oxyntomodulin, OXM)除调节壁细胞的胃酸分泌外, 还是一个生理性的双受体(GLP-1R/GCGR)激动剂, 可改善糖代谢、减少能量摄入、降低体质量, 对糖尿病NAFLD的防治具有潜在的药理作用<sup>[56]</sup>. 其类似物Aib2 C24 40k与Aib2 C24 lactam 40k均为以GLP-1R选择性为主的双受体激动剂. 动物实验研究结果显示, 肥胖小鼠皮下注射Aib2 C24 40k或Aib2 C24 lactam 40k, 1 mo后发现两组均具有减轻体质量、内脏脂肪减少、能量消耗增加、胰岛素敏感性、血糖水平、血脂水平均得到改善, 并且小鼠肝脏组织病理学证实肝脏脂肪样变明显改善<sup>[57]</sup>. DualAG则为以GCGR选择性为主的双受体激动剂. 对肥胖小鼠皮下注射2 wk后发现, DualAG同样具有降低体质量、减少摄食、减少脂肪、改善糖耐量的作用, 并降低血脂和瘦素水平, 改善肝脏脂肪变性<sup>[56,58]</sup>. 因此, OXM的生理作用为研发双受体(GLP-1R/GCGR)激动剂提供了理论依据. 目前啮齿类动物研究中双受体(GLP-1R/GCGR)激动剂展示出良好的预期效果, 对糖尿病NAFLD防治具有应用前景, 但未来走进临床还需要大量的工作.

4.2.5 保肝抗炎药物: 保肝抗炎药物具备修复

肝脏生物膜, 拮抗氧化应激和/或脂质过氧化, 以及抗凋亡、抗炎及抗纤维化等药理作用, 从而阻止肝病进展, 减少肝硬化和肝功能衰竭的发生. 因而, 理论上保肝抗炎药物是NAFLD的有效方法. 一项荟萃分析<sup>[59]</sup>显示, 多烯磷脂酰胆碱治疗酒精性肝病和脂肪肝是安全的, 可提高治疗有效率, 改善患者的临床症状和体征; 同时具有降低早期死亡率和防止肝组织学恶化的趋势. 研究<sup>[60]</sup>发现水飞蓟素不仅能降低NASH患者ALT和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)水平, 改善血脂水平, 而且能显著降低血浆丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量, 升高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性, 表明水飞蓟素能改善NASH患者的脂质过氧化状态, 从而减轻或阻止NASH的进展. 但是对于保肝抗炎药物用于NAFLD的研究, 样本量较小, 因此其疗效尚待大规模随机对照临床研究加以进一步明确.

4.2.6 中药: 临床和基础研究证实许多具备降血脂作用的中草药如何首乌、丹参、泽泻、川芎、决明子、山楂, 一些中药方剂如小柴胡汤、四逆散、六味地黄丸以及中成药血脂康和脂必妥对糖尿病NAFLD治疗脂肪肝和高脂血症均有一定的疗效<sup>[61]</sup>.

4.2.7 脂肪因子: 新近研究<sup>[62]</sup>证实脂肪组织可分泌系列激素类因子如瘦素、脂联素、内脂素等, 具有参与代谢的调控等作用, 具备改善糖尿病NAFLD的潜在的药理作用. 瘦素是由脂肪组织分泌的细胞因子, 具有调节能量代谢、组织修复以及神经内分泌等功能. 研究证实瘦素对NAFLD具有双重作用: 一方面瘦素可作用于肝细胞, 抑制脂肪的从头合成, 并且促进FFA的 $\beta$ 氧化, 从而减少肝脏TG的含量, 减轻脂毒性; 还可抑制肝细胞的糖原分解, 减轻糖毒性, 可显著改善动物肝脏脂肪样变; 另一方面, 瘦素可激活Kupffer, 上调CD14的表达, 从而加剧氧化应激、促进转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 1等炎症因子的分泌, 从而导致肝脏的损伤和纤维化的进展<sup>[63]</sup>.

脂联素是血浆浓度最高的脂肪因子. 研究<sup>[64]</sup>证实脂联素具有促进能量消耗、调节脂肪代谢、抗炎症反应以及改善IR等生理作用. 动物

#### ■名词解释

胰岛素抵抗: 是指靶组织(如肝脏、肌肉和脂肪组织等)对胰岛素的反应不敏感, 使得胰岛素促进葡萄糖的摄取和利用的生物学效应低于预计正常水平. 胰岛细胞代偿性超量分泌胰岛素的情况, 表现为高胰岛素血症伴代谢应激综合征.

## 同行评价

本文从致病机制和临床治疗两个方面出发阐述了目前国内T2DM合并NAFLD的防治方法, 同时展示了该领域的研究动向, 基础研究的成果可以很好地为临床治疗提供服务, 使临床治疗更为精准有效, 为防治T2DM合并NAFLD的药物研究提供新的方向。

实验证实脂联素可经AMPK信号途径显著改善NAFLD大鼠肝脏脂肪变性, 促进肝细胞损伤的修复<sup>[65]</sup>。临床相关分析数据显示脂联素是NAFLD患者的保护因子<sup>[66]</sup>。因此脂联素可能对糖尿病NAFLD具有潜在的治疗作用, 但未来走进临床还需要大量的工作。

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)家族成员FGF19和FGF21被认为是新的脂肪因子。FGF19作用于肝脏提高能量代谢率, 对血糖水平和胰岛素敏感性起着重要的调节作用<sup>[67]</sup>。其机制为FGF19通过与FGFR4结合, 调节脂肪和胆固醇的代谢, 提高肝脏内脂肪酸的 $\beta$ 氧化。但是其潜在的促增殖作用可能导致其临床应用前景受到限制<sup>[68]</sup>。而FGF21不仅可以显著降空腹血糖, 果糖胺、TG、胰岛素及高血糖, 可显著改善脂代谢, 包括降低密度脂蛋白胆固醇, 增高高密度脂蛋白胆固醇。其机制为FGF21可通过抑制胆固醇调控元件结合蛋白-1来降低与脂肪酸及TG合成相关的基因表达、并可激活解偶联蛋白1与2表达, 增加能量消耗、促进脂肪利用和脂类排泄以降低TG水平<sup>[69,70]</sup>。并且FGF21无潜在的促细胞增殖作用, 因此, FGF21可能对糖尿病NAFLD的防治具备良好的研究价值和应用前景。

4.3 外科手术 目前研究认为减轻体质量是糖尿病合并NAFLD有效的防治方法。而减肥手术不仅可使患者获得满意的体质量控制, 还可显著降低患者肥胖相关并发症如T2DM、脂代谢紊乱、高血压以及呼吸睡眠暂停等。新近研究<sup>[71]</sup>证实, 减肥手术可显著改善NAFLD患者肝脏形态学变化。Mummadi等<sup>[72]</sup>的研究, 纳入了15项接受减肥术的患者766例, 分别于手术前后进行肝脏活检, 研究结果显示患者手术前后肝脏脂肪样变、NASH以及肝硬化病变改善或逆转率分别为: 91.6%、81.3%和65.5%。上述研究均为患者手术前后自身的比较, 目前尚缺乏对减肥术的临床随机对照研究以严格评价手术对NAFLD患者的获益和风险<sup>[73]</sup>。亦有大量研究<sup>[74,75]</sup>报道了Roux-en-Y胃旁路术(RYGB)可显著改善T2DM合并NAFLD患者肝脏脂肪样变、肝脏的炎症反应甚至肝硬化, 且其效果优于胃结扎术。外科减肥术后患者可显著改善体质量、降低肝脏脂肪含量以及提高IR等, 患者的这些获益可能与手术后患者胃肠道激素GLP-1或内分泌调节肽(peptide tyrosine

tyrosine, PYY)分泌得到了明显改善有关<sup>[76-79]</sup>。

因此, 外科减肥术, 对于明显肥胖的糖尿病NAFLD患者提供了一种减肥效果显著、作用持久的强有力手段, 并且患者通过减肥手术可能获得明显减轻体质量、改善IR甚至恢复胰岛功能、提高患者的生活质量, 降低肥胖相关的合并症、提高患者的预期寿命等益处, 但是手术的长期疗效、术后的慢性并发症等潜在风险尚待进一步的研究加以评价。

## 5 结论

T2DM合并NAFLD的有效防治刻不容缓, 虽然基础治疗在NAFLD患者中取得了良好的疗效, 而患者的长期的依从性不佳的问题尚待解决; GLP-1受体激动剂、DPP-4抑制剂等可通过改善IR, 增加胰岛素分泌及抑制胰高糖素的分泌, 既可安全有效降糖, 肝肾毒性小, 又可显著改善体质量, 给T2DM合并NAFLD患者的防治带来了新希望, 但是该类药物上市时间尚短, 其远期的疗效和安全性以及对脂肪肝组织学的改善等问题尚待更多的询证医学证据加以阐明。GLP-1R/GCGR等双受体激动剂以及FGF21等脂肪因子改善糖脂代谢的生理作用显示其对T2DM合并NAFLD的防治中具有良好的研究价值和应用前景。外科减肥手术在明显肥胖的糖尿病NAFLD患者的防治中显示出其优越性, 但手术的长期疗效、术后的慢性并发症等潜在风险尚待进一步的研究加以评价。

## 6 参考文献

- 1 Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis* 2015; 239: 192-202 [PMID: 25617860 DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.001]
- 2 Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Parker R, Koushiappi E, Mann J, Khan S, Philips A, Chandler L, Johnson J, Round M, Haydon G, Karamat MA, Newsome PN, Tomlinson JW. Severe asymptomatic non-alcoholic fatty liver disease in routine diabetes care: a multi-disciplinary team approach to diagnosis and management. *QJM* 2014; 107: 33-41 [PMID: 24131545 DOI: 10.1093/qjmed/hct198]
- 3 Bedogni G, Nobili V, Tiribelli C. Epidemiology of fatty liver: an update. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9050-9054 [PMID: 25083078 DOI: 10.3748/wjg.v20.i27.9050]
- 4 Liu H, Lu HY. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 8407-8415 [PMID: 25024598 DOI: 10.3748/wjg.v20.i26.8407]
- 5 Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty

- liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia* 2008; 51: 1947-1953 [PMID: 18762907 DOI: 10.1007/s00125-008-1135-4]
- 6 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]
- 7 Ahmed MH, Husain NE, Almobarak AO. Nonalcoholic Fatty liver disease and risk of diabetes and cardiovascular disease: what is important for primary care physicians? *J Family Med Prim Care* 2015; 4: 45-52 [PMID: 25810989 DOI: 10.4103/2249-4863.152252]
- 8 Williamson RM, Price JF, Glancy S, Perry E, Nee LD, Hayes PC, Frier BM, Van Look LA, Johnston GI, Reynolds RM, Strachan MW. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic Fatty liver disease in people with type 2 diabetes: the Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *Diabetes Care* 2011; 34: 1139-1144 [PMID: 21478462 DOI: 10.2337/dc10-2229]
- 9 朱方超, 黄智铭. 非酒精性脂肪肝危险因素流行病学论述. *实用医学杂志* 2010; 26: 3452-3455
- 10 周慧, 王刚, 郭丽萍. 2型糖尿病患者非酒精性脂肪肝患病率的回顾性分析. *河北医药* 2010; 32: 583-584
- 11 Lv WS, Sun RX, Gao YY, Wen JP, Pan RF, Li L, Wang J, Xian YX, Cao CX, Zheng M. Nonalcoholic fatty liver disease and microvascular complications in type 2 diabetes. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3134-3142 [PMID: 23716995 DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.3134]
- 12 Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology* 2014; 59: 713-723 [PMID: 23929732 DOI: 10.1002/hep.26672]
- 13 Ercin CN, Dogru T, Genc H, Celebi G, Aslan F, Gurel H, Kara M, Sertoglu E, Tapan S, Bagci S, Rizzo M, Sonmez A. Insulin Resistance but Not Visceral Adiposity Index Is Associated with Liver Fibrosis in Nondiabetic Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Metab Syndr Relat Disord* 2015; 13: 319-325 [PMID: 26011302]
- 14 Bhatt HB, Smith RJ. Fatty liver disease in diabetes mellitus. *Hepatobiliary Surg Nutr* 2015; 4: 101-108 [PMID: 26005676 DOI: 10.3978/j.issn.2304-3881.2015.01.03]
- 15 Gusdon AM, Song KX, Qu S. Nonalcoholic Fatty liver disease: pathogenesis and therapeutics from a mitochondria-centric perspective. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 637027 [PMID: 25371775 DOI: 10.1155/2014/637027]
- 16 Tai FW, Syn WK, Alazawi W. Practical approach to non-alcoholic fatty liver disease in patients with diabetes. *Diabet Med* 2015; 32: 1121-1133 [PMID: 25683343 DOI: 10.1111/dme.12725]
- 17 Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015; 62: S47-S64 [PMID: 25920090 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.012]
- 18 Lagiou P, Kuper H, Stuver SO, Tzonou A, Trichopoulos D, Adami HO. Role of diabetes mellitus in the etiology of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1096-1099 [PMID: 10880555 DOI: 10.1093/jnci/92.13.1096]
- 19 Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395 [PMID: 15565570 DOI: 10.1002/hep.20466]
- 20 Sung KC, Kim BS, Cho YK, Park DI, Woo S, Kim S, Wild SH, Byrne CD. Predicting incident fatty liver using simple cardio-metabolic risk factors at baseline. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 84 [PMID: 22770479 DOI: 10.1186/1471-230X-12-84]
- 21 Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2008; 49: 608-612 [PMID: 18682312 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.06.018]
- 22 Zhao L, Ma J, Wang S, Xie Y. Relationship between  $\beta$ -cell function, metabolic control, and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther* 2015; 17: 29-34 [PMID: 25574593 DOI: 10.1089/dia.2014.0214]
- 23 Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *J Hepatol* 2012; 56: 255-266 [PMID: 21723839 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.06.010]
- 24 Huang MA, Greenon JK, Chao C, Anderson L, Peterman D, Jacobson J, Emick D, Lok AS, Conjeevaram HS. One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1072-1081 [PMID: 15842581]
- 25 St George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 50: 68-76 [PMID: 19444870 DOI: 10.1002/hep.22940]
- 26 Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, Thoma C, Moore S, Taylor R, Day CP, Trenell MI. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut* 2011; 60: 1278-1283 [PMID: 21708823 DOI: 10.1136/gut.2011.242073]
- 27 Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, Zanolin E, Schena F, Bonora E, Moghetti P. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology* 2013; 58: 1287-1295 [PMID: 23504926 DOI: 10.1002/hep.26393]
- 28 Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 460-468; quiz 469 [PMID: 21206486 DOI: 10.1038/ajg.2010.488]
- 29 Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, Fava JL, Wing RR. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 121-129 [PMID: 19827166 DOI: 10.1002/hep.23276]
- 30 Wong VW, Chan RS, Wong GL, Cheung BH, Chu WC, Yeung DK, Chim AM, Lai JW, Li LS, Sea MM, Chan FK, Sung JJ, Woo J, Chan HL. Community-



- based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Hepatol* 2013; 59: 536-542 [PMID: 23623998]
- 31 Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii N, Musi N, Hirshman MF, Goodyear LJ, Moller DE. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001; 108: 1167-1174 [PMID: 11602624 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.04.013]
  - 32 Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? *Diabetes Metab Syndr Obes* 2014; 7: 241-253 [PMID: 25018645 DOI: 10.2147/DMSO.S43731]
  - 33 Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep* 2013; 1: 57-64 [PMID: 24648894]
  - 34 Dyson J, Day C. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2014; 32: 597-604 [PMID: 25034293 DOI: 10.1159/000360511]
  - 35 Musso G, Cassader M, Rosina F, Gambino R. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia* 2012; 55: 885-904 [PMID: 22278337 DOI: 10.1007/s00125-011-2446-4]
  - 36 Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clark J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362: 1675-1685 [PMID: 20427778 DOI: 10.1056/NEJMoa0907929]
  - 37 阮希成, 蔡奕琪, 肖建宏, 施展, 彭锦芸, 颜丽君. 罗格列酮治疗非酒精性脂肪肝的初步研究. *中国实用医药* 2009; 4: 123-124
  - 38 Ratzliff V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hartemann-Heurtier A, Serfaty L, Podelvin P, Lacorte JM, Bernhardt C, Bruckert E, Grimaldi A, Poynard T. Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology* 2008; 135: 100-110 [PMID: 18503774 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.078]
  - 39 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012; 142: 1592-1609 [PMID: 22656328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.001]
  - 40 Eslami L, Merat S, Malekzadeh R, Nasserimoghaddam S, Aramin H. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 12: CD008623 [PMID: 24374462 DOI: 10.1002/14651858.CD008623.pub2]
  - 41 Ahmed MH, Byrne CD. Potential therapeutic uses for ezetimibe beyond lowering LDL-c to decrease cardiovascular events. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 958-966 [PMID: 20880342 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2010.01261.x]
  - 42 王宏伟, 曹丽丽, 樊民强. 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 429-433
  - 43 Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Abrams SH, Scheimann AO, Sanyal AJ, Chalasani N, Tonascia J, Unalp A, Clark JM, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA* 2011; 305: 1659-1668 [PMID: 21521847 DOI: 10.1001/jama.2011.520]
  - 44 Sarkhy AA, Al-Hussaini AA, Nobili V. Does vitamin E improve the outcomes of pediatric nonalcoholic fatty liver disease? A systematic review and meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol* 2014; 20: 143-153 [PMID: 24976277 DOI: 10.4103/1319-3767.132983]
  - 45 Xiao J, Ho CT, Liong EC, Nanji AA, Leung TM, Lau TY, Fung ML, Tipoe GL. Epigallocatechin gallate attenuates fibrosis, oxidative stress, and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease rat model through TGF/SMAD, PI3 K/Akt/FoxO1, and NF-kappa B pathways. *Eur J Nutr* 2014; 53: 187-199 [PMID: 23515587 DOI: 10.1007/s00394-013-0516-8]
  - 46 Xiao J, Guo R, Fung ML, Liong EC, Chang RC, Ching YP, Tipoe GL. Garlic-Derived S-Allylmercaptocysteine Ameliorates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Rat Model through Inhibition of Apoptosis and Enhancing Autophagy. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 642920 [PMID: 23861709 DOI: 10.1155/2013/642920]
  - 47 El-Din SH, Sabra AN, Hammam OA, Ebeid FA, El-Lakkany NM. Pharmacological and antioxidant actions of garlic and/or onion in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. *J Egypt Soc Parasitol* 2014; 44: 295-308 [PMID: 25597144]
  - 48 Heppner KM, Perez-Tilve D. GLP-1 based therapeutics: simultaneously combating T2DM and obesity. *Front Neurosci* 2015; 9: 92 [PMID: 25852463 DOI: 10.3389/fnins.2015.00092]
  - 49 Darsalia V, Larsson M, Nathanson D, Klein T, Nyström T, Patrone C. Glucagon-like receptor 1 agonists and DPP-4 inhibitors: potential therapies for the treatment of stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2015; 35: 718-723 [PMID: 25669907 DOI: 10.1038/jcbfm.2015.17]
  - 50 Wu T, Rayner CK, Horowitz M. Incretins. *Handb Exp Pharmacol* 2015 Apr 23. [Epub ahead of print] [PMID: 25903418]
  - 51 Wang XC, Gusdon AM, Liu H, Qu S. Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on non-alcoholic fatty liver disease and inflammation. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14821-14830 [PMID: 25356042 DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14821]
  - 52 Trevaskis JL, Griffin PS, Wittmer C, Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Dolman CS, Erickson MR, Napora J, Parkes DG, Roth JD. Glucagon-like peptide-1 receptor agonism improves metabolic, biochemical, and histopathological indices of

- nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G762-G772 [PMID: 22268099 DOI: 10.1152/ajpgi.00476.2011]
- 53 Kim YO, Schuppan D. When GLP-1 hits the liver: a novel approach for insulin resistance and NASH. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G759-G761 [PMID: 22383493 DOI: 10.1152/ajpgi.00078.2012]
  - 54 Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Oriishi T, Sata M. Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor Improves Insulin Resistance and Steatosis in a Refractory Nonalcoholic Fatty Liver Disease Patient: A Case Report. *Case Rep Gastroenterol* 2012; 6: 538-544 [PMID: 22949894 DOI: 10.1159/000341510]
  - 55 Henry RR, Smith SR, Schwartz SL, Mudaliar SR, Deacon CF, Holst JJ, Duan RY, Chen RS, List JF. Effects of saxagliptin on  $\beta$ -cell stimulation and insulin secretion in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2011; 13: 850-858 [PMID: 21554520 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2011.01417.x]
  - 56 Pocai A. Action and therapeutic potential of oxyntomodulin. *Mol Metab* 2014; 3: 241-251 [PMID: 24749050 DOI: 10.1016/j.molmet.2013.12.001]
  - 57 Patel VJ, Joharapurkar AA, Kshirsagar SG, Patel KN, Shah GB, Jain MR. Therapeutic potential of coagonists of glucagon and GLP-1. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2014; 12: 126-133 [PMID: 25330114]
  - 58 Day JW, Ottaway N, Patterson JT, Gelfanov V, Smiley D, Gidda J, Findeisen H, Bruemmer D, Drucker DJ, Chaudhary N, Holland J, Hembree J, Abplanalp W, Grant E, Ruehl J, Wilson H, Kirchner H, Lockie SH, Hofmann S, Woods SC, Nogueiras R, Pfluger PT, Perez-Tilve D, DiMarchi R, Tschöp MH. A new glucagon and GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents. *Nat Chem Biol* 2009; 5: 749-757 [PMID: 19597507 DOI: 10.1038/nchembio.209]
  - 59 胡国平, 刘凯, 赵连三. 多烯酸脂胆碱(易善复)治疗酒精性肝病和脂肪肝的系统评价. *肝脏* 2005; 16: 5-7
  - 60 郭秀丽, 徐有青, 徐杨昭. 水飞蓟素对非酒精性脂肪性肝炎大鼠小肠组织抗氧化作用的实验研究. *实用肝脏病杂志* 2011; 14: 407-409
  - 61 隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军. 中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1708-1713
  - 62 Moon HS, Dalamaga M, Kim SY, Polyzos SA, Hamnvik OP, Magkos F, Paruthi J, Mantzoros CS. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. *Endocr Rev* 2013; 34: 377-412 [PMID: 23475416 DOI: 10.1210/er.2012-1053]
  - 63 Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease: a narrative review. *Metabolism* 2015; 64: 60-78 [PMID: 25456097 DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.012]
  - 64 Titov VN. [Leptin and adiponectin in pathogenesis of metabolic syndrome]. *Klin Med (Mosk)* 2014; 92: 20-29 [PMID: 25269205]
  - 65 Ma H, Cui F, Dong JJ, You GP, Yang XJ, Lu HD, Huang YL. Therapeutic effects of globular adiponectin in diabetic rats with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14950-14957 [PMID: 25356056 DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14950]
  - 66 Angin Y, Arslan N, Kuralay F. Leptin-to-adiponectin ratio in obese adolescents with nonalcoholic fatty liver disease. *Turk J Pediatr* 2014; 56: 259-266 [PMID: 25341597]
  - 67 Zhang J, Li HT, Fang QC, Jia WP. Role of fibroblast growth factor 19 in maintaining nutrient homeostasis and disease. *Biomed Environ Sci* 2014; 27: 319-324 [PMID: 24827712 DOI: 10.3967/bes2014.056]
  - 68 Liu WY, Xie DM, Zhu GQ, Huang GQ, Lin YQ, Wang LR, Shi KQ, Hu B, Braddock M, Chen YP, Zheng MH. Targeting fibroblast growth factor 19 in liver disease: a potential biomarker and therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets* 2015; 19: 675-685 [PMID: 25547779 DOI: 10.1517/14728222.2014.997711]
  - 69 Camilleri M, Busciglio I, Acosta A, Shin A, Carlson P, Burton D, Ryks M, Rhoten D, Lamsam J, Lueke A, Donato LJ, Zinsmeister AR. Effect of increased bile acid synthesis or fecal excretion in irritable bowel syndrome-diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1621-1630 [PMID: 25070056 DOI: 10.1038/ajg.2014.215]
  - 70 Liu J, Xu Y, Hu Y, Wang G. The role of fibroblast growth factor 21 in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease and implications for therapy. *Metabolism* 2015; 64: 380-390 [PMID: 25516477 DOI: 10.1016/j.metabol.2014.11.009]
  - 71 Bower G, Athanasiou T, Isla AM, Harling L, Li JV, Holmes E, Efthimiou E, Darzi A, Ashrafian H. Bariatric surgery and nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015; 27: 755-768 [PMID: 25919774 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000375]
  - 72 Mummadi RR, Kasturi KS, Chennareddygar S, Sood GK. Effect of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1396-1402 [PMID: 18986848 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.08.012]
  - 73 Chavez-Tapia NC, Tellez-Avila FI, Barrientos-Gutierrez T, Mendez-Sanchez N, Lizardi-Cervera J, Uribe M. Bariatric surgery for non-alcoholic steatohepatitis in obese patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (1): CD007340 [PMID: 20091629 DOI: 10.1002/14651858.CD007340.pub2]
  - 74 Knop FK. Resolution of type 2 diabetes following gastric bypass surgery: involvement of gut-derived glucagon and glucagonotropic signalling? *Diabetologia* 2009; 52: 2270-2276 [PMID: 19727661 DOI: 10.1007/s00125-009-1511-8]
  - 75 Sasaki A, Wakabayashi G, Yonei Y. Current status of bariatric surgery in Japan and effectiveness in obesity and diabetes. *J Gastroenterol* 2014; 49: 57-63 [PMID: 23595611 DOI: 10.1007/s00535-013-0802-5]
  - 76 Mells JE, Anania FA. The role of gastrointestinal hormones in hepatic lipid metabolism. *Semin Liver Dis* 2013; 33: 343-357 [PMID: 24222092 DOI: 10.1055/s-0033-1358527]
  - 77 Falkén Y, Hellström PM, Holst JJ, Näslund E. Changes in glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity at day three, two months, and one year after surgery: role of gut peptides. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 2227-2235 [PMID: 21543426 DOI: 10.1210/jc.2010-2876]
  - 78 Barker KB, Palekar NA, Bowers SP, Goldberg JE, Pulcini JP, Harrison SA. Non-alcoholic

- steatohepatitis: effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 368-373 [PMID: 16454845 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00419.x]
- 79 Tiikkainen M, Bergholm R, Vehkavaara S, Rissanen A, Häkkinen AM, Tamminen M, Teramo K, Yki-

Järvinen H. Effects of identical weight loss on body composition and features of insulin resistance in obese women with high and low liver fat content. *Diabetes* 2003; 52: 701-707 [PMID: 12606511 DOI: 10.2337/diabetes.52.3.701]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 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.



## 年龄因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响

邱媛媛, 王伟恒, 胡江峰, 沈思, 朱 樑

邱媛媛, 沈思, 朱樑, 中国人民解放军第二军医大学长征医院消化内科 上海市 200003

王伟恒, 中国人民解放军第二军医大学长征医院骨科 上海市 200003

胡江峰, 上海同济大学附属同济医院消化内科 上海市 200065

邱媛媛, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的早期诊断与治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No.10972235

**作者贡献分布:** 此课题由邱媛媛与朱樑设计; 研究过程由邱媛媛与王伟恒操作完成; 数据分析由胡江峰与沈思完成; 论文写作由邱媛媛与朱樑完成。

**通讯作者:** 朱樑, 教授, 200003, 上海市黄浦区凤阳路415号, 中国人民解放军第二军医大学长征医院. zhuliangcz@126.com  
电话: 021-81885261

收稿日期: 2015-08-22

修回日期: 2015-10-18

接受日期: 2015-10-26

在线出版日期: 2015-11-18

### Impact of age on acute alcohol induced liver injury and hepatocyte apoptosis

Yuan-Yuan Qiu, Wei-Heng Wang, Jiang-Feng Hu, Si Shen, Liang Zhu

Yuan-Yuan Qiu, Si Shen, Liang Zhu, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

Wei-Heng Wang, Department of Orthopaedics, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

Jiang-Feng Hu, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200065, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 10972235

**Correspondence to:** Liang Zhu, Professor, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, 415 Fengyang Road, Huangpu District, Shanghai 200003, China. zhuliangcz@126.com

Received: 2015-08-22

Revised: 2015-10-18

Accepted: 2015-10-26

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of age on acute alcoholic liver injury and hepatocyte apoptosis.

**METHODS:** Three age groups of SD rats (1-month, 6-month and 18-month-old rats;  $n = 15$  each) were randomly divided into an experimental group ( $n = 10$ ) and a control group ( $n = 5$ ). The experimental group was intragastrically given alcohol (40% V/V, 15 g/kg), and the control group was given equal volume of normal saline. All the rats were sacrificed at 48 h to collect liver tissue and blood samples. Blood samples were tested for liver function, and the hepatic tissues were used for light microscopy, TUNEL, and ELISA for inflammatory cytokine measurement. RT-PCR was used to detect the mRNA expression of Bcl-2, Bax, and Caspase3.

**RESULTS:** In the control group, different age groups showed no significant difference in inflammation or liver function, although the liver cell apoptosis rate increased in the 18-month age group. The experiment group showed significant differences in inflammation

### 背景资料

随着酗酒人数的增加, 由过量饮酒引起的酒精性肝病(alcohol liver disease, ALD)在全世界范围内发病率不断升高。肝脏作为酒精代谢的中心其功能会随着年龄不断变化。因此研究酒精在不同年龄阶段所引起的肝脏损伤差异具有重要的社会意义。

### 同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

## ■ 研究前沿

肝脏作为酒精代谢的中心, 在代谢酒精的同时本身也会受到损伤。而酒精性肝损伤的具体机制至今仍不十分明了。因此研究不同条件下酒精性肝损伤的差异及可能机制, 为以后预防和治疗酒精性肝损伤提供理论基础。

and liver function compared to the control group. In the experiment groups, the above indexes also showed significant differences among different age groups, with the 1-month group having the highest levels, which is consistent with the degree of damage.

**CONCLUSION:** Under physiological conditions, liver function and inflammatory factors have no correlation with age, while apoptosis rate increases with age. Acute excessive alcohol consumption can cause liver damage, and the extent of damage is correlated with age, which may be related with different extents of inflammation and apoptosis in different age groups.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Acute alcohol induced liver injury; Age; Inflammatory cytokines; Apoptosis; Liver function

Qiu YY, Wang WH, Hu JF, Shen S, Zhu L. Impact of age on acute alcohol induced liver injury and hepatocyte apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5123-5132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5123.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5123>

## 摘要

**目的:** 研究年龄因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响。

**方法:** 月龄为1、6、18 mo的SD大鼠每组各15只, 随机分成实验组( $n = 10$ )和对照组( $n = 5$ ), 实验组每只大鼠以15 g/kg 400 mL/L乙醇一次性灌胃, 对照组以等比例生理盐水一次性灌胃。灌胃48 h后取大鼠血液和肝脏组织分别行肝功能和ELISA检测肝脏炎症因子表达及TUNEL检测肝细胞凋亡情况。并进一步研究酒精刺激后肝细胞中Bcl-2、Bax、Caspase3等在凋亡通路中的表达情况, 研究年龄因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响及可能机制。

**结果:** 对照组内, 不同年龄组间肝功能、炎症指标无明显差异, 月龄为1 mo和6 mo组肝细胞凋亡率无明显差异, 18 mo组高于其他两组。实验组内不同年龄组的肝功能、炎症因子表达和肝细胞凋亡率均显著高于对照组。且不同年龄组间不尽相同: 实验组6 mo的炎症因子表达高于其他组。而实验组内月

龄为1 mo的大鼠细胞凋亡率最高, 6 mo次之, 18 mo较低。进一步研究显示Bcl-2、Bax、Caspase3在不同年龄实验组中表达不同, 但同凋亡结果相一致。

**结论:** 生理状态下, 肝功能、炎症因子与年龄大多无显著相关性, 肝细胞凋亡率在老年时有所增加。急性过量饮酒可引起肝脏损伤和凋亡, 且损伤程度和凋亡与年龄呈相关性: 月龄为6 mo组肝脏损伤较重, 而1 mo组凋亡率更高。这可能与不同年龄大鼠在酒精刺激下肝脏炎症细胞的激活量及肝细胞凋亡通路的激活不同有关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 急性酒精性肝病; 年龄; 炎症因子; 凋亡; 肝功能

**核心提示:** 建立月龄为1、6、18 mo的不同年龄阶段的SD大鼠急性酒精肝损伤的动物模型, 评估不同年龄相同条件下急性酒精性肝损伤程度及肝细胞凋亡的差异, 探讨年龄因素在酒精性肝损伤中的意义和可能的凋亡机制。

邱媛媛, 王伟恒, 胡江峰, 沈思, 朱樑. 年龄因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5123-5132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5123.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5123>

## 0 引言

过量饮酒可引起多器官损伤<sup>[1]</sup>, 其中以肝脏损伤最为显著。酒精性肝病(alcohol liver disease, ALD)<sup>[2]</sup>是导致终末期肝病的主要原因之一。过量饮酒不仅可直接影响肝脏代谢<sup>[3]</sup>, 还可以同病毒性肝炎<sup>[4]</sup>、肥胖协同促进肝脏损伤, 构成肝脏疾病的百慕大三角<sup>[5]</sup>。ALD在严重影响患者身体健康的同时, 也给社会和家庭带来了巨大的经济负担<sup>[6]</sup>。流行病学调查发现人群酗酒率有向低龄化和高龄化蔓延的趋势<sup>[7]</sup>, 在酒文化盛行的今天, 研究不同年龄酒精摄入对肝脏的影响, 具有重要意义。

个体在不同年龄阶段, 肝脏功能可由于功能性酶<sup>[8]</sup>、调节性蛋白的表达差异发生改变<sup>[9]</sup>。有学者<sup>[10]</sup>综述了在老年人群中的肝病特点, 表明虽然肝脏在衰老中的作用有限, 但在罹患肝脏疾病时, 多可表现出如转氨酶无症状升高等特殊现象。不同年龄的个体对酒精的代谢和反

应不尽相同. 酒精引起的肝脏损伤除乙醇代谢过程及其产物造成的直接损伤外<sup>[11]</sup>, 还包括肝细胞损伤后引起的炎症级联反应及免疫损伤等复杂的病理过程. 乙醇进入体内后, 主要通过肝脏的乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH), 过氧化氢酶(catalase, CAT)进行代谢. 而当体内乙醇浓度过高时, 还可启动内质网中微粒体乙醇氧化代谢系统(microsomal ethanol oxidizing system, MEOS)进行代谢. MEOS代谢过程需要氧与细胞色素P450的参与<sup>[12,13]</sup>. 而这些关键性酶, 在不同年龄大鼠中的表达及活性不尽相同<sup>[14]</sup>.

基于以上背景我们猜测, 因不同年龄阶段的肝脏整体功能不同, 在急性酒精刺激下, 所受到的损伤也可能有所差异. 在实验中, 我们使用月龄为1、6、18 mo的SD大鼠为研究对象进行急性酒精灌胃处理, 通过比较肝功能、检测肝脏组织炎症及凋亡指标, 进行损伤的评估. 同时检测了凋亡通路中Bcl-2和Bax的表达, 以解释差异出现的可能原因. 以此来研究年龄因素在急性酒精性肝损伤中的意义和可能机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验动物均购自中国人民解放军第二军医大学实验动物中心(动物许可证编号: 2008001647623)月龄为1、6、18 mo的清洁级♂ SD大鼠, 所有操作均符合动物伦理要求. 400 mL/L乙醇由南京化学试剂有限公司提供的95%的医用级乙醇用双蒸水稀释而成. 兔抗大鼠白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 抗体(Cst, 美国)、Caspase3抗体(Abcam, 美国)、小鼠抗大鼠GAPDH(威奥, 1:2000)、IL-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-6 ELISA试剂盒(R&D, 美国)、TUNEL检测试剂盒(碧云天)、HRB羊抗小鼠二抗(Jackson, 美国)、HRB羊抗兔二抗(Jackson, 美国)、DAB辣根过氧化物酶显色试剂盒(碧云天, 中国)、全自动生化分析仪(强生)、倒置显微镜(奥林巴斯)、酶标仪(BioTek)、DNA提取试剂盒、总RNA抽提试剂盒(碧云天, 中国)、荧光定量仪: Gene Amp 5700 Sequence Detector、实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)扩增仪及配套分析软件Gene Amp 5700 SDS(Perkin-Elmer公司, 美国)、PCR引物由上海生物工程股份公司设计合成.

## 1.2 方法

**1.2.1 动物模型建立及分组:** 将实验动物按照年龄将月龄为1、6、18 mo的大鼠分为3组, 各15只, 每组随机分成对照组5只和实验组10只. 参照已有文献<sup>[15]</sup>, 使用400 mL/L乙醇以15 g/kg体重比例一次性灌胃. 在操作中, 若动物出现呛咳表示灌至动物气道, 则该实验对象予以排除. 出现醉酒症状后, 将大鼠舌头拉出以防窒息. 对照组按照相同比例一次性灌注生理盐水. 大鼠灌胃前12 h禁食, 6 h禁饮. 灌胃48 h后麻醉动物, 心脏取血用于肝功能检测. 取适量肝脏组织经多聚甲醛固定或液氮内冷冻保存, 用于形态学、qRT-PCR、Western blot及ELISA检测备用.

**1.2.2 肝脏病理学观察:** 各组肝脏标本经4%多聚甲醛固定24 h后, 经脱水石蜡包埋, 切片贴片后, 苏木精-伊红染色, 光学显微镜下肝脏病理形态学观察.

**1.2.3 血液肝功能检测:** 各组大鼠麻醉后, 打开胸腔, 暴露心脏, 用5 mL促凝管心脏取血3 mL, 并来回轻微摇晃混匀于4 °C促凝1 h后, 4 °C低温离心机2000 g离心15 min后取上层血清-80 °C保存, 待收集齐样本于中国人民解放军第二军医大学附属长征医院检验科采用强生950型全自动生化分析仪行肝功能测定. 肝功能项目包括: 丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST). 考虑到酒精干预后, 肝损伤发生的必然性, 此次研究的目的是主要集中在年龄差异在急性酒精性肝损伤中的意义, 因此只针对实验组各年龄阶段个体间进行相关指标的比较.

**1.2.4 肝脏炎症因子指标检测:** 各组肝脏标本称质量后加入一定量的PBS, 组织匀浆后离心取上清液, 严格按照ELISA试剂盒说明书操作, 检测IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6, 每个样本均有复孔, 并重复测量3次, 测量结果取均值.

**1.2.5 肝脏凋亡检测:** (1)TUNEL法检测肝细胞凋亡: 肝脏组织经多聚甲醛固定后, 石蜡包埋, 切片贴片脱蜡后, 按照TUNEL检测试剂盒说明书操作. 凋亡细胞细胞核为深浅不一的棕黄色或棕褐色, 非凋亡细胞核呈蓝色. 在高倍光镜下, 随机选取10个视野, 计算每个视野中凋亡细胞占总细胞的比例, 求平均值计算出凋亡率; (2)Western blot检测Caspase3蛋白的表达: 提取肝脏组织蛋白质样品, BCA法进行蛋白质

## ■ 相关报道

有关酒精性肝损伤的机制错综复杂, 包括炎症反应、过氧化损伤、内毒素损伤等. 而随着年龄增长肝细胞的基因和蛋白表达会发生变化, 肝脏的某些功能也会随之变化. 而年龄因素在酒精性肝损伤中的作用尚不清楚.



### 创新盘点

本研究首次将年龄作为急性酒精性肝损伤的影响因素, 通过评估不同年龄阶段SD大鼠的急性酒精性肝损伤程度, 研究年龄对急性酒精性肝损伤的影响及可能机制。

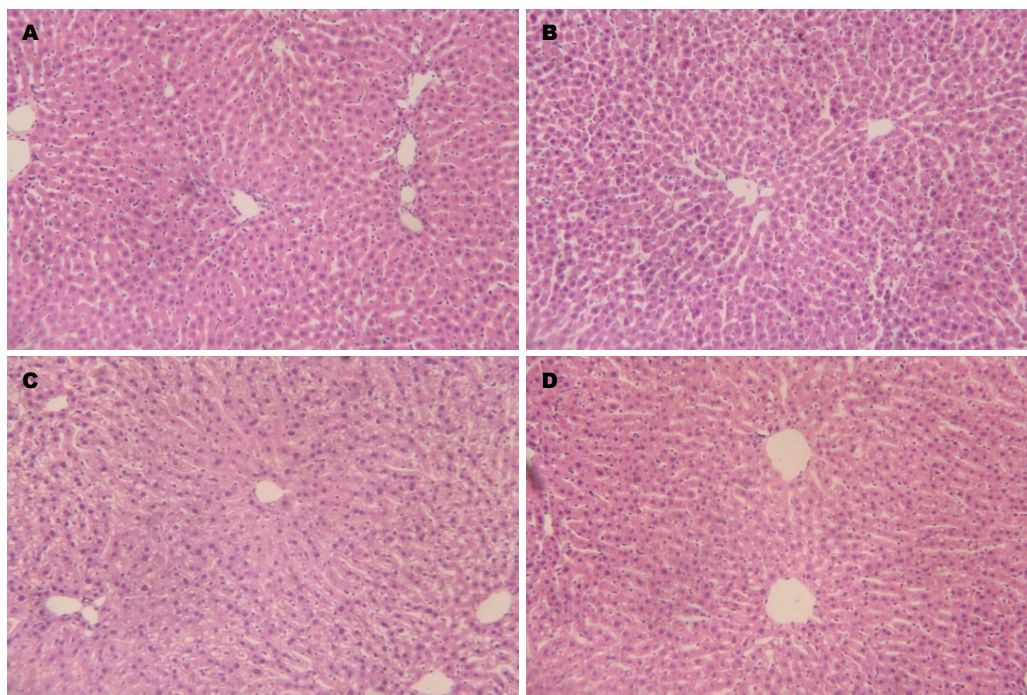


图1 肝脏HE染色( $\times 200$ )。A: 对照组大鼠肝脏; B-D: 实验组大鼠肝脏(B: 1 mo; C: 6 mo; D: 18 mo)。

定量。经凝胶电泳分离后转膜, 封闭加兔抗大鼠Caspase3抗体(1:1000)4℃孵育过夜, 以1:2000比例稀释兔二抗室温孵育1 h后常规曝光显影, 定影扫描。

1.2.6 采用qRT-PCR测定各组肝脏标本中Bcl-2、Bax、Caspase3 mRNA的表达: 将待测的肝脏标本组化匀浆后, 使用TRIzol试剂盒抽提总RNA, 并逆转录RNA为cDNA。纯度测定合格后, 使用MyiQ™(Bio-Rad)仪器, SYBR Green Realtime PCR master Mix试剂盒(TOYOBO Biotech, Osaka, Japan)完成qRT-PCR的测定, 内参选择GAPDH, 分别独立重复3次。在数据处理过程中使用对照组配对矫正。定量PCR引物序列如表1。

**统计学处理** 所得到的数据使用SPSS21.0进行单因素ANOVA方差分析比较, 多组间差异使用Student-Newman-Keuls进行比较,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况及光镜下肝细胞损伤的检出 所有实验对象经酒精灌胃30 min内, 均出现流涎、体态呆板、精神萎靡、嗜睡、食欲减退和行动迟缓等现象, 并于8-12 h后逐渐恢复。其中月龄为18 mo的大鼠恢复相对迟缓。实验组肝脏取材HE染色显示: 肝小叶结构紊乱, 炎症细胞

浸润, 肝细胞变性水肿, 出现点状坏死, 其中以实验组月龄为6 mo大鼠为重, 而生理盐水灌胃对照各组肝组织未见明显异常(图1)。

2.2 肝功能相关指标 对照组肝功能指标显示, 不同年龄大鼠肝功能指标无明显差异( $P>0.05$ )。实验组结果显示, 乙醇灌胃48 h后, 各年龄组肝功能指标均明显劣于对照组( $P<0.05$ ), 其中, ALT、AST基本呈现了中间高两头低的特殊形态, 月龄为6 mo的大鼠ALT和AST水平明显高于其他各组( $P<0.05$ )(图2)。

2.3 肝脏炎症因子水平 肝组织匀浆ELISA检测炎症因子指标显示, 对照组各年龄阶段的炎症因子表达均处于较低水平且无明显差异( $P>0.05$ )。实验组各年龄阶段的炎症因子水平均明显高于对照组( $P<0.05$ )。其中实验组中以月龄为6 mo的大鼠肝脏炎症因子水平最高, 明显高于其他组( $P<0.05$ )(图3)。

### 2.4 肝细胞凋亡水平检测

2.4.1 TUNEL法检测肝细胞凋亡: TUNEL法检测肝细胞凋亡显示, 实验组和对照组均可见棕黄色、棕褐色凋亡细胞核, 但对照组棕黄色细胞核出现率很低, 而实验组各组棕黄色凋亡细胞核出现率明显高于对照组(图4)。经随机挑选高倍视野计算凋亡指数来看, 对照组月龄为1 mo和6 mo无明显的差异( $P>0.05$ ), 18 mo高于1 mo和6 mo两组( $P<0.05$ )。而实验组内月龄为

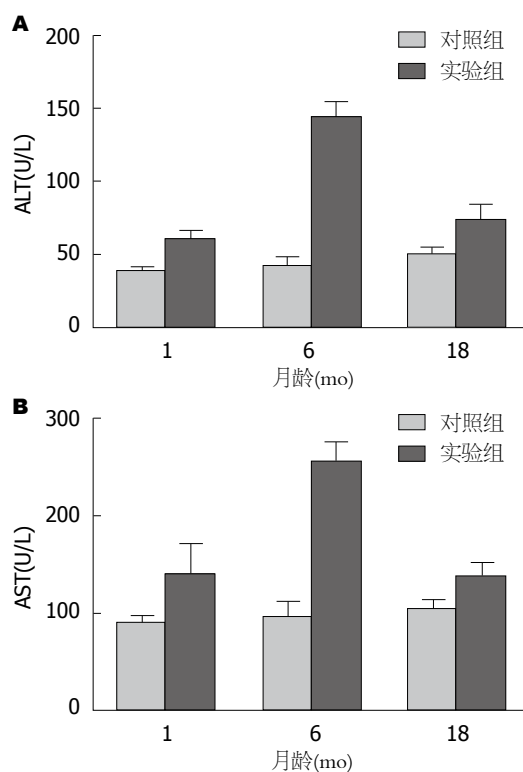


图2 肝功能相关指标。A: ALT含量; B: AST含量。ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶。

1 mo的大鼠细胞凋亡率最高, 6 mo次之, 18 mo凋亡率较低( $P<0.05$ )(图5)。

**2.4.2 Western blot检测Caspase3蛋白的表达:** 肝脏组织经蛋白提取后Western blot检测Caspase3蛋白显示, 活化的Caspase3的蛋白含量与TUNEL染色结果基本相符。对照组内Caspase3的表达无明显差异( $P>0.05$ ), 实验组与对照组相比活化后Caspase3的表达含量均有显著的升高( $P<0.05$ ), 且实验组内月龄为1 mo表达量最高, 6 mo次之, 18 mo较低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。酒精刺激后肝细胞凋亡率随着年龄增长而降低(图6)。

**2.5 qRT-PCR检测Bcl-2、Bax、Caspase3 mRNA的表达** 肝脏组织的qRT-PCR结果显示, 对照组内各年龄阶段的Bcl-2、Bax、Caspase3基因表达无明显差异, 而实验组内Bcl-2、Bax、Caspase3基因表达均有显著差异( $P<0.05$ ), 其中Caspase3、Bax基因的表达呈现出随年龄增高而降低的趋势, 抗凋亡Bcl-2基因表达则趋势相反, 随着年龄的增加, 表达量增加(图7)。

### 3 讨论

本实验以不同年龄阶段SD大鼠作为研究对象, 通过观察急性酒精摄取后, 不同年龄大鼠肝脏

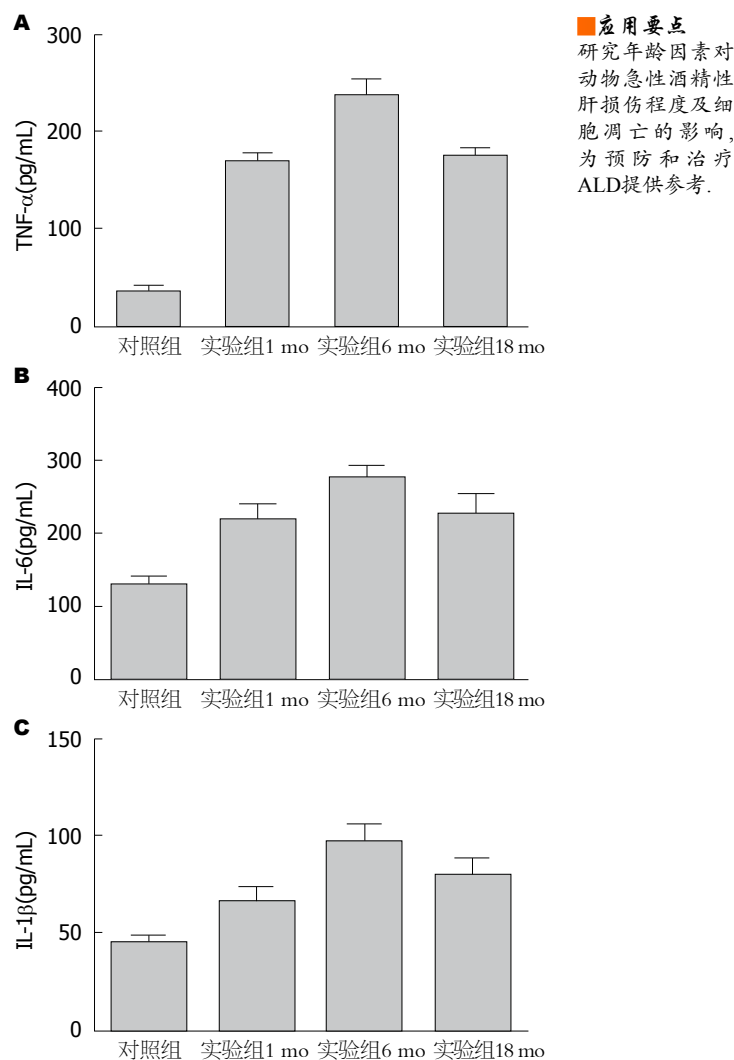


图3 肝脏各炎症因子的含量。A: 肝脏组织匀浆中TNF-α含量; B: IL-6的含量; C: IL-1β含量。TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL: 白介素。

损伤情况, 尝试说明年龄因素在急性酒精肝脏损伤中的意义。本实验通过检测肝功能和肝脏标本组织学来评价肝脏损伤情况, 还从分子生物学角度检测了肝脏组织的炎症及凋亡情况, 试图从凋亡通路角度出发, 通过比较Bax和Bcl-2的表达尝试解释年龄因素造成不同损伤的可能原因。整体上, 从多个角度对年龄因素在酒精性肝损伤中的意义进行了研究, 具有一定的说服力。

肝脏作为人体的代谢中心, 在生理状况下就存在着损伤、修复、再损伤的代谢平衡过程。而在强烈的损伤发生的情况之下, 此代谢平衡可能会发生失衡, 出现肝细胞的损伤和肝功能的异常。而目前评价肝脏损伤且广泛应用于临床的指标是血液肝功能检测。由于肝脏极强的再生能力<sup>[16]</sup>, 在肝损伤早期, 此项检测的敏

#### 应用要点

研究年龄因素对动物急性酒精性肝损伤程度及细胞凋亡的影响, 为预防和治疗ALD提供参考。



■名词解释

酒精性肝病: 是一种由于长期大量饮酒导致的肝脏疾病, 初期通常表现为脂肪肝, 进而可发展成酒精性肝炎、肝纤维化和肝硬化, 是我国常见的肝脏疾病之一。近年来占同期肝病住院患者的比例不断上升, 严重危害人民身心健康。

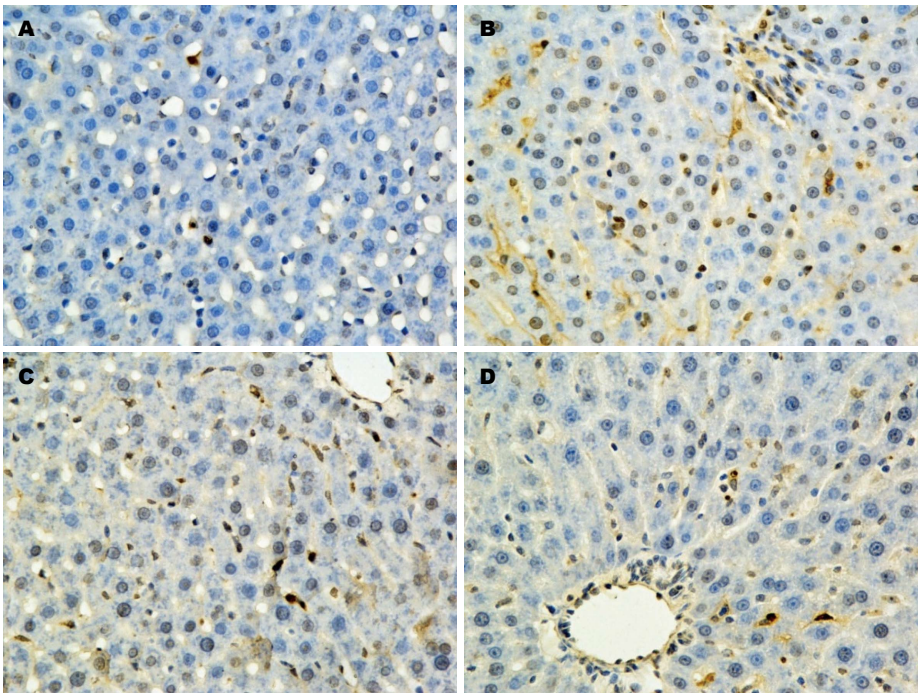


图 4 肝脏凋亡TUNEL染色(×400). A: 对照组肝脏TUNEL染色结果; B-D: 实验组染色结果(B: 月龄为1 mo; C: 月龄为6 mo; D: 月龄为18 mo). 其中蓝色为正常细胞细胞核, 棕色为TUNEL阳性凋亡的细胞。

表 1 PCR引物列表		
名称	引物序列	大小(bp)
GAPDH	F: 5'-GAAGGCTGGGGCTCATTG-3'	258
	R: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTCPF-3'	
Caspase3	F: 5'-CATGCACATCCTCACTCGTG-3'	158
	R: 5'-CCCACTCCCAGTCATTCCCTT-3'	
Bcl-2	F: 5'-CTTCAGGGATGGGGTGAAC-3'	174
	R: 5'-CAGCCTCCGTTATCCTGGAT-3'	
Bax	F: 5'-GAGACACCTGAGCTGACCT-3'	111
	R: 5'-CTGCAGCTCCATGTTGTTGT-3'	

F: 上游引物, R: 下游引物.

感性和特异性不高, 只有在肝损伤进展到一定程度时才会出现肝功能的明显异常. 而ALT、AST可以作为肝细胞损伤的敏感指标<sup>[17]</sup>, 在本次急性酒精性肝脏损伤模型的实验中, 可选取作为反应肝细胞损伤的经典指标, 用来评估肝细胞损伤的严重程度. 血清总胆汁酸<sup>[18]</sup>和总胆红素常被用于评价慢性肝损伤肝功能异常, 并不能用于本次急性酒精性肝损伤的评价中. 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的肝同种型已经被作为肝脏疾病的经典指标, ALP是一种抗炎因子<sup>[19]</sup>, 可作为年轻个体损伤后应激或年老个体多器官损伤后的反应, 但对急性细

胞损伤的特异性不强, 故未采用. 肝脏细胞的凋亡和坏死是肝脏损伤的关键性病理特征<sup>[20]</sup>. 其中炎症因子和凋亡通路扮演了重要的角色. 乙醇摄入可通过影响炎症因子的产生引发肝脏组织炎症<sup>[21]</sup>, 且短期大量的酒精摄入可导致炎症细胞过度活化, 引起包括TNF-α、IL-1β和IL-6在内的大量炎症因子产生, 造成肝细胞炎症进一步加重, 引起肝细胞凋亡坏死<sup>[22]</sup>. 在肝脏的炎症反应过程中, TNF-α是ALD发病过程中关键性炎症因子. 肠道内毒素入血增多和氧化应激均可激活肝脏内的Kupffer细胞并产生大量的TNF-α等炎症因子.



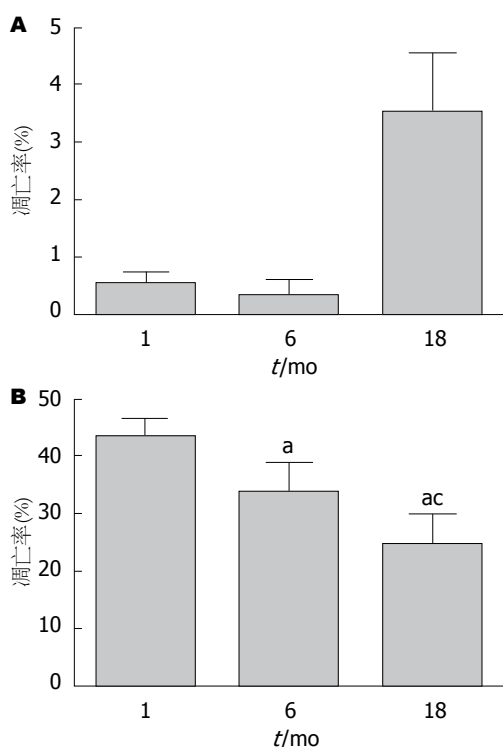


图 5 肝细胞凋亡率。A: 对照组; B: 实验组。\* $P<0.05$  vs 1 mo; <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 6 mo。

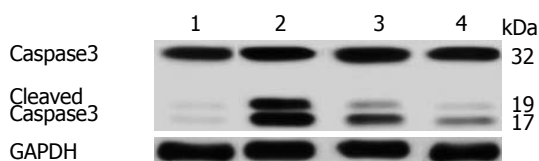


图 6 Western blot检测凋亡相关蛋白Caspase3在酒精性肝损伤中的蛋白变化情况。1: 对照组; 2-4: 实验组(2: 月龄为1 mo; 3: 月龄为6 mo; 4: 月龄为18 mo)。

TNF- $\alpha$ 既是核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)调节产物, 又是NF- $\kappa$ B的激活剂, 在ALD发病机制中尤其是炎症级联反应中发挥着关键作用<sup>[23]</sup>。而IL-1 $\beta$ 和IL-6作为炎症反应的主要效应分子在机体炎症过程中大量产生, 可以诱导肝脏急性期蛋白的合成及细胞损伤的发生。在使用炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6指标评价肝脏损伤过程中, 实验组炎症因子的表达量显著高于对照组, 原因在于酒精入血后, 致炎因素激活了肝脏的Kupffer等炎症细胞<sup>[24]</sup>, 引起炎症瀑布级联反应, 导致炎症因子大量释放造成肝细胞损伤。从酒精大量摄入后的肝脏损伤炎症因子角度看, ELISA结果显示年龄梯度中间高两边低的趋势, 实验组月龄为6 mo的大鼠中炎症指标的异常增高。这可能是由于月龄为6 mo的大鼠过强的炎症反应和继发性免疫

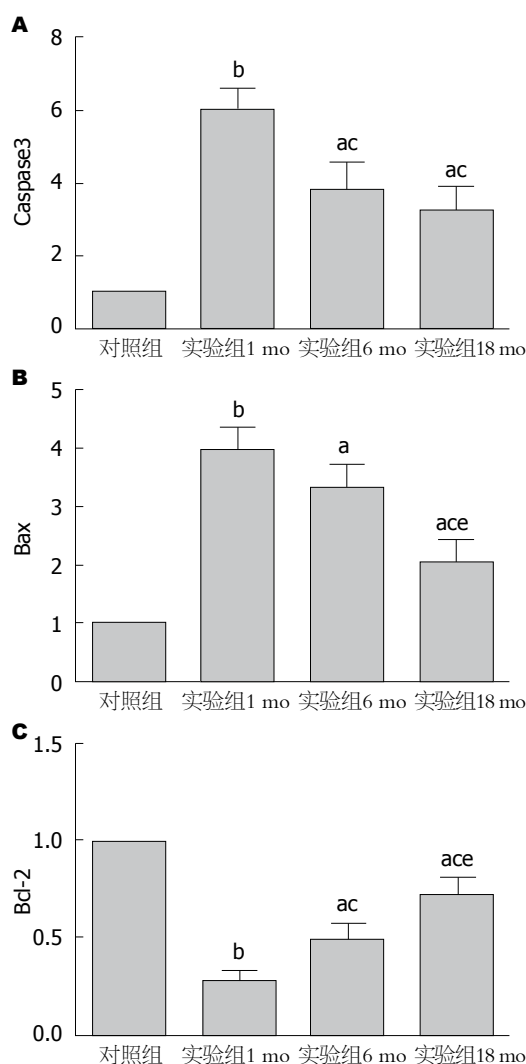


图 7 qRT-PCR检测各组Caspase3、Bax、Bcl-2 mRNA的表达。A: Caspase3; B: Bax; C: Bcl-2。\* $P<0.05$ , <sup>a</sup> $P<0.01$  vs 对照组; <sup>b</sup> $P<0.05$  vs 实验组1 mo; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 实验组6 mo。

损伤造成的。推断的理由在于: 一方面已有明确的研究表明B淋巴细胞活性<sup>[25]</sup>、IgM相关B淋巴细胞功能<sup>[26]</sup>乃至调节性T淋巴细胞活性<sup>[27]</sup>均显著受到年龄因素的影响。同时也有研究<sup>[28]</sup>表明免疫调节功能在多种疾病模型中同年龄关系密切。特别是在T淋巴细胞介导的炎症反应中, 年龄因素在糖尿病、肥胖、心血管疾病中均起到了至关重要的作用<sup>[29]</sup>。在面对相同的手术损伤时, 不同年龄的大鼠局部炎症反应的强度不同<sup>[30]</sup>。虽然肝脏具有同其他器官不同的修复特点, 且急性酒精刺激同一般性损伤不尽相同, 但其炎症应激应具有类似的过程。因此我们推断, 6 mo组炎症指标的异常增高, 可能同年龄相关的炎症反应强度和免疫功能差异有关, 但仍待进一步实验证明。

酒精直接刺激所导致的肝脏损伤包括肝

#### 同行评价

本实验选题符合该领域的研究方向与关心的热点问题, 设计合理, 具有一定的参考价值。

细胞坏死和肝细胞凋亡. 细胞凋亡是细胞为维持内环境的稳态, 由基因控制的细胞自主的程序性死亡过程. 生理状态下, 机体的器官在不同时期和状态下凋亡会有所不同. 已有研究表明: 年老个体的肝细胞凋亡水平在未干预前即高于年轻个体<sup>[31]</sup>, 这与对照组实验结果相符. 酒精刺激后肝细胞凋亡率与年龄呈负相关, 年龄越大凋亡率越低. 这可能的解释是, 年龄越小的细胞活性越高, 抵抗损伤的能力越大, 酒精刺激后所引起的细胞坏死较少, 而酒精直接刺激及炎症因子间接激活凋亡通路, 导致细胞凋亡的异常增高. 相关研究已表明, 在炎症引起的凋亡过程中IL-1 $\beta$ 可作为凋亡通路的上游信号<sup>[32]</sup>, 引起凋亡的产生<sup>[33]</sup>. 因此除炎症反应不同引起的凋亡差异外, 一定存在其他年龄相关影响凋亡发生的因素. 进一步研究发现Bax和Bcl-2两个凋亡上游分子表达情况同凋亡指标相一致, 因此可基本排除由于凋亡检测导致的错误结果. 同时也说明其不同凋亡结果可能是由于上游分子的表达不同引起的. 年龄因素不仅可直接引起损伤后的凋亡差异<sup>[34]</sup>, 也可通过影响年龄相关性氧化应激指标, 导致继发性损伤的不同<sup>[35]</sup>. 因此或可解释凋亡峰值向年幼个体偏移的现象. 此外, 在比较48 h后肝脏损伤指标的过程中, 个体自我修复功能的年龄差异作用不可忽视<sup>[36]</sup>. 因此, 虽然总的结果显示出较为一致的损伤趋势, 但限于此次实验样本数量仍偏少, 研究内容仍处于表面现象. 年龄因素对于个体的影响是全面而深远的, 很难通过单一器官或数个指标的研究揭示其中的奥秘.

实验中存在的局限在于: 限制于大鼠肝脏取材的困难, 无法通过酒精干预前获取足够的血液和肝组织作为自身对照, 因此需要同批次相近的其他个体进行矫正, 存在较大误差. 同时, 由于年龄因素具有其特殊性, 会不可逆的影响全身各个组织器官<sup>[37]</sup>. 肝脏作为人体的代谢中心, 不仅直接受到年龄因素的影响<sup>[38]</sup>, 还间接受到因年龄因素而发生功能改变的其他器官代谢改变的影响. 因此, 此次实验虽然从多方面研究了年龄因素在酒精性肝损伤中的影响, 但无法排除由于同年龄相关的其他因素造成的混杂偏移, 无法更进一步从机制上对该现象进行阐释.

总之, 本实验多层次多角度的论证了年龄

因素对急性酒精性肝损伤和肝细胞凋亡的影响. 证实了相同体质量比的酒精灌胃处理后, 不同年龄大鼠肝脏对酒精刺激的敏感性不同, 在一定程度上说明了年龄因素在酒精性肝损伤中的意义和可能的凋亡机制. 但有关年龄因素影响酒精性肝脏炎症和细胞凋亡变化最终导致肝损伤程度不同的具体机制, 仍有待进一步研究.

**志谢:** 感谢邓国英在本次试验中给予的大力帮助.

#### 4 参考文献

- Sethi SK. Reproducible plaquing system for rhinovirus serotypes in HeLa cells--agarose suspension. *Acta Virol* 1978; 22: 60-65 [PMID: 25009]
- Shukla SD, Lim RW. Epigenetic effects of ethanol on the liver and gastrointestinal system. *Alcohol Res* 2013; 35: 47-55 [PMID: 24313164]
- Gika HG, Wilson ID. Global metabolic profiling for the study of alcohol-related disorders. *Bioanalysis* 2014; 6: 59-77 [PMID: 24341495 DOI: 10.4155/bio.13.301]
- Gilligan TJ, Schwarz G. The self-association of adenosine-5'-triphosphate studied by circular dichroism at low ionic strengths. *Biophys Chem* 1976; 4: 55-63 [PMID: 2349 DOI: 10.1016/0301-4622(76)80007-5]
- Zakhari S. Bermuda Triangle for the liver: alcohol, obesity, and viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 1: 18-25 [PMID: 23855291 DOI: 10.1111/jgh.12207]
- Stevenson M, Lloyd-Jones M, Morgan MY, Wong R. Non-invasive diagnostic assessment tools for the detection of liver fibrosis in patients with suspected alcohol-related liver disease: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2012; 16: 1-174 [PMID: 22333291 DOI: 10.3310/hta16040]
- Mathurin P, Bataller R. Trends in the management and burden of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2015; 62: S38-S46 [PMID: 25920088 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.03.006]
- Majaw T, Sharma R. Arginase I expression is upregulated by dietary restriction in the liver of mice as a function of age. *Mol Cell Biochem* 2015; 407: 1-7 [PMID: 25976668 DOI: 10.1007/s11010-015-2448-5]
- Kireev RA, Cuesta S, Ibarrola C, Bela T, Moreno Gonzalez E, Vara E, Tresguerres JA. Age-related differences in hepatic ischemia/reperfusion: gene activation, liver injury, and protective effect of melatonin. *J Surg Res* 2012; 178: 922-934 [PMID: 22647552 DOI: 10.1016/j.jss.2012.04.060]
- Bruguera M. [Liver diseases in the elderly]. *Gastroenterol Hepatol* 2014; 37: 535-543 [PMID: 24951302 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2014.04.005]
- Penny SM. Alcoholic liver disease. *Radiol Technol* 2013; 84: 577-592; quiz 593-595 [PMID: 23861518]
- Beier JI, Arteel GE, McClain CJ. Advances in alcoholic liver disease. *Curr Gastroenterol Rep*

- 2011; 13: 56-64 [PMID: 21088999 DOI: 10.1007/s11894-010-0157-5]
- 13 You M, Crabb DW. Recent advances in alcoholic liver disease II. Minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G1-G6 [PMID: 15194557 DOI: 10.1152/ajpgi.00056.2004]
- 14 Kawase A, Ito A, Yamada A, Iwaki M. Age-related changes in mRNA levels of hepatic transporters, cytochrome P450 and UDP-glucuronosyltransferase in female rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2015; 40: 239-244 [PMID: 24899460 DOI: 10.1007/s13318-014-0208-7]
- 15 Chang B, Sang L, Wang Y, Tong J, Zhang D, Wang B. The protective effect of VSL#3 on intestinal permeability in a rat model of alcoholic intestinal injury. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 151 [PMID: 24138544 DOI: 10.1186/1471-230X-13-151]
- 16 Montenegro WS, Malafaia O, Nassif PA, Moreira LB, Prestes MA, Kume MH, Jurkonis LB, Cella IF. Evaluation of liver regeneration with use of diet supplemented with L-arginine. *Acta Cir Bras* 2014; 29: 603-607 [PMID: 25252207 DOI: 10.1590/S0102-8650201400150008]
- 17 van Beek JH, de Moor MH, de Geus EJ, Lubke GH, Vink JM, Willemsen G, Boomsma DI. The genetic architecture of liver enzyme levels: GGT, ALT and AST. *Behav Genet* 2013; 43: 329-339 [PMID: 23580007 DOI: 10.1007/s10519-013-9593-y]
- 18 Akamatsu K, Tanaka A, Taketa K. [Studies of serum bile acid determination by enzyme method and serum total bile acid in liver diseases]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1977; 74: 340-350 [PMID: 558412]
- 19 Moss AK, Hamarneh SR, Mohamed MM, Ramasamy S, Yammine H, Patel P, Kaliannan K, Alam SN, Muhammad N, Moaven O, Teshager A, Malo NS, Narisawa S, Millán JL, Warren HS, Hohmann E, Malo MS, Hodin RA. Intestinal alkaline phosphatase inhibits the proinflammatory nucleotide uridine diphosphate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 304: G597-G604 [PMID: 23306083 DOI: 10.1152/ajpgi.00455.2012]
- 20 Wlodzimierz KA, Eslami S, Abu-Hanna A, Nieuwoudt M, Chamuleau RA. Acute liver failure: what is it? *Hepatology* 2012; 55: 1306-1307 [PMID: 22161273 DOI: 10.1002/hep.25519]
- 21 Kawaratani H, Tsujimoto T, Douhara A, Takaya H, Moriya K, Namisaki T, Noguchi R, Yoshiji H, Fujimoto M, Fukui H. The effect of inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 495156 [PMID: 24385684]
- 22 Nordmann R, Ribière C, Rouach H. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic Biol Med* 1992; 12: 219-240 [PMID: 1563648 DOI: 10.1016/0891-5849(92)90030-K]
- 23 Harada H, Hines IN, Flores S, Gao B, McCord J, Scheerens H, Grisham MB. Role of NADPH oxidase-derived superoxide in reduced size liver ischemia and reperfusion injury. *Arch Biochem Biophys* 2004; 423: 103-108 [PMID: 14871473 DOI: 10.1016/j.abb.2003.08.035]
- 24 Enomoto N, Ikejima K, Yamashina S, Enomoto A, Nishiura T, Nishimura T, Brenner DA, Schemmer P, Bradford BU, Rivera CA, Zhong Z, Thurman RG. Kupffer cell-derived prostaglandin E(2) is involved in alcohol-induced fat accumulation in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G100-G106 [PMID: 10898751]
- 25 Martin V, Bryan Wu YC, Kipling D, Dunn-Walters D. Ageing of the B-cell repertoire. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2015; 370: pii: 20140237 [PMID: 26194751]
- 26 Martin V, Wu YC, Kipling D, Dunn-Walters DK. Age-related aspects of human IgM(+) B cell heterogeneity. *Ann N Y Acad Sci* 2015 Jul 7. [Epub ahead of print] [PMID: 26152370]
- 27 Raynor J, Karns R, Almanan M, Li KP, Divanovic S, Chougnet CA, Hildeman DA. IL-6 and ICOS Antagonize Bim and Promote Regulatory T Cell Accrual with Age. *J Immunol* 2015; 195: 944-952 [PMID: 26109645 DOI: 10.4049/jimmunol.1500443]
- 28 Ruan QW, Yu ZW, Bao ZJ, Ma YX. [The relationship between the polymorphism of immunity genes and both aging and age-related diseases]. *Yi Chuan* 2013; 35: 813-822 [PMID: 23853351 DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00813]
- 29 Macaulay R, Akbar AN, Henson SM. The role of the T cell in age-related inflammation. *Age (Dordr)* 2013; 35: 563-572 [PMID: 22252437 DOI: 10.1007/s11357-012-9381-2]
- 30 Sánchez-Hidalgo JM, Naranjo A, Ciria R, Ranchal I, Aguilar-Melero P, Ferrín G, Valverde A, Rufián S, López-Cillero P, Muntané J, Briceño J. Impact of age on liver regeneration response to injury after partial hepatectomy in a rat model. *J Surg Res* 2012; 175: e1-e9 [PMID: 22341343 DOI: 10.1016/j.jss.2011.11.1022]
- 31 Mach J, Huizer-Pajkos A, Kane A, Jones B, McKenzie C, Mitchell SJ, de Cabo R, Cogger VC, Le Couteur DG, Hilmer SN. The effect of aging on mitochondrial and cytosolic hepatic intrinsic death pathway and apoptosis associated proteins in Fischer 344 rats. *Exp Gerontol* 2015; 67: 54-61 [PMID: 25910621 DOI: 10.1016/j.exger.2015.04.009]
- 32 Chang YW, Zhao YF, Cao YL, Gu W, Pang J, Zhan HS. Bufalin exerts inhibitory effects on IL-1 $\beta$ -mediated proliferation and induces apoptosis in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Inflammation* 2014; 37: 1552-1559 [PMID: 24752615 DOI: 10.1007/s10753-014-9882-5]
- 33 Huang Y, Wu D, Fan W. Protection of ginsenoside Rg1 on chondrocyte from IL-1 $\beta$ -induced mitochondria-activated apoptosis through PI3K/Akt signaling. *Mol Cell Biochem* 2014; 392: 249-257 [PMID: 24671491 DOI: 10.1007/s11010-014-2035-1]
- 34 Zingarelli B, Chima R, O'Connor M, Piraino G, Denenberg A, Hake PW. Liver apoptosis is age dependent and is reduced by activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G133-G141 [PMID: 19926821 DOI: 10.1152/ajpgi.00262.2009]
- 35 Tevzadze N, Gujabidze N, Giorgadze S, Rukhadze R. The age related changes of nitric oxide and apoptosis in experiment. *Georgian Med News* 2009; (169): 87-90 [PMID: 19430053]
- 36 Shirabe K, Motomura T, Takeishi K, Morita K, Kayashima H, Taketomi A, Ikegami T, Soejima Y, Yoshizumi T, Maehara Y. Human early liver



- regeneration after hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma: special reference to age. *Scand J Surg* 2013; 102: 101-105 [PMID: 23820685 DOI: 10.1177/1457496913482250]
- 37 Hansen S, Baptiste KE, Fjeldborg J, Horohov DW. A review of the equine age-related changes in the immune system: comparisons between human and equine aging, with focus on lung-specific immune-aging. *Ageing Res Rev* 2015; 20: 11-23 [PMID: 25497559 DOI: 10.1016/j.arr.2014.12.002]
- 38 Sheedfar F, Di Biase S, Koonen D, Vinciguerra M. Liver diseases and aging: friends or foes? *Aging Cell* 2013; 12: 950-954 [PMID: 23815295 DOI: 10.1111/ace.12128]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

## 地塞米松对重症急性胰腺炎肝损伤大鼠EPRS的影响

陈丽舒, 杨元生, 陈 垦, 陈杏苑, 谢文瑞, 王 晖

陈丽舒, 陈杏苑, 广东药学院临床学院 广东省广州市 510310

杨元生, 广东药学院附属第二医院暨广州新海医院消化内科 广东省广州市 510300

陈 垦, 广东药学院护理学院 广东省广州市 510310

谢文瑞, 广东药学院附属第一医院消化内科 广东省广州市 510080

王 晖, 广东药学院中药学院 广东省广州市 510006

陈丽舒, 在读硕士, 主要从事胰腺病学临床与基础研究。

广东省科技厅社会发展基金资助项目, No. 2012B060300029

**作者贡献分布:** 课题由陈垦、谢文瑞、杨元生及王晖负责设计、论文指导写作以及修改工作; 由陈丽舒负责实验数据整理、论文撰写及实验工作; 由陈杏苑负责购买实验试剂及协助完成实验等工作。

**通讯作者:** 陈 垦, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 510310, 广东省广州市海珠区江海大道, 广东药学院护理学院。  
 chenkenck@126.com  
 电话: 020-34055856

收稿日期: 2015-08-17

修回日期: 2015-09-17

接受日期: 2015-10-13

在线出版日期: 2015-11-18

### Dexamethasone treatment upregulates glutamyl prolyl tRNA synthetase expression in liver tissue of rats with severe acute pancreatitis-associated liver injury

Li-Shu Chen, Yuan-Sheng Yang, Ken Chen, Xing-Yuan Chen, Wen-Rui Xie, Hui Wang

Li-Shu Chen, Xing-Yuan Chen, College of Clinical Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Yuan-Sheng Yang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital (Xinhai Hospital) of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510300, Guangdong Province, China

Ken Chen, Nursing College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Wen-Rui Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Hui Wang, College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

**Supported by:** The Science and Technology Department of Social Development Fund Project of Guangdong Province, No. 2012B060300029

**Correspondence to:** Ken Chen, Professor, Chief Physician, Nursing College, Guangdong Pharmaceutical University, Jianghai Road, Haizhu District, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com

Received: 2015-08-17

Revised: 2015-09-17

Accepted: 2015-10-13

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the effect of dexamethasone (DEX) on the expression of glutamyl prolyl tRNA synthetase (EPRS) in liver tissue of rats with severe acute pancreatitis (SAP)-associated liver injury.

**METHODS:** Ninety-six SD rats were randomly divided into an SAP model group, a sham operation (SO) group, and a DEX treatment group. Sodium taurocholate was used to induce SAP in rats of the model group and DEX group. Dexamethasone was given by intramuscular injection at 0.5 mg/100 g in the DEX group. Rats

### ■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种由各种炎症因子释放引起的急性炎症,其致死原因多为多器官功能不全,而合并肝损伤是最常见的并发症。而谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶(glutamyl-prolyl-tRNA synthetase, EPRS)蛋白多于哺乳类动物单核巨噬细胞中表达,其可能通过干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )/EPRS途径来影响SAP肝脏炎症的发展。

### ■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科); 王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外科综合治疗一科

## ■ 研究前沿

SAP治疗手段较为多样, 但降低死亡率仍需要运用地塞米松, 目前研究着眼于核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、JAK/STAT等炎症通路等研究, 无IFN- $\gamma$ /EPRS途径在SAP相关研究的报道, IFN- $\gamma$ /EPRS途径可能成为炎症途径的热点。

in each group were killed at different points (2, 6, 12, and 24 h) after treatment for further analysis. HE staining was used to observe liver damage. Serum amylase (AMS) content was measured by iodine colorimetric method. ELISA was used to detect the expression of liver nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). The expression of EPRS was detected by immunohistochemical staining.

**RESULTS:** The SAP group suffered more severe inflammatory exudation than the SO group as revealed by liver HE staining. The DEX group had a decreased pathological score compared with the SAP group ( $P = 0.025$ ). Serum AMS was significantly lower in the DEX group than in the SAP group ( $P = 0.0013$ ). NF- $\kappa$ B expression at 6 h was significantly lower ( $P = 0.047$ ), but IFN- $\gamma$  expression at 6 h was significantly higher in the DEX group than in the SAP group ( $P = 0.038$ ). The DEX group had significantly increased EPRS expression at 6 h as shown by immunohistochemistry ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Hepatic EPRS expression is increased at 6 h after dexamethasone treatment in SAP rats.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Severe acute pancreatitis; Dexamethasone; Inflammation; Glutamyl prolyl tRNA synthetase; Interferon- $\gamma$

Chen LS, Yang YS, Chen K, Chen XY, Xie WR, Wang H. Dexamethasone treatment upregulates glutamyl prolyl tRNA synthetase expression in liver tissue of rats with severe acute pancreatitis-associated liver injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5133-5140 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5133>

## 摘要

**目的:** 探讨谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶(glutamyl-prolyl-tRNA synthetase, EPRS)mRNA及其蛋白在重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)起病早期肝脏中的表达及其作用。

**方法:** 96只SD大鼠随机分为SAP组、假手术组(SO组)、地塞米松(dexamethasone, DEX)组, 于2、6、12、24 h时间点分别处死8只。用牛黄胆酸钠诱导大鼠建立SAP模型, DEX组大鼠下肢肌注0.5 mg/100 g地塞米松治疗, 其余两组不干预。HE染色观察肝脏病理损

伤, 碘比色法测血清淀粉酶(serum amylase, AMS)含量, ELISA法检测肝脏组织核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )表达量, RT-PCR法检测肝小叶中EPRS mRNA表达量, 免疫组织化学SP法半定量检测EPRS蛋白表达量。比较3组大鼠不同时段上述指标的差异。

**结果:** 肝脏HE染色结果见SAP组较SO组炎症渗出严重, DEX组较SAP组出血、渗出有所改善, 病理评分下降( $P = 0.025$ ); DEX组较SAP组降低( $P = 0.0013$ ); 各组肝脏NF- $\kappa$ B在6 h时间点相应升高, 但6 h DEX组较6 h SAP组低( $P = 0.047$ ); 而肝脏IFN- $\gamma$ 含量在6 h DEX组较6 h SAP组增加( $P = 0.038$ ); 6 h SAP组血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-1 $\beta$ 较6 h SO组升高, 而6 h DEX组较6 h SAP组降低( $P < 0.05$ ); 免疫组织化学结果示6 h SAP组较SO组高( $P = 0.007$ ), 6 h DEX组较6 h SAP组升高明显( $P = 0.007$ )。

**结论:** SAP大鼠经地塞米松治疗后EPRS升高, 提示EPRS在SAP并发肝损伤过程中可能有重要作用。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 重症急性胰腺炎; 地塞米松; 炎症; 谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶; 干扰素- $\gamma$

**核心提示:** 目前国内外研究中仍无研究证明谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶(glutamyl-prolyl-tRNA synthetase, EPRS)蛋白及mRNA在重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)模型大鼠肝脏中有表达, 且地塞米松(dexamethasone)在临床治疗SAP仍是重要的手段, 但机制复杂, 故本实验欲证明EPRS途径可能是多通路中的其中之一且可能存在抑制作用。

陈丽舒, 杨元生, 陈垦, 陈杏苑, 谢文瑞, 王晖. 地塞米松对重症急性胰腺炎肝损伤大鼠EPRS的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5133-5140 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5133>

## 0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)起病急, 病变累及多器官严重损害<sup>[1]</sup>, 其起病机制涉及广泛<sup>[2]</sup>, 在人体肝脏中, 干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )由淋巴细胞、自然杀伤细胞等产生, 且具有Th1/Th2应答调制的作



用<sup>[3]</sup>, 炎症因子促谷氨酰-tRNA合成酶(glutamyl-prolyl-tRNA synthetase, EPRS)磷酸化<sup>[4]</sup>, 抑制炎症相关蛋白翻译的非经典功能, 不阻断mRNA转录情况下抑制EPRS基因表达<sup>[5]</sup>. 本研究旨在探究经过地塞米松(dexamethasone, DEX)治疗后大鼠SAP早期肝脏EPRS mRNA及其蛋白的表达情况及DEX对EPRS mRNA及其蛋白的影响.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级♀SD大鼠96只, 8周龄, 体质量180 g±220 g, 购自广东省医学实验动物中心, 动物许可证号: SCXL(粤)2013-0002, 清洁级动物房饲养, 自由摄食饮水. 96只SD大鼠按随机数字表法分为假手术组(SO组)、SAP组、DEX组, 每组分为2、6、12、24 h 4个时间点组, 每时间点每组8只, 适应性饲养1 wk. 牛黄胆酸钠(sigma In.), 地塞米松(sigma In.), 752紫外分光光度计(上海凌光公司), 大鼠核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB) ELISA试剂盒(邦奕生物技术公司), 大鼠IFN-γ ELISA试剂盒(邦奕生物技术公司), 大鼠肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α) ELISA试剂盒(邦奕生物技术公司)、大鼠白介素(interleukin, IL)-1β ELISA试剂盒(邦奕生物技术公司), 淀粉酶试剂盒(南京建成生物工程研究所), 戊巴比妥钠(鼎国生物技术公司). 酶标仪iMark(BIO-RAD In.), 低温离心机Scanspeed 1730R(Labogene In.), 电热恒温培养箱DNP-9162(上海精宏公司), 普通PCR仪C1000 Thermal cycler(BIO-RAD In.), 荧光定量仪7300(ABI In.), 凝聚成像系统UV Transilluminator M-26(UVP In.), 电泳仪EPS-300(Tanon In.), EPRS兔抗大鼠抗体(Santa Cruz In.), 显微数码相机(Leica In.), 二抗山羊抗兔(中杉金桥公司), DAB显色剂(Novolink In.).

### 1.2 方法

**1.2.1 SAP模型建立及标本采集:** 应用5%牛黄胆酸钠(sodium taurocholate, STC)逆向胰胆管静推诱导大鼠SAP模型, 用微泵缓慢泵入5%STC(0.1 mL/100 g, 0.3 mL/min), 注射完2-3 min后观察到胰腺充血、肿胀、胰胆管均扩张. SO组仅开腹有翻动肠管和胰腺之后关腹. 两组大鼠均于术后在大腿皮下注射生理盐水(2 mL/100 g), 于2、6、12、24 h等时间点用3%戊巴比妥钠液麻醉大鼠后心脏取血(4 mL)

处死大鼠, 血液室温放置2 h, 1000 r/min离心10 min, 取上层血清分装入EP管内-70 °C冻存备用, 留取肝脏组织标本后冻存于液氮.

**1.2.2 病理切片:** 所有大鼠均取相同部位的肝脏组织大小约1.0 cm×1.0 cm×0.5 cm, 生理盐水洗净后, 4%多聚甲醛溶液固定24 h、脱水、脱脂、石蜡包埋、切片及HE染色.

**1.2.3 血清淀粉酶检测:** 取备用血清采用碘-淀粉比色法检测血清淀粉酶(serum amylase, AMS)的含量, 按照说明书配好待测溶液, 利用752紫外分光光度计于波长606 nm下测量样本吸光度(A)值, 用标准品绘制A值曲线, 根据公式计算出样本AMS含量.

**1.2.4 ELISA法检测肝脏NF-κB、IFN-γ含量:** 将组织剪成细小碎片, 溶解裂解液RIPA使用前加入1 mmol/L PMSF, 以每20 mg组织200 μL裂解液比例加入裂解液, 50 mg组织用玻璃匀浆器充分匀浆裂解, 2000-3000 r/min, 离心20 min收集上清. 采用间接夹心ELISA法, 按照说明书进行包被, 加样, 加酶标抗体, 显色, 终止反应等步骤后得出A值, 利用标准品绘制的A值曲线得出样本的最终浓度.

**1.2.5 RT-PCR法检测肝脏中EPRS mRNA:** (1)引物设计: GenBank上查找目的基因mRNA序列, 在CDS区设计特异性引物, 运用Primer express 2.0软件进行引物设计: Sequence Name: R-EPRS(扩增片段长度103 bp), 上游引物: 5'-AGCAGGCCTTCCGTTTCAGTT-3', 下游引物: 5'-GGAAGCTCGACGAATTTCCC-3'; Sequence Name: R-GAPDH(扩增片段长度110 bp)内参基因: 上游引物: 5'-AGGGCTGCCTTCTCTTGTGA-3', 下游引物: 5'-AACTTGCCGTGGGTAGAGTCA-3'; (2)组织总RNA提取: 在超净台内, 取约0.5 g组织于1.5 mL EP管内, 用剪刀剪碎, 加TRIzol 1.0 mL再用玻璃棒研磨匀浆, 充分振荡混匀, 室温放置5 min, 加入氯仿0.2 mL, 盖紧盖子, 用振荡器振荡15 s, 室温孵育2-3 min, 4 °C 12000 r/min离心15 min, 取上清液至新的1.5 mL EP管. 加与上清液等体积的异丙醇, 轻轻混匀, -20 °C孵育样品20-30 min, 4 °C 12000 r/min离心10 min, 弃上清液. 750 mL/L乙醇(含DEPC水) 800 μL洗涤沉淀1次, 4 °C 7500 r/min离心5 min, 弃乙醇. 空气或真空干燥5-10 min(不要完全干燥), 加DEPC处理水20-50 μL溶解RNA, -80 °C保存备用; (3)PCR反应: 待测样本PCR反应体系为

### ■ 相关报道

杨波等证明血浆铜蓝蛋白与肝损伤的程度呈正比, Fax实验室于Cell报道EPRS是沉默血浆铜蓝蛋白翻的必要组成蛋白, 在炎症相关基因沉默上发挥重要作用. Sampath等证明IFN-γ能导致EPRS磷酸化而抑制炎症发展, 故DEX存在一定间接增强EPRS的作用.

### ■ 创新盘点

目前国内外研究中仍无研究证明EPRS蛋白及mRNA在SAP模型大鼠肝脏中表达, 本文期待证明(1)EPRS在SAP肝脏中是否表达; (2)DEX治疗SAP过程中EPRS途径可能存在促进抑制炎症作用。

H<sub>2</sub>O 18  $\mu$ L, 10 $\times$ PCR Buffer 2.5  $\mu$ L, dNTPS 0.5  $\mu$ L, TAQ 0.5  $\mu$ L, 上游引物(10 pmol/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, 下游引物(10 pmol/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, 总体积25  $\mu$ L. 扩增条件为93  $^{\circ}$ C 2 min, 然后93  $^{\circ}$ C 15 s, 55  $^{\circ}$ C 25 s, 72  $^{\circ}$ C 25 s, 共40循环。

1.2.6 SP法免疫组织化学检测: 取材组织块, 经固定后, 常规石蜡包埋, 3  $\mu$ m切片。脱蜡: 烤箱中80  $^{\circ}$ C 2 h. 烤箱中取出玻片, 立即放入二甲苯10 min $\times$ 2次。脱水: 梯度乙醇100 mL/L(浓度梯度: 1000 mL/L $\rightarrow$ 1000 mL/L $\rightarrow$ 950 mL/L $\rightarrow$ 950 mL/L $\rightarrow$ 900 mL/L $\rightarrow$ 800 mL/L $\rightarrow$ 700 mL/L)2 min/次。将切片浸泡于3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>中, 10 min. PBS洗2 min $\times$ 3次。抗原修复, 微波处理: 0.01 mol/L(pH 7.8)柠檬酸缓冲溶液中, 大火煮沸5 min, 中火煮5 min(自然冷却至室温), PBS洗2 min $\times$ 3次, 免疫组织化学笔画圈。滴加封闭工作液, 37  $^{\circ}$ C 孵育15-20 min, PBS洗2 min $\times$ 3次。切片上滴加1:50稀释的兔抗大鼠一抗EPRS, 37  $^{\circ}$ C 孵育60-120 min, 或放4  $^{\circ}$ C冰箱过夜, PBS洗2 min $\times$ 3次。滴加1:50稀释的山羊抗兔二抗工作液, 37  $^{\circ}$ C 孵育15-20 min, PBS洗2 min $\times$ 3次。DAB显色2-5 min, 显微镜下控制, 自来水冲终止反应。苏木素复染约30 s, 自来水冲蓝化5 min, 脱水: 梯度乙醇(700 mL/L $\rightarrow$ 800 mL/L $\rightarrow$ 900 mL/L $\rightarrow$ 950 mL/L $\rightarrow$ 1000 mL/L $\rightarrow$ 1000 mL/L)2 min/次, 二甲苯30 s, 晾干切片, 中性树胶封片。结果判定: 免疫组织化学以包浆和包膜棕黄色颗粒沉淀为阳性, 在高倍视野(10 $\times$ 40)下随机选取5个视野, 计算每个阳性细胞数取其均数代表该样本的阳性表达数 $n_1$ , 总细胞数为 $n$ , 阳性率 =  $n_1/n \times 100\%$ 。

**统计学处理** 计量资料采用mean $\pm$ SD表示, 应用SPSS22.0统计软件对组内时间点变量进行单因素方差分析, 两组之间运用LSD法比较, 等级资料间用非参数检验,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 SAP大鼠模型肝脏病理变化 SAP组大鼠肝脏组织2、6 h时间点仅有少量渗出、出血。12 h呈不同程度肝窦扩张, 肝细胞排列紊乱, 肝索结构破坏, 中央静脉出血变形, 大量中性粒细胞浸润、渗出。24 h见肝脏大片渗出、坏死。6 h DEX组较6 h SAP组肝索结构较明显, 细胞排列较整齐, 根据Camargo分级标准进行评分, 6 h

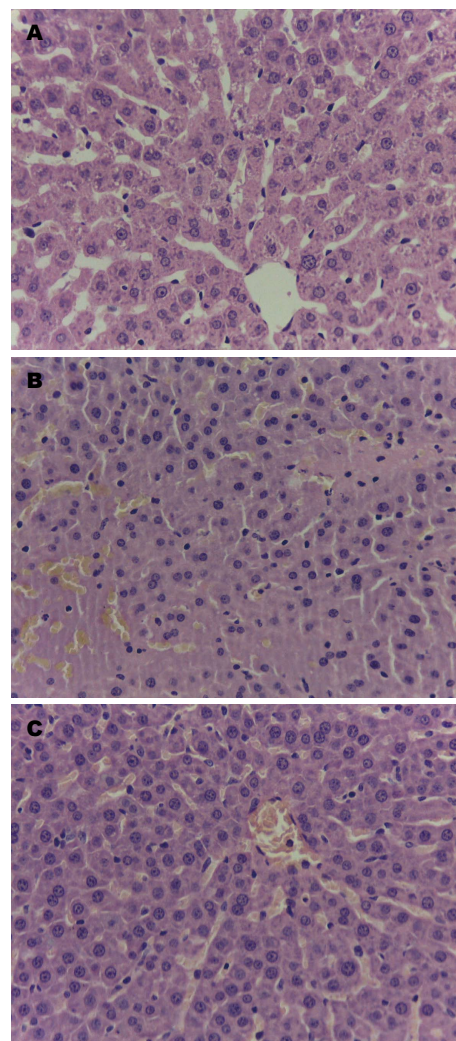


图1 肝脏组织镜下病理改变(HE $\times$ 400)。A: 6 h SO组; B: 6 h SAP组; C: 6 h DEX组。SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组。

时间点SO组、SAP组和DEX组各分组间进行非参数检验(Kruskal Wallis), 3组具有差异( $P = 0.048$ ), 6 h时间点SO组与DEX组和SAP组进行两独立样本检验(Mann-Whitney  $U$ )均有显著性差异( $P < 0.05$ , 表1, 图1)。

2.2 血清AMS含量 SAP组、DEX组血清AMS均较SO组血清升高( $P < 0.01$ ), 且随时间点推移呈递增趋势, 经过地塞米松治疗后DEX组血清AMS较SAP组降低( $P = 0.0013$ , 表2)。

2.3 ELISA法检测各组大鼠肝脏NF- $\kappa$ B、IFN- $\gamma$ 及血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 含量 SAP组NF- $\kappa$ B随时间推移逐渐升高至6 h后达到峰值后下降且与SO组差异明显( $P = 0.003$ ), 经过地塞米松治疗后, 6 h时间点DEX组较SAP组肝脏NF- $\kappa$ B含量降低( $P = 0.047$ ), 且与SO组无明显差异( $P = 0.188$ ), 其余时间点各组之间NF- $\kappa$ B含量无明

表 1 6 h时间点SO组、DEX组、SAP组肝脏评分 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, 分)

分组	0级	1级	2级	3级	秩次范围	平均秩
SO组	6	2	0	0	1-8	4.5
DEX组 <sup>a</sup>	2	4	2	0	9-16	12.5
SAP组 <sup>a</sup>	0	4	2	2	17-24	20.5

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组. SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组.

表 2 两组各时间点血清淀粉酶含量比较 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, U/L)

血清淀粉酶	2 h	6 h	12 h	24 h
SO组	573.3 $\pm$ 124.9	582.6 $\pm$ 103.6	580.0 $\pm$ 124.9	579.3 $\pm$ 103.5
SAP组	1580.0 $\pm$ 330.5 <sup>a</sup>	1863.3 $\pm$ 259.3 <sup>a</sup>	3560 $\pm$ 591.9 <sup>a</sup>	4076.7 $\pm$ 637.7 <sup>a</sup>
DEX组	791.7 $\pm$ 100.6 <sup>c</sup>	1291 $\pm$ 241.4 <sup>c</sup>	2480.7 $\pm$ 329.6 <sup>c</sup>	3119 $\pm$ 203.3 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs SO组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs SAP组. SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组.

表 3 不同时间点各组之间NF- $\kappa$ B、IFN- $\gamma$ 及血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 含量比较 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

指标	时间	SO组	SAP组	DEX组
NF- $\kappa$ B(ng/L)	2 h	136.025 $\pm$ 11.827	133.507 $\pm$ 12.274	173.579 $\pm$ 37.654
	6 h	138.550 $\pm$ 6.328	163.875 $\pm$ 18.023 <sup>a</sup>	228.908 $\pm$ 13.934 <sup>a</sup>
	12 h	142.925 $\pm$ 1.788	133.508 $\pm$ 2.644	160.035 $\pm$ 38.021
	24 h	135.258 $\pm$ 12.842	136.231 $\pm$ 17.239	162.559 $\pm$ 3.560
IFN- $\gamma$ (ng/L)	2 h	33.759 $\pm$ 2.944	34.781 $\pm$ 4.896	37.114 $\pm$ 3.503
	6 h	32.505 $\pm$ 4.476	77.458 $\pm$ 11.280 <sup>a</sup>	60.791 $\pm$ 7.943 <sup>a</sup>
	12 h	31.808 $\pm$ 4.692	38.393 $\pm$ 5.853	35.060 $\pm$ 2.564
	24 h	32.505 $\pm$ 4.475	32.745 $\pm$ 1.966	34.412 $\pm$ 2.463
TNF- $\alpha$ (ng/mL)	6 h	0.273 $\pm$ 0.914	0.531 $\pm$ 0.092 <sup>a</sup>	0.404 $\pm$ 0.083 <sup>a</sup>
IL-1 $\beta$ (ng/mL)	6 h	0.163 $\pm$ 0.553	0.455 $\pm$ 0.048 <sup>a</sup>	0.357 $\pm$ 0.067 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 6 h SO组. SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组. NF- $\kappa$ B: 核因子 $\kappa$ B; IFN- $\gamma$ :  $\gamma$ -干扰素; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ : 白介素-1 $\beta$ .

显差异. IFN- $\gamma$ 含量在SAP组、DEX组于6 h时间点升高到达峰值, 且较SO组升高显著( $P = 0.028$ ,  $P = 0.013$ ), 经地塞米松治疗后DEX组IFN- $\gamma$ 含量较SAP组升高( $P = 0.038$ ). 6 h DEX组血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 均较SO组降低, 6 h SAP组较SO组升高( $P < 0.05$ )(表3).

2.4 各组大鼠肝脏EPRS mRNA含量比较 6 h时间点, DEX组EPRS mRNA表达为3组间最高, SAP组次之, SO组表达最低,  $P = 0.0439$ ; 6 h DEX组EPRS mRNA表达量较6 h SAP组明显升高,  $P = 0.019$ ; 而6 h SAP组与6 h SO组EPRS mRNA无明显变化, 各组其余时间点EPRS mRNA表达无明显差异(表4).

2.5 各组大鼠肝脏EPRS蛋白免疫组织化学结果比较 6 h时间点SO组大鼠EPRS蛋白表达大多数为弱表达, 而SAP组则为几乎为弱表达与强表达参半, DEX组则绝大多数为强表达. 6 h时间点SO组、SAP组和DEX组3组间进行非参数检验(Kruskal Wallis), 3组差异明显( $P < 0.01$ ); 6 h时间点SO组、SAP组和DEX组3组进行两两独立样本检验(Mann-Whitney  $U$ ), SAP组与SO组比较,  $P = 0.078$ ; SAP组与SO组比较,  $P = 0.007$ ; DEX组与SO组比较,  $P = 0.007$ , 可见SO组与SAP组EPRS蛋白含量无明显差异, 而SO组与DEX组, SAP组与DEX组差异具有显著性, 由图2可知6 h DEX组EPRS蛋白表达较6 h SAP组表达增加.

#### 应用要点

目前地塞米松作为临床上治疗SAP常用药, 其机制复杂, 而本文提出了IFN- $\gamma$ /EPRS途径在地塞米松治疗过程中可能发挥促进作用, 对SAP的研究以及临床应用提供了一定的理论基础, 为SAP治疗提供了新的思路.



同行评价

本文探讨了地塞米松对SAP肝损伤大鼠EPRS的影响, 为SAP的深入研究提供了新的靶点, 构思严谨, 科学性较强, 研究组合好。

表 4 不同时间点各组间EPRS mRNA表达量比较 (n = 8, mean ± SD)

分组	2 h	6 h	12 h	24 h
SO组	2.034 ± 0.308	1.826 ± 0.194	1.834 ± 0.475	1.692 ± 0.309
SAP组	2.648 ± 1.167	7.024 ± 2.897 <sup>a</sup>	2.260 ± 0.803	3.215 ± 2.211
DEX组	3.531 ± 0.260	21.417 ± 8.315 <sup>c</sup>	6.029 ± 3.800	2.588 ± 1.531

<sup>a</sup>P<0.05 vs SO组; <sup>c</sup>P<0.05 vs SAP组. SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组. EPRS: 谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶.

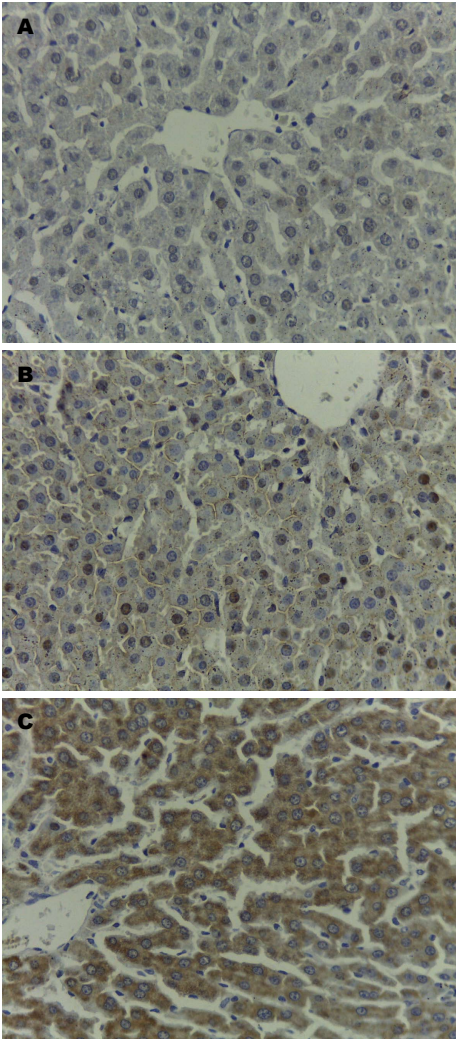


图 2 肝脏EPRS蛋白免疫组织化学表现(HIC × 400). A: 6 h SO组; B: 6 h SAP组; C: 6 h DEX组. SO组: 假手术组; DEX组: 地塞米松组; SAP组: 重症急性胰腺炎组. EPRS: 谷氨酸-酰胺酸-tRNA合成酶.

3 讨论

SAP治疗迄今仍无特效药、且易并发全身性炎症反应综合征, 死亡率较高<sup>[6,7]</sup>, 我们课题组前期研究表明, 急性胰腺炎细胞经免疫印迹证明NF-κB p65蛋白升高明显<sup>[8,9]</sup>, 而赵立新等<sup>[10]</sup>实验结果示SAP组NF-κB p65肝脏表达明显高

于SO组并与炎症发展成正比与本文表1中NF-κB的变化相符. 虽然SAP发病机制研究多围绕NF-κB信号通路展开<sup>[11]</sup>, 但未能找到特效靶点抑制剂, 近年则着眼于炎症基因转录靶点、蛋白翻译等研究. 在人体单核/巨噬细胞存在EPRS蛋白介导的特异性炎症相关基因沉默的非经典功能可抑制炎症相关蛋白翻译<sup>[12]</sup>, 在不阻断JAK、STAT、MAPK、ERK等炎症基因mRNA转录的前提下抑制炎症因子表达. DEX具有抑制炎症细胞集聚、抑制吞噬作用及溶酶体释放等功能, 可通过体液免疫来抑制SAP患者的炎症发展<sup>[13]</sup>. 陆伟等<sup>[14]</sup>对在哮喘小鼠体内注射地塞米松能促进IFN-γ释放, 其机制可能是促进IFN-γ基因的转录及蛋白表达和合成; 增加IFN-γ的稳定性, 减少其降解; 上调IFN-γ的靶细胞和信号传导通路的功能来上调IFN-γ<sup>[15]</sup>. IFN-γ具有刺激中性粒细胞, 增强其吞噬能力; 活化NK细胞, 增强其细胞毒作用; 使静脉内皮细胞对中性粒细胞的黏附能力更强<sup>[16]</sup>. EPRS是哺乳动物细胞内的一种双功能氨基酰-tRNA合成酶, 其可能通过以下两个途径调节炎症反应: (1)通过基因选择性沉默机制阻遏血浆铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)的表达而止炎症反应. Qiu等<sup>[17]</sup>证明血浆铜蓝蛋白与肝损伤的程度呈正比, 而Fax实验室于Cell报道EPRS是沉默血浆铜蓝蛋白翻的必要组成蛋白, 在炎症相关基因沉默上发挥重要作用<sup>[18]</sup>; (2)EPRS于IFN-γ刺激后发生磷酸化并由aaRS复合物上解离下来后结合NSAPI形成无活性的前体IFN-γ激活/翻译抑制(gamma-interferon-activated inhibitor of translation, GAIT)复合物<sup>[19]</sup>, 受IFN-γ刺激后核糖体蛋白L13a被磷酸化并从核糖体60S亚基上解离下来<sup>[20]</sup>, 结合GAPDH和前体GAIT复合物形成有功能活性完整的GAIT复合物从而抑制炎症发展<sup>[21]</sup>. 故EPRS对抑制SAP肝损伤炎症反应可能有一定作用.

本研究拟运用DEX治疗SAP大鼠, 以探究EPRS蛋白及其mRNA是否参与SAP早期并发肝损伤过程, 研究发现6 h点SAP大鼠肝脏组织中发现IFN- $\gamma$ 和EPRS蛋白及其mRNA表达量较SO组明显升高, 而DEX组则较SAP组升高更显著(表3, 4), 但12 h和24 h时间点二者在SAP组与DEX组间表达均无明显差异。我们研究<sup>[22]</sup>发现SAP大鼠肝脏IFN- $\gamma$ 、EPRS较正常大鼠升高, 经DEX治疗后SAP大鼠肝脏IFN- $\gamma$ 、EPRS均较SAP大鼠升高。可能由于地塞米松诱导IFN- $\gamma$ 表达增加后, IFN- $\gamma$ 进一步诱导调节蛋白CDK5-R1(p35)激活依赖Cyclin的激酶5磷酸化Ser886位点, 并活化AGC激酶使Ser999磷酸化, 导致EPRS的链接EPRS蛋白转录翻译形成GAIT结合靶标Mrna3'-UTR上识别原件(GAIT element)抑制炎症相关蛋白质翻译<sup>[23]</sup>, 或可能通过降低血浆铜蓝蛋白以减轻炎症反应<sup>[24]</sup>。DEX可能通过刺激IFN- $\gamma$ 合成和EPRS蛋白表达使得DEX干预大鼠炎症相关指标降低, 但IFN- $\gamma$ 与EPRS之间的相关性尚需进一步研究。

总之, 在SAP大鼠肝脏组织中EPRS mRNA受到IFN- $\gamma$ 刺激后表达增加, 而后EPRS mRNA经过转录翻译形成EPRS蛋白以抑制炎症发生发展<sup>[25]</sup>, DEX组地塞米松干预后肝脏炎症减轻, 肝脏IFN- $\gamma$ 增加, EPRS蛋白及其mRNA表达明显升高, NF- $\kappa$ B表达及肝脏病理评分减低。可见, DEX能有效减少炎症因子产生, 并上调EPRS mRNA及蛋白表达; 而EPRS可能通过调控炎症相关蛋白如: JAK、STAT、MAPK、ERK等多靶点表达来调控SAP炎症的发展<sup>[26-30]</sup>。EPRS蛋白及其mRNA在SAP早期即升高, 提示EPRS可能在SAP发病过程中有重要作用, SAP早期联合应用DEX及EPRS重组蛋白可能对SAP炎症反应有一定抑制作用。

#### 4 参考文献

- 1 Rizos E, Tournikioti K, Alevyzakis E, Peppas M, Papazaxos K, Zorbas G, Michopoulos I, Liappas I, Papageorgiou C, Douzenis A. Acute Necrotizing Pancreatitis Following Olanzapine Treatment and 759C/T Polymorphism of HTR2C Gene: A Case Report. *In Vivo* 2015; 29: 529-531 [PMID: 26359410]
- 2 Meher S, Mishra TS, Sasmal PK, Rath S, Sharma R, Rout B, Sahu MK. Role of Biomarkers in Diagnosis and Prognostic Evaluation of Acute Pancreatitis. *J Biomark* 2015; 2015: 519534 [PMID: 26345247 DOI: 10.1155/2015/519534]
- 3 Fireman-Klein E, Man A, Schwartz Y, Fireman E. Interferon Gamma Release Assay-Guided Latent

- Tuberculosis Prophylaxis in Israel. *Isr Med Assoc J* 2015; 17: 405-409 [PMID: 26357713]
- 4 Yao P, Potdar AA, Arif A, Ray PS, Mukhopadhyay R, Willard B, Xu Y, Yan J, Saidel GM, Fox PL. Coding region polyadenylation generates a truncated tRNA synthetase that counters translation repression. *Cell* 2012; 149: 88-100 [PMID: 22386318 DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.018]
- 5 Jia J, Arif A, Ray PS, Fox PL. WHEP domains direct noncanonical function of glutamyl-Prolyl tRNA synthetase in translational control of gene expression. *Mol Cell* 2008; 29: 679-690 [PMID: 18374644 DOI: 10.1016/j.molcel.2008.01.010]
- 6 Horibe M, Egi M, Sasaki M, Sanui M. Continuous Regional Arterial Infusion of Protease Inhibitors for Treatment of Severe Acute Pancreatitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Pancreas* 2015; 44: 1017-1023 [PMID: 26355545 DOI: 10.1097/MPA]
- 7 Dong LH, Liu ZM, Wang SJ, Zhao SJ, Zhang D, Chen Y, Wang YS. Corticosteroid therapy for severe acute pancreatitis: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 7654-7660 [PMID: 26339332]
- 8 Rao CY, Fu LY, Hu CL, Chen DX, Gan T, Wang YC, Zhao XY. H2S mitigates severe acute pancreatitis through the PI3K/AKT-NF- $\kappa$ B pathway in vivo. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4555-4563 [PMID: 25914464 DOI: 10.3748/wjg.v21.i15.4555]
- 9 谢文瑞, 杨元生, 杨新魁, 陈垦, 陈婧华, 崔淑兰, 王晖. PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤中NF- $\kappa$ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2136-2142
- 10 赵立新, 马向明, 曹立瀛, 刘四清, 付庆江, 张青松. 金黄胆颗粒对大鼠重症急性胰腺炎肝损伤的保护作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2654-2659
- 11 Zhu T, Wu XL, Zhang W, Xiao M. Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) Modulates OVA-Induced Airway Inflammation and Mucus Secretion Involving a Protein Kinase A (PKA)-Dependent Nuclear Factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) Signaling Pathway in Mice. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 20195-20211 [PMID: 26343632 DOI: 10.3390/ijms160920195]
- 12 Arif A, Chatterjee P, Moodt RA, Fox PL. Heterotrimeric GAIT complex drives transcript-selective translation inhibition in murine macrophages. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 5046-5055 [PMID: 23071094 DOI: 10.1128/MCB.01168-12]
- 13 张喜平, 张玲, 王英, 姜益玉, 程琪辉, 陆贝, 居同法, 方欣, 沈海萍. 地塞米松对重症急性胰腺炎大鼠多脏器损伤的保护作用. *医学研究杂志* 2006; 35: 19-23
- 14 陆韦, 王蕾, 谯明, 王玉, 江吉富, 吴中明. 地塞米松对哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液中IL-25和IFN- $\gamma$ 的影响. *医药导报* 2014; 33: 997-1000
- 15 李洪涛, 张天托, 陈壮桂. 布地奈德对支气管哮喘小鼠树突细胞胸腺基质淋巴生成素受体表达的影响. *中华结核和呼吸杂志* 2012; 35: 49-502
- 16 Magaña D, Aguilar G, Linares M, Ayala-Balboa J, Santacruz C, Chávez R, Estrada-Parra S, Garfias Y, Lascuain R, Jiménez-Martínez MC. Intracellular IL-4, IL-5, and IFN- $\gamma$  as the main characteristic of CD4+CD30+ T cells after allergen stimulation in patients with vernal keratoconjunctivitis. *Mol Vis* 2015; 21: 443-450 [PMID: 25999672]
- 17 Qiu Y, Wang Y, Lin N, Huang M, Tan Y, Wang Q, Jiang Y, Liu H, Liu J, Zhang J, Wang J, Chen X, Wang D, Li G, Chen Z, Zhang L, Bao D, Zhao L,

- Guan C, Wan K. Multicenter clinical evaluation of three commercial reagent kits based on the interferon-gamma release assay for the rapid diagnosis of tuberculosis in China. *Int J Infect Dis* 2015 Sep 7. [Epub ahead of print] [PMID: 26358858 DOI: 10.1016/j.ijid.2015.09.004]
- 18 Sampath P, Mazumder B, Seshadri V, Gerber CA, Chavatte L, Kinter M, Ting SM, Dignam JD, Kim S, Driscoll DM, Fox PL. Noncanonical function of glutamyl-prolyl-tRNA synthetase: gene-specific silencing of translation. *Cell* 2004; 119: 195-208 [PMID: 15479637]
- 19 杨波, 吴元凯, 曹红, 陈忠诚, 高志良, 柯伟民. 血浆铜蓝蛋白在乙型肝炎不同肝功能状态的水平及意义. *胃肠病学和肝病学杂志* 2012; 21: 841-843
- 20 Arif A, Jia J, Moodt RA, DiCorleto PE, Fox PL. Phosphorylation of glutamyl-prolyl tRNA synthetase by cyclin-dependent kinase 5 dictates transcript-selective translational control. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 1415-1420 [PMID: 21220307 DOI: 10.1073/pnas.1011275108]
- 21 姚鹏, 王恩多. 谷氨酰-脯氨酰-tRNA合成酶的非经典功能—炎症相关基因特异性的翻译沉默. *生命科学* 2012; 24: 502-509
- 22 Ray PS, Sullivan JC, Jia J, Francis J, Finnerty JR, Fox PL. Evolution of function of a fused metazoan tRNA synthetase. *Mol Biol Evol* 2011; 28: 437-447 [PMID: 20829344 DOI: 10.1093/molbev/msq246]
- 23 Marquez-Jurado S, Nogales A, Zuñiga S, Enjuanes L, Almazán F. Identification of a gamma interferon-activated inhibitor of translation-like RNA motif at the 3' end of the transmissible gastroenteritis coronavirus genome modulating innate immune response. *MBio* 2015; 6: e00105 [PMID: 25759500 DOI: 10.1128/mBio.00105-15]
- 24 Kida Y, Taira J, Yamamoto T, Higashimoto Y, Kuwano K. EprS, an autotransporter protein of *Pseudomonas aeruginosa*, possessing serine protease activity induces inflammatory responses through protease-activated receptors. *Cell Microbiol* 2013; 15: 1168-1181 [PMID: 23311922 DOI: 10.1111/cmi.12106]
- 25 Mukhopadhyay R, Jia J, Arif A, Ray PS, Fox PL. The GAIT system: a gatekeeper of inflammatory gene expression. *Trends Biochem Sci* 2009; 34: 324-331 [PMID: 19535251 DOI: 10.1016/j.tibs.2009.03.004]
- 26 Shin C, Hwang GS, Ahn HC, Kim S, Kim KS. (1)H, (13)C and (15)N resonance assignment of WHEP domains of human glutamyl-prolyl tRNA synthetase. *Biomol NMR Assign* 2015; 9: 25-30 [PMID: 24378977 DOI: 10.1007/s12104-013-9538-7]
- 27 Liu F, Pawliwec A, Feng Z, Yasruel Z, Lebrun JJ, Ali S. Prolactin/Jak2 directs apical/basal polarization and luminal lineage maturation of mammary epithelial cells through regulation of the Erk1/2 pathway. *Stem Cell Res* 2015; 15: 376-383 [PMID: 26318719 DOI: 10.1016/j.scr.2015.08.001]
- 28 Thomas S, Fisher KH, Snowden JA, Danson SJ, Brown S, Zeidler MP. Methotrexate Is a JAK/STAT Pathway Inhibitor. *PLoS One* 2015; 10: e0130078 [PMID: 26131691 DOI: 10.1371/journal.pone.0130078]
- 29 Wu S, Xue J, Yang Y, Zhu H, Chen F, Wang J, Lou G, Liu Y, Shi Y, Yu Y, Xia C, Hu Y, Chen Z. Isoliquiritigenin Inhibits Interferon- $\alpha$ 3B3; -Inducible Genes Expression in Hepatocytes through Down-Regulating Activation of JAK1/STAT1, IRF3/MyD88, ERK/MAPK, JNK/MAPK and PI3K/Akt Signaling Pathways. *Cell Physiol Biochem* 2015; 37: 501-514 [PMID: 26315837 DOI: 10.1159/000430372]
- 30 Liu M, Kay JC, Shen S, Qiao LY. Endogenous BDNF augments NMDA receptor phosphorylation in the spinal cord via PLC $\gamma$ , PKC, and PI3K/Akt pathways during colitis. *J Neuroinflammation* 2015; 12: 151 [PMID: 26289587 DOI: 10.1186/s12974-015-0371-z]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## FLOT1蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义

曹传林, 李太原, 曹超, 熊强强, 江群广, 刘东宁

曹传林, 曹超, 熊强强, 南昌大学研究生院医学部 南昌大学第一附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

李太原, 江群广, 刘东宁, 南昌大学第一附属医院普外科 江西省南昌市 330006

曹传林, 在读硕士, 主要从事胃肠肿瘤基础与临床的研究。

国家青年自然科学基金资助项目, No. 81402401

**作者贡献分布:** 此课题由李太原与刘东宁设计; 标本采集及术后随访由曹超完成; 数据处理与分析由江群广完成; 实验过程由曹传林与熊强强完成; 论文写作由曹传林与刘东宁完成。

**通讯作者:** 刘东宁, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院胃肠外科。  
[liudongning1982@sina.com](mailto:liudongning1982@sina.com)  
电话: 0791-88694893

收稿日期: 2015-08-28

修回日期: 2015-09-24

接受日期: 2015-10-13

在线出版日期: 2015-11-18

### Clinical significance of flotillin-1 overexpression in human gastric cancer

Chuan-Lin Cao, Tai-Yuan Li, Chao Cao, Qiang-Qiang Xiong, Qun-Guang Jiang, Dong-Ning Liu

Chuan-Lin Cao, Chao Cao, Qiang-Qiang Xiong, Graduate School of Medicine, Nanchang University; Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Tai-Yuan Li, Qun-Guang Jiang, Dong-Ning Liu, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81402401

Correspondence to: Dong-Ning Liu, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of

Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Donghu District, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. [liudongning1982@sina.com](mailto:liudongning1982@sina.com)

Received: 2015-08-28

Revised: 2015-09-24

Accepted: 2015-10-13

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of flotillin-1 (FLOT1) protein in gastric cancer and analyze their correlation with pathological characteristics and prognosis.

**METHODS:** We detected the FLOT1 expression in fresh gastric cancer samples and matched adjacent noncancerous tissue samples by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) ( $n = 16$ ) and Western blot analysis ( $n = 16$ ). Additionally, immunohistochemistry was performed to examine FLOT1 protein expression in paraffin-embedded gastric carcinoma tissues and matched normal specimens from 187 gastric cancer patients. Statistical analyses were applied to evaluate the associations of FLOT1 expression with clinical parameters and prognosis.

**RESULTS:** FLOT1 mRNA and protein levels were evidently up-regulated in gastric cancer tissues compared with adjacent non-cancerous tissue samples (13/16; 12/16). FLOT1 expression in gastric cancer tissues was significantly higher than that in corresponding adjacent normal tissues (92.35% vs 26.67%,  $P < 0.05$ ). Expression of FLOT1 in tumor tissue was not significantly associated with gender, age, tumor size, differentiation status or tumor location. However, elevated FLOT1 expression

### 背景资料

胃癌是世界上常见的恶性肿瘤之一。 flotillin蛋白 (flotillin, FLOT) 在1997年被Schulte等首先报道, 同年, Bickel等在筛选脂筏新的标记分子时, 从鼠肺组织膜提取物中分离到一类蛋白, 将其命名为FLOT。 FLOT分为FLOT1和FLOT2, FLOT1是最近发现与多种肿瘤的发生发展密切相关。因此, 研究FLOT1在胃癌中的作用机制十分重要。

### 同行评议者

赵青川, 主任医师, 教授, 西京医院消化外科

## ■ 研究前沿

FLOT1蛋白在体内广泛表达, 参与肿瘤的生成、浸润、转移和预后等过程。因此胃癌与FLOT1的关系值得进一步研究。FLOT1有望成为胃癌的早期诊断指标和治疗靶点。

was strongly correlated with depth of invasion ( $P = 0.000$ ), lymph node metastasis ( $P = 0.000$ ), distant metastasis ( $P = 0.000$ ), and AJCC stage ( $P = 0.016$ ). Elevated FLOT1 cases had a poor prognosis.

**CONCLUSION:** FLOT1 expression is significantly correlated with depth of invasion and distant metastasis. FLOT1 may be used as an early diagnostic marker and therapeutic target for gastric carcinoma.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Flotillin-1; Prognosis

Cao CL, Li TY, Cao C, Xiong QQ, Jiang QG, Liu DN. Clinical significance of FLOT1 overexpression in human gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5141-5147 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5141.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5141>

## 摘要

**目的:** 探讨浮舰蛋白-1(flotillin-1, FLOT1)在胃癌组织中的表达水平及其与预后相关的临床意义。

**方法:** 分别运用荧光定量PCR和Western blot方法检测16组新鲜胃癌及癌旁组织中FLOT1 RNA和FLOT1蛋白的表达情况; 采用免疫组织化学法检测187例胃癌及癌旁石蜡组织中FLOT1的表达水平。分析FLOT1蛋白的表达与胃癌患者临床病理特征及预后的关系。

**结果:** FLOT1 RNA和FLOT1蛋白在新鲜胃癌组织中均呈高表达(13/16; 12/16)。FLOT1在胃癌组织中的阳性表达率高于癌旁正常组织(92.35% vs 26.67%,  $P < 0.05$ ); FLOT1蛋白的表达与胃癌患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤分化程度和肿瘤位置均无关( $P > 0.05$ ), 仅与肿瘤浸润深度( $P = 0.000$ )、肿瘤淋巴结转移( $P = 0.000$ )、肿瘤远处转移( $P = 0.000$ )和肿瘤AJCC临床分期( $P = 0.016$ )有关。FLOT1高表达预示患者预后较差。

**结论:** FLOT1过表达可能与胃癌的侵袭转移及预后密切相关, 有望成为胃癌的早期诊断指标和治疗靶点。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; Flotillin-1; 预后

**核心提示:** 目前肿瘤的TNM分期尚不能很准确的判断患者的预后, 本研究采用荧光定量PCR、Western blot和免疫组织化学法检测胃癌组织浮舰蛋白-1(flotillin-1, FLOT1)的表达水平。并分析FLOT1与临床病理、生存预后的关系, 结果表明FLOT1高表达可能与胃癌的侵袭转移及预后密切相关。

曹传林, 李太原, 曹超, 熊强强, 江群广, 刘东宁. FLOT1蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5141-5147 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5141.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5141>

## 0 引言

胃癌属高发肿瘤, 近年来胃癌的发病有低龄化趋势<sup>[1]</sup>, 但其早期诊断、治疗及预后仍不理想, 因而为胃癌的早期诊断及治疗寻找有效的生物学标志物成为当前的研究焦点。最近研究表明, 浮舰蛋白-1(flotillin-1, FLOT1)在乳腺癌<sup>[2]</sup>和食管癌<sup>[3]</sup>中表达均上调并与其临床病理特征密切相关, 而且FLOT1高表达的乳腺癌和食管癌患者预后较差。国内外现在对FLOT1在胃癌方面的报道甚少, 本研究采用免疫组织化学、Western blot和实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)方法检测FLOT1在胃癌及癌旁组织中的表达情况, 并初步探讨其表达与临床病理特征及预后的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2015-05在南昌大学第一附属医院行手术患者的16例新鲜胃癌及癌旁组织(距癌灶距离>5 cm)。选择南昌大学第一附属医院病理科2007-01/2008-06经手术切除, 并且病理诊断确诊为胃癌的石蜡包埋组织200例, 所选病例均为首次发现, 术前均未行放化疗。最后获得完整随访资料157例, 其中男85例, 女72例, 年龄27-89岁, 平均年龄63.25岁±1.21岁。另外选取30例癌旁组织, 有两位高年资经验丰富的病理医师指导收集病理标本和阅片。上述标本采集均由患者本人知情同意并通过医院伦理委员会审核通过。蛋白提取试剂盒(碧云天), RNA提取试剂盒(碧云天), FLOT1单克隆抗体(Abnova公司), qRT-PCR分析仪9700(美国ABI公司), FluorChem FC2凝胶成像分析系统(美国

## ■ 相关报道

Song等研究认为, FLOT1的过表达与食管癌的分化程度、TNM分期及淋巴结转移相关, 而FLOT1高表达的患者预后明显较低表达者差。Lin等研究发现调低FLOT1的表达可以抑制乳腺癌细胞的增殖。

Alpha Innotech公司).

## 1.2 方法

**1.2.1 qRT-PCR检测胃癌组织中FLOT1 mRNA的表达:** 采用TRIzol试剂提取胃癌及癌旁组织中总RNA. 采用紫外分光光度计测定浓度. 首先将TRIzol法获得的RNA进行逆转录成cDNA. 逆转录的反应条件为: 16 °C 30 min, 42 °C 30 min, 85 °C 5 min. 将cDNA稀释100倍, 参20 μL反应体系: SYBR 10 μL、FLOT1上下游引物各1 μL、cDNA 6 μL及H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2 μL. 反应条件: 95 °C 10 min, 随后95 °C 15 s, 59 °C 60 s, 40个循环. 根据获得的Ct值按统计学分析FLOT1在胃癌及癌旁组织中FLOT1 mRNA的表达情况. GAPDH基因作为内参检测.

**1.2.2 Western blot检测胃癌组织中FLOT1蛋白的表达:** 提取组织总蛋白, Bradford比色法测定蛋白浓度. 取40 μg变性蛋白质加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)80 V进行电泳, 30 min后指示剂进入分离胶, 电压调制120 V继续电泳1 h, 电转膜仪转移到PVDF膜上. 5%脱脂奶粉封闭2 h后滴加兔抗人FLOT1单克隆抗体(1:200)和鼠抗人GAPDH单克隆抗体(1:800), 在4 °C下孵育过夜. 用T-TBS洗涤液洗膜后, 加入HRP标记的抗兔、抗鼠二抗(1:2000)室温下孵育60 min. 洗涤后采用ECL化学发光显色试剂盒反应, 在暗室中压片, 然后显影、定影; 扫描仪扫描显色带.

**1.2.3 EliVision™ plus免疫组织化学染色检测:** 石蜡切片脱蜡、水化, PBS冲洗3次×3 min; 高温高压抗原修复; 加3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液, 室温下孵育10 min, 以阻断内源性过氧化物酶; PBS冲洗3次×3 min; 加第一抗体(1:400), 室温下孵育60 min; PBS冲洗3次×5 min; 加聚合物增强剂(试剂A), 室温下孵育20 min; PBS冲洗3次×3 min; 加酶标抗鼠聚合物(试剂B), 室温下孵育30 min; PBS冲洗3次×3 min; 加新配制的DAB显色液, 显微镜下观察3-10 min, 阳性显色为棕黄色; 自来水冲洗, 苏木素复染, 0.1%盐酸分化, 自来水冲洗, PBS冲洗返蓝; 梯度酒精脱水干燥中性树脂封片. 实验中以胃癌标本做阳性对照, PBS代替FLOT1抗体作为阴性对照.

**1.2.4 结果判定:** 免疫组织化学采用Greenspan半定量法对细胞染色强度及阳性细胞百分率进行评分<sup>[4-6]</sup>. 细胞不着色为0分, 基本不着色(淡黄色)为1分, 中等着色(棕黄色)为2分, 强着

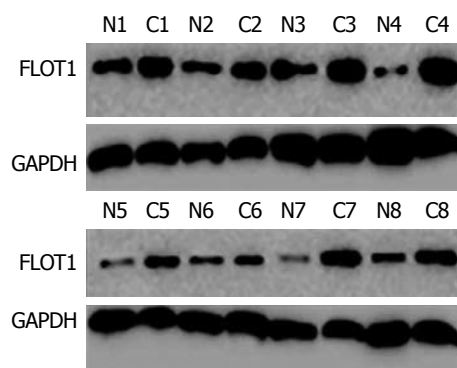


图1 Western blot测胃癌及癌旁组织中FLOT1蛋白的表达. N: 癌旁组织; C: 胃癌组织. FLOT1: 浮囊蛋白-1.

## ■ 创新点

本研究在蛋白及mRNA水平上检测胃癌及癌旁组织中FLOT1的表达, 分析FLOT1高表达与临床病理参数之间的相关性, 并进一步探讨FLOT1与胃癌生存期的关系, 为其临床综合诊治提供依据.

色(棕褐色)为3分. 着色细胞占计数细胞百分比率0者, 记0分, <10%为1分, 10%-50%为2分, >50%为3分. 将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分相乘, 既得阳性系数. 阳性系数<4分定义为FLOT1低表达, ≥4分定义为FLOT1高表达.

**1.2.5 生存分析:** 根据对所有患者随访结果进行生存时间或无瘤生存时间的分析, 得出不同FLOT1表达患者的生存时间或者无瘤生存时间的差异和生存曲线. 随访采用电话随访或者复查方式进行. 随访截止时间为2015-03.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件包进行统计分析, 有序分类计数资料之间的比较以秩和检验, 无序多分类计数资料之间的比较以 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法, 相关性分析采用Spearman相关分析, 生存分析采用Kaplan-Meier、Log-rank检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 qRT-PCR检测FLOT1 mRNA在组织中的表达** 利用qRT-PCR检测16例胃癌及癌旁组织FLOT1 mRNA的表达, FLOT1 mRNA在胃癌组织中的相对表达量 $3.12 \pm 0.10$ , 而在癌旁组织中相对表达量 $0.81 \pm 0.11$ , 差别具有统计学意义( $P<0.05$ ).

**2.2 Western blot检测FLOT1蛋白在组织中的表达** Western blot检测16例胃癌及癌旁组织, FLOT1在胃癌组织中的相对表达量 $0.82 \pm 0.15$ , 癌旁组织相对表达量 $0.23 \pm 0.11$ , 差别具有统计学意义( $P<0.05$ , 图1).

**2.3 免疫组织化学检测FLOT1蛋白在组织中的表达** 免疫组织化学染色显示, 在157例胃癌和30例癌旁组织中, 大部分均检测到有FLOT1表



应用要点

FLOT1在胃癌的发生发展中发挥了重要的作用, FLOT1可能成为治疗胃癌的一个新的靶点.

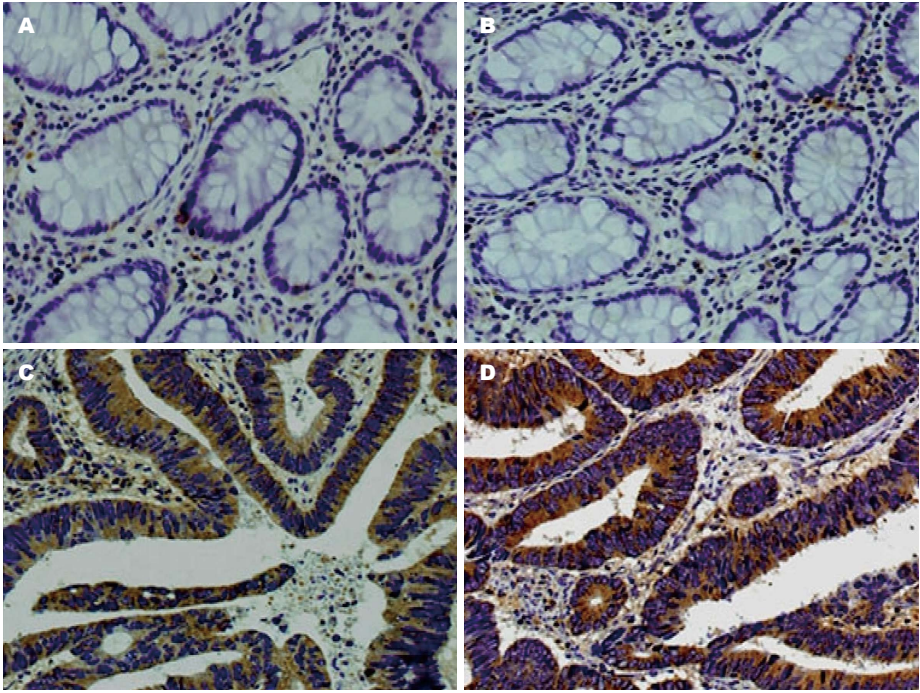


图 2 胃癌组织FLOT1免疫组织化学染色( $\times 400$ ). A, B: 癌旁胃黏膜组织; C, D: 胃癌组织. FLOT1: 浮舰蛋白-1.

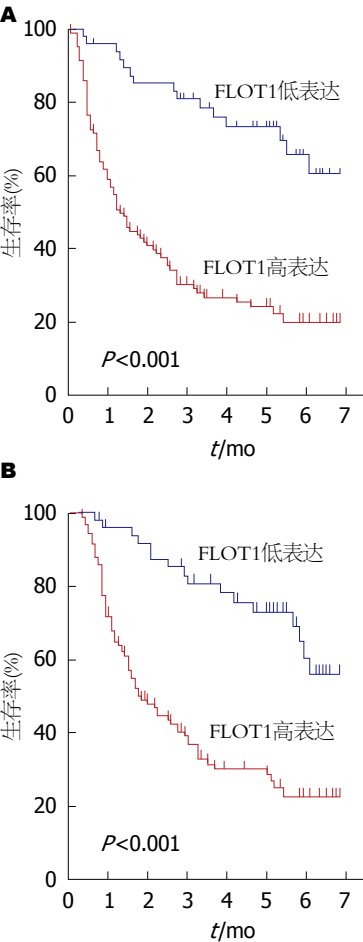


图 3 FLOT1表达与胃癌患者生存预后的关系. A: 无瘤生存时间; B: 总生存时间. FLOT1: 浮舰蛋白-1.

达, FLOT1在胞膜胞质均有表达(图2), 157例胃癌组织中FLOT1阳性率92.35%(145/157), 癌旁组织中FLOT1阳性率26.67%(8/30). FLOT1蛋白在胃癌中高表达107例(68.15%), 低表达50例(31.85%)(表1, 图2).

2.4 FLOT1在胃癌组织中的表达与临床特征的关系 从FLOT1的表达与临床特征关系的研究中可以看出: FLOT1的表达与年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤分化程度和肿瘤位置均无相关( $P>0.05$ ), 而与肿瘤浸润深度、淋巴结转移情况、远处转移情况(包括肝、肺、横结肠、胰腺、腹膜和骨转移)和AJCC临床分期有关( $P<0.05$ )(表1).

2.5 FLOT1表达与患者预后的关系 FLOT1高表达胃癌患者中位总生存时间20.00 mo, 低表达组中位总生存时间64.00 mo; FLOT1高表达胃癌患者中位无瘤生存时间15.00 mo, 低表达组中位无瘤生存时间60.21 mo. 不同FLOT1表达程度患者的无瘤生存时间和总生存时间均存在显著性差异( $P<0.05$ )(表2, 图3).

3 讨论

胃癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 死亡率居所有肿瘤第2位, 极大地危害人类的健康<sup>[7,8]</sup>. 根据2008年癌症统计结果, 我国大陆地区人群胃癌发

表 1 胃癌组织中FLOT1的表达与临床病理特征的关系

项目	n	FLOT1		P值
		低表达	高表达	
性别				0.734
男	85	26	59	
女	72	24	48	
年龄(岁)				0.605
< 55	59	23	46	
≥55	98	27	61	
肿瘤位置				0.531
贲门部	31	9	22	
胃体部	47	15	32	
幽门部	49	18	31	
全胃	30	8	22	
肿瘤大小(cm)				0.391
< 5	70	25	45	
≥5	87	25	62	
分化程度				0.152
高分化	56	20	36	
中分化	47	17	30	
低/未分化	54	13	41	
浸润深度(T)				0.000
T <sub>1</sub> +T <sub>2</sub>	56	34	22	
T <sub>3</sub> +T <sub>4</sub>	101	16	85	
淋巴结转移(N)				0.000
N <sub>0</sub>	45	39	6	
N <sub>1-3</sub>	112	11	101	
远处转移(M)				0.000
M <sub>0</sub>	126	54	82	
M <sub>1</sub>	31	6	25	
临床分期(AJCC)				0.016
I + II	68	31	37	
III+IV	89	19	70	

AJCC: 美国癌症联合委员会. FLOT1: 浮觥蛋白-1.

病率和死亡率均仅次于肺癌, 位居第2位<sup>[9,10]</sup>, 高于世界平均水平<sup>[11,12]</sup>. 大多数患者在确诊时已属中晚期, 治疗效果不佳, 预后很差. 因此, 运用现代生物学技术探寻胃癌早期诊断和治疗分子标志物是目前胃癌基础研究热点之一, 也是未来转化医学研究的重点<sup>[13-16]</sup>.

脂筏(lipid raft)是细胞质膜上富含胆固醇和鞘磷脂的微结构域, 其内聚集着包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)等大量蛋白质分子. 脂筏可以通过动态聚集、募集及靶向运输作用为蛋白分子提供功能平台并参与细胞信号的转导<sup>[17-19]</sup>. 脂筏中的蛋白质大致分为两种: 信号转导相关蛋白和结构蛋白, 其中FLOT1是脂筏的主要结构蛋白

表 2 胃癌患者不同FLOT1表达程度的预后差异 (mean ± SD, mo)

时间	FLOT1		P值
	低表达	高表达	
无瘤生存时间	60.21 ± 4.52	15.00 ± 2.15	<0.05
总生存时间	64.00 ± 3.89	20.00 ± 2.54	<0.05

FLOT1: 浮觥蛋白-1.

之一. 大量研究<sup>[20-25]</sup>发现FLOT1参与细胞信号传导, 细胞内吞和细胞黏附. 近来研究<sup>[2,3,26-29]</sup>发现FLOT1与肿瘤的发生发展密切相关. Li等<sup>[30]</sup>在舌癌中证实FLOT1呈高表达, 且与患者的预后密切相关. 另外, FLOT1在乳腺癌组织中表达也明显增强, 与临床病理特征如肿瘤的分期、远处转移等显著相关; 进一步体外体内功能实验发现, 调低FLOT1的表达可通过激活Akt信号通路促进FOXO3a的表达上调, 从而抑制乳腺癌细胞的增殖<sup>[1]</sup>.

本实验通过qRT-PCR、Western blot和免疫组织化学方法检测临床胃癌及癌旁组织中FLOT1的表达情况, 发现FLOT1在胃癌组织中呈明显高表达, 这与国外文献报道<sup>[31]</sup>相符. 通过对患者临床资料的分析可知FLOT1的表达与胃癌患者的年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤位置均无相关. Song等<sup>[3]</sup>研究发现FLOT1与食管癌的分化程度有关, 而本研究发现FLOT1的表达与胃癌分化程度无关, 提示FLOT1在不同恶性肿瘤的发生发展中所发挥的作用不同. 进一步分析发现FLOT1高表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移阳性率、远处转移阳性率和AJCC临床分期呈正相关, 提示FLOT1蛋白高表达可能与胃癌的侵袭转移密切相关, 这与FLOT1在其他恶性肿瘤中的作用相似<sup>[3,30]</sup>. 然而, FLOT1在胃癌中的作用机制还不清楚, 我们将在下一步的实验中探讨FLOT1的上游调控基因、下游调控基因及可能参与调控的信号通路.

总之, 本研究结果提示: FLOT1在大部分胃癌中高表达, 而且与胃癌的侵袭转移密切相关, 很可能是胃癌的一个新的标志物, 为胃癌的早期诊断和治疗提供新的靶点.

## 4 参考文献

- Alston RD, Geraci M, Eden TO, Moran A, Rowan S, Birch JM. Changes in cancer incidence in teenagers and young adults (ages 13 to 24 years) in England 1979-2003. *Cancer* 2008; 113: 2807-2815 [PMID:

## ■名词解释

FLOT1: 是脂筏的一种标记蛋白, 人的FLOT1基因位于染色体6p21.3区段, 全长15 kb, 由13个外显子和12个内含子组成, FLOT1是高度保守的蛋白, 主要位于细胞膜上. FLOT1属于SPFH(stomatins, prohibitins, flotillins, HflK/C)蛋白家族, FLOT1参与细胞信号传导, 细胞内吞和细胞黏附.

## ■ 同行评价

通过肿瘤分子标志来判断胃癌的早期诊断一直以来是研究的热点, 本研究采用免疫组织化学、Western blot和qTR-PCR方法检测FLOT1在胃癌及癌旁组织中的表达情况, 课题创新性较强, 研究方法和课题设计严密。

- 18846564 DOI: 10.1002/cncr.23901]
- 2 Lin C, Wu Z, Lin X, Yu C, Shi T, Zeng Y, Wang X, Li J, Song L. Knockdown of FLOT1 impairs cell proliferation and tumorigenicity in breast cancer through upregulation of FOXO3a. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3089-3099 [PMID: 21447726 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3068]
- 3 Song L, Gong H, Lin C, Wang C, Liu L, Wu J, Li M, Li J. Flotillin-1 promotes tumor necrosis factor- $\alpha$  receptor signaling and activation of NF- $\kappa$ B in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Gastroenterology* 2012; 143: 995-1005.e12 [PMID: 22732732 DOI: 10.105315/j.gastro.2012.06.033]
- 4 Liao WT, Jiang D, Yuan J, Cui YM, Shi XW, Chen CM, Bian XW, Deng YJ, Ding YQ. HOXB7 as a prognostic factor and mediator of colorectal cancer progression. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3569-3578 [PMID: 21474578 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 5 刘晓红, 曹智新, 耿明, 曹永成, 王义, 辛萱, 王翠翠, 毕利泉. Want-5a基因在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1222-1226
- 6 Zhang SH, Wang CJ, Shi L, Li XH, Zhou J, Song LB, Liao WT. High Expression of FLOT1 Is Associated with Progression and Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e64709 [PMID: 23840303]
- 7 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]
- 8 Oh SC. Update of adjuvant chemotherapy for resected gastric cancer. *J Gastric Cancer* 2012; 12: 3-6 [PMID: 22500257 DOI: 10.5230/jgc.2012.12.1.3]
- 9 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]
- 10 郑荣寿, 张思维, 吴良有, 李光琳, 赵平, 赫捷, 陈万青. 中国肿瘤登记地区2008恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 1-12
- 11 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 12 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-E386 [PMID: 25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210]
- 13 田磊, 肖秀英, 叶明. 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 773-781
- 14 王长明, 许超, 卫子然, 蔡清萍. 进展期胃癌新辅助化疗前后IL-6、IL-10的变化及其临床意义. *中华临床医师杂志: 电子版* 2012; 6: 80-83
- 15 Chang W, Ma L, Lin L, Gu L, Liu X, Cai H, Yu Y, Tan X, Zhai Y, Xu X, Zhang M, Wu L, Zhang H, Hou J, Wang H, Cao G. Identification of novel hub genes associated with liver metastasis of gastric cancer. *Int J Cancer* 2009; 125: 2844-2853 [PMID: 19569046 DOI: 10.1002/ijc.24699]
- 16 Han Y, Cai H, Ma L, Ding Y, Tan X, Chang W, Guan W, Liu Y, Shen Q, Yu Y, Zhang H, Cao G. Expression of orphan nuclear receptor NR4A2 in gastric cancer cells confers chemoresistance and predicts an unfavorable postoperative survival of gastric cancer patients with chemotherapy. *Cancer* 2013; 119: 3436-3445 [PMID: 23821160 DOI: 10.1002/cncr.28228]
- 17 Lingwood D, Simons K. Lipid rafts as a membrane-organizing principle. *Science* 2010; 327: 46-50 [PMID: 20044567 DOI: 10.1126/science.1174621]
- 18 Jacobson K, Mouritsen OG, Anderson RG. Lipid rafts: at a crossroad between cell biology and physics. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 7-14 [PMID: 17199125]
- 19 Bickel PE, Scherer PE, Schnitzer JE, Oh P, Lisanti MP, Lodish HF. Flotillin and epidermal surface antigen define a new family of caveolae-associated integral membrane proteins. *J Biol Chem* 1997; 272: 13793-13802 [PMID: 9153235]
- 20 Langhorst MF, Reuter A, Stuermer CA. Scaffolding microdomains and beyond: the function of reggie/flotillin proteins. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2228-2240 [PMID: 16091845]
- 21 Edgar AJ, Polak JM. Flotillin-1: gene structure: cDNA cloning from human lung and the identification of alternative polyadenylation signals. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33: 53-64 [PMID: 11167132]
- 22 Dermine JF, Duclos S, Garin J, St-Louis F, Rea S, Parton RG, Desjardins M. Flotillin-1-enriched lipid raft domains accumulate on maturing phagosomes. *J Biol Chem* 2001; 276: 18507-18512 [PMID: 11279173]
- 23 Babuke T, Tikkanen R. Dissecting the molecular function of reggie/flotillin proteins. *Eur J Cell Biol* 2007; 86: 525-532 [PMID: 17482313]
- 24 Banning A, Tomasovic A, Tikkanen R. Functional aspects of membrane association of reggie/flotillin proteins. *Curr Protein Pept Sci* 2011; 12: 725-735 [PMID: 22329548]
- 25 Glebov OO, Bright NA, Nichols BJ. Flotillin-1 defines a clathrin-independent endocytic pathway in mammalian cells. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 46-54 [PMID: 16341206]
- 26 Vassilieva EV, Ivanov AI, Nusrat A. Flotillin-1 stabilizes caveolin-1 in intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379: 460-465 [PMID: 19121286 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.12.118]
- 27 Patra SK. Dissecting lipid raft facilitated cell signaling pathways in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1785: 182-206 [PMID: 18166162 DOI: 10.1016/j.bbcan.2007.11.002]
- 28 Patra SK, Bettuzzi S. Epigenetic DNA-methylation regulation of genes coding for lipid raft-associated components: a role for raft proteins in cell transformation and cancer progression (review). *Oncol Rep* 2007; 17: 1279-1290 [PMID: 17487380]
- 29 Staubach S, Hanisch FG. Lipid rafts: signaling and sorting platforms of cells and their roles in cancer. *Expert Rev Proteomics* 2011; 8: 263-277 [PMID: 21501018 DOI: 10.1586/epr.11.2]
- 30 Li H, Zhang Y, Chen SW, Li FJ, Zhuang SM, Wang LP, Zhang J, Song M. Prognostic significance of Flotillin1 expression in clinically N0 tongue



squamous cell cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 996-1003 [PMID: 24695539]  
31 Gao W, Xu J, Wang F, Zhang L, Peng R, Shu Y, Wu J, Tang Q, Zhu Y. Plasma membrane proteomic

analysis of human Gastric Cancer tissues: revealing flotillin 1 as a marker for Gastric Cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 367 [PMID: 25948494 DOI: 10.1186/s12885-015-1343-5]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

**本刊讯** 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

#### 1 修回稿信件

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》等国外相关文摘与检索系统收录.

## 原发性肝癌患者血清中miR-21和miR-1247-5p的表达检测

张议心, 王利新, 李元杰, 徐广贤

### ■背景资料

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 在全世界的肿瘤发病率排第6位, 死亡率排第3位。目前用于肝癌的筛查及监测的甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP), 其敏感度欠缺, 而计算机断层扫描和核磁共振成像等大型检查设备由于成本等问题并不适合筛选和早期诊断。miRNA广泛存在于组织, 血浆或血清以及其他体液中, 表现稳定。因此, 使用血清miRNA对癌症进行诊断以及预后的可能性已引起广泛关注。有研究表明miRNA能够稳定的在血浆中存在, 并证实肿瘤衍生的miRNA存在血浆中并可以用来作为肿瘤诊断的生化指标。

张议心, 李元杰, 徐广贤, 宁夏医科大学检验学院 宁夏回族自治区银川市 750004

王利新, 徐广贤, 宁夏医科大学总医院医学实验中心 宁夏回族自治区银川市 750004

张议心, 在读硕士, 主要从事临床检验诊断学专业方面的研究。

宁夏自然科学基金资助项目, No. NZ-13149  
宁夏科技支撑计划基金资助项目, No. 宁科计字[2013]20号

作者贡献分布: 课题的数据分析、论文写作、研究过程由张议心完成; 收集样本以及试剂的提供由王利新与徐广贤完成; 课题的设计由徐广贤与李元杰完成。

通讯作者: 徐广贤, 教授, 硕士生导师, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区胜利南街692号宁夏医科大学双怡校区, 宁夏医科大学检验学院, 宁夏医科大学总医院医学实验中心。599040064@qq.com

收稿日期: 2015-09-09  
修回日期: 2015-10-10  
接受日期: 2015-10-19  
在线出版日期: 2015-11-18

### Changes and significance of serum miR-21 and miR-1247-5p levels in patients with primary liver cancer

Yi-Xin Zhang, Li-Xin Wang, Yuan-Jie Li, Guang-Xian Xu

Yi-Xin Zhang, Yuan-Jie Li, Guang-Xian Xu, Inspection College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Li-Xin Wang, Guang-Xian Xu, Medical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Ningxia, No. NZ-13149; Ningxia Key Technology Support Program

Correspondence to: Guang-Xian Xu, Professor, Inspection College of Ningxia Medical University; Medical

Laboratory Center, Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, 692 Shengli South Road, Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. 599040064@qq.com

Received: 2015-09-09

Revised: 2015-10-10

Accepted: 2015-10-19

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To detect serum miR-21 and miR-1247-5p expression levels in patients with primary liver cancer, and to assess their clinical and diagnostic value in primary liver cancer.

**METHODS:** Serum samples were collected from patients with primary liver cancer and healthy volunteers. The expression levels of miR-21 and miR-1247-5p in serum samples were measured by real-time quantitative PCR (qRT-PCR).

**RESULTS:** A total of 82 clinical samples were collected, including 41 from patients with primary liver cancer and 41 from healthy volunteers. qRT-PCR results showed that compared with healthy controls, miR-21 expression rose significantly and miR-1247-5p expression significantly declined in patients with primary liver cancer. Serum levels of miR-21 and miR-1247-5p had no correlation with alpha fetoprotein ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Compared with healthy controls, patients with primary liver cancer have significant changes in serum miR-21 and miR-1247-5p expression. Detection of serum miR-21 and miR-1247-5p may be useful for the diagnosis of primary liver cancer.

### ■同行评议者

朱争艳, 研究员, 天津市第三中心医院

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** MicroRNA; Real-time quantitative PCR; Primary liver cancer

Zhang YX, Wang LX, Li YJ, Xu GX. Changes and significance of serum miR-21 and miR-1247-5p levels in patients with primary liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5148-5156 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5148.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5148>

## 摘要

**目的:** 检测原发性肝癌患者血清中miR-21和miR-1247-5p表达水平的变化, 探讨miR-21和miR-1247-5p在原发性肝癌中筛查以及诊断的意义。

**方法:** 收集临床确诊为原发性肝癌患者的血清样本41例, 并且收集同时期的健康体检人群血清样本41例, 提取血清中的miRNA, 利用相应特异的颈环反转录引物, 反转录成cDNA, 同时构建内参U6, 以及miR-21、miR-1247-5p的T载体, 以此来绘制标准曲线, 运用双标准曲线法进行相对定量分析, 利用实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)检测miR-21和miR-1247-5p的表达量。

**结果:** qRT-PCR检测结果显示, 与健康对照组相比, 在原发性肝癌患者的血清中, miR-21表达量显著上调( $P<0.05$ ), miR-1247-5p表达量显著下调( $P<0.05$ )。并且通过统计学软件分析, miR-21、miR-1247-5p与甲胎蛋白之间无相关性( $P>0.05$ )。

**结论:** 与健康对照人群相比, 原发性肝癌患者血清中miR-21和miR-1247-5p表达有显著性变化, 血清中的miR-21和miR-1247-5p可能为原发性肝癌的诊断提供种新的生化补充指标。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 小分子RNA; 实时定量PCR; 原发性肝癌

**核心提示:** 通过收集临床原发性肝癌以及同时期健康人群的血清样本, 提取样本中miRNA, 通过实时定量PCR的检测, 发现miR-1247-5p在肝癌中低表达, 联合已有在大肠癌和胰腺癌中的报道, 表明其可能起着抑癌基因的作用。另检测发现miR-21在肝癌中高表达, 故miR-21可作为一个阳性参照miRNA, 与低表达的miR-

1247-5p作为两种诊断标志物, 期望作为诊断肝癌的miRNA的组合。联合现有的检测肝癌的血清学标志物甲胎蛋白等, 对肝癌患者进行联合辅助诊断。

张议心, 王利新, 李元杰, 徐广贤. 原发性肝癌患者血清中miR-21和miR-1247-5p的表达检测. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5148-5156 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5148.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5148>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球最常见的恶性肿瘤之一, 严重危害我国人民生命健康。肝癌的发生是一个多因素参与, 多途径形成的复杂病理发展过程, 其在分子水平上涉及多个细胞因子以及多个调控通路。miRNA是一类广泛存在于真核生物, 长度为21-25 nt的单链非蛋白编码小RNA分子。近年来对miRNA的研究发现, 其可表现出肿瘤抑制基因或癌基因的作用。在肝癌发生中, miRNA参与着肝癌演进的各个阶段, 在肝癌发生的增殖、凋亡、侵袭和转移过程中扮演了关键作用。Liu等<sup>[1]</sup>发现miRNA-375可抑制肝癌细胞的侵袭和分化。Fornari等<sup>[2]</sup>发现miRNA-199a-3p能抑制细胞G<sub>1</sub>/S期转变并增加肝癌细胞对阿霉素的敏感性。探究肝癌进展中重要miRNA的变化有望为肝癌治疗提供新的途径。miRNA广泛存在于组织, 血浆或血清以及其他体液中, 表现稳定且不易被内源性核糖核酸酶所降解。组织和体液中的miRNA的表达稳定性也已经被广泛认识到<sup>[3,4]</sup>。miRNA这一特性, 为我们能否通过检测血液中的miRNA表达水平来检测癌症的发生与预后提供了可能的依据。目前已有报道指出miR-21在多种癌症中表达上调, miR-1247-5p在肝癌中表达情况尚未知晓。我们通过收集原发性肝癌患者以及健康人群的血清样本, 运用实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)检测手段, 对循环血液中miR-1247-5p的表达量进行分析, 看其是否存在差异, 同时检测循环血液中miR-21的表达量以期作为阳性参照, 通过检测这两种miRNA, 期望建立一种临床上快速、微创的肝癌诊断, 检测及预后的生化指标。

## 1 材料和方法

1.1 材料 质粒小提试剂盒(天根生化科技有限

## ■ 研究前沿

目前, 已发现多种miRNA在包括癌症, 自身免疫系统疾病, 炎症等多个个体生理病理过程中表达量异常。miRNA往往不是单一起着作用, 更多情况下多种miRNA构成复杂的调控网络来发挥作用。目前有学者通过基因芯片, 筛选出大量在疾病中表达异常的miRNA。发现多种miRNA在人体的表达差异的同时, 人们已经开始探究miRNA作用于机体的更深层抑制, 通过研究miRNA与信号通路的作用、抑癌基因或致癌基因的作用, 来了解miRNA在病理生理过程中发挥的具体机制。



■ 相关报道

很多报道miRNA在不同组织的表达差异, miR-21作为报道较多的一类miRNA, 在多种生理病理过程中起着调控作用. miR-1247-5p与癌症的关系研究较少, 目前知其来源于DLK1-DIO3结构域, 定位于人14号染色体, 未见其与肝癌关系的报道. 最近才有报道其在大肠癌与胰腺癌中表达异常.

表 1 PCR引物列表

引物名称		序列(5'-3')
颈环反转录引物	Hsa-miR-21	CTCAACTGGTGTCGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCAACATC
	Hsa-miR-1247-5p	CTCAACTGGTGTCGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCCGGGGAC
qRT-PCR引物	Hsa-miR-21	F: ACACTCCAGCTGGCTAGCTTATCAGACTGATG
	Hsa-miR-1247-5p	F: ACACTCCAGCTGGGACCCGTCCCGTTCTGTC
	U6	F: CTCGCTTCGGCAGCACA R: AACGCTTCACGAATTTGCGT

F: 上游引物; R: 下游引物. qRT-PCR: 实时荧光定量PCR.

公司, 北京); 通用型DNA纯化回收试剂盒(天根生化科技有限公司, 北京); miRNA Purification Kit(康为世纪公司, 北京); EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix(全式金生物技术有限公司, 北京); TransStart Top Green qPCR SuperMix(全式金生物技术有限公司, 北京); pEASY-T1 cloning Kit试剂盒(全式金生物技术有限公司, 北京); U6 T载体质粒由本实验保存; DNA测序由上海生工生物工程有限公司完成. 根据miRBase数据库中成熟的miRNA序列分别设计颈环特异性反转录引物以及real-time 特异性检测引物(表1). 通用下游检测引物为CTCAACTGGTGTCGTGGA. 以U6基因作为内参基因, 根据NCBI数据库中的U6序列设计其特异性检测引物(表1). 所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成. 临床样本的收集: 选取宁夏医科大学附属医院2014-04/2014-12期间确诊为原发性肝癌的患者41例作为实验组, 这些患者均未实行手术且均有详细的肝功能血清学检测指标记录, 以及根据TNM标准的肝癌临床分期记录, 其中3人发生肝外转移; 4人并发糖尿病, 9人并发高血压, 1人患有银屑病, 选取同时期的健康体检人群(肝功能化验指标均在正常范围, 无其他并发疾病)41例作为对照组(表2). 以上样本的收集均获患者及医院伦理委员会同意. 将收集的确立为研究对象的血清样本, 装于1.5 mL EP管中, 存放于-80 °C冰箱中.

1.2 方法

1.2.1 miRNA的提取与cDNA的合成: 从-80 °C冰箱中取出血清样本, 按照试剂盒说明书提取miRNA, 将提取的miRNA进行反转录合成cDNA, 按照反转录试剂盒的说明书, 反应体系为RNA 8 μL, 茎环引物1 μL, 2×ES Reaction

Mix 10 μL, EasyScript RT/RI Enzyme Mix 1 μL; 反转录条件为42 °C 40 min, 85 °C 5 min. 合成的cDNA置于-20 °C保存.

1.2.2 qRT-PCR检测miR-21、miR-1247-5p的表达水平: (1)标准曲线的构建: *miR-21*、*miR-1247-5p*的基因扩增与T载体的构建: 以cDNA为模板, 以通用下游引物, 特异性上游引物进行PCR, 2.5%琼脂糖电泳, 将大小正确的片段进行胶回收, 按pEASY-T1 cloning Kit试剂说明书进行T载体的构建. 将已测序成功的质粒进行浓度测定后, 按照10倍稀释法倍比稀释, 倍比稀释7管, 各取2 μL做模板, 构建标准曲线. 利用双标准曲线法进行相对定量分析, 即病例组血清中miRNA拷贝数/病例组血清中U6拷贝数与对照组血清中miRNA拷贝数/对照组血清中U6拷贝数的比值; (2)miR-21、miR-1247-5p的表达检测: 应用罗氏lightcycler 480 qRT-PCR仪, 按照试剂盒说明书, 反应体系为cDNA 2 μL, Forward Primer 1 μL, Reverse Primer 1 μL, Top Green qPCR SuperMix 10 μL, Rnase-Free Water 6 μL. qRT-PCR反应条件为预变性94 °C 30 s、94 °C 5 s、60 °C 15 s、72 °C 10 s, 共40个循环; 实验设置3个平行复孔, 取平均值; (3)miR-21、miR-1247-5p与甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)相关性的分析结果: 将HCC患者的血清中miR-21、miR-1247-5p的表达相对定量值与其对应血清测得的AFP值之间采用Speasman相关性分析.

**统计学处理** 所有数据分析采用SPSS17.0医学统计分析软件分析,  $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 临床样本血清miR-21、miR-1247-5p的扩

表 2 实验组临床资料 ( $n = 82$ )

分组	HCC组	健康对照组
性别(男/女)	27/14	25/16
年龄(岁)	51(37-69)	42(29-60)
AFP(ng/mL)	447(4.6-1210)	2.7(1.48-6.28)
GLB(ng/mL)	31.87(18.1-59.4)	31.1(23.3-38.4)
A/G(ng/mL)	1.14(0.4-1.95)	1.47(1.03-1.84)
AST(ng/mL)	79(14.2-239)	21.78(12-42.3)
ALT(ng/mL)	39.4(9.3-113.3)	12.9(10.3-121)
TP(ng/mL)	62(50.7-86)	73(66-85)
ALB(ng/mL)	34(21.-49)	44.3(39.2-48.4)
TBIL(ng/mL)	42.68(7.2-585)	
DBIL(ng/mL)	22.5(2.8-4 35)	
IBIL(ng/mL)	19.25(4.8-55.9)	
ALP(ng/mL)	155.83(46-609.3)	
GGT(ng/mL)	140.84(23.7-878.7)	
CHE(ng/mL)	4712(1060-9672)	
Positive HBsAg[n(%)]	35(85)	
HBsAg(ng/mL)	4913.5(0.01-8732)	
HBsAb( $\mu$ /mL)	19.9(2-588.1)	
HBcAb(PEI U/mL)	0.007(0.004-0.06)	
HBeAb(PEI U/mL)	0.6(0.003-3.2)	
HBeAg(PEI U/mL)	290(0.018-224.4)	
TNM分期[n(%)]		
I 期	4(9)	
II 期	20(49)	
III期	14(34)	
IV期	3(7)	
并发症[n(%)]		
有肝外转移	3(7)	
并发糖尿病	4(9)	
并发银屑病	1(2)	
并发高血压	9(22)	

HCC: 肝细胞癌; AFP: 甲胎蛋白; GLB: 球蛋白; AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶; TP: 总蛋白; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素; IBIL: 间接胆红素; ALP: 碱性磷酸酶; GGT: 谷氨酰转肽酶; CHE: 胆碱酯酶; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBsAb: 乙型肝炎表面抗体; HBcAb: 乙肝核心抗体; HBeAb: 乙型肝炎E抗体; HBeAg: 乙型肝炎E抗原。

增 血清中提取的miRNA经PCR扩增, 产物用2.5%琼脂糖凝胶电泳, 获得大约60 bp左右的目的条带, 内参U6获得大约100 bp左右的目的条带(图1)。测序结果表明, 构建的miR-21、miR-1247-5p T载体序列正确(图2)。检测结果表明: 提取样品中的miRNA以及反转录的cDNA质量较好, 完全可以用于后续的qRT-PCR分析。

2.2 miRNA qRT-PCR标准曲线和溶解曲线分析 对miR-21、miR-1247-5p、U6 T载体进行qRT-PCR扩增并构建标准曲线, 结果呈良好的均一性, 可用于定量检测。同时进行溶解曲线分析,

为单一的峰值, 扩增产物的退火温度 $T_m$ 值均一性良好, 说明产物特异性良好, 可用于后续检测(图3)。

2.3 miR-21、miR-1247-5p qRT-PCR结果 利用双标准曲线相对定量法计算后发现, 与健康人群相比, 原发性肝癌患者血清中miR-21表达量显著上调3倍( $P < 0.05$ ), miR-1247-5p表达量显著下调8倍( $P < 0.05$ )(表3)。将2个实验组测得的miR-21和miR-1247-5p的拷贝数以10为底作纵坐标作散点图, 发现趋势明显, 有统计学意义(图4)。

#### 创新点

本文收集了临床原发性肝癌患者的血清, 首次发现了miR-1247-5p在肝癌患者中的表达差异性, 其在肝癌中的低表达可能起着抑癌基因的作用。结合检测得到的高表达miR-21, 作为miRNA组合, 在运用诊断肝癌的血清学金标准AFP的同时, 起到辅助诊断的作用, 为临床诊断肝癌提供一个新思路。

应用要点

本文通过检测原发性肝癌患者血清中2种miRNA, 发现了其差异性表达, 为今后研究原发性肝癌中miRNA的差异性表达提供了借鉴与参考, 为miR-1247-5p可能发挥抑癌基因的作用提供了佐证, 为今后辅助AFP诊断肝癌提供了思路.

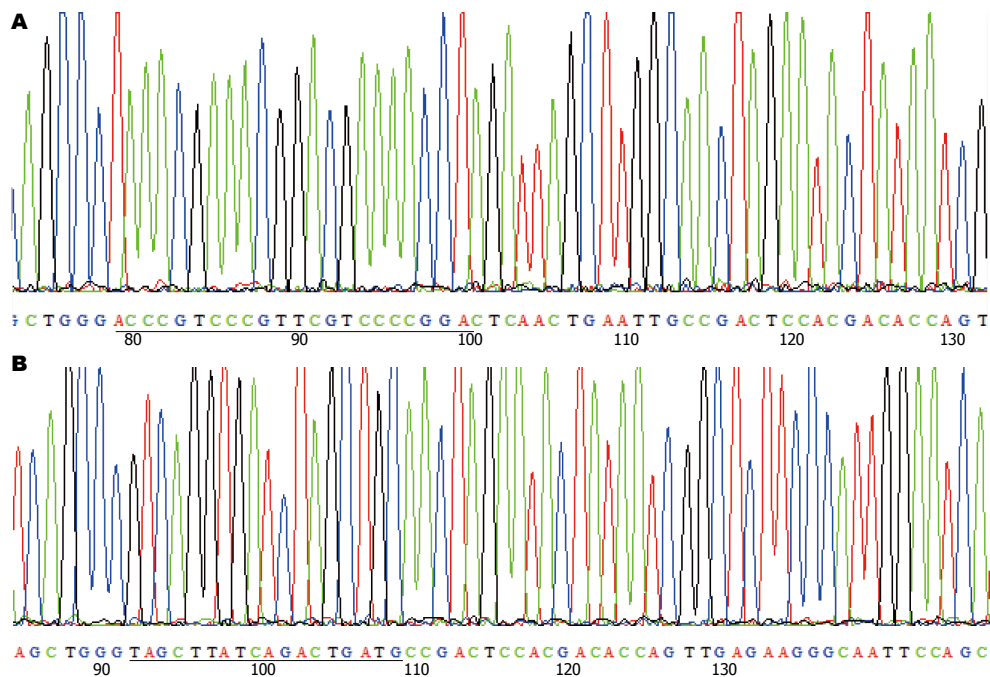


图 1 miR-1247-5p和miR-21测序结果. A: miR-1247-5p; B: miR-21.



图 2 qRT-PCR产物电泳图. M: 50 bp DNA Ladder; 1: miR-21; 2: miR-1247-5p; 3: U6.

2.4 miR-21、miR-1247-5p与AFP相关性的分析结果 经Spearman相关性分析miR-21与AFP的Spearman系数为0.191( $P = 0.238 > 0.05$ ); miR-1247-5p与AFP的Spearman系数为0.153( $P = 0.345 > 0.05$ ), 按所取的检验水准 $\alpha = 0.05$ , 无统计学意义. 因此我们认为, HCC患者血清中miR-21、miR-1247-5p的表达水平与AFP值之间无相关性.

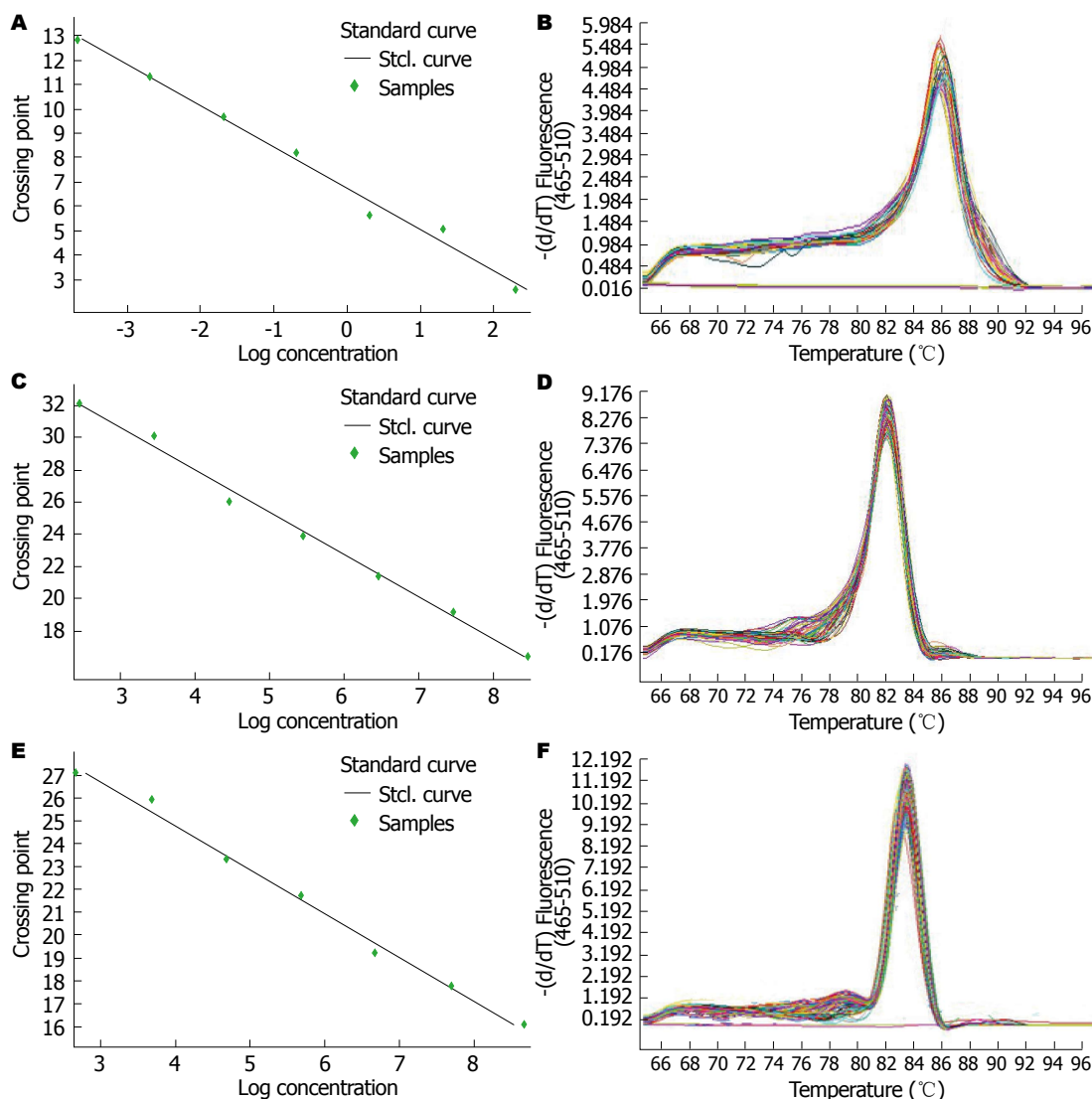
3 讨论

HCC在全世界的肿瘤发病率排第6位, 死亡率排第3位<sup>[5]</sup>. 被称之为“癌中之王”. 肝癌起病极为隐匿, 生存率低, 且有半数以上患者在首次就诊就已进入晚期. 肝癌最主要的危险因素是慢性乙型肝炎病毒感染、慢性丙型肝炎病毒感染. 据报道<sup>[6,7]</sup>, 世界范围内80%-90%的肝

癌患者是由这2种病毒感染引发的. 目前用于肝癌的筛查及监测的手段主要包括腹部B超、计算机断层扫描(computed tomography, CT)技术、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)技术等影像学方法及AFP在内的许多实验室检查指标. AFP作为肝癌患者筛查的手段,其敏感度欠缺<sup>[8]</sup>. 血清AFP在肝炎患者及肝硬化患者中表达也是升高的<sup>[9,10]</sup>. CT和MRI等大型检查设备由于成本等问题并不适合筛选和早期诊断. 且在诊断直径<1 cm的肝癌时也有较大困难.

miRNA是一种非编码RNA, 长度约22 nt, 其于转录后调节基因表达. 迄今为止, 已在人体内发现超过1400的miRNA, 这些基因大约占在人类基因组中的1%-3%<sup>[11]</sup>. 据估计, 30%-60%的蛋白质编码基因由miRNA来调节<sup>[12,13]</sup>. miRNA调节多个细胞增殖、凋亡相关基因的表达, 从而多种病理生理学过程. 建立和维护多种细胞类型的分化状态<sup>[14]</sup>. miRNA的生成是一个复杂的过程, 首先生成miRNA前体输送至细胞质, 再被Dicer酶等加工成含有21-25 nt的双链miRNA<sup>[15]</sup>. 成熟的miRNA, 其双链被Dicer酶加载至RNA诱导沉默复合物(RISC)内, 保留其不太稳定的5'末端链, 并随即启动转录后基因沉默. 然而, 剩余未使用的miRNA链可被纳入细胞中特异外来内, 并从细胞中排出<sup>[16]</sup>, 其作用尚





### 名词解释

miRNA: 广泛存在于真核生物, 长度21-25 nt的单链非蛋白编码小RNA分子. miRNA占生物体内总蛋白编码基因数量的1%-5%, 能调控人类基因组中10%-30%的基因在进化中具有高度的保守性. 成熟的miRNA通过和其靶基因3'非翻译区(3'-UTR)结合, 导致RNA诱导的沉默复合体降解其靶mRNA或阻碍其靶mRNA的翻译; miRNA能够作用于多个靶标调控基因表达, 发挥多效性功能. 在生物体的整个发育过程中, miRNA可能有调节细胞早期发育, 参与固有免疫细胞生长分化和免疫应答, 调节基因表达的生物学功能.

图3 miRNA标准曲线与溶解曲线图. A: miR-1247-5p标准曲线; B: miR-1247-5p溶解曲线; C: miR-21标准曲线; D: miR-21溶解曲线; E: 内参U6标准曲线; F: 内参U6溶解曲线.

表3 miR-21, miR-1247-5p荧光定量PCR结果 (mean  $\pm$  SE,  $n = 41$ )

miRNA	HCC组	健康对照组	P值
miR-21	85.33 $\pm$ 21.62	29.88 $\pm$ 3.95	0.0137
miR-1247-5p	17.82 $\pm$ 2.59	152.9 $\pm$ 51.69	0.0108

HCC: 肝细胞癌.

不完全清楚. 这可导致细胞外的miRNA于体液主要是血清中出现. 因此, 使用血清miRNA对癌症的诊断以及预后的可能性已引起广泛关注. Jackson<sup>[17]</sup>将血清中的miRNA作为今后肿瘤诊断和治疗靶点是一种精确和有前景的方法. 有研究<sup>[18]</sup>表明miRNA能够稳定的在血浆中存在, 并证实肿瘤衍生的miRNA存在血浆中并可以用来作为肿瘤诊断的生化指标. Chang等<sup>[19]</sup>发现

let-7a、miR-16、miR-26a、miR-345、miR-425和miR-454表达稳定, 可以做组织miRNA内参基因. Li等<sup>[20]</sup>发现血清miR-200a与miR-200b可以用于胰腺癌的诊断. Zheng等<sup>[21]</sup>应用miRNA芯片技术筛选并应用qRT-PCR验证后, 发现血浆miR-155、miR-197、miR-182在肺癌患者中表达上调, 联合3种miRNA作为诊断标志物敏感度和特异度均高达80%以上. 诸如此类的研

# 同行评价

本文立意新颖, 采用技术有一定难度, 实验设置严谨; 通过检测原发性肝癌中miRNA的表达差异, 提供了监测和筛查肝癌的另一种思路, 对临床上检测肝癌有一定参考价值。

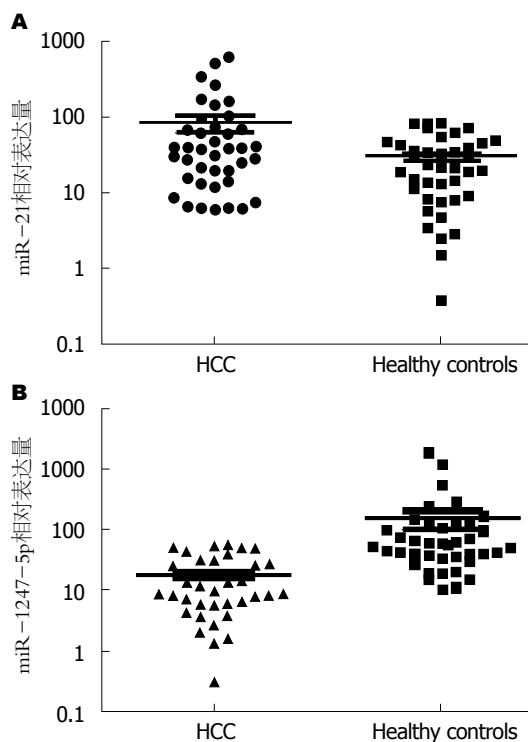


图 4 实验组血清样本miRNAs的表达量散点图. A: miR-21; B: miR-1247-5p. HCC: 肝细胞癌。

究充分展示了循环miRNA在肿瘤等疾病诊断标志物中的巨大实用价值。在肝癌中也有报道, Shen等<sup>[22]</sup>研究发现miR-106b在肝癌细胞系及肝癌组织中相对于正常肝细胞及正常肝组织表达均显著升高, 并可以抑制APC基因表达促进肝癌细胞的增殖。而Yau等<sup>[23]</sup>不仅发现miR-106b在肝癌组织中表达升高, 并发现其与肿瘤分化程度相关。

miRNAs作为原癌基因或抑癌因子, 能够抑制靶基因的表达与功能, 从而进一步调节肿瘤的生物学特性。miR-21作为研究较多的一类miRNA, 是一种致癌miRNA, 在多种恶性肿瘤中过度表达。miR-21具有调节癌症的程序性细胞死亡、增殖、迁徙和侵袭能力的特点, 已经作为癌症诊断和预后的标志物, Resnick等<sup>[24]</sup>应用qRT-PCR等技术对28例卵巢癌患者的血清检查, 研究发现卵巢癌血清中miRNAs-21、92、93、126和29a较健康对照组明显上调, 表明血清miR-21作为卵巢癌早期诊断指标是可行的。血中miR-21的升高与胰腺癌和肺癌的结局及化疗耐药有关<sup>[25,26]</sup>。miR-21可以激活RAS加速肺癌进展, 而且转基因调节miR-21和针对性的给药可以改变肺癌小鼠模型中肿瘤的进展<sup>[27]</sup>。有研究<sup>[28]</sup>表明miR-21在乳腺癌组织中

呈低表达水平。在肝癌中, 也有关于miR-21的报道, 有研究<sup>[29]</sup>发现在肝癌组织和癌旁组织中16个miRNA, 包括miR-223、miR-150、miR-199a和miR-21的表达显著不同, 其中7个上调, 5个下调。miR-1247-5p目前仅知来源于DLK1-DIO3结构域, 定位于人14号染色体远端<sup>[30]</sup>。Benetatos等<sup>[31]</sup>通过对DLK1-DIO3基因簇研究发现, DLK1-DIO3可以调控包括miR-1247在内的53个miRNA表达。有报道<sup>[32-34]</sup>miR-1247-5p在一些生物学模型, 如软骨组织的发育, 乳腺癌<sup>[33]</sup>, 肝癌组织甲基化异常<sup>[34]</sup>等中存在差异性。Yan等<sup>[35]</sup>发现, miR-1247-5p在大肠癌细胞中表达量降低。也有研究<sup>[36]</sup>表明高表达的miR-1247-5p抑制胰腺癌细胞的增殖与分化。miR-1247-5p与癌症的关系研究较少, 仅有报道其在大肠癌与胰腺癌中表达异常。未见其与肝癌关系的报道。而肝癌的发生与多种miRNA的异常表达有着密切关系。因此, 我们猜想肝癌是否与miR-1247-5p存在着某种关系。通过收集原发性肝癌以及同时期健康人群的血清样本, 提取样本中miRNA, 通过qRT-PCR的检测, 我们发现miR-1247-5p在肝癌中低表达, 联合已有在大肠癌和胰腺癌中的报道, 表明其可能起着抑癌基因的作用。我们检测发现miR-21在肝癌中高表达, 再一次验证了miR-21为致癌基因。癌症中往往不是一种miRNA起着作用, 而是多种miRNA构成复杂的调控网络来发挥作用。与正常人相比, miR-21在原发性肝癌血清中高表达, 故miR-21可作为一个阳性参照miRNA, 与低表达的miR-1247-5p作为2种诊断标志物, 同现有的检测肝癌的血清学标志物AFP等, 对肝癌患者进行联合辅助诊断。本文首次揭示了miR-1247-5p在原发性肝癌中表达下调, miR-1247-5p在肝癌患者的血清中存在表达差异。通过本次实验研究, miR-21和miR-1247-5p有望与常规的检测肝癌的生化指标联合应用, 为诊断肝癌提供新的血清学方法。今后研究方向考虑来探讨miR-1247-5p在肝癌中下调这种现象是通过何种机制来作用, 期望通过对miR-1247-5p在肝癌中作用机制的研究, 明确miR-1247-5p在肝癌中下调的原因, 使得miR-1247-5p成为今后新的治疗肝癌的靶点。结合在肝癌患者血清中上调表达的miR-21, 作为诊断肝癌的miRNA的组合。为临床筛查和诊断原发性肝癌提供一个新思路。

## 4 参考文献

- Liu AM, Poon RT, Luk JM. MicroRNA-375 targets Hippo-signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 623-627 [PMID: 20226166 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.03.036]
- Fornari F, Milazzo M, Chieco P, Negrini M, Calin GA, Grazi GL, Pollutri D, Croce CM, Bolondi L, Gramantieri L. MiR-199a-3p regulates mTOR and c-Met to influence the doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells. *Cancer Res* 2010; 70: 5184-5193 [PMID: 20501828 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0145]
- Osaki M, Takeshita F, Ochiya T. MicroRNAs as biomarkers and therapeutic drugs in human cancer. *Biomarkers* 2008; 13: 658-670 [PMID: 19096960 DOI: 10.1080/13547500802646572]
- Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* 2010; 101: 2087-2092 [PMID: 20624164 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01650x]
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- Borel F, Konstantinova P, Jansen PL. Diagnostic and therapeutic potential of miRNA signatures in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 1371-1383 [PMID: 22314424 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.026]
- Bosch FX, Ribes J, Cléries R, Díaz M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 191-211, v [PMID: 15831268]
- Giannelli G, Antonaci S. New frontiers in biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 854-859 [PMID: 16782417]
- Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kobayashi K, Yamamoto S. Prospective study of alpha-fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994; 19: 61-66 [PMID: 7506227]
- Abdalla MA, Haj-Ahmad Y. Promising Candidate Urinary MicroRNA Biomarkers for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma among High-Risk Hepatitis C Virus Egyptian Patients. *J Cancer* 2012; 3: 19-31 [PMID: 22211142]
- Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci* 2007; 32: 189-197 [PMID: 17350266]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009; 19: 92-105 [PMID: 18955434 DOI: 10.1101/gr.082701.108]
- Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 175-205 [PMID: 17506695]
- Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J* 2002; 21: 5875-5885 [PMID: 12411505]
- Etheridge A, Lee I, Hood L, Galas D, Wang K. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat Res* 2011; 717: 85-90 [PMID: 21402084 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.004]
- Jackson DB. Serum-based microRNAs: are we blinded by potential? *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: E5 [PMID: 19106287 DOI: 10.1073/pnas.0809999106]
- Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- Chang KH, Mestdagh P, Vandesompele J, Kerin MJ, Miller N. MicroRNA expression profiling to identify and validate reference genes for relative quantification in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 173 [PMID: 20429937 DOI: 10.1186/1471-2407-10-173]
- Li A, Omura N, Hong SM, Vincent A, Walter K, Griffith M, Borges M, Goggins M. Pancreatic cancers epigenetically silence SIP1 and hypomethylate and overexpress miR-200a/200b in association with elevated circulating miR-200a and miR-200b levels. *Cancer Res* 2010; 70: 5226-5237 [PMID: 20551052 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4227]
- Zheng D, Haddadin S, Wang Y, Gu LQ, Perry MC, Freter CE, Wang MX. Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 575-586 [PMID: 21904633]
- Shen G, Jia H, Tai Q, Li Y, Chen D. miR-106b downregulates adenomatous polyposis coli and promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34: 211-219 [PMID: 23087084 DOI: 10.1093/carcin/bgs320]
- Yau WL, Lam CS, Ng L, Chow AK, Chan ST, Chan JY, Wo JY, Ng KT, Man K, Poon RT, Pang RW. Over-expression of miR-106b promotes cell migration and metastasis in hepatocellular carcinoma by activating epithelial-mesenchymal transition process. *PLoS One* 2013; 8: e57882 [PMID: 23483935 DOI: 10.1371/journal.pone.0057882]
- Resnick KE, Alder H, Hagan JP, Richardson DL, Croce CM, Cohn DE. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. *Gynecol Oncol* 2009; 112: 55-59 [PMID: 18954897 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.036]
- Liu R, Chen X, Du Y, Yao W, Shen L, Wang C, Hu Z, Zhuang R, Ning G, Zhang C, Yuan Y, Li Z, Zen K, Ba Y, Zhang CY. Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *Clin Chem* 2012; 58: 610-618 [PMID: 22194634 DOI: 10.1373/clinchem.2011.172767]
- Gao W, Lu X, Liu L, Xu J, Feng D, Shu Y. MiRNA-21: a biomarker predictive for platinum-based adjuvant chemotherapy response in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 330-340 [PMID: 22237007 DOI: 10.4161/cbt.19073]



- 27 Hatley ME, Patrick DM, Garcia MR, Richardson JA, Bassel-Duby R, van Rooij E, Olson EN. Modulation of K-Ras-dependent lung tumorigenesis by MicroRNA-21. *Cancer Cell* 2010; 18: 282-293 [PMID: 20832755 DOI: 10.1016/j.ccr.2010.08.013]
- 28 于超, 吴诚义. 乳腺癌组织中miR-21的表达及意义. *中国普通外科杂志* 2009; 18: 1126-1129
- 29 Jiang J, Gusev Y, Aderca I, Mettler TA, Nagorney DM, Brackett DJ, Roberts LR, Schmittgen TD. Association of MicroRNA expression in hepatocellular carcinomas with hepatitis infection, cirrhosis, and patient survival. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 419-427 [PMID: 18223217 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0523]
- 30 Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, Kuchenbauer F, Delaney A, Prabhu AL, Zhao Y, McDonald H, Zeng T, Hirst M, Eaves CJ, Marra MA. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. *Genome Res* 2008; 18: 610-621 [PMID: 18285502 DOI: 10.1101/gr.7179508]
- 31 Benetatos L, Hatzimichael E, Londin E, Vartholomatos G, Loher P, Rigoutsos I, Briasoulis E. The microRNAs within the DLK1-DIO3 genomic region: involvement in disease pathogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 795-814 [PMID: 22825660 DOI: 10.1007/s00018-012-1080-8]
- 32 Martinez-Sanchez A, Murphy CL. miR-1247 functions by targeting cartilage transcription factor SOX9. *J Biol Chem* 2013; 288: 30802-30814 [PMID: 24014021 DOI: 10.1074/jbc.M113.496729]
- 33 Wu Y, Ginther C, Kim J, Mosher N, Chung S, Slamon D, Vadgama JV. Expression of Wnt3 activates Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and promotes EMT-like phenotype in trastuzumab-resistant HER2-overexpressing breast cancer cells. *Mol Cancer Res* 2012; 10: 1597-1606 [PMID: 23071104 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0155-T]
- 34 Voloshanenko O, Erdmann G, Dubash TD, Augustin I, Metzger M, Moffa G, Hundsrucker C, Kerr G, Sandmann T, Anchang B, Demir K, Boehm C, Leible S, Ball CR, Glimm H, Spang R, Boutros M. Wnt secretion is required to maintain high levels of Wnt activity in colon cancer cells. *Nat Commun* 2013; 4: 2610 [PMID: 24162018 DOI: 10.1038/ncomms3610]
- 35 Yan H, Choi AJ, Lee BH, Ting AH. Identification and functional analysis of epigenetically silenced microRNAs in colorectal cancer cells. *PLoS One* 2011; 6: e20628 [PMID: 21698188 DOI: 10.1371/journal.pone.0020628]
- 36 Shi S, Lu Y, Qin Y, Li W, Cheng H, Xu Y, Xu J, Long J, Liu L, Liu C, Yu X. miR-1247 is correlated with prognosis of pancreatic cancer and inhibits cell proliferation by targeting neuropilins. *Curr Mol Med* 2014; 14: 316-327 [PMID: 24588767]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 肠易激综合征患者肠黏膜VIPR、CGRPR的变化情况

罗和生, 聂仁, 张法灿, 梁列新, 张国

罗和生, 聂仁, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

张法灿, 梁列新, 张国, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

罗和生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事消化内科胃肠动力方面的研究。

**作者贡献分布:** 本文由罗和生指导; 此课题由聂仁与张国设计; 研究过程由聂仁操作完成; 数据分析由聂仁与梁列新完成; 论文写作由聂仁完成; 罗和生与梁列新修改; 张法灿审核。

**通讯作者:** 张法灿, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科。  
zhangfacan@126.com  
电话: 0771-2186184

收稿日期: 2015-09-13  
修回日期: 2015-10-04  
接受日期: 2015-10-19  
在线出版日期: 2015-11-18

### Expression of colonic vasoactive intestinal peptide receptor and calcitonin gene-related peptide receptor in irritable bowel syndrome

He-Sheng Luo, Ren Nie, Fa-Can Zhang, Lie-Xin Liang, Guo Zhang

He-Sheng Luo, Ren Nie, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Fa-Can Zhang, Lie-Xin Liang, Guo Zhang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Fa-Can Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangfacan@126.com

Received: 2015-09-13  
Revised: 2015-10-04  
Accepted: 2015-10-19  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of vasoactive intestinal peptide receptor (VIPR) and calcitonin gene-related peptide receptor (CGRPR) in the colon mucosa of patients with irritable bowel syndrome (IBS), and to study their possible roles.

**METHODS:** Endoscopic biopsies of the sigmoid colon were collected from 20 patients with diarrhea-predominant IBS (IBS-D), 8 with constipation-predominant IBS (IBS-C) and 8 healthy volunteers (controls). The mRNA expression of VIPR and CGRPR was evaluated by qRT-PCR. The immunohistochemical method was conducted to detect the expression of VIPR and CGRPR proteins. The results of immunohistochemistry were analyzed with Image Pro plus 6.0.

**RESULTS:** Elevation of the mRNA expression of VIPR was found in IBS-D patients compared with IBS-C patients and controls ( $2.89 \pm 1.74$  vs  $0.85 \pm 0.6$ ,  $0.62 \pm 0.31$ ,  $P < 0.05$ ). No significant difference was observed between IBS-C patients and controls. The expression of CGRPR mRNA was elevated in IBS-D patients compared with controls ( $1.86 \pm 1.36$  vs  $0.77 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ), but no significant difference was observed between IBS-C and IBS-D/controls. Compared with healthy controls, significant up-regulation of VIPR and CGRPR was found in IBS-D and IBS-C patients (VIPR:  $0.24 \pm 0.03$ ,  $0.17 \pm 0.02$  vs  $0.13 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ; CGRPR:  $0.23 \pm 0.02$ ,  $0.18 \pm 0.02$  vs  $0.13 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ ).

### ■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一种常见的功能性肠病。近年来脑肠轴异常介导 IBS 的发病机制受到学界的关注。脑肠轴通过分泌脑肠肽, 作用于胃肠道平滑肌细胞的相应受体, 进而调节胃肠道的内脏感觉、分泌及运动功能, 在 IBS 的发病中起重要作用, 但具体调控机制尚未完全明确, 有关脑肠肽受体表达与 IBS 的关系亦未明确。

### ■同行评议者

李晓波, 教授, 上海交通大学药学院

## ■ 研究前沿

血管活性肠肽受体(vasoactive intestinal peptide receptor, VIPR)、降钙素基因相关肽受体(calcitonin gene-related peptide receptor, CGRPR)是两种常见的脑肠肽受体,但肠道黏膜中VIPR、CGRPR表达与IBS的关系的相关研究较少,其如何参与IBS的病理生理过程仍尚未清楚。

and a significant difference was also observed between IBS-D and IBS-C patients ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** VIPR and CGRPR are involved in the pathophysiology of IBS in certain ways. The possible roles of VIPR and CGRPR in the colon suggest that further studies of the alterations of these neuropeptide receptors may be useful in understanding IBS pathophysiology.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Vasoactive intestinal peptide receptor; Calcitonin gene-related peptide receptor

Luo HS, Nie R, Zhang FC, Liang LX, Zhang G. Expression of colonic vasoactive intestinal peptide receptor and calcitonin gene-related peptide receptor in irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5157-5163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5157.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5157>

## 摘要

**目的:** 探讨肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者结肠黏膜血管活性肠肽受体(vasoactive intestinal peptide receptor, VIPR)、降钙素基因相关肽受体(calcitonin gene-related peptide receptor, CGRPR)的变化,以及他们在IBS中的可能作用及临床意义。

**方法:** 对腹泻型IBS(IBS-D)20例、便秘型IBS(IBS-C)8例和正常对照组(control)8例各取乙状结肠黏膜标本,应用实时荧光定量PCR、免疫组织化学染色法分别检测VIPR、CGRPR。

**结果:** IBS-D组VIPR mRNA 表达水平显著高于IBS-C组和control组( $2.89 \pm 1.74$  vs  $0.85 \pm 0.6$ ,  $0.62 \pm 0.31$ ,  $P < 0.05$ ), IBS-C组和control组比较差异无统计学意义; IBS-D组CGRPR mRNA表达水平显著高于control组( $1.86 \pm 1.36$  vs  $0.77 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ), IBS-C组和IBS-D及control组比较差异无统计学意义; IBS-D、IBS-C组VIPR表达水平显著高于control组( $0.24 \pm 0.03$ ,  $0.17 \pm 0.02$  vs  $0.13 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), IBS-D、IBS-C组间有显著差异性( $P < 0.05$ ); IBS-D、IBS-C组CGRPR表达水平显著高于control组( $0.23 \pm 0.02$ ,  $0.18 \pm 0.02$  vs  $0.13 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ ), IBS-D、IBS-C组间有显著差异性( $P < 0.05$ )。

**结论:** VIPR、CGRPR可能参与了IBS的病理生理过程。VIPR、CGRPR在肠黏膜中的作用对于进一步研究这些脑肠肽受体在IBS发病机制的病理生理意义具有一定意义。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肠易激综合征; 血管活性肠肽受体; 降钙素基因相关肽受体

**核心提示:** 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者肠黏膜脑肠肽受体血管活性肠肽受体(vasoactive intestinal peptide receptor, VIPR)、降钙素基因相关肽受体(calcitonin gene-related peptide receptor, CGRPR)表达水平升高,尤其以IBS-D为显著,提示VIPR、CGRPR参与了IBS的发生、发展过程,且在不同亚型IBS中存在受体表达水平的差异。

罗和生, 聂仁, 张法灿, 梁列新, 张国. 肠易激综合征患者肠黏膜VIPR、CGRPR的变化情况. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5157-5163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5157.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5157>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性肠病,根据其临床症状特点,可分为腹泻型、便秘型、腹泻便秘交替型和未定型。其病因和发病机制尚不完全清楚,目前研究认为,其发病与胃肠动力异常、内脏敏感性增高、脑肠轴异常、肠道感染与炎症反应、精神心理异常、遗传等因素有关。有研究<sup>[1]</sup>表明,脑肠轴通过分泌脑肠肽,作用于胃肠道平滑肌细胞的相应受体,进而调节胃肠道的内脏感觉、分泌及运动功能,在IBS的发病中起重要作用,但具体调控机制尚未完全明确<sup>[2]</sup>,有关脑肠肽受体表达与IBS的关系亦未明确。本研究通过免疫组织化学染色法、实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)对IBS患者及正常人结肠黏膜血管活性肠肽受体(vasoactive intestinal peptide receptor, VIPR)、降钙素基因相关肽受体(calcitonin gene-related peptide receptor, CGRPR)的表达进行研究,从分子生物学水平探讨这些脑肠肽受体在IBS患者的结肠黏膜的变化,从而为进一步了解IBS的病理生理机制提供一定的实验依据。



## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-05/2012-11到广西壮族自治区人民医院门诊及住院部就诊的IBS患者28例, 其中腹泻型IBS组(IBS-D)20例, 便秘型IBS组8例, 男10例, 女18例, 年龄24-64岁, 平均38岁; 正常对照组8例, 男3例, 女5例, 年龄30-60岁, 平均45.9岁, 均为健康体检人员。全部IBS患者均符合罗马III诊断标准<sup>[3,4]</sup>。所有纳入研究的对象均需除外严重的系统疾病、消化器质性病变、过敏性疾病等, 无近期服药史, 对照组近期无消化系及神经系统症状和体征、无近期服药史。所有纳入研究的对象均告知相关事项, 并签署知情同意书。VIPR兔抗人多克隆抗体(博奥森, 北京), CGRPR兔抗人多克隆抗体(博奥森, 北京), SP-9000免疫组织化学试剂盒(中杉金桥, 北京); DAB显色试剂盒(中杉金桥, 北京); 逆转录试剂盒(Takara); 实时荧光定量PCR试剂盒(天根); Image Pro-plus图像分析软件。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本收集:** 行结肠镜检查退镜时在距肛门外口约20 cm处(即乙状结肠直乙交界处)钳取5块黏膜组织, 2块中性甲醛固定, 石蜡包埋成蜡块后切片, 用于常规病理学检查和免疫组织化学研究, 3块立即液氮冷冻待作qRT-PCR检测。病理组织学检查: 切片做苏木精-伊红(HE)染色, 观察黏膜层结构及炎症细胞浸润情况<sup>[5]</sup>。

**1.2.2 免疫组织化学染色法:** 结肠镜下取肠黏膜组织, 石蜡包埋后切片, 常规脱蜡至水; 在枸橼酸钠溶液中高压修复2 min, 3% $H_2O_2$ 室温下避光孵育10 min, PBS洗3次 $\times$ 3 min; 正常山羊血清工作液封闭组织15 min, 倾去, 勿洗; 加入一抗, 于37℃湿盒中恒温孵育2.5 h, PBS洗3次 $\times$ 3 min; 加入二抗工作液, 室温孵育10 min, PBS洗3次 $\times$ 3 min; 辣根酶标记链霉卵白素工作液室温孵育10 min, PBS洗3次 $\times$ 3 min; 新鲜配制的DAB工作液显色约5-10 min(显微镜下观察显色结果, 适时终止); 苏木素复染3 min; 10 mL/L的乙醇盐酸溶液分化3 s; 氨水返蓝5 s; 脱水、透明、封片, 置于光镜下观察。以上操作步骤严格地按照所使用的试剂盒的说明书进行。阳性对照采用大鼠肝脏切片, 阴性对照以PBS代替一抗。

**1.2.3 qRT-PCR方法:** 肠黏膜组织放入1 mL Tripure工作液中, 冰上研磨, 按说明书步骤提取总RNA, Nanodrop测量RNA浓度, 使用Takara

逆转录试剂盒按照说明书进行逆转录, 逆转录产物cDNA用于进行qRT-PCR, VIPR上游引物: 5'-GCCTACCTGCTCTCCAAGTC-3', 下游引物: 5'-TTGATTCTGTTGCTTCCAC-3'; CGRPR上游引物: 5'-CTCTTCTCCACACCGTCACC-3', 下游引物: 5'-TATGCTGGGTCTCTTCGTC-3'; GAPDH: 上游引物: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3', 下游引物: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。qRT-PCR反应总体积为20  $\mu$ L, 内含有cDNA 2  $\mu$ L, 2 $\times$ SuperReal PreMix Plus 10  $\mu$ L, 50 $\times$ ROX Reference Dye 0.4  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 6.4  $\mu$ L, 上下游引物(浓度为10  $\mu$ mol/L)共1.2  $\mu$ L。反应条件: 95℃ 15 min; 95℃ 10 s, 60℃ 32 s, 共40个循环; 60℃ 32 s, 采集荧光信号。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算腹泻组、便秘组mRNA循环数相对正常组的比值。

**1.2.4 免疫组织化学染色定量检测:** 于200倍高倍镜下观察, 每张切片随机选择3个不同视野, 视野中深棕黄色的颗粒状、点状或短细线状物质为检测蛋白的阳性表达, 同一条件下拍摄照片后以Image Pro-plus软件对图片中阳性表达处进行平均光密度(OD)的测定。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件; 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 组间比较采用非参数检验(Kruskal-Wallis H检验)和方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组结肠黏膜HE染色** HE染色显示肠黏膜组织结构正常, IBS-D组、IBS-C组及正常组中均可见少量炎症细胞浸润(图1)。

**2.2 各组肠黏膜的VIPR、CGRPR的表达** IBS-D、IBS-C组VIPR、CGRPR表达水平显著高于正常对照组, IBS-D、IBS-C组间有显著差异性( $P<0.05$ )(表1, 图2)。

**2.3 各组肠黏膜的VIPR mRNA、CGRPR mRNA的表达水平** IBS-D组VIPR mRNA表达水平显著高于IBS-C组和正常对照组, IBS-C组和正常对照组比较差异无统计学意义; IBS-D组CGRPR mRNA表达水平显著高于正常对照组, IBS-C组和IBS-D组比较无组间差异性, IBS-C组和正常对照组比较差异无统计学意义(图3)。

## 3 讨论

IBS是以腹痛或腹部不适, 伴排便习惯改变和

### ■ 相关报道

王德山等研究发现IBS-D大鼠血清、结肠组织中VIP含量增加、VIPR1 mRNA表达水平上调, 提示VIPR的表达水平变化参与了VIP的病理生理效应。

■ 创新盘点

本研究通过免疫组织化学染色法、实时荧光定量对IBS患者及正常人结肠黏膜VIPR、CGRPR的表达进行研究, 从分子生物学水平探讨这些脑肠肽受体在IBS患者的结肠黏膜的变化, 从而为进一步了解IBS的病理生理机制提供一定的实验依据。

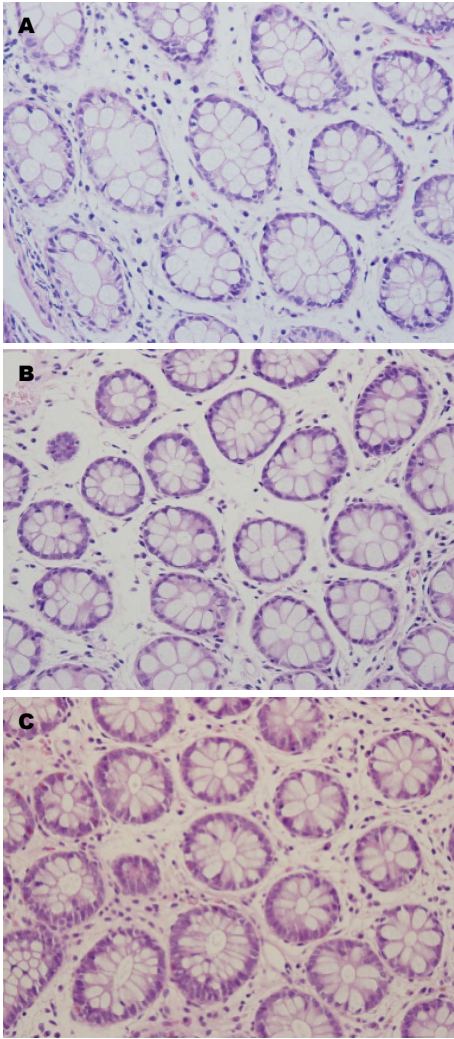


图 1 结肠黏膜HE染色(×200). A: 正常组; B: IBS-D组; C: IBS-C组. 肠黏膜腺体结构正常, 周边可见蓝色点状细胞(主要为中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞)为炎性细胞。

大便性状异常, 持续或间歇发作而缺乏形态学改变为主要特点的功能性肠病。近年来脑肠轴异常介导IBS的发病机制受到学界的关注。脑肠肽存在于中枢及肠道神经系统, 是由神经细胞等产生的一种小分子多肽类, 具有调节胃肠运动、分泌吸收、内脏感觉等功能, 并受情绪影响<sup>[6]</sup>。脑肠肽作用的靶部位是胃肠道平滑肌细胞的特异性受体, 如VIPR、CGRPR等通过这些受体调控及受体后信息传递, 产生一定的生物学效应, 从而影响胃肠道的内脏感觉、分泌、运动功能。神经肽受体在人体内脏的不同部位均有所分布, 所起到的生物学功能也不尽相同。但目前这些神经肽受体与IBS的关系的研究甚少, 神经肽受体如何参与IBS的病理生理过程仍尚未清楚。

VIP是调节肠道运动、分泌等功能的重要

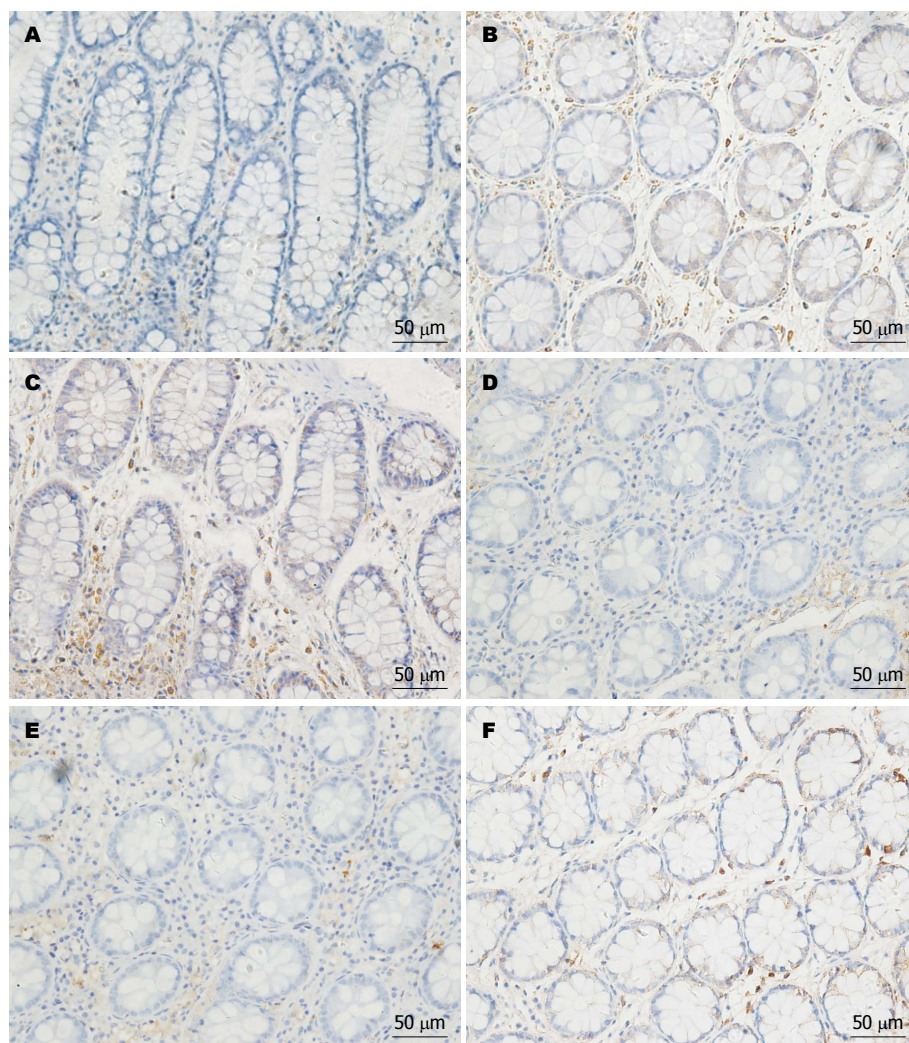
表 1 各组肠黏膜VIPR、CGRPR表达水平

分组	n	VIPR <sup>1</sup>	CGRPR <sup>1</sup>
正常组	8	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.02
便秘组	8	0.17 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.02 <sup>a</sup>
腹泻组	20	0.24 ± 0.03 <sup>ac</sup>	0.23 ± 0.02 <sup>ac</sup>

<sup>1</sup>VIPR、CGRPR的相关数据为经过测量所得平均光密度值。  
<sup>a</sup>P<0.05 vs 正常组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 便秘组。VIPR: 血管活性肠肽受体; CGRPR: 降钙素基因相关肽受体。

神经肽。存在于许多不同的肠神经元亚型, 包括中间神经元, 抑制运动神经元, 促进分泌神经元<sup>[7]</sup>。李兆申等<sup>[8]</sup>研究发现IBS-D、IBS-C患者结肠黏膜VIP含量显著高于正常对照组。国外相关研究<sup>[9,10]</sup>认为VIP与IBS患者的腹痛、腹泻、便秘等症状相关。VIP主要通过激活两个G蛋白偶联受体亚型: VIPR1/VIPR2发挥作用<sup>[11-13]</sup>。VIP可以直接刺激黏膜表达VIPR1<sup>[14]</sup>。VIPR是介导VIP信息传递的靶标蛋白分子, VIP信息传递所引起的生物效应不仅取决于组织中含量的高低, 而且与VIPR在靶细胞表面的表达量有着直接关系<sup>[15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>表明, VIP与相应受体结合后产生偶联放大效应作用于平滑肌使之舒张。豚鼠回肠和结肠的肌肉收缩性研究表明, VIP通过激活平滑肌上VIPR2放松肌肉<sup>[17,18]</sup>以及刺激纵行肌神经源性收缩<sup>[19,20]</sup>。大鼠结肠动力性研究表明VIP和VIPR1参与其结肠动力调控机制<sup>[21]</sup>。有研究<sup>[22]</sup>报道通过VIPR1拮抗剂pg97-269去验证存在于猪空肠的这种受体在调控肌肉收缩和促进分泌的作用, 结果发现VIP通过VIPR1介导兴奋性运动神经元刺激释放乙酰胆碱调控纵肌收缩, 还发现VIP激活胆碱能分泌神经元上的VIPR1。VIPR1是VIPR家族的一种亚型, 为G蛋白偶联受体, 与VIP具有高亲和力。有研究<sup>[23]</sup>报道, VIP与VIPR1结合后, 通过胞内cAMP信号通路激活结肠黏膜上水通道蛋白(AQPs), 增加膜通透性, 大量水分子进入肠腔导致腹泻。Wang等<sup>[24]</sup>通过IBS-D结肠组织中AQP8 mRNA表达变化的研究发现结肠AQP8 mRNA表达水平下降, 提示随着结肠AQP8表达的减少, 结肠吸收功能发生障碍, 水吸收量减少, 导致粪便稀薄行成腹泻。王德山等<sup>[25]</sup>研究发现IBS-D大鼠血清、结肠组织中VIP含量增加、VIPR1 mRNA表达水平上调, 提示VIPR的表达水平变化参与了VIP的病理生理效应。我们的研究结





#### 应用要点

IBS患者肠黏膜脑肠肽受体VIPR、CGRPR表达水平升高, 尤其以IBS-D为显著。因此, 通过检测肠黏膜组织中这些脑肠肽受体表达水平, 可以有助于IBS的诊断, 并为治疗IBS提供一定的靶向。

图2 肠道黏膜中VIPR、CGRPR的表达( $\times 200$ )。A, D: 正常组; B: 便秘组肠道黏膜中VIPR的表达; C: 腹泻组肠道黏膜中VIPR的表达; E: 便秘组肠道黏膜中CGRPR的表达; F: 腹泻组肠道黏膜中CGRPR的表达。深棕黄色染色颗粒及短线状、细丝状物质即为阳性表达。VIPR: 血管活性肠肽受体; CGRPR: 降钙素基因相关肽受体。

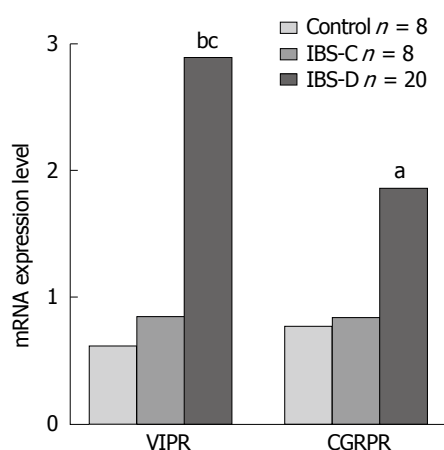


图3 肠道黏膜中VIPR、CGRPR mRNA表达水平。<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 便秘组。VIPR: 血管活性肠肽受体; CGRPR: 降钙素基因相关肽受体; IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; IBS-C: 便秘型肠易激综合征。

果发现, 与正常对照组比较, IBS-D、IBS-C组

VIPR蛋白表达水平显著增高, 且IBS-D组VIPR表达水平高于IBS-C; 同时, 与正常对照组、IBS-C组比较, IBS-D组VIPR1 mRNA表达水平明显上调, 提示VIPR1表达上调与IBS密切相关, 并且VIPR1介导的VIP信息传递在不同亚型IBS的作用机制可能不一致, 而VIPR1如何通过介导VIP信息传递从而导致IBS的发生、发展仍有待进一步的研究。

CGRP是一种脑肠肽, 参与调节胃肠道血液灌注、胃肠分泌以及运动功能, 还具有调节免疫反应的作用。在中枢神经系统CGRP参与疼痛、知觉和中枢敏化调节<sup>[26]</sup>。牛庆慧等<sup>[27]</sup>发现腹泻性IBS患者回盲部和乙状结肠部位CGRP阳性神经肽纤维强度明显增强, 便秘型、混合型及未定型IBS患者与对照组比较无明显增强。CGRP功能主要由其受体介导,



# 名词解释

水通道蛋白 (AQP): 普遍存在的膜通道蛋白, 其所介导的自由水快速被动的跨生物膜转运是水进出细胞的主要途径。

CGRPR属于G蛋白介导的受体超家族, 有研究报道CGRP与CGRPR结合后, 经G蛋白介导, 激活细胞内腺苷酸环化酶, 使环磷酸腺苷(cAMP)水平增加, 参与气道的神经性炎症反应、血管扩张、通透性增加<sup>[28]</sup>。有研究在老鼠的硬脑膜的肥大细胞发现存在CGRPR, 提示CGRPR可能参与肥大细胞脱颗粒和炎症反应, 尽管这些发现在人类尚未复制<sup>[29]</sup>。我们的研究发现, 与正常对照组比较, IBS-D、IBS-C组CGRPR的蛋白表达水平显著增高, 且IBS-D组CGRPR表达水平高于IBS-C, 同时, CGRPR mRNA表达水平仅在IBS-D组中上调, 而IBS-D组与IBS-C组无差异。前期研究也发现IBS-D患者结肠黏膜中CGRP表达水平显著高于正常对照组, 与IBS-C及正常对照组相比较CGRP的表达均有显著性差异, IBS-D患者的肠黏膜CGRP水平与排稀便显著相关<sup>[30]</sup>。因此, CGRPR表达上调与IBS密切相关, 尤其可能与IBS-D的发生或发展密切相关。

在本研究, 我们发现一个有趣的事情, IBS患者VIPR、CGRPR mRNA和蛋白质的表达趋势存在一定差异, 提示受体表达后的结构与功能可能是决定这些神经肽病理生理功能的主要因素。

总之, IBS患者肠黏膜脑肠肽受体VIPR、CGRPR表达水平升高, 尤其以IBS-D为显著, 提示VIPR、CGRPR参与了IBS的发生、发展过程, 且在不同亚型IBS中存在受体表达水平的差异。但本研究仅是一个初步的研究、且研究样本量小, 同时, 受体后的调控机制仍未阐明, 因此, 今后需更广泛、深入的研究以进一步了解脑肠肽在IBS发病机制的病理生理意义。

## 参考文献

- 胡品津. 从脑-肠互动的高度认识肠易激综合征. 中华消化杂志 2003; 23: 261-262
- 李宁宁, 方秀才. 脑-肠轴在肠易激综合征发病中的作用. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 163-166
- 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007, 长沙). 中华消化杂志 2008; 28: 38-41
- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061]
- 张利荣. 腹泻为主的IBS患者空肠肥大细胞功能存在数量异常. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 99-99
- 肖爱娇, 邹宏吕. 艾灸对抑郁症模型大鼠色氨酸羟化酶2基因表达与单胺氧化酶活性的影响. 按摩与康复医学 2002; 3: 3-5

- Furness JB. Types of neurons in the enteric nervous system. *J Auton Nerv Syst* 2000; 81: 87-96 [PMID: 10869706 DOI: 10.1016/S0165-1838(00)00127-2]
- 李兆申, 董文珠, 邹多武, 满晓华, 邹晓平, 尹宁, 朱爱勇. 肠易激综合征肠黏膜SP、VIP、CGRPR变化的研究. 第二军医大学学报 2003; 24: 147-151
- Morise K, Furusawa A, Yamamoto H, Saito H. [Role of gut hormones in irritable bowel syndrome]. *Nihon Rinsho* 1992; 50: 2697-2702 [PMID: 1287245]
- Simrén M, Abrahamsson H, Björnsson ES. An exaggerated sensory component of the gastrocolonic response in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2001; 48: 20-27 [PMID: 11115818 DOI: 10.1136/gut.48.1.20]
- Dickson L, Finlayson K. VPAC and PAC receptors: From ligands to function. *Pharmacol Ther* 2009; 121: 294-316 [PMID: 19109992 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2008.11.006]
- Harmar AJ, Arimura A, Gozes I, Journot L, Laburthe M, Pisegna JR, Rawlings SR, Robberecht P, Said SI, Sreedharan SP, Wank SA, Waschek JA. International Union of Pharmacology. XVIII. Nomenclature of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 265-270 [PMID: 9647867]
- Laburthe M, Couvineau A, Marie JC. VPAC receptors for VIP and PACAP. *Receptors Channels* 2002; 8: 137-153 [PMID: 12529932 DOI: 10.1080/10606820213680]
- Reddix R, Kuhawara A, Wallace L, Cooke HJ. Vasoactive intestinal polypeptide: a transmitter in submucous neurons mediating secretion in guinea pig distal colon. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 269: 1124-1129 [PMID: 7912276]
- Itoh A, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Bamba T. Enhancement of aquaporin-3 by vasoactive intestinal polypeptide in a human colonic epithelial cell line. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 203-210 [PMID: 12542607 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.02949.x]
- 肖泽曼, 姚丽华, 郭青山. 慢性不可预见性温和应激对大鼠行为及下丘脑胃泌素释放肽mRNA表达的影响. 神经损伤与功能重建 2012; 7: 28-31
- Harmar AJ, Sheward WJ, Morrison CF, Waser B, Guggen M, Reubi JC. Distribution of the VPAC2 receptor in peripheral tissues of the mouse. *Endocrinology* 2004; 145: 1203-1210 [PMID: 14617572 DOI: 10.1210/en.2003-1058]
- Robberecht P, De Neef P, Lefebvre RA. Influence of selective VIP receptor agonists in the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol* 1998; 359: 77-80 [PMID: 9831296 DOI: 10.1016/S0014-2999(98)00662-1]
- Kusunoki M, Tsai LH, Taniyama K, Tanaka C. Vasoactive intestinal polypeptide provokes acetylcholine release from the myenteric plexus. *Am J Physiol* 1986; 251: G51-G55 [PMID: 3728677]
- Katsoulis S, Schmidt WE, Clemens A, Schwörer H, Creutzfeldt W. Vasoactive intestinal polypeptide induces neurogenic contraction of guinea-pig ileum. Involvement of acetylcholine and substance P. *Regul Pept* 1992; 38: 155-164 [PMID: 1374193 DOI: 10.1016/0167-0115(92)90054-X]
- Shi XZ, Sarna SK. Gene therapy of Cav1.2 channel with VIP and VIP receptor agonists

- and antagonists: a novel approach to designing promotility and antipromotility agents. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G187-G196 [PMID: 18467505 DOI: 10.1152/ajpgi.00047.2008]
- 22 Fung C, Unterwiesing P, Parry LJ, Bornstein JC, Foong JP. VPAC1 receptors regulate intestinal secretion and muscle contractility by activating cholinergic neurons in guinea pig jejunum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 306: G748-G758 [PMID: 24578344 DOI: 10.1152/ajpgi.00416.2013]
  - 23 冯琼, 王俊平, 贾泽平. 血管活性肠肽VIP对人结肠上皮细胞系HT29细胞AQP8表达调节的研究. *中国现代医学杂志* 2007; 19: 2345-2348
  - 24 Wang JP, Hou XH. Expression of aquaporin 8 in colonic epithelium with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 313-316 [PMID: 17374283]
  - 25 王德山, 王艳杰, 刘慧慧, 刘旭东, 柴继严, 赵金茹. 眼针疗法对D-IBS模型大鼠结肠VIPR1表达的影响. *中国老年学杂志* 2013; 33: 1076-1079
  - 26 Powell KJ, Ma W, Sutak M, Doods H, Quirion R, Jhamandas K. Blockade and reversal of spinal morphine tolerance by peptide and non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 875-884 [PMID: 11053206 DOI: 10.1038/sj.bjp.0703655]
  - 27 牛庆慧, 张翠萍, 鞠辉, 刘希双, 赵洁, 董萍. 肠道黏膜肥大细胞和降钙素基因相关肽在肠易激综合征中的表达. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 213-217
  - 28 Martin JG, Xu LJ, Toh MY, Olivenstein R, Powell WS. Leukotrienes in bile during the early and the late airway responses after allergen challenge of sensitized rats. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 104-110 [PMID: 8420402 DOI: 10.1164/ajrccm/147.1.104]
  - 29 Eftekhari S, Warfvinge K, Blixt FW, Edvinsson L. Differentiation of nerve fibers storing CGRP and CGRP receptors in the peripheral trigeminovascular system. *J Pain* 2013; 14: 1289-1303 [PMID: 23958278 DOI: 10.1016/j.jpain.2013.03.010]
  - 30 罗和生, 梁文晶, 梁列新, 张国, 张法灿. 肠易激综合征患者肠黏膜CGRP、SP水平的变化与临床症状的关系. *临床消化病杂志* 2014; 26: 336-339

#### 同行评价

本文采用免疫组织化学和qRT-PCR方法对IBS患者及正常人结肠黏膜VIPR、CGRPR的表达进行研究, 研究结果对于进一步研究脑肠肽在IBS发病机制的病理生理意义具有一定价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## Wee1及p-Wee1对大肠癌增殖的调控机制

文玉, 李晓燕, 罗娟

### ■背景资料

在G<sub>2</sub>/M期, CDC25通过磷酸化Wee1减弱其活性, 同时SCFTome-1使Wee1降解, 进而激活CDKs/Cyclins激酶, 从而可使有丝分裂快速启动。而在接下来的G<sub>1</sub>期, Wee1在APCCDH1的辅助下恢复作用, 从而分别以Cyclins和Tome-1降解的方式调控CDKs/Cyclins和SCFTome-1的失活。因此一直到S期都有Wee1的作用, 可阻止有丝分裂提前发生, 确保受损DNA修复完全, 从而保持DNA的完整性。

文玉, 昆明医科大学第一附属医院急诊科 云南省昆明市 650032

李晓燕, 罗娟, 云南省消化疾病研究所 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

文玉, 硕士, 主要从事消化系急重症疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李晓燕设计; 研究过程由文玉与罗娟操作完成; 数据分析由文玉完成; 论文写作由罗娟完成。

通讯作者: 罗娟, 医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 云南省消化疾病研究所, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。luojuan1964@163.com  
 电话: 0871-65324888

收稿日期: 2015-09-21  
 修回日期: 2015-10-12  
 接受日期: 2015-10-19  
 在线出版日期: 2015-11-18

### Regulatory effect of Wee1 on proliferation of colorectal cancer cells

Yu Wen, Xiao-Yan Li, Juan Luo

Yu Wen, Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Xiao-Yan Li, Juan Luo, Yunnan Institute of Digestive Diseases; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Juan Luo, Physician, Yunnan Institute of Digestive Diseases; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. luojuan1964@163.com

Received: 2015-09-21  
 Revised: 2015-10-12  
 Accepted: 2015-10-19  
 Published online: 2015-11-18

### ■同行评议者

刘杰民, 主任医师, 贵州省人民医院消化内科科

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of Wee1 and phosphorylated Wee1 protein in colorectal cancer and normal tissues, and analyze the regulatory effect of Wee1 on cell proliferation in the human colorectal cancer cell line HCT116.

**METHODS:** The expression of Wee1, p-Wee1 (Ser53) and p-Wee1 (Ser642) was detected by immunohistochemistry in colorectal cancer and normal tissues. The changes in Wee1, p-Wee1 (Ser53) and p-Wee1 (Ser642) expression were detected by Western blot in starved HCT116 cells. HCT116 cells were then cultured in medium containing different concentrations of Wee1 inhibitor PD407824. Cell proliferation was determined by Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay, and the morphology of the cells was observed by light microscopy.

**RESULTS:** The positive rates of Wee1, p-Wee1 (ser53), and p-Wee1 (ser642) expression (68.00%, 85.00% and 91.00%) in colorectal cancer were significantly higher than those in normal tissues (9.62%, 21.15% and 42.31%) ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The expression of the Wee1 and its phosphorylated forms rose mainly at 6, 12 and 24 h. The proliferation of HCT116 cells was inhibited by Wee1 inhibitor PD407824.

**CONCLUSION:** The levels of Wee1 and its phosphorylation forms closely relate to the proliferation of colorectal cancer cells. Wee1 inhibitor may be a potential new treatment for colorectal cancer in the future.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



**Key Words:** Colorectal cancer; Wee1; Cell cycle; Cell proliferation

Wen Y, Li XY, Luo J. Regulatory effect of Wee1 on proliferation of colorectal cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5164-5170 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5164>

## 摘要

**目的:** 检测大肠癌及正常组织和细胞株中Wee1及其磷酸化形式的表达并探讨Wee1对大肠癌细胞株HCT116增殖的调控方式。

**方法:** 首先, 使用免疫组织化学的方法检测Wee1总蛋白及p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)的表达。其次, 使用血清饥饿法大致停滞细胞周期后, 用Western blot法测定Wee1及p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)在HCT116细胞株中的表达。最后, 将Wee1抑制剂PD 407824稀释成不同浓度, 用CCK8法测定不同时间点HCT116的增殖情况及用显微镜观察其形态变化。

**结果:** Wee1、p-Wee1(ser53)及p-Wee1(ser642)蛋白在大肠癌组织中的阳性表达率(68.00%、85.00%和91.00%)高于正常组织(9.62%、21.15%和42.31%), 有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。细胞增殖过程中, 检测到Wee1及其磷酸化蛋白的表达主要在6、12、24 h升高。Wee1抑制剂PD 407824可以抑制HCT116细胞增殖( $P < 0.01$ )。

**结论:** Wee1及其磷酸化蛋白的水平与大肠肿瘤的增殖有关, Wee1抑制剂有望作为一个新的选择性的肿瘤治疗手段。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 大肠癌; Wee1; 细胞周期; 细胞增殖

**核心提示:** Wee1及其磷酸化蛋白的水平与大肠肿瘤的增殖有关。Wee1的ser642位点被磷酸化有利于Wee1从细胞核转入细胞浆中, 失去活性。Wee1的ser53位点被磷酸化, 才能与SCF结合从而被降解。而Wee1抑制剂有望作为一个新的选择性的肿瘤治疗手段。

文玉, 李晓燕, 罗娟. Wee1及p-Wee1对大肠癌增殖的调控机制. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5164-5170 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5164>

## 0 引言

大肠癌是目前常见的恶性肿瘤之一, 预后差, 发病率也呈明显上升的趋势。故研究其发病机制对提高大肠肿瘤的早期诊断水平非常重要。而肿瘤的发生与细胞周期失控有着密切关系。细胞周期的调控主要是通过相应的细胞周期蛋白(cyclins)及细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物(cyclin -dependent kinase inhibitor, CDIs)复合物来进行。Wee1和Cdc25是作为2个具有相反作用的重要因子来调控G<sub>2</sub>/M期<sup>[1,2]</sup>。其中, Wee1是一个属于丝氨酸和苏氨酸家族的激酶。在人体细胞中, Wee1通过磷酸化CDK1的Tyr-15位点, 抑制其活性, 从而使细胞不能进入M期, 即有丝分裂期<sup>[3]</sup>。如果Wee1表达升高, 则细胞将停滞于间期可能发生凋亡; 如果表达降低, 则可能是直接通过G<sub>2</sub>/M期, 具有变异的DNA的细胞继续分裂, 而导致癌变。因此Wee1的激活和失活非常重要, 而其磷酸化在这一过程中又起着关键的作用。

而既然Wee1在G<sub>2</sub>/M检验点中起着重要的作用, 那抑制Wee1活性是否可以协同治疗肿瘤? 本研究中我们将检测Wee1及其磷酸化蛋白在大肠癌组织中的表达, 使用PD 407824(一种Wee1抑制剂)作用于大肠肿瘤细胞株, 观察其对细胞增殖的影响, 拟探讨Wee1及其磷酸化对大肠癌细胞株增殖的调控及相关机制, 为Wee1抑制剂联合抗肿瘤药物治疗大肠癌提供理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机采用昆明医科大学第一附属医院普外科和肿瘤科经手术切除及术后病理确诊的大肠癌新鲜标本共100例。所有大肠癌标本临床病理资料完整, 患者术前均未经任何放疗化疗。同时随机选取距肿瘤边缘>10 cm的正常组织52例, 作为对照。大肠癌患者病理组织学类型均为腺癌。大肠肿瘤细胞株HCT116来源美国模式培养物保藏所, 由南方医科大学南方医院消化疾病研究所赠。HCT116细胞株为成年男性大肠腺癌患者的结肠癌部位来源; PD 407824购自美国Merck Biosciences公司; Wee1抗体及p-Wee1(ser53)购自美国Santa Cruz公司; p-Wee1(ser642)抗体购自美国Cell Signaling Technology美国。DHP-9162型电热恒温培养

## ■ 研究前沿

本文研究了在大肠肿瘤中Wee1及其磷酸化蛋白在核内及胞浆内的不同分布位置, 探讨了其对细胞周期的调控机制。证明了在体外实验中使用Wee1抑制剂能够抑制肿瘤细胞的增殖, 提供了治疗肿瘤的可能性。但是在临床实验中其疗效仍不足, 尚需进一步的研究。

■ 相关报道

另一种Wee1抑制剂MK-1775已行临床I期研究,对复发实体肿瘤有一定的抑制作用,但仅2例患者对其有部分应答.其不良反应比较明显的为骨髓抑制及腹泻.而同时也有相关研究将Wee1抑制剂与放疗或其他化疗药物联合使用,证明其对肿瘤细胞有抑制作用,但暂时没有更多的临床研究.

表 1 Wee1及其磷酸化蛋白在大肠正常组织和癌中的表达情况

分组	n	阴性	阳性	阳性率(%)	P值
Wee1					<0.01
正常组织	52	47	5	9.62	
大肠癌	100	32	68	68.00	
p-Wee1(ser53)					<0.01
正常组织	52	41	11	21.00	
大肠癌	100	15	85	85.00	
p-Wee1(ser642)					<0.01
正常组织	52	30	22	42.31	
大肠癌	100	9	91	91.00	

箱: 上海恒科技有限公司/上海恒科学仪器有限公司; SW-CJ-1FDA/SW-CJ-2FDA超净工作台: 江苏苏净集团安泰公司; MODEL5410研究级倒置万能材料显微镜: 蔡司光学仪器(上海)国际贸易有限公司; 高速冷冻离心机: Sigma公司; 垂直电泳仪、Mini Trans-Blot III电转移槽、Mini-Protein III电泳槽: Bio-Rad公司; 微孔板检测系统-酶标仪SpectraMax Plus384: Molecular Devices公司.

1.2 方法

1.2.1 收集标本: 所有标本均为手术切除的新鲜标本. 标本切下后, 在原发灶和距大肠癌原发灶边缘10 cm两个部位分别切取0.5 cm×0.5 cm组织块, 除去坏死组织及周围结缔组织后, 用40 g/L甲醛溶液固定. 随后进行石蜡包埋、编号备用.

1.2.2 测定Wee1及其磷酸化形式在组织中的表达: 依次经过包埋组织、切片、脱蜡、水化、抗原修复、滴加一抗、滴加二抗、显色等步骤来测定Wee1总蛋白及p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)在组织细胞中的表达及位置. 其阳性结果判断参照Sinicrope的半定量积分法.

1.2.3 测定Wee1及其磷酸化形式在大肠癌细胞株中的表达: 首先, 采用血清饥饿法将HCT116细胞尽量同步化, 再加入含血清的培养基, 然后在不同时间点(10 min、1、6、12、24和48 h)收集细胞, 用Western blot法测定Wee1及p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)的表达.

1.2.4 使用Wee1抑制剂PD 407824后, 测定Wee1在大肠癌细胞株中的表达: 使用96孔板培养细胞. 在培养基中分别加入1 μL DMSO和1 μL不同浓度PD 407824(稀释后抑制剂的浓度为: 0.5、2.5、5.0、7.5、10 μmol/L)后继续培养

HCT116细胞, 并在6、24、48 h 3个时间点使用CCK-8法检测细胞增殖. 进行检测前在每孔中加入CCK-8溶液10 μL, 在培养箱内继续孵育1 h. 在450 nm波长下, 使用酶联免疫分析仪测定各孔光吸收值, 并记录下结果; 然后以时间为横轴, 光吸收值为纵轴绘制细胞生长曲线.

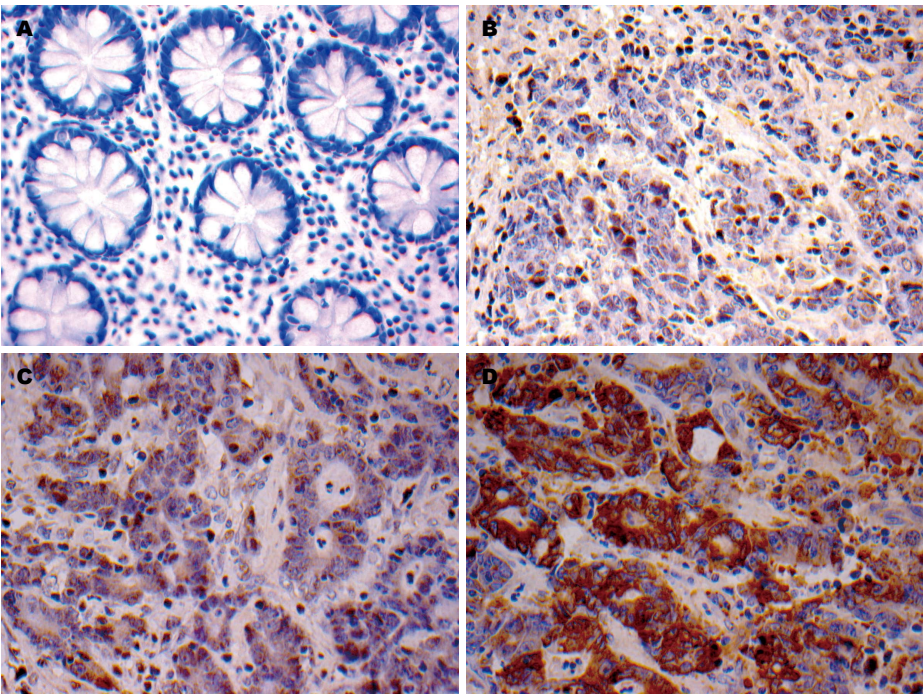
**统计学处理** 使用SPSS17.0专业统计软件进行数据分析, 采用 $\chi^2$ 检验及校正 $\chi^2$ 检验对大肠癌组织和大肠正常组织中Wee1、p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)的表达进行分析, 并采用Spearman等级相关分析来检验3种蛋白表达的相关性. 各试验组与对照组间差异采用单因素方差分析.

2 结果

2.1 Wee1在大肠癌组织中表达升高 Wee1在正常组织和大肠癌组织中的阳性表达率分别为9.62%(5/52)和68.00%(68/100). Wee1阳性表达主要在细胞核, 胞浆可有少量着色, 而正常组织中几乎不着色(图1A); 在大肠癌高中分化标本中表现为着色较浅、棕黄色的颗粒, 低分化标本中则为胞核深染、棕褐色的颗粒(图1B). 统计学结果显示: Wee1在大肠癌组织中的表达要明显高于正常组织, 有统计学意义( $P<0.01$ )(表1), 与大肠癌组织分化程度呈负相关( $r = -0.241, P<0.05$ )(表2).

2.2 p-Wee1(ser53)在大肠癌组织中表达升高 p-Wee1(ser53)在正常组织和大肠癌组织中的阳性表达率分别为21.15%(11/52)和85.00%(85/100). p-Wee1(ser53)阳性表达主要在细胞核, 胞浆也有少量着色, 正常组织中也几乎不着色; 在大肠癌高中分化标本中表现为着色较浅、棕黄色的颗粒, 低分化病例中





**创新亮点**  
本文明确了Wee1及其磷酸化蛋白的水平及位置与大肠肿瘤的增殖有关。同时选择了PD 407824作为Wee1抑制剂,证明了单独使用Wee1抑制剂对大肠肿瘤细胞的增殖也具有抑制作用。

图 1 Wee1及其磷酸化蛋白在组织中的表达( $\times 400$ )。A: Wee1与正常大肠组织; B: Wee1与大肠低分化腺癌; C: p-Wee1(ser53)与大肠低分化腺癌; D: p-Wee1(ser642)与大肠低分化腺癌。

表 2 Wee1蛋白及其磷酸化蛋白的表达与大肠癌病例分化程度间的关系

分化程度	n	阴性	低表达	高表达	r值	P值
Wee1					-0.241	<0.05
高、中分化	72	18	30	24		
低分化	28	14	4	10		
p-Wee1(ser53)					-0.299	<0.05
高、中分化	72	6	35	31		
低分化	28	9	5	14		
p-Wee1(ser642)					-0.349	<0.01
高、中分化	72	2	54	16		
低分化	28	7	3	19		

则为胞核深染、棕褐色的颗粒(图1C)。统计学结果显示: p-Wee1(ser53)在大肠癌组织中的表达要明显高于正常组织, 有统计学意义( $P<0.01$ )(表1), 与大肠癌组织分化程度呈负相关( $r = -0.241, P<0.05$ )(表2)。

**2.3 p-Wee1(ser642)在大肠癌组织中表达升高** p-Wee1(ser642)在正常组织和大肠癌组织中的阳性表达率分别为42.31%(22/52)和91.00%(91/100)。p-Wee1(ser642)阳性表达主要在细胞浆, 或胞浆、胞核两者均有着色, 正常的组织也几乎不着色; 在大肠癌高中分化标本中表现为着色较浅、棕黄色的颗粒, 低分化标本中则为胞核深染、棕褐色的颗粒(图1D)。统

计学结果显示: p-Wee1(ser642)在大肠癌组织中的表达要明显高于正常组织, 有统计学意义( $P<0.01$ )(表1), 与大肠癌组织分化程度呈负相关( $r = -0.241, P<0.05$ )(表2)。

**2.4 Spearman等级相关分析** 统计结果表明Wee1与p-Wee1(ser53)蛋白在大肠癌中的表达呈正相关( $r = 0.286, P<0.05$ ), Wee1与p-Wee1(ser642)蛋白在大肠癌中的表达也呈正相关( $r = 0.423, P<0.01$ ), 而p-Wee1(ser53)与p-Wee1(ser642)蛋白在大肠癌中的表达则亦呈明显正相关( $r = 0.426, P<0.01$ ), 均具有统计学意义。

**2.5 采用Western blot法测定Wee1及其磷酸化形式的表达** 在不同的时间点(10 min、1、6、



### 应用要点

证明了单独使用Wee1抑制剂对大肠肿瘤细胞的增殖也具有抑制作用, 因此可将PD 407824进一步在动物实验中验证, 探讨其有效剂量, 对比与其他Wee1抑制剂的区别, 尤其是安全性及不良反应方面。

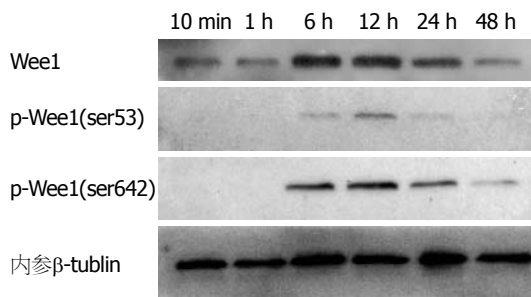


图2 HCT116细胞中不同时间点Wee1、p-Wee1(ser53)与p-Wee1(ser642)的表达。

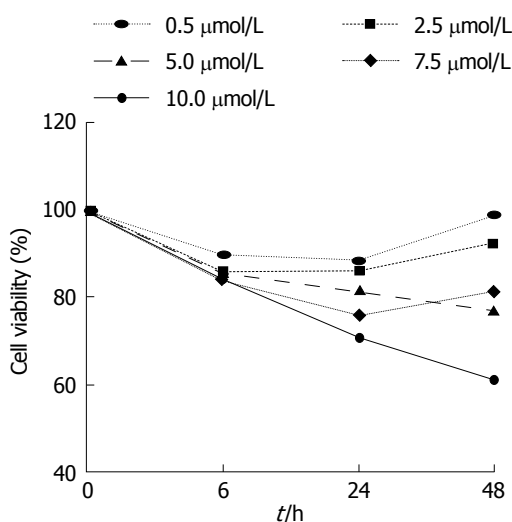


图3 不同时间点不同药物浓度细胞的存活率。

12、24和48 h)测定Wee1及其磷酸化形式的表达, 发现他们的表达成周期性变化, 在6、12、24 h出现表达升高; Wee1、p-Wee1(ser53)和p-Wee1(ser642)蛋白表达的高峰分别在6、12和24 h, 然后又逐渐下降(图2)。

**2.6 Wee1特异的抑制剂PD 407824** 使用Wee1特异的抑制剂PD 407824后, HCT116细胞增殖得到抑制, 与PD 407824呈时间剂量依赖的关系, 有统计学意义( $P < 0.01$ )(图3)。显微镜下观察经抑制剂处理过的HCT116细胞: 在24 h后随着抑制剂浓度的增加, 细胞数目不仅明显减少, 而且形态发生变化, HCT116细胞体积收缩、染色质凝集, 出现凋亡。

### 3 讨论

在正常周期调控下, 细胞开始增殖、分化、衰老及凋亡等生命过程。在人类的细胞周期中主要有G<sub>1</sub>/S和G<sub>2</sub>/M两个检验点。在大肠肿瘤中, 调控G<sub>1</sub>/S期的p53基因通常出现突变, 失去活性<sup>[4]</sup>; 所以G<sub>2</sub>/M期检验点的调控更加重要<sup>[5,6]</sup>。

其中起重要作用的复合物CyclinB-CDK1就由Wee1和Cdc25作为两个重要的起相反作用的因子来调控。

本文中主要研究了Wee1在大肠癌中的表达。研究<sup>[7]</sup>发现在不同种类的细胞周期中, Wee1在G<sub>2</sub>后期和M期中的表达并不稳定。还有的研究表明Wee1的降解可能在M期, 也可能发生在细胞间期。其他生物中的Wee1类似物, 如酵母菌中的Swe1, 也并不一定完全在M期发生降解<sup>[8,9]</sup>。而Wee1在爪蟾蛙胚胎<sup>[10]</sup>和小鼠胚胎细胞<sup>[11]</sup>中M期的含量很稳定。这些研究<sup>[12,13]</sup>都说明Wee1活性的调节是不一样的, 他的活性可能与许多蛋白相关, 与一个依赖磷酸化降解的机制关系密切。比如在啤酒酵母中, SKP/Cul1/F-box(SCF)E3遍在蛋白连接酶复合体识别Met30p(一种F-box蛋白), 从而使Swe1p(啤酒酵母中的Wee1类似物)被遍在蛋白化后降解<sup>[14]</sup>。近期的一项研究<sup>[15]</sup>也发现, 使用一种小分子物质阻止Wee1的降解可以来阻滞细胞周期, 提示了Wee1的降解在细胞周期的重要性。我们的研究也发现Wee1的蛋白水平是不断变化的, 提示其在细胞周期中的活性是与降解有关的。

Katayama等<sup>[16]</sup>发现Akt能够磷酸化Wee1的ser642位点, 才能让Wee1及14-3-30结合在一起, 从而使Wee1从细胞核转入细胞浆中, 失去活性。Wells等<sup>[17]</sup>也提出Wee1需要其ser53和ser123位点被磷酸化, 才能与SCF结合从而被降解。在本研究中, 我们发现大肠癌组织中, Wee1及p-Wee1(ser53)存在于细胞核, 而p-Wee1(ser642)多存在于细胞浆中; 在细胞增殖中, Wee1及其磷酸化蛋白p-Wee1 ser53和ser642的水平是呈周期性变化的, 提示了Wee1的磷酸化可能与其活性及降解有关。

近来的研究<sup>[18-21]</sup>发现, Wee1是一个在肿瘤治疗中很有前景的分子靶标。本研究也通过免疫组织化学染色法发现Wee1及其磷酸化蛋白的表达与大肠癌相关, 均在大肠癌中表达较高, 正常组织低表达或不表达; 而且肿瘤分化程度越低, 其表达越高。其原因可能在于Wee1缺失或受到抑制后, 细胞周期检控点的调控上调, 细胞继续生长, 却因为DNA损伤等原因导致细胞周期进程受阻和细胞死亡等情况随之出现<sup>[22-24]</sup>, 尤其是P53缺失的细胞中<sup>[6]</sup>。关于细胞生长和增殖的研究发现, 转染miRNA后能够降低Wee1的表达, 从而能明显降低HeLa细胞(人

类宫颈癌细胞株)的增殖速度<sup>[25]</sup>。目前的研究<sup>[26-28]</sup>发现,联合使用Wee1抑制剂MK1775及Chk1/2抑制剂可以抑制乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤细胞等肿瘤的生长。现在,Wee1抑制剂MK1775已进入I期临床试验,对有BRCA基因突变的肿瘤患者中具有比较肯定的疗效<sup>[29]</sup>。而本研究选择了PD 407824作为Wee1抑制剂,证明了单独使用Wee1抑制剂对大肠肿瘤细胞的增殖也具有抑制作用。因此,Wee1抑制剂应用于肿瘤治疗中是有着广阔的发展前景的。

#### 4 参考文献

- 1 Stillman B. Cell cycle control of DNA replication. *Science* 1996; 274: 1659-1664 [PMID: 8939847]
- 2 Vera J, Raatz Y, Wolkenhauer O, Kottek T, Bhattacharya A, Simon JC, Kunz M. Chk1 and Wee1 control genotoxic-stress induced G2-M arrest in melanoma cells. *Cell Signal* 2015; 27: 951-960 [PMID: 25683911 DOI: 10.1016/j.cellsig.2015.01.020]
- 3 Walworth NC. DNA damage: Chk1 and Cdc25, more than meets the eye. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 78-82 [PMID: 11163155]
- 4 Russo A, Bazan V, Iacopetta B, Kerr D, Soussi T, Gebbia N. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7518-7528 [PMID: 16172461]
- 5 Wang Y, Li J, Booher RN, Kraker A, Lawrence T, Leopold WR, Sun Y. Radiosensitization of p53 mutant cells by PD0166285, a novel G(2) checkpoint abrogator. *Cancer Res* 2001; 61: 8211-8217 [PMID: 11719452]
- 6 Pappano WN, Zhang Q, Tucker LA, Tse C, Wang J. Genetic inhibition of the atypical kinase Wee1 selectively drives apoptosis of p53 inactive tumor cells. *BMC Cancer* 2014; 14: 430 [PMID: 24927813 DOI: 10.1186/1471-2407-14-430]
- 7 Watanabe N, Broome M, Hunter T. Regulation of the human WEE1Hu CDK tyrosine 15-kinase during the cell cycle. *EMBO J* 1995; 14: 1878-1891 [PMID: 7743995]
- 8 Sia RA, Bardes ES, Lew DJ. Control of Swe1p degradation by the morphogenesis checkpoint. *EMBO J* 1998; 17: 6678-6688 [PMID: 9822611]
- 9 Asano S, Park JE, Sakchaisri K, Yu LR, Song S, Supavilai P, Veenstra TD, Lee KS. Concerted mechanism of Swe1/Wee1 regulation by multiple kinases in budding yeast. *EMBO J* 2005; 24: 2194-2204 [PMID: 15920482]
- 10 Okamoto K, Nakajo N, Sagata N. The existence of two distinct Wee1 isoforms in *Xenopus*: implications for the developmental regulation of the cell cycle. *EMBO J* 2002; 21: 2472-2484 [PMID: 12006499]
- 11 Han SJ, Conti M. New pathways from PKA to the Cdc2/cyclin B complex in oocytes: Wee1B

- as a potential PKA substrate. *Cell Cycle* 2006; 5: 227-231 [PMID: 16418576]
- 12 Tang Z, Coleman TR, Dunphy WG. Two distinct mechanisms for negative regulation of the Wee1 protein kinase. *EMBO J* 1993; 12: 3427-3436 [PMID: 7504624]
- 13 Watanabe N, Arai H, Nishihara Y, Taniguchi M, Watanabe N, Hunter T, Osada H. M-phase kinases induce phospho-dependent ubiquitination of somatic Wee1 by SCFbeta-TrCP. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4419-4424 [PMID: 15070733]
- 14 McMillan JN, Theesfeld CL, Harrison JC, Bardes ES, Lew DJ. Determinants of Swe1p degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 3560-3575 [PMID: 12388757]
- 15 Madoux F, Mishra J, Mercer BA, Ayad N, Roush W, Hodder P, Rosen HR. Small Molecule Inhibitors of Wee1 Degradation and Mitotic Entry. Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2010-2009 Aug 14 [updated 2011 Mar 25]. [PMID: 21735595]
- 16 Katayama K, Fujita N, Tsuruo T. Akt/protein kinase B-dependent phosphorylation and inactivation of WEE1Hu promote cell cycle progression at G2/M transition. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 5725-5737 [PMID: 15964826]
- 17 Wells NJ, Watanabe N, Tokusumi T, Jiang W, Verdecia MA, Hunter T. The C-terminal domain of the Cdc2 inhibitory kinase Myt1 interacts with Cdc2 complexes and is required for inhibition of G(2)/M progression. *J Cell Sci* 1999; 112 (Pt 19): 3361-3371 [PMID: 10504341]
- 18 Benada J, Macurek L. Targeting the Checkpoint to Kill Cancer Cells. *Biomolecules* 2015; 5: 1912-1937 [PMID: 26295265 DOI: 10.3390/biom5031912]
- 19 Pokorny JL, Calligaris D, Gupta SK, Iyekegebe DO, Mueller D, Bakken KK, Carlson BL, Schroeder MA, Evans DL, Lou Z, Decker PA, Eckel-Passow JE, Pucci V, Ma B, Shumway SD, Elmquist WF, Agar NY, Sarkaria JN. The Efficacy of the Wee1 Inhibitor MK-1775 Combined with Temozolomide Is Limited by Heterogeneous Distribution across the Blood-Brain Barrier in Glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 1916-1924 [PMID: 25609063 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2588]
- 20 Zhou L, Zhang Y, Chen S, Kmiecik M, Leng Y, Lin H, Rizzo KA, Dumur CI, Ferreira-Gonzalez A, Dai Y, Grant S. A regimen combining the Wee1 inhibitor AZD1775 with HDAC inhibitors targets human acute myeloid leukemia cells harboring various genetic mutations. *Leukemia* 2015; 29: 807-818 [PMID: 25283841 DOI: 10.1038/leu.2014.296]
- 21 Moser R, Xu C, Kao M, Annis J, Lerma LA, Schaupp CM, Gurley KE, Jang IS, Biktasova A, Yarbrough WG, Margolin AA, Grandori C, Kemp CJ, Méndez E. Functional kinomics identifies candidate therapeutic targets in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 4274-4288 [PMID: 25125259 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2858]
- 22 Kogiso T, Nagahara H, Hashimoto E, Ariizumi S, Yamamoto M, Shiratori K. Efficient induction of apoptosis by wee1 kinase inhibition in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2014; 9:

#### ■名词解释

磷酸化:是将磷酸基团加在中间代谢产物上或加在蛋白质(protein)上的过程。其中除去磷酸基团的酶称为磷酸酶。磷酸基团的添加或除去(去磷酸化)对许多反应起着生物“开/关”作用。磷酸基团的添加或除去能使酶(enzyme)活化或失活,控制诸如细胞分裂这样的过程。添加磷酸基团的酶称为激酶(kinases);除去磷酸基团的酶称为磷酸酶。

# 同行评价

本研究检测Wee1及其磷酸化蛋白在大肠癌组织中的表达, 使用PD 407824(一种Wee1抑制剂)作用于大肠肿瘤细胞株, 观察其对细胞增殖的影响, 结果发现Wee1及其磷酸化蛋白的水平与大肠肿瘤的增殖有关. Wee1抑制剂有望作为一个新的选择性的肿瘤治疗手段.

- 23 Indovina P, Marcelli E, Di Marzo D, Casini N, Forte IM, Giorgi F, Alfano L, Pentimalli F, Giordano A. Abrogating G2/M checkpoint through WEE1 inhibition in combination with chemotherapy as a promising therapeutic approach for mesothelioma. *Cancer Biol Ther* 2014; 15: 380-388 [PMID: 24365782 DOI: 10.4161/cbt.27623]
- 24 Aarts M, Sharpe R, Garcia-Murillas I, Gevensleben H, Hurd MS, Shumway SD, Toniatti C, Ashworth A, Turner NC. Forced mitotic entry of S-phase cells as a therapeutic strategy induced by inhibition of WEE1. *Cancer Discov* 2012; 2: 524-539 [PMID: 22628408 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0320]
- 25 Butz H, Likó I, Czirják S, Igaz P, Khan MM, Zivkovic V, Bálint K, Korbonits M, Rácz K, Patócs A. Down-regulation of Wee1 kinase by a specific subset of microRNA in human sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: E181-E191 [PMID: 20668041 DOI: 10.1210/jc.2010-0581]
- 26 Magnussen GI, Emilsen E, Giller Fleten K, Engesæter B, Nähse-Kumpf V, Fjær R, Slipicevic A, Flørenes VA. Combined inhibition of the cell cycle related proteins Wee1 and Chk1/2 induces synergistic anti-cancer effect in melanoma. *BMC Cancer* 2015; 15: 462 [PMID: 26054341 DOI: 10.1186/s12885-015-1474-8]
- 27 Carrassa L, Chilà R, Lupi M, Ricci F, Celenza C, Mazzeletti M, Broggin M, Damia G. Combined inhibition of Chk1 and Wee1: in vitro synergistic effect translates to tumor growth inhibition in vivo. *Cell Cycle* 2012; 11: 2507-2517 [PMID: 22713237 DOI: 10.4161/cc.20899]
- 28 Davies KD, Cable PL, Garrus JE, Sullivan FX, von Carlowitz I, Huerou YL, Wallace E, Woessner RD, Gross S. Chk1 inhibition and Wee1 inhibition combine synergistically to impede cellular proliferation. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 788-796 [PMID: 21892012 DOI: 10.4161/cbt.12.9.17673]
- 29 Do K, Wilsker D, Ji J, Zlott J, Freshwater T, Kinders RJ, Collins J, Chen AP, Doroshow JH, Kummar S. Phase I Study of Single-Agent AZD1775 (MK-1775), a Wee1 Kinase Inhibitor, in Patients With Refractory Solid Tumors. *J Clin Oncol* 2015; 33: 3409-3415 [PMID: 25964244]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





## 内镜黏膜下剥离术治疗早期食管癌及癌前病变的进展

陈延方, 赵 晔, 施瑞华

陈延方, 赵晔, 施瑞华, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029

施瑞华, 东南大学附属中大医院消化内科 江苏省南京市 210029

陈延方, 在读硕士, 主要从事食管早癌及内镜黏膜下剥离术的研究。

作者贡献分布: 陈延方参与相关文献搜集、论文的撰写工作; 赵晔协助文献搜集; 施瑞华指导。

通讯作者: 施瑞华, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化内科。  
[ruihuashi@126.com](mailto:ruihuashi@126.com)  
电话: 025-83674636  
传真: 025-83674636

收稿日期: 2015-08-03  
修回日期: 2015-10-08  
接受日期: 2015-10-19  
在线出版日期: 2015-11-18

### Endoscopic submucosal dissection for treatment of early esophageal cancer and precancerous lesions

Yan-Fang Chen, Ye Zhao, Rui-Hua Shi

Yan-Fang Chen, Ye Zhao, Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital Affiliated of Southeast University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Rui-Hua Shi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. [ruihuashi@126.com](mailto:ruihuashi@126.com)

Received: 2015-08-03

Revised: 2015-10-08  
Accepted: 2015-10-19  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

Esophageal cancer is the eighth most common form of cancer worldwide. Advances in endoscopic therapy have resulted in dramatic changes in the way early esophageal cancer and precancerous lesions are managed. Endoscopic submucosal dissection (ESD) is a newly developed resection technique that is able to achieve a high R0 resection rate and a low local recurrence rate. Techniques of ESD have become established as standard methods of endoscopic resection. This review addresses some of the recent developments in the field of ESD for early esophageal cancer and precancerous lesions.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic submucosal dissection; Esophageal cancer; Robot; Thulium laser; Treatment

Chen YF, Zhao Y, Shi RH. Endoscopic submucosal dissection for treatment of early esophageal cancer and precancerous lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5171-5176 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5171>

### 摘要

食管癌的发病率在世界范围内居恶性肿瘤第8位, 内镜下治疗技术的发展给早期食管癌及癌前病变的治疗带来了巨大的变革。内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal

### 背景资料

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)是在进行黏膜下注射后使用特殊电刀逐渐分离黏膜层与固有肌层之间的组织, 将病变黏膜及黏膜下层完整剥离的方法。自Oyama等从2000年开始将ESD引入早期食管癌的治疗以来, 经过多年的发展, ESD作为治疗早期食管癌及癌前病变的一种标准方法已经被广泛接受。

### 同行评议者

毛高平, 教授, 主任医师, 博士生导师, 中国人民解放军空军总医院消化内科, 全军小肠疾病内镜诊疗中心

## ■ 研发前沿

软式内镜机器人系统、铥激光、新型电刀等应用于ESD治疗有望降低内镜下治疗的难度、提高治疗的安全性, 但评价治疗效果仍需要更多临床中心的经验以及长期的随访观察。

dissection, ESD)是一种新型内镜下切除技术, 可以获得更高的完全切除率和更低的复发率, 目前已成为内镜下切除治疗的标准方法。本文就ESD治疗早期食管癌及癌前病变的进展情况作一综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内镜黏膜下剥离术; 食管癌; 机器人; 铥激光; 临床应用

**核心提示:** 随着消化内镜技术的不断发展和内镜医师经验的提升, 越来越多的早期食管癌及癌前病变被发现。内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection)作为一种安全、有效、微创的治疗手段, 近年来得到了快速发展, 在世界范围内也越来越流行, 成为目前治疗符合适应证的早期食管癌和癌前病变的标准方法。

陈延方, 赵晔, 施瑞华. 内镜黏膜下剥离术治疗早期食管癌及癌前病变的进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5171-5176  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5171.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5171>

## 0 引言

早期食管癌是指病灶局限于黏膜层和黏膜下层, 不伴有淋巴结转移的食管癌; 食管的癌前病变是指业已证实与食管癌发生密切相关的病理变化, 主要包括鳞状上皮不典型增生等。近年来随着消化内镜技术的不断发展和内镜医师经验的提升, 越来越多的早期食管癌及癌前病变被发现<sup>[1-3]</sup>。

与传统的外科手术相比, 内镜下切除治疗早期食管癌及癌前病变可保留食管的正常器官结构及避免外科手术较高的并发症和死亡率<sup>[4-6]</sup>, 且可以取得与外科手术相当的疗效<sup>[7-9]</sup>。内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)是较早应用于临床的内镜下切除技术, 主要包括标记、注射、圈套、处理创面等步骤, 这一技术方法简便, 创伤小, 并发症少<sup>[10,11]</sup>, 但是对于直径较大的病变, 往往需行多次分片切除, 分片切除给切除标本的病理评估带来了困难, 而且增加了复发的风险<sup>[12-15]</sup>, 故主要用于直径20 mm以下病变的治疗。内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)是在EMR基础上发展而来的一项新型内镜下切除技术, 他是在进行黏膜下注射后使用特

殊电刀逐渐分离黏膜层与固有肌层之间的组织, 将病变黏膜及黏膜下层完整剥离的方法<sup>[16]</sup>。ESD在切除病变位置、大小方面所受限制较小, 可提供准确的病理诊断分期, 在完整切除率和复发率方面均优于传统的EMR<sup>[17-19]</sup>。自Oyama等<sup>[20]</sup>从2000年开始将ESD引入早期食管癌的治疗以来, 经过多年的发展, ESD作为治疗早期食管癌及癌前病变的一种标准方法已经被广为接受<sup>[21-25]</sup>。

## 1 食管ESD治疗经过

**1.1 适应证** 理论上只要未侵及固有肌层、无淋巴及血管转移, 不论病灶位置及大小, 均可用ESD切除。我国于2012年制定的消化系黏膜病变内镜黏膜下剥离术的专家共识意见中, ESD治疗早期食管癌及癌前病变适应证包括以下几项: (1)大于15 mm的食管高级别上皮内瘤变; (2)早期食管癌: 结合染色、放大和超声内镜等检查, 确定病变的范围和浸润深度, 局限于M1(病变局限于上皮内, 未突破基底膜)、M2(病变突破基底膜, 浸润黏膜固有层)、M3(病变浸润黏膜肌层)或SM1(病变浸润黏膜下层上1/3)且临床没有血管和淋巴管侵犯证据的高、中分化鳞癌; (3)伴有不典型增生和癌变的Barrett食管; (4)姑息性治疗, 适于侵犯深度超过SM1、低分化食管癌、心肺功能较差不能耐受手术的高龄患者及拒绝手术者, 并需结合放疗<sup>[26]</sup>。对于病变范围大于3/4环周、切除后狭窄风险大的病变是否行内镜下切除, 国内也已达成共识, 认为是一相对适应证, 但应向患者充分告知术后狭窄等风险。

**1.2 禁忌证** 明确发生淋巴结转移的病变; 若术前判断病变浸润至黏膜下深层, 有相当比例患者内镜下切除无法根治, 原则上应行外科手术; 一般情况差、无法耐受内镜手术者。相对禁忌证: 非抬举征阳性; 伴发凝血功能障碍及服用抗凝剂的患者, 在凝血功能纠正前不宜手术; 术前判断病变浸润至黏膜下深层, 患者拒绝或不适合外科手术者<sup>[27]</sup>。

**1.3 主要操作步骤** (1)标记: 通过卢戈液染色<sup>[28-30]</sup>或窄带成像放大内镜<sup>[31,32]</sup>明确病变范围, 用氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)等于病变边缘5 mm处电凝标记切除范围; (2)黏膜下注射: 于病变边缘标记点外侧进行多点黏膜下注射, 将病灶抬起, 使黏膜层与肌层充分分离, 对防止穿孔非常重要<sup>[33]</sup>, 必要时可反复

## ■ 相关报道

随着ESD技术的广泛应用, 有关ESD的治疗设备也不断被开发应用, 刘枫等对ESD使用的内镜、黏膜下注射液、先端附件、切开刀等作了相关介绍, 可使国内同道更方便快捷地了解ESD最新器械的相关进展。

注射. 目前国内常用的注射液体为生理盐水加入肾上腺素和靛胭脂的混合液, 肾上腺素体积分数约为0.0005%, 能使局部血管收缩以止血和减少出血. 靛胭脂可使术者更容易地分辨剥离范围, 监测剥离深度, 减少穿孔可能, 这种混合液优点是配置简单、成本较低, 缺点是黏膜下水垫隆起持续时间较短, 其他应用的注射液体还有甘油果糖、透明质酸钠<sup>[34]</sup>、纤维蛋白原、高渗盐水、高渗葡萄糖等; (3)环形切开: 用Hook刀<sup>[35]</sup>等沿标记点外侧环周切开黏膜, 一般首先从病变远侧端开始, 黏膜切开时要深至黏膜下层, 否则操作过程中较易造成出血; (4)黏膜下剥离: 当病变四周充分切开后, 用IT刀<sup>[36]</sup>等对黏膜下层进行剥离, 直至病变完整剥离; (5)创面处理: 在ESD操作过程中和术后对创面上裸露血管或出血点用止血钳、APC等电凝处理以预防和控制出血, 一般情况下尽量不要过早应用钛夹以免影响进一步的剥离. 完成剥离后常规应用钛夹缝合大部分创面, 可局部喷洒胃黏膜保护剂保护创面; (6)标本处理: 将切除病灶标本展平, 染色并用细针固定四周, 测量标本大小, 4%甲醛溶液固定后送病理检查, 切除标本的病理学报告需描述病变的大体形态、部位、大小、组织学类型、浸润深度及切缘、是否有淋巴管和血管受累等. 精确的病理组织学诊断是评价ESD治疗效果和决定是否需要追加治疗所不可缺少的.

**1.4 术后处理** 术后第1天患者应禁食, 常规予补液、抑酸、止血等对症支持治疗. 观察有无头颈胸部皮下气肿、消化道出血, 进行必要的实验室和影像学检查. 如临床表现和相关检查无异常, 术后第2天可进流质, 第3天可进软食, 此后再逐步恢复正常饮食. 出院后继续口服质子泵抑制剂<sup>[37,38]</sup>和胃黏膜保护剂<sup>[39]</sup>直至溃疡愈合, 一般术后4 wk左右人工溃疡即可愈合. 术后2、6、12 mo复查胃镜, 此后至少每年复查1次, 了解溃疡愈合情况, 病变有无残留和复发.

## 2 食管ESD有效性和安全性

目前认为ESD治疗食管病变疗效理想, 并发症相对少见且可控, 近期发表的多篇东西方ESD研究也证实了上述观点. Toyonaga等<sup>[40]</sup>回顾了日本1261例经ESD治疗的消化系早癌及癌前病变患者(其中食管111例)的临床资料, 食管ESD的完全切除率和治愈性切除率分别达到

95.7%和81.2%, 没有术后出血和穿孔病例, 在53.4 mo(0.07-98.6 mo)的中位随访时间里, 未见复发和与疾病相关的死亡, 5年生存率为81.6%, 研究结果表明ESD疗效显著, 但在根治性方面弱于传统的外科手术治疗. Probst等<sup>[22]</sup>分析了2007-08/2014-03 111例经ESD治疗的早期食管癌患者(其中腺癌87例, 鳞癌24例)的临床资料, 这是一项来自德国的前瞻性研究, 发现早期食管腺癌和鳞癌的完整切除率分别为95.4%和100%, 完全切除率分别为83.9%和91.7%, 治愈性切除率分别为72.4%和45.8%, 治疗过程中没有患者出现穿孔, 有13例(11.7%)患者出现术后狭窄, 但经过胃镜下球囊扩张治疗后均缓解, 1例(0.9%)患者出现出血, 成功予内镜下金属夹封闭处理, 经过平均24.3 mo(腺癌)和38.0 mo(鳞癌)的随访, 腺癌组2例(2.4%)出现复发, 鳞癌组未见复发, 疾病特异性生存率分别为97.7%和95.8%, 总生存率分别为96.6%和66.7%, 得出结论ESD治疗早期食管腺癌和鳞癌是安全有效的, 对于ESD手术时间长和费用高的不足, 研究者指出低复发率可以避免再次治疗所需的时间及金钱花费, 也可以使术后随访的频次相应减少, 这使得上述不足是可以接受的. Higuchi等<sup>[41]</sup>报道了一项关于ESD治疗浅表型食管肿瘤的II期临床研究, 共纳入56例病变, 其中鳞癌49例, 高级别上皮内瘤变5例, 腺癌2例, 结果同样表明ESD治疗浅表型食管肿瘤是有效且相对安全的.

## 3 ESD治疗新进展

**3.1 机器人平台下的ESD 软式内镜机器人系统<sup>[42]</sup>** 是近年来内镜治疗领域的一个革命性产物, 大多数此类机器人具有两个机械手臂, 通过电缆控制机械手臂, 可完成抓取、牵拉、切开、切除、止血等操作<sup>[43]</sup>, 可有效降低内镜下治疗的难度. 目前已有多篇文献肯定了其应用于ESD治疗的可行性和安全性<sup>[44-46]</sup>, 但评价内镜机器人的治疗效果仍需要更多临床中心的经验以及长期的随访观察.

**3.2 钐激光应用于ESD** 钐激光主要依靠组织中的水分子吸收激光而发挥作用, 实际波长可以根据临床需要进行调节. 钐激光应用于内镜治疗具有以下优点: (1)止血效果好, 视野清楚, 安全性更好; (2)热损伤小, 对组织的伤害少; (3)切割创面整齐, 复发率降低; (4)在正常操作

## ■创新盘点

本文对ESD治疗早期食管癌及癌前病变的临床应用情况和技术方法做了阐述, 并对ESD治疗领域的新进展如机器人平台下的ESD、钐激光应用于ESD治疗等做了简明扼要的介绍.



## ■应用要点

文中对ESD治疗早期食管癌及癌前病变的禁忌证、适应证、主要操作步骤、术后处理等做了相关介绍, 对于临床工作具有一定的指导和借鉴意义。

下不会对组织造成意外的损伤, 水下操作非接触组织时, 激光能量在水中瞬间被水吸收; (5) 不需要负极板, 对体内有金属植入物的患者没有影响, 比如血管支架、心脏起搏器、骨科耗材等。2013年来自韩国的Cho等<sup>[47]</sup>发表了关于铥激光应用于ESD的研究, 取得了较好的临床效果, 未见明显并发症发生, 但关于铥激光技术应用于ESD的有效性及安全性仍需进一步探讨。

## 4 结论

ESD作为一种安全、有效、微创的治疗手段, 近年来得到快速发展, 在世界范围内也越来越流行, 成为目前治疗符合适应证的早期食管癌和癌前病变的标准方法。考虑到ESD技术要求高, 学习曲线较长<sup>[48-50]</sup>, 而食管ESD对技术的要求更加严格<sup>[51]</sup>, 需要对操作医生进行更多的技术培训和指导。未来我们期待更多大样本多中心随机对照研究的开展和ESD技术设备的革新, 使ESD治疗早期食管癌及癌前病变日益规范化, 为患者带来更大的益处。

## 5 参考文献

- Muto M, Minashi K, Yano T, Saito Y, Oda I, Nonaka S, Omori T, Sugiura H, Goda K, Kaise M, Inoue H, Ishikawa H, Ochiai A, Shimoda T, Watanabe H, Tajiri H, Saito D. Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: a multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1566-1572 [PMID: 20177025 DOI: 10.1200/JCO.2009.25.4680]
- Kumagai Y, Monma K, Kawada K. Magnifying chromoendoscopy of the esophagus: in-vivo pathological diagnosis using an endocytoscopy system. *Endoscopy* 2004; 36: 590-594 [PMID: 15243880 DOI: 10.1055/s-2004-814533]
- Yoshida T, Inoue H, Usui S, Satodate H, Fukami N, Kudo SE. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 288-295 [PMID: 14745410]
- Roth JA, Putnam JB. Surgery for cancer of the esophagus. *Semin Oncol* 1994; 21: 453-461 [PMID: 7518967]
- Smith I, Kahaleh M. Endoscopic versus surgical therapy for Barrett's esophagus neoplasia. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; 9: 31-35 [PMID: 25160753 DOI: 10.1586/17474124.2014.934674]
- Pech O, Bollschweiler E, Manner H, Leers J, Ell C, Hölscher AH. Comparison between endoscopic and surgical resection of mucosal esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus at two high-volume centers. *Ann Surg* 2011; 254: 67-72 [PMID: 21532466 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31821d4bf6]
- Merkow RP, Bilimoria KY, Keswani RN, Chung J,

- Sherman KL, Knab LM, Posner MC, Bentrem DJ. Treatment trends, risk of lymph node metastasis, and outcomes for localized esophageal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106: pii: dju133 [PMID: 25031273 DOI: 10.1093/jnci/dju133]
- Das A, Singh V, Fleischer DE, Sharma VK. A comparison of endoscopic treatment and surgery in early esophageal cancer: an analysis of surveillance epidemiology and end results data. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1340-1345 [PMID: 18510606 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01889.x]
- Wani S, Drahos J, Cook MB, Rastogi A, Bansal A, Yen R, Sharma P, Das A. Comparison of endoscopic therapies and surgical resection in patients with early esophageal cancer: a population-based study. *Gastrointest Endosc* 2014; 79: 224-232.e1 [PMID: 24060519 DOI: 10.1016/j.gie.2013.08.002]
- Tomizawa Y, Iyer PG, Wong Kee Song LM, Buttar NS, Lutzke LS, Wang KK. Safety of endoscopic mucosal resection for Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1440-1447; quiz 1448 [PMID: 23857478 DOI: 10.1038/ajg.2013.187]
- Ciocirlan M, Lapalus MG, Hervieu V, Souquet JC, Napoléon B, Scaozec JY, Lefort C, Saurin JC, Ponchon T. Endoscopic mucosal resection for squamous premalignant and early malignant lesions of the esophagus. *Endoscopy* 2007; 39: 24-29 [PMID: 17252456 DOI: 10.1055/s-2006-945182]
- Ishihara R, Iishi H, Uedo N, Takeuchi Y, Yamamoto S, Yamada T, Masuda E, Higashino K, Kato M, Narahara H, Tatsuta M. Comparison of EMR and endoscopic submucosal dissection for en bloc resection of early esophageal cancers in Japan. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1066-1072 [PMID: 18620345 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1114]
- Ishihara R, Iishi H, Takeuchi Y, Kato M, Yamamoto S, Yamamoto S, Masuda E, Tatsumi K, Higashino K, Uedo N, Tatsuta M. Local recurrence of large squamous-cell carcinoma of the esophagus after endoscopic resection. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 799-804 [PMID: 18158151 DOI: 10.1016/j.gie.2007.08.018]
- Sakamoto T, Matsuda T, Otake Y, Nakajima T, Saito Y. Predictive factors of local recurrence after endoscopic piecemeal mucosal resection. *J Gastroenterol* 2012; 47: 635-640 [PMID: 22223177 DOI: 10.1007/s00535-011-0524-5]
- Horiki N, Omata F, Uemura M, Suzuki S, Ishii N, Fukuda K, Fujita Y, Ninomiya K, Tano S, Katurahara M, Tanaka K, Gabazza EC, Takei Y. Risk for local recurrence of early gastric cancer treated with piecemeal endoscopic mucosal resection during a 10-year follow-up period. *Surg Endosc* 2012; 26: 72-78 [PMID: 21792719 DOI: 10.1007/s00464-011-1830-y]
- Kothari S, Kaul V. Endoscopic Mucosal Resection and Endoscopic Submucosal Dissection for Endoscopic Therapy of Barrett's Esophagus-related Neoplasia. *Gastroenterol Clin North Am* 2015; 44: 317-335 [PMID: 26021197 DOI: 10.1016/j.gtc.2015.02.006]
- Takahashi H, Arimura Y, Masao H, Okahara S, Tanuma T, Kodaira J, Kagaya H, Shimizu Y, Hokari K, Tsukagoshi H, Shinomura Y, Fujita M. Endoscopic submucosal dissection is superior to conventional endoscopic resection as a curative

- treatment for early squamous cell carcinoma of the esophagus (with video). *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 255-264, 264.e1-e2 [PMID: 20541198 DOI: 10.1016/j.gie.2010.02.040]
- 18 Guo HM, Zhang XQ, Chen M, Huang SL, Zou XP. Endoscopic submucosal dissection vs endoscopic mucosal resection for superficial esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5540-5547 [PMID: 24833885 DOI: 10.3748/wjg.v20.i18.5540]
  - 19 Wang J, Zhang XH, Ge J, Yang CM, Liu JY, Zhao SL. Endoscopic submucosal dissection vs endoscopic mucosal resection for colorectal tumors: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 8282-8287 [PMID: 25009404 DOI: 10.3748/wjg.v20.i25.8282]
  - 20 Oyama T, Tomori A, Hotta K, Morita S, Kominato K, Tanaka M, Miyata Y. Endoscopic submucosal dissection of early esophageal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: S67-S70 [PMID: 16013002]
  - 21 Tsujii Y, Nishida T, Nishiyama O, Yamamoto K, Kawai N, Yamaguchi S, Yamada T, Yoshio T, Kitamura S, Nakamura T, Nishihara A, Ogiyama H, Nakahara M, Komori M, Kato M, Hayashi Y, Shinzaki S, Iijima H, Michida T, Tsujii M, Takehara T. Clinical outcomes of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal neoplasms: a multicenter retrospective cohort study. *Endoscopy* 2015; 47: 775-783 [PMID: 25826277 DOI: 10.1055/s-0034-1391844]
  - 22 Probst A, Aust D, Märkl B, Anthuber M, Messmann H. Early esophageal cancer in Europe: endoscopic treatment by endoscopic submucosal dissection. *Endoscopy* 2015; 47: 113-121 [PMID: 25479563 DOI: 10.1055/s-0034-1391086]
  - 23 Funakawa K, Uto H, Sasaki F, Nasu Y, Mawatari S, Arima S, Nakazawa J, Taguchi H, Hashimoto S, Kanmura S, Setoyama H, Numata M, Tsubouchi H, Ido A. Effect of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal neoplasms and risk factors for postoperative stricture. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e373 [PMID: 25569662 DOI: 10.1097/MD.0000000000000373]
  - 24 Yamashina T, Ishihara R, Uedo N, Nagai K, Matsui F, Kawada N, Oota T, Kanzaki H, Hanafusa M, Yamamoto S, Hanaoka N, Takeuchi Y, Higashino K, Iishi H. Safety and curative ability of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal cancers at least 50 mm in diameter. *Dig Endosc* 2012; 24: 220-225 [PMID: 22725105 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2011.01215.x]
  - 25 Lee CT, Chang CY, Tai CM, Wang WL, Tseng CH, Hwang JC, Lin JT. Endoscopic submucosal dissection for early esophageal neoplasia: a single center experience in South Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2012; 111: 132-139 [PMID: 22423666 DOI: 10.1016/j.jfma.2010.12.002]
  - 26 周平红, 蔡明琰, 姚礼庆. 消化道黏膜病变内镜黏膜下剥离术的专家共识意见. *诊断学理论与实践* 2012; 11: 531-535
  - 27 中华医学会消化内镜学分会, 中国抗癌协会肿瘤内镜专业委员会. 中国早期食管癌筛查及内镜诊治专家共识意见(2014年, 北京). *中华消化内镜杂志* 2015; 205-224
  - 28 Kuwano H, Kitamura K, Baba K, Morita M, Matsuda H, Mori M, Sugimachi K. Determination of the resection line in early esophageal cancer using intraoperative endoscopic examination with Lugol staining. *J Surg Oncol* 1992; 50: 149-152 [PMID: 1377764]
  - 29 Freitag CP, Barros SG, Kruel CD, Putten AC, Dietz J, Gruber AC, Diehl AS, Meurer L, Breyer HP, Wolff F, Vidal R, Arruda CA, Luz LP, Fagundes RB, Prolla JC. Esophageal dysplasias are detected by endoscopy with Lugol in patients at risk for squamous cell carcinoma in southern Brazil. *Dis Esophagus* 1999; 12: 191-195 [PMID: 10631911]
  - 30 Mori M, Adachi Y, Matsushima T, Matsuda H, Kuwano H, Sugimachi K. Lugol staining pattern and histology of esophageal lesions. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 701-705 [PMID: 7683176]
  - 31 Sato H, Inoue H, Ikeda H, Sato C, Onimaru M, Hayee B, Phlanusi C, Santi EG, Kobayashi Y, Kudo SE. Utility of intrapapillary capillary loops seen on magnifying narrow-band imaging in estimating invasive depth of esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 2015; 47: 122-128 [PMID: 25590187 DOI: 10.1055/s-0034-1390858]
  - 32 Lee CT, Chang CY, Lee YC, Tai CM, Wang WL, Tseng PH, Hwang JC, Hwang TZ, Wang CC, Lin JT. Narrow-band imaging with magnifying endoscopy for the screening of esophageal cancer in patients with primary head and neck cancers. *Endoscopy* 2010; 42: 613-619 [PMID: 20669074 DOI: 10.1055/s-0030-1255514]
  - 33 Inoue H, Fukami N, Yoshida T, Kudo SE. Endoscopic mucosal resection for esophageal and gastric cancers. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 382-388 [PMID: 11982716]
  - 34 Fujishiro M, Yahagi N, Nakamura M, Kakushima N, Kodashima S, Ono S, Kobayashi K, Hashimoto T, Yamamichi N, Tateishi A, Shimizu Y, Oka M, Ogura K, Kawabe T, Ichinose M, Omata M. Successful outcomes of a novel endoscopic treatment for GI tumors: endoscopic submucosal dissection with a mixture of high-molecular-weight hyaluronic acid, glycerin, and sugar. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 243-249 [PMID: 16427929 DOI: 10.1016/j.gie.2005.08.002]
  - 35 Hirasawa D, Oyama T. [Hook knife method of ESD for early esophageal cancer]. *Nihon Rinsho* 2011; 69 Suppl 6: 248-254 [PMID: 22471026]
  - 36 Takeuchi Y, Uedo N, Iishi H, Yamamoto S, Yamamoto S, Yamada T, Higashino K, Ishihara R, Tatsuta M, Ishiguro S. Endoscopic submucosal dissection with insulated-tip knife for large mucosal early gastric cancer: a feasibility study (with videos). *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 186-193 [PMID: 17591498 DOI: 10.1016/j.gie.2007.03.1059]
  - 37 Uedo N, Takeuchi Y, Yamada T, Ishihara R, Ogiyama H, Yamamoto S, Kato M, Tatsumi K, Masuda E, Tamai C, Yamamoto S, Higashino K, Iishi H, Tatsuta M. Effect of a proton pump inhibitor or an H2-receptor antagonist on prevention of bleeding from ulcer after endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer: a prospective randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1610-1616 [PMID: 17403076 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01197.x]
  - 38 Arai M, Matsumura T, Okimoto K, Oyamada A, Saito K, Minemura S, Maruoka D, Tanaka

## ■名词解释

早期食管癌: 病灶局限于黏膜层和黏膜下层, 不伴有淋巴结转移的食管癌;  
食管的癌前病变: 业已证实与食管癌发生密切相关的病理变化, 主要包括鳞状上皮不典型增生等。

# ■ 同行评价

本文对ESD技术在食管早癌和癌前病变的应用现状及技术方法做了相关介绍, 对该项技术的普及多有裨益, 有助于初中级内镜医师对该项技术的学习了解。

- T, Nakagawa T, Katsuno T, Yokosuka O. Two-week treatment with proton pump inhibitor is sufficient for healing post endoscopic submucosal dissection ulcers. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16318-16322 [PMID: 25473190 DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.16318]
- 39 Nishizawa T, Suzuki H, Kanai T, Yahagi N. Proton pump inhibitor alone vs proton pump inhibitor plus mucosal protective agents for endoscopic submucosal dissection-induced ulcer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Biochem Nutr* 2015; 56: 85-90 [PMID: 25759512 DOI: 10.3164/jcbn.14-101]
- 40 Toyonaga T, Man-i M, East JE, Nishino E, Ono W, Hirooka T, Ueda C, Iwata Y, Sugiyama T, Dozaiku T, Hirooka T, Fujita T, Inokuchi H, Azuma T. 1,635 Endoscopic submucosal dissection cases in the esophagus, stomach, and colorectum: complication rates and long-term outcomes. *Surg Endosc* 2013; 27: 1000-1008 [PMID: 23052530 DOI: 10.1007/s00464-012-2555-2]
- 41 Higuchi K, Tanabe S, Azuma M, Katada C, Sasaki T, Ishido K, Naruke A, Katada N, Koizumi W. A phase II study of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal neoplasms (KDOG 0901). *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 704-710 [PMID: 23680178 DOI: 10.1016/j.gie.2013.04.182]
- 42 Kume K, Kuroki T, Shingai M, Harada M. Endoscopic submucosal dissection using the endoscopic operation robot. *Endoscopy* 2012; 44 Suppl 2 UCTN: E399-E400 [PMID: 23139041 DOI: 10.1055/s-0032-1310251]
- 43 Kume K. [Ongoing Development and Directions in Flexible Robotic Endoscopy]. *J UOEH* 2015; 37: 149-156 [PMID: 26073504 DOI: 10.7888/juoeh.37.149]
- 44 Wang Z, Phee SJ, Lomanto D, Goel R, Rebala P, Sun ZL, Trasti S, Reddy N, Wong JY, Ho KY. Endoscopic submucosal dissection of gastric lesions by using a master and slave transluminal endoscopic robot: an animal survival study. *Endoscopy* 2012; 44: 690-694 [PMID: 22723184 DOI: 10.1055/s-0032-1309404]
- 45 Phee SJ, Reddy N, Chiu PW, Rebala P, Rao GV, Wang Z, Sun Z, Wong JY, Ho KY. Robot-assisted endoscopic submucosal dissection is effective in treating patients with early-stage gastric neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 1117-1121 [PMID: 22642951 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.05.019]
- 46 Ho KY, Phee SJ, Shabbir A, Low SC, Huynh VA, Kencana AP, Yang K, Lomanto D, So BY, Wong YY, Chung SC. Endoscopic submucosal dissection of gastric lesions by using a Master and Slave Transluminal Endoscopic Robot (MASTER). *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 593-599 [PMID: 20646698 DOI: 10.1016/j.gie.2010.04.009]
- 47 Cho JH, Cho JY, Kim MY, Jeon SR, Lee TH, Kim HG, Jin SY, Hong SJ. Endoscopic submucosal dissection using a thulium laser: preliminary results of a new method for treatment of gastric epithelial neoplasia. *Endoscopy* 2013; 45: 725-728 [PMID: 23884792 DOI: 10.1055/s-0033-1344215]
- 48 Tsou YK, Chuang WY, Liu CY, Ohata K, Lin CH, Lee MS, Cheng HT, Chiu CT. Learning curve for endoscopic submucosal dissection of esophageal neoplasms. *Dis Esophagus* 2015 Jun 30. [Epub ahead of print] [PMID: 26123695 DOI: 10.1111/dote.12380]
- 49 Hong KH, Shin SJ, Kim JH. Learning curve for endoscopic submucosal dissection of gastric neoplasms. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 949-954 [PMID: 25045843 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000156]
- 50 Oda I, Odagaki T, Suzuki H, Nonaka S, Yoshinaga S. Learning curve for endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer based on trainee experience. *Dig Endosc* 2012; 24 Suppl 1: 129-132 [PMID: 22533768 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01265.x]
- 51 Repici A, Hassan C, Carlino A, Pagano N, Zullo A, Rando G, Strangio G, Romeo F, Nicita R, Rosati R, Malesci A. Endoscopic submucosal dissection in patients with early esophageal squamous cell carcinoma: results from a prospective Western series. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 715-721 [PMID: 20363414 DOI: 10.1016/j.gie.2009.11.020]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## 结节性胃炎与幽门螺杆菌的研究进展

高鹏, 刘敏, 周永宁

高鹏, 刘敏, 周永宁, 兰州大学第一医院消化内科 甘肃省  
胃肠病重点实验室 甘肃省兰州市 730000

高鹏, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家科技惠民计划基金资助项目, No. 2012GS620101  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81372145, 81172366  
甘肃省胃肠病重点实验室开放课题资助项目,  
No. gswcky-2013-003

作者贡献分布: 高鹏收集资料并完成初稿; 刘敏负责完善稿件;  
周永宁负责选题方向、定稿。

通讯作者: 周永宁, 教授, 主任医师, 730000, 甘肃省兰州市东  
岗西路1号, 兰州大学第一医院消化内科, 甘肃省胃肠病重点  
实验室. [yongningzhou@sina.com.cn](mailto:yongningzhou@sina.com.cn)

收稿日期: 2015-08-19  
修回日期: 2015-10-13  
接受日期: 2015-10-19  
在线出版日期: 2015-11-18

### Correlation of nodular gastritis with *Helicobacter pylori* infection

Peng Gao, Min Liu, Yong-Ning Zhou

Peng Gao, Min Liu, Yong-Ning Zhou, Department of  
Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Lanzhou  
University, Key Laboratory for Gastrointestinal Diseases  
of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province,  
China

Supported by: National Science and Technology Program,  
No.2012GS620101; National Natural Science Foundation  
of China, Nos. 81372145 and 81172366; Open Fund of  
Key Laboratory for Gastrointestinal Diseases of Gansu  
Province, No. gswcky-2013-003

Correspondence to: Yong-Ning Zhou, Professor,  
Chief Physician, Department of Gastroenterology, Key  
Laboratory for Gastrointestinal Diseases of Gansu  
Province, 1 Donggang West Road, Lanzhou 730000,  
Gansu Province, China. [yongningzhou@sina.com.cn](mailto:yongningzhou@sina.com.cn)

Received: 2015-08-19  
Revised: 2015-10-13  
Accepted: 2015-10-19  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

Nodular gastritis (NG) is a form of chronic *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) associated gastritis affecting the gastric antrum, which is characterized endoscopically by the presence of small nodular lesions resembling gooseflesh. It is generally accepted that NG is characterized histologically by hyperplasia of lymphoid follicles. At present, there is a wide range of *H. pylori* infections in the world, and NG is an endoscopic sign of *H. pylori* infection. After *H. pylori* eradication therapy, the clinical manifestations, pathology and endoscopic performance of NG patients can be improved significantly. Therefore, *H. pylori* eradication should be performed as early as possible in NG patients. The research data about NG is still very limited. The relationship between NG as potentially precancerous lesions and gastroduodenal diseases is still a debate and needs to be further explored. Here we review the research progress in understanding the correlation between NG and *H. pylori*.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Nodular gastritis; *Helicobacter pylori*; Follicular gastritis; Eradication therapy

Gao P, Liu M, Zhou YN. Correlation of nodular gastritis with *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5177-5183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5177.asp> DOI: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5177.asp>

### ■背景资料

结节性胃炎 (nodular gastritis, NG) 是一种特殊类型的慢性胃炎, 近年来不断被检出, 其现未列入在新悉尼系统的胃炎分类中。这是一种内镜下胃炎, 被日本学者描述为“鸡皮现象”, 他被认为是幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染的特殊征象, 与 *H. pylori* 感染紧密相关。

### ■同行评议者

吕农华, 教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院; 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

寻找MALT淋巴瘤和胃癌的早期诊断标志物及癌前病变成为胃十二指肠疾病的研究热点。目前已有的研究分别从病理、内镜下表现、临床表现来研究NG的改变。

dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5177

## 摘要

结节性胃炎(nodular gastritis, NG)是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)主要作用于胃窦部的一种慢性胃炎的特殊形式, 类似鸡皮疙瘩, 淋巴滤泡增生是NG的组织学特征。目前全球*H. pylori*流行广泛, 结节性胃炎是*H. pylori*感染的内镜下征象。行*H. pylori*根除治疗后NG患者临床表现、病理及内镜下表现均可显著改善, 宜早作根除*H. pylori*工作。但目前关于NG的研究数据仍十分有限, 其作为一个潜在的癌前病变以及胃十二指肠疾病的关系仍可疑, 需要基于大量的随访研究。本文主要通过对NG与*H. pylori*相关性作一综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结节性胃炎; 幽门螺杆菌; 淋巴滤泡性胃炎; 根除治疗

**核心提示:** 本文综述了结节性胃炎(nodular gastritis, NG)与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关性的研究进展, 较为全面地阐述了NG的形态学及生物学特性, 目前全球*H. pylori*流行广泛, NG是*H. pylori*感染的内镜下征象, 可以作为早期*H. pylori*感染的显著表现, 能够预示胃MALT淋巴瘤, 但作为癌前病变还有待商榷。希望能够为NG病理、早期诊断以及预后研究提供更多的理论依据。

高鹏, 刘敏, 周永宁. 结节性胃炎与幽门螺杆菌的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5177-5183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5177.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5177>

## 0 引言

随着近年来消化内镜技术的发展和普及, 一种特殊类型的慢性胃炎: 结节性胃炎(nodular gastritis, NG)不断被检出, 其现未列入在新悉尼系统的胃炎分类中。这是一种内镜下胃炎, 被日本学者描述为“鸡皮现象”, 他被认为是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的特殊征象, 与*H. pylori*感染紧密相关<sup>[1]</sup>。其主要特点是内镜下的独特的、小结节或颗粒模样, 因在胃窦经常出现, 因此NG又称窦结节, 胃窦炎。NG表现出以淋巴细胞为主的炎性细胞组织学浸润, 多伴有生发中心的淋巴滤泡,

因此也叫淋巴滤泡性胃炎<sup>[1,2]</sup>。本文主要通过对NG、*H. pylori*流行病学、NG与*H. pylori*相关性作一综述。

## 1 结节性胃炎

**1.1 NG定义** NG被定义为一个内镜下从胃窦部到胃体部的色泽均匀的突起样改变, NG内镜下主要分为2种类型<sup>[3,4]</sup>: 结节型(约3 mm结节状突起)和颗粒型(颗粒状突起), 以结节型多见。两型结节性胃炎均有明显的*H. pylori*感染, 颗粒型无腺体萎缩和肠化, 临床上颗粒型可无上消化道症状而结节型几乎均有症状。淋巴滤泡增生从胃窦至胃体, 在所有NG均观察到每个结节中心有轻度凹陷的白斑<sup>[5]</sup>。上皮内淋巴细胞增多可能有助于形成这种特殊类型胃炎的肉眼结节, 在内镜下却只有胃窦至胃角表现突出。根据胃炎的解剖结构<sup>[3]</sup>, 全胃炎(72%)是其最常见的NG, 活动性、慢性炎症在胃窦、胃角和胃体部都很严重, 多为中度或重度, 并非仅仅是以胃窦部或胃体部为主的胃炎。

在多项NG研究中发现, NG在人群中的患病率很低, 患病率为0.22%-3.1%<sup>[3,6-10]</sup>, 平均患病年龄为32.4-47.3岁<sup>[5,8-10]</sup>, 儿童则为6.9-12.8岁<sup>[1,9,11]</sup>。因上消化道症状就诊行胃镜检查, 儿童NG检出率为10.6%-32.7%<sup>[1,9]</sup>, 明显高于成人。NG患病率有性别差异, 多见于年轻女性(女:男=1.7-2.9:1)<sup>[5,8,9,12]</sup>, 而在儿童中无明显性别差异<sup>[1,11]</sup>。Sokmensuer等<sup>[13]</sup>把160例NG患者的胃窦活检标本和133例非NG的胃窦活检标本相比较, NG患者中上皮内淋巴细胞增生更明显( $P<0.05$ )。两组之间的一些其他病理学特征如:*H. pylori*感染、炎症活动、异型增生、淋巴滤泡增生、肠化生则没有差别。NG作为一种慢性非萎缩性胃炎, 其特异性临床症状尚未明确, 临床表现大多表现为消化不良或上腹部不适。NG与萎缩性胃炎作为胃黏膜炎性病变, NG临床表现与内镜下结节特征与萎缩性胃炎相似, 且均易于*H. pylori*感染, 易误诊为萎缩性胃炎。近年来逐渐有一些研究开始对NG与萎缩性胃炎之间进行报道。近期Okamura等<sup>[2]</sup>指出, NG和萎缩性胃炎的淋巴滤泡的数目大致相同, 而NG滤泡大小是显著大于萎缩性胃炎。此外, 相比萎缩性胃炎, NG淋巴滤泡的位置更表浅。位于表面增生的淋巴滤泡是结节性胃炎的特征, 而这些滤泡对应鸡皮疙瘩样结节性病变可以内镜下观察到。石婷娟等<sup>[14]</sup>研究发现, 根

除*H. pylori*后NG的病理、内镜下表现及临床症状均可明显改善, 预后效果明显。而慢性萎缩性胃炎尽管症状可以改善, 但内镜下表现、病理结果无显著变化。

**1.2 NG的诊断** NG的确诊仍依赖内镜检查, 随着内镜技术的发展, 目前新型的放大内镜可清晰显示消化系黏膜腺管开口和微细血管等细微结构的变化, 在诊断方面有其独特的优势<sup>[15]</sup>。近年来发现血清胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)在不同胃疾病中浓度和比值均不同, 对诊断疾病具有一定的临床价值, 可作为胃部疾病乃至胃癌筛查中的初筛手段<sup>[16-19]</sup>。作为一项无创检查, 此项检查可以有效减轻患者经济负担和内镜过程的痛苦, 提高早期诊断能力<sup>[20]</sup>。多项研究显示<sup>[16,17,20,21]</sup>, PG I 值、PG I /PG II 值降低和PG II 值升高均与胃炎、胃癌的严重程度密切相关。NG和萎缩性胃炎相比, PG I 值、PG I /PG II 值明显降低, 而PG II 值明显升高, 存在显著差异, 具有统计学意义<sup>[18]</sup>。

**1.3 NG的致病机制** 目前NG的致病机制仍不是十分清楚, 鲜有相关研究报道*H. pylori*感染导致NG的机制。随着研究的深入, 逐渐发现了一些NG其他可能潜在的发病机制。Okamura等<sup>[2]</sup>研究发现MECA-79(+) HEV样血管比例较大的区域, NG比萎缩性胃炎有更多鸡皮疙瘩样病变, 结果表明MECA-79(+)HEV样血管至少可在NG的发病机制中起部分作用。另一项研究<sup>[9]</sup>在从无症状NG患者的胃活组织检查中, 发现胃黏膜的中性粒细胞蛋白酶3(neutrophil proteinase, PR3)的表达增加, 但是在正常人群中很少表达, 所以PR3表达可能在NG的发病机制中发挥重要作用。另一项儿童研究<sup>[11]</sup>通过儿童基因芯片分析显示, 相比于*H. pylori*感染的普通胃黏膜, *H. pylori*感染的NG黏膜表现有基因表达差异, 有5个基因过表达和5个基因低表达。即伴有*H. pylori*感染的儿童NG可能与某些基因的过表达或低表达相关, 需要进一步的研究来阐明宿主反应与儿童NG的发病机制。

**1.4 NG与MALT淋巴瘤和胃癌的关系** *H. pylori*引起胃疾病的模式经过正常胃黏膜、慢性胃炎、萎缩、肠化生、异型增生及胃癌的一系列过程。近些年NG和MALT淋巴瘤、胃癌(特别是弥漫性胃癌)之间的关系之前提出过各种研究报道<sup>[8,10,22-24]</sup>。Yang等<sup>[22]</sup>研究表明, NG目前可以作为童年时期*H. pylori*感染的显著表现,

能够预示胃MALT。在*H. pylori*感染的儿童胃MALT评估中组织学调查很有用, 通常表现为胃窦部严重的NG。Niknam等<sup>[23]</sup>研究表明, 内镜NG患者较正常者, 不完全肠上皮化生( $P = 0.016$ )和异型增生( $P < 0.001$ )的发生率均显著更高, 萎缩性胃炎和完全肠上皮化生的发生率也更高。Mizuno等<sup>[8]</sup>研究发现NG引起的胃癌的发病率高于*H. pylori*感染的非NG引起的胃癌的发病率。NG合并胃癌表现出相同的特点: 即所有组织学被确诊为弥漫型, 且位于胃部均伴有*H. pylori*感染。结果表明, 这一类的胃炎似乎有弥漫型胃癌的高潜在性, 尤其是年轻一代。而Kitamura等<sup>[10]</sup>研究表明, 老年NG发展为胃癌风险的比值比是2.1(95%CI: 0.3-15.3)。所以, NG无论在老年人还是青年人都被认为是胃癌的一个危险因素。结节性胃炎与弥漫型胃癌密切相关, 因此对于未行PG测试的高危人群的识别很有用。但目前这些研究的主要限制是研究人数的规模并不大, 不能完全代表NG和胃癌之间关系显著, 只能说明是一个危险因素。总之, 根据目前研究条件下的相关文献, NG作为癌前疾病还不能被接受<sup>[24]</sup>。

## 2 *H. pylori*的流行病学

流行病学调查表明, 全球各个地区均有不同程度的*H. pylori*感染, 发病率为23.5%-79.4%<sup>[25]</sup>。在大多数国家*H. pylori*的感染率仍然很高, 特别是儿童, 并且在发展中国家明显高于发达国家<sup>[25-35]</sup>(表1)。研究<sup>[36]</sup>表明, 在北欧和北美的人群中, 大约有1/3的成年人还在被感染, 而在欧洲南部、东部, 南美洲, 和亚洲, *H. pylori*的感染率往往高于50%。此外, 来自高*H. pylori*感染率国家的移民者仍保持高*H. pylori*感染率。成人感染率随着年龄降低而降低, 表示*H. pylori*流行将在未来几十年进一步下降。根据世界胃肠病学组织的报告<sup>[35]</sup>, 儿童的*H. pylori*感染率为10%-80%, 大部分儿童10岁前已感染。儿童时期为*H. pylori*感染的剧增期, 增长速度为3%-8%/年, 至10岁时约40%-60%受到感染。当然也有例外出现这些术语“印度之谜”和“非洲之谜”的国家, *H. pylori*感染率较高却出现不成比例的低胃癌发病率或低死亡率<sup>[35]</sup>。

## 3 *H. pylori*与结节性胃炎的关联

**3.1 *H. pylori*与结节性胃炎的相关性** *H. pylori*是

### ■ 相关报道

本文就NG研究进展做了系统性总结, 目前有大量文献报道了在NG患者内镜下征象、病理特征、更高的*H. pylori*感染率及胃蛋白酶改变情况, 行*H. pylori*根除治疗后NG患者临床表现、病理及内镜下表现均可显著改善。



■ 创新盘点

本文结合了国内外有关NG与*H. pylori*相关性的相关文献,首次较为系统地评述了NG与*H. pylori*相关性研究进展。就近年来NG的形态学及生物学特性以及预示胃癌及MALT淋巴瘤的过程的研究作一综述,为NG病理、早期诊断以及预后研究提供更多的理论依据。

表 1 全球*H. pylori*感染统计 (截止2014年)

发达国家及地区	<i>H. pylori</i> 感染率(%)	发展中国家	<i>H. pylori</i> 感染率(%)
亚洲		亚洲	
新加坡	31.0 <sup>[34]</sup>	印度	79.0 <sup>[34]</sup>
日本	27.5 <sup>[28]</sup>	泰国	57.0 <sup>[34]</sup>
韩国	54.4 <sup>[30]</sup>	中国	63.4 <sup>[26]</sup>
中国台湾	54.5 <sup>[34]</sup>	越南	74.6 <sup>[34]</sup>
中国香港	58.4 <sup>[34]</sup>	马来西亚	35.9 <sup>[34]</sup>
美洲		沙特阿拉伯	28.3 <sup>[31]</sup>
美国	30.7 <sup>[33]</sup>	孟加拉国	92.0 <sup>[34]</sup>
加拿大	23.1 <sup>[35]</sup>	美洲	
大洋洲		巴西	82.0 <sup>[35]</sup>
澳大利亚	15.1 <sup>[34]</sup>	智利	72.0 <sup>[35]</sup>
欧洲		墨西哥	70.1 <sup>[25]</sup>
葡萄牙	84.2 <sup>[32]</sup>	洪都拉斯	82.6 <sup>[25]</sup>
捷克	42.1 <sup>[35]</sup>	哥伦比亚	83.1 <sup>[25]</sup>
保加利亚	61.7 <sup>[35]</sup>	哥斯达黎加	77.6 <sup>[25]</sup>
德国	48.8 <sup>[35]</sup>	尼加拉瓜	83.3 <sup>[25]</sup>
荷兰	31.7 <sup>[29]</sup>	非洲	
意大利	69.0 <sup>[27]</sup>	尼日利亚	91.0 <sup>[35]</sup>
爱沙尼亚	69.0 <sup>[35]</sup>		

*H. pylori*: 幽门螺杆菌。

各种胃十二指肠疾病公认的病原体,如慢性胃炎、十二指肠溃疡、胃溃疡、胃癌、MALT淋巴瘤、胃增生性息肉、NG。根据国内外文献报道<sup>[1,9]</sup>,内镜下NG表现诊断*H. pylori*感染的敏感性为40%-56.9%,特异性为85.7%-96.8%<sup>[1,6,9]</sup>,阳性预测值为59.6%-100%<sup>[1,3,6-9,23]</sup>,阴性预测值为36.4%-85.7%<sup>[1,9]</sup>,明显高于非NG者。Niknam等<sup>[23]</sup>通过对比5366例消化不良患者中的273例NG患者和非NG患者,内镜下NG患者检测*H. pylori*感染率为87.5%,而对照组*H. pylori*感染率为73.8%( $P<0.001$ )。一项科威特回顾性研究<sup>[6]</sup>通过2142例消化不良患者的内镜报告发现,NG患者相比非NG患者炎症程度显著更高( $P<0.001$ ),*H. pylori*感染情况和定植密度显著更高( $P<0.001$ ),而*H. pylori*的定植密度与胃炎( $r=0.57, P<0.001$ )的严重程度显著相关,证实与*H. pylori*感染有密切关系。Zhang等<sup>[1]</sup>对213例具有上消化道症状儿童行胃镜检查,结果共38人(17.8%)诊断为NG。与非NG组相比,NG组*H. pylori*感染率(86.8% vs 14.3%,  $P<0.01$ )、胃黏膜中-重度炎症比率(81.6% vs 15.4%,  $P<0.01$ )和淋巴滤泡形成率(52.6 vs 10.3%,  $P<0.01$ )均增高,差异有统计学意义。Onal等<sup>[7]</sup>通过回顾分

析2003/2006年间经胃镜检查确诊的9949例成人患者病历资料,185例(1.86%)有NG,以上患者的*H. pylori*感染率为65.4%(121/185),有16例与消化性溃疡相关(8.7%)。*H. pylori*阳性的NG患者和*H. pylori*阳性的非NG和胃癌患者相比以上结果没有明显增加,淋巴滤泡生成也没有明显增加。一项儿童研究<sup>[37]</sup>发现,具有胃窦结节表现的*H. pylori*感染儿童从未查出完全正常胃黏膜组织。所有感染儿童中,当患有NG或胃炎与NG显著相关时,其胃炎炎症程度显著增高。内镜模式下胃窦小结节能识别患*H. pylori*感染和慢性活动性胃炎。NG多报道在成年消化不良患者中,而在无症状NG患者中所报道的信息有限。Hong等<sup>[9]</sup>连续对2579例接受胃镜筛查的无症状受试者进行前瞻性横断面研究,52例(2.0%)被确诊为NG,并同样表现出好发女性和年轻的成人,且所有NG患者均感染*H. pylori*。

同时*H. pylori*也是造成不明原因的缺铁性贫血公认的病原体。最近Sato等<sup>[38]</sup>通过评估感染*H. pylori*的成人中的各种上消化道疾病对缺铁状态造成的影响,发现NG和胃增生性息肉通过使胃酸减少和铁调素增加能够显著加重贫血。

3.2 根除*H. pylori*治疗与结节性胃炎的关系 根除*H. pylori*可改变胃黏膜上皮细胞增殖失衡和凋亡的近状,根除*H. pylori*能够明显改善NG预后,至今多项研究<sup>[14,39-41]</sup>数据支持了这一观点。最近石婷娟等<sup>[14]</sup>通过对40例NG患者予抗*H. pylori*四联疗法后,内镜下小结节90%(36/40)消失,病理方面淋巴滤泡87.5%(36/40)消失,5%(2/40)好转以及95%患者(38/40)临床症状消失。赵丹瑜等<sup>[39]</sup>研究对60例NG患者根除*H. pylori*后随访5年,发现53例患者结节全部消失,5例患者结节较前显著好转,靛胭脂染色后观察不明显,病理胃窦黏膜未见淋巴滤泡形成,*H. pylori*全部转阴。2例患者结节仍不断反复。曹金光等<sup>[42]</sup>通过回顾性分析黄河中心医院2010-01/2013-05接受胃镜检查诊断为成人NG的36例患者,胃黏膜活检病理均显示慢性非萎缩性炎症,80.6%有伴生发中心的淋巴滤泡增生,淋巴滤泡周围有炎性细胞浸润,且以淋巴细胞为主。经根除治疗后,症状明显改善。

3.3 结节性胃炎的治疗 多项研究<sup>[7,13]</sup>表明存在NG时并不需要一种新的治疗方法,目前只需要行*H. pylori*感染的根除治疗。根据第四次全

国幽门螺杆菌感染处理共识报告<sup>[43]</sup>, 胃MALT淋巴瘤、有并发症的消化性溃疡、有胃癌危险的胃炎或有胃癌家族史者, 根除*H. pylori*获益较大。对*H. pylori*的根除治疗多推荐四联疗法(即铋剂+PPI+两种抗生素)<sup>[44]</sup>。近期研究<sup>[45-47]</sup>指出, NG患者*H. pylori*对甲硝唑、克拉霉素的耐药率较高, 对呋喃唑酮、左氧氟沙星和阿莫西林的耐药率较低。考虑到费用, 阿莫西林应作为根除*H. pylori*的主要药物。在*H. pylori*高耐药率和四联疗法复杂性的背景下, *H. pylori*疫苗已成为*H. pylori*研究领域的热点。最近, 有研究报道<sup>[48]</sup>成功研发出目前全球唯一获批的抗*H. pylori*疫苗。该疫苗是有效、安全、有免疫原性的, 可以显著降低*H. pylori*感染率, 但仍需较长时间才能确认该疫苗对*H. pylori*所导致的相关疾病的免疫能力。

#### 4 结论

NG与*H. pylori*密切关系为探索NG的发病机理及其防治提供好的方法。全球*H. pylori*流行广泛, 最具成本效益的战略是行*H. pylori*血清学检测进行筛查, 其次是抗生素治疗<sup>[49]</sup>。内镜下胃窦小结节能识别*H. pylori*感染和慢性活动性NG。因此, 预防工作可以广泛地被应用, 范围不必局限于儿童、青年或病理轻度病变者。NG作为胃癌的危险因素这个课题需要基于大量人群随访研究从流行病学的角度来看, 得到明确的结论还需要进一步研究。我们建议内镜医师不仅应认真检查胃窦部, 还包括NG患者的胃体<sup>[50]</sup>。内镜下NG可以作为癌前病变并对除了*H. pylori*感染外具有癌前病变可能的患者进行活检<sup>[23]</sup>, 尽快根除*H. pylori*预防胃癌。*H. pylori*四联根除治疗费用昂贵, 易产生不良反应并且导致抗生素耐药性不断增加, 所以开发*H. pylori*疫苗作为*H. pylori*根除的新疗法成为必然趋势。关于NG的理论和方法仍有限, 作为一种新型的特殊慢性胃炎, 当前最重要的是提高人们对NG的重视。

#### 5 参考文献

- 1 Zhang J, Li ZL, Sui J, Cui RL, Jin Z, Zhou LY. [Relationship between Helicobacter pylori infection and histopathological features of nodular gastritis in children]. *Zhongguo Dangdai Erke Zazhi* 2014; 16: 225-229 [PMID: 24661510 DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.03.001]
- 2 Okamura T, Sakai Y, Hoshino H, Iwaya Y, Tanaka E, Kobayashi M. Superficially located enlarged

- lymphoid follicles characterise nodular gastritis. *Pathology* 2015; 47: 38-44 [PMID: 25474513 DOI: 10.1097/PAT.0000000000000195]
- 3 Nakashima R, Nagata N, Watanabe K, Kobayakawa M, Sakurai T, Akiyama J, Hoshimoto K, Shimbo T, Uemura N. Histological features of nodular gastritis and its endoscopic classification. *J Dig Dis* 2011; 12: 436-442 [PMID: 22118692 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00532.x]
- 4 刘充, 张文仙, 丁百静, 曹中保, 胡莹, 李勇. 结节性胃炎内镜下不同分型的临床特征分析. *淮海医药* 2014; 32: 13-14
- 5 Kamada T, Ishii M, Kusunoki H, Imamura H, Fujita M, Tarumi K-I, Manabe N, Shiotani A, Hata J, Haruma K. Depressed white spot in the center of the nodularity is the most important feature for endoscopic diagnosis of nodular gastritis. *Gastrointestinal Endoscopy* 2008; 67: AB276-AB276 [DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.774]
- 6 Al-Enezi SA, Alsurrayei SA, Aly NY, Ismail AE, Ismail WA, Al-Brahim N, El-Dousari A. Endoscopic nodular gastritis in dyspeptic adults: prevalence and association with Helicobacter pylori infection. *Med Princ Pract* 2010; 19: 40-45 [PMID: 19996618 DOI: 10.1159/000252833]
- 7 Onal IK, Sokmensuer C, Onal ED, Ersoy O, Yeniova O, Aydinli M, Yonem O, Harmanci O, Bayraktar Y, Batman F. Clinical and pathological features of nodular gastritis in adults. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2009; 39: 719-723 [DOI: 10.3906/sag-0806-5]
- 8 Mizuno K. Prevalence of Nodular Gastritis in Average Risk Japanese Population. *Gastrointestinal Endoscopy* 2010; 71: AB262-AB262
- 9 Hong SN, Jo S, Jang JH, Choi J, Kim S, Ahn SY, Kim JH, Choe WH, Lee SY, Sung IK, Park HS, Shim CS. Clinical characteristics and the expression profiles of inflammatory cytokines/cytokine regulatory factors in asymptomatic patients with nodular gastritis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1486-1495 [PMID: 22290343 DOI: 10.1007/s10620-012-2053-3]
- 10 Kitamura S, Yasuda M, Muguruma N, Okamoto K, Takeuchi H, Bando Y, Miyamoto H, Okahisa T, Yano M, Torisu R, Takayama T. Prevalence and characteristics of nodular gastritis in Japanese elderly. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 1154-1160 [PMID: 23432631 DOI: 10.1111/jgh.12180]
- 11 양혜란, 고재성, 서정기. Analysis of Gene Expression in Helicobacter pylori-associated Nodular Gastritis in Children Using Microarray. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition* 2010; 13: 7-22
- 12 Shiotani A, Kamada T, Kumamoto M, Nakae Y, Nakamura Y, Kakudo K, Haruma K. Nodular gastritis in Japanese young adults: endoscopic and histological observations. *J Gastroenterol* 2007; 42: 610-615 [PMID: 17701123 DOI: 10.1007/s00535-007-2073-5]
- 13 Sokmensuer C, Onal IK, Yeniova O, Ersoy O, Aydinli M, Yonem O, Harmanci O, Onal ED, Altinok G, Batman F, Bayraktar Y. What are the clinical implications of nodular gastritis? Clues from histopathology. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2150-2154 [PMID: 19462235 DOI: 10.1007/s10620-009-0842-0]
- 14 石婷娟, 师水生. 幽门螺杆菌与慢性胃炎伴良性结节

#### 应用要点

基于血清胃蛋白酶(pepsinogen, PG)检测进行非损伤性鉴别诊断胃十二指肠疾病的新方法能用于观察NG患者*H. pylori*根除治疗效果, 能够有效减少胃镜检查次数, 减轻患者胃镜检查的痛苦。NG作为胃癌及MALT淋巴瘤诊断标志物还有待商榷, 但提供了一种新的思路, 具有一定的参考价值。

## ■名词解释

结节性胃炎(NG): 主要特点是内镜下的独特的、小结节或颗粒模样, 表现出以淋巴细胞为主的炎性细胞组织学浸润, 多伴有生发中心的淋巴滤泡, 因此也叫淋巴滤泡性胃炎。NG目前可以作为早期*H. pylori*感染的显著表现, 能够预示胃MALT淋巴瘤, 甚至胃癌。

- 状改变的相关性研究. 中国社区医师 2014; 30: 20-21
- 23 石运涛, 庄丽维, 朱承雁, 汪丽燕, 李滨, 凌霄华, 王立国. 放大内镜对结节性胃炎的诊断价值. 现代生物医学进展 2012; 12: 892-895
  - 24 季勇. 血清胃蛋白酶原测定在胃病诊断中的价值. 中国疗养医学 2015; 24: 569-570
  - 25 王雪华, 曹燕, 张剑宏, 王琦, 武希润, 申慧琴. 血清胃蛋白酶原联合胃泌素测定在胃癌及萎缩性胃炎中的诊断价值. 中华临床医师杂志(电子版) 2015; 9: 1824-1827
  - 26 李广平. 探讨结节性胃炎、萎缩性胃炎与血清胃蛋白酶原的关系. 中国保健营养 2012; 22: 1850
  - 27 巫开文, 李国春, 徐巧莲, 李芹. 胃蛋白酶原检测对胃部疾病筛查的价值. 国际检验医学杂志 2012; 33: 1515-1517
  - 28 徐强. 血清胃蛋白酶原检测在慢性萎缩性胃炎患者诊断中的临床价值. 航空航天医学杂志 2015; 26: 398-399
  - 29 刘言厚, 吕芳, 杨树林, 景晶晶, 袁媛. 血清PG II水平与胃疾病及幽门螺杆菌感染关系研究. 胃肠病学和肝病杂志 2015; 24: 166-169
  - 30 Yang HR, Choi HS, Paik JH, Lee HS. Endoscopic and histologic analysis of gastric mucosa-associated lymphoid tissue in children with *Helicobacter pylori* infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 298-304 [PMID: 23974061 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318298020a]
  - 31 Niknam R, Manafi A, Maghbool M, Kouhpayeh A, Mahmoudi L. Is endoscopic nodular gastritis associated with premalignant lesions? *Neth J Med* 2015; 73: 236-241 [PMID: 26087803]
  - 32 Onal ED. Is nodular gastritis a precancerous condition? *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2241 [PMID: 22729596 DOI: 10.1007/s10620-012-2265-6]
  - 33 Porras C, Nodora J, Sexton R, Ferreccio C, Jimenez S, Dominguez RL, Cook P, Anderson G, Morgan DR, Baker LH, Greenberg ER, Herrero R. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in six Latin American countries (SWOG Trial S0701). *Cancer Causes Control* 2013; 24: 209-215 [PMID: 23263777 DOI: 10.1007/s10552-012-0117-5]
  - 34 Zhu Y, Zhou X, Wu J, Su J, Zhang G. Risk Factors and Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Persistent High Incidence Area of Gastric Carcinoma in Yangzhong City. *Gastroenterol Res Pract* 2014; 2014: 481365 [PMID: 24550981 DOI: 10.1155/2014/481365]
  - 35 Lahner E, Zullo A, Hassan C, Perri F, Dinis-Ribeiro M, Esposito G, Di Giulio E, Buscarini E, Bianco MA, De Boni M, Annibale B. Detection of gastric precancerous conditions in daily clinical practice: a nationwide survey. *Helicobacter* 2014; 19: 417-424 [PMID: 25231208 DOI: 10.1111/hel.12149]
  - 36 Hirayama Y, Kawai T, Otaki J, Kawakami K, Harada Y. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection with healthy subjects in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29 Suppl 4: 16-19 [PMID: 25521727 DOI: 10.1111/jgh.12795]
  - 37 van Blankenstein M, van Vuuren AJ, Looman CW, Ouwendijk M, Kuipers EJ. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the Netherlands. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 794-800 [PMID: 23795659 DOI: 10.3109/00365521.2013.799221]
  - 38 Lim SH, Kwon JW, Kim N, Kim GH, Kang JM, Park MJ, Yim JY, Kim HU, Baik GH, Seo GS, Shin JE, Joo YE, Kim JS, Jung HC. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in Korea: nationwide multicenter study over 13 years. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 104 [PMID: 23800201 DOI: 10.1186/1471-230X-13-104]
  - 39 Hanafi MI, Mohamed AM. *Helicobacter pylori* infection: seroprevalence and predictors among healthy individuals in Al Madinah, Saudi Arabia. *J Egypt Public Health Assoc* 2013; 88: 40-45 [PMID: 23528531 DOI: 10.1097/01.EPX.0000427043.99834.a4]
  - 40 Bastos J, Peleteiro B, Barros R, Alves L, Severo M, de Fátima Pina M, Pinto H, Carvalho S, Marinho A, Guimarães JT, Azevedo A, La Vecchia C, Barros H, Lunet N. Sociodemographic determinants of prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in Portuguese adults. *Helicobacter* 2013; 18: 413-422 [PMID: 23725608 DOI: 10.1111/hel.12061]
  - 41 Grad YH, Lipsitch M, Aiello AE. Secular trends in *Helicobacter pylori* seroprevalence in adults in the United States: evidence for sustained race/ethnic disparities. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 54-59 [PMID: 22085628 DOI: 10.1093/aje/kwr288]
  - 42 Fock KM, Ang TL. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer in Asia. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 479-486 [PMID: 20370726 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06188.x]
  - 43 Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, van der Merwe S, Vaz Coelho LG, Fock M, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S, Goh KL, Wong BC, Krabshuis J, Le Mair A. *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. *J Gastrointest Liver Dis* 2011; 20: 299-304 [PMID: 21961099]
  - 44 Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2014; 19 Suppl 1: 1-5 [PMID: 25167938 DOI: 10.1111/hel.12165]
  - 45 Mazigh Mrad S, Abidi K, Brini I, Boukthir S, Sammoud A. Nodular gastritis: an endoscopic indicator of *Helicobacter pylori* infection in children. *Tunis Med* 2012; 90: 789-792 [PMID: 23197056]
  - 46 Sato Y, Yoneyama O, Azumaya M, Takeuchi M, Sasaki SY, Yokoyama J, Shioji K, Kawauchi Y, Hashimoto S, Nishigaki Y, Kobayashi M, Sugimura K, Honma T, Narisawa R, Aoyagi Y. The relationship between iron deficiency in patients with *Helicobacter pylori*-infected nodular gastritis and the serum prohepcidin level. *Helicobacter* 2015; 20: 11-18 [PMID: 25256783 DOI: 10.1111/hel.12170]
  - 47 赵丹瑜, 陈星, 康艳, 汪嵘, 马瑞军. 慢性胃炎结节状改变根除幽门螺杆菌后5年随访研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 2532-2533
  - 48 Dwivedi M, Misra SP, Misra V. Nodular gastritis in adults: clinical features, endoscopic appearance, histopathological features, and response to therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 943-947 [PMID: 17614956 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05044.x]
  - 49 Chen MJ, Shih SC, Wang TE, Chan YJ, Chen CJ, Chang WH. Endoscopic patterns and histopathological features after eradication



- therapy in *Helicobacter pylori*-associated nodular gastritis. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1893-1897 [PMID: 18080192]
- 42 曹金光, 林存侠, 李亚岭, 殷景远, 罗建平. 成人结节性胃炎36例临床分析. *中外健康文摘* 2014; 11: 295-295, 296
  - 43 刘文忠, 谢勇, 成虹, 吕农华, 胡伏莲, 张万岱, 周丽雅, 陈烨, 曾志荣, 王崇文, 萧树东, 潘国宗, 胡品津. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *胃肠病学* 2012; 17: 618-625
  - 44 张志会. 四联疗法根除HP治疗结节性胃炎86例临床观察. *中国实用医药* 2012; 7: 163-164
  - 45 袁迅玲, 杨丽娜, 赵雪妮, 徐洁, 刘冰榕. 结节性胃炎患儿幽门螺杆菌耐药状况研究. *中华临床医师杂志(电子版)* 2015; 9: 1044-1046
  - 46 王玉环, 黄瑛, 吴婕, 王传清. 儿童结节性胃炎和/或十二指肠球部溃疡幽门螺杆菌感染检测方法的比较及药物敏感试验. 第十届全国儿童消化系统疾病学术会议 2014; 2
  - 47 王玉环, 黄瑛, 王传清, 吴婕. 儿童结节性胃炎幽门螺杆菌耐药性分析. *临床儿科杂志* 2014; 32: 903-906
  - 48 Zeng M, Mao XH, Li JX, Tong WD, Wang B, Zhang YJ, Guo G, Zhao ZJ, Li L, Wu DL, Lu DS, Tan ZM, Liang HY, Wu C, Li DH, Luo P, Zeng H, Zhang WJ, Zhang JY, Guo BT, Zhu FC, Zou QM. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2015; 386: 1457-1464 [PMID: 26142048 DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60310-5]
  - 49 Wong IO, Schooling CM, Cowling BJ. Cost-effectiveness of *Helicobacter pylori* screening and treatment for gastric cancer in Hong Kong: a decision analytic approach. *Hong Kong Med J* 2014; 20 Suppl 7: 13-15 [PMID: 25647818]
  - 50 Kamada T, Shiotani A, Haruma K. [Nodular gastritis and gastric cancer in young adult]. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1807-1811 [PMID: 23198566]

#### 同行评价

本文综述了NG与*H. pylori*相关性的研究进展,较为全面的阐述了NG的形态学及生物学特性,NG与非NG相比*H. pylori*感染率更高及胃蛋白酶I(PG I)、PG I/PG II值明显降低.其生物学特性,特别是与胃癌及MALT淋巴瘤的关系有待进一步探讨.有关内镜下NG可以作为癌前病变有待商榷.综述选题新颖,具有一定的学术价值.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 非甾体类抗炎药相关性小肠损伤研究进展

刘晨晨, 樊叶, 张振玉

### ■背景资料

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)具有良好的解热、镇痛、抗炎、抗血小板疗效而广泛应用于临床,但NSAIDs有一定的消化系统毒性,尤其会引起NSAIDs相关性小肠损伤,目前治疗NSAIDs相关性小肠损伤尚无特效药。

刘晨晨, 樊叶, 张振玉, 南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)消化科 江苏省南京市 210006

刘晨晨, 在读硕士, 主要从事胃肠道黏膜损伤与保护的基础与临床研究。

南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK13103

作者贡献分布: 本文由刘晨晨与樊叶综述; 张振玉审校。

通讯作者: 张振玉, 主任医师, 210006, 江苏省南京市长乐路68号, 南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)消化科。  
njzy808@163.com  
电话: 025-87726246

收稿日期: 2015-09-22

修回日期: 2015-10-17

接受日期: 2015-10-26

在线出版日期: 2015-11-18

### Advances in research of non-steroidal anti-inflammatory drugs induced small intestinal injury

Chen-Chen Liu, Ye Fan, Zhen-Yu Zhang

Chen-Chen Liu, Ye Fan, Zhen-Yu Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University (Nanjing First Hospital), Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Supported by: Medical Science and Technology Development Foundation of Nanjing City, No. YKK13103

Correspondence to: Zhen-Yu Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University (Nanjing First Hospital), 68 Changle Road, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. njzy808@163.com

Received: 2015-09-22

Revised: 2015-10-17

Accepted: 2015-10-26

Published online: 2015-11-18

### Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties and have been widely used in clinical practice; however, they can cause cytotoxicity in the gastrointestinal tract, especially in the intestine. The injurious effects of NSAIDs on the small intestine occur frequently and can lead to severe clinical outcomes. A multifactorial etiology is involved in the pathogenesis of these lesions. Current studies found that, in addition to the suppression of cyclooxygenase activity, several factors including enterobacterial invasion, neutrophil migration, enterohepatic cycling of NSAIDs, bile and mitochondrial injury have been implicated in the pathogenesis of these lesions. This article reviews the mechanisms and therapeutic strategies in NSAIDs induced intestinal injury.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-steroidal anti-inflammatory drugs; Intestinal injury; Cyclooxygenase; Enterobacteria

Liu CC, Fan Y, Zhang ZY. Advances in research of non-steroidal anti-inflammatory drugs induced small intestinal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5184-5189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5184>

### 摘要

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)具有良好的解热、镇痛、抗炎、抗血小板疗效而广泛

### ■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

应用于临床, 但NSAIDs有一定的消化系毒性, 尤其会引起NSAIDs相关性小肠损伤。NSAIDs相关性小肠损伤发病率高、临床后果严重, 是一个多因素导致的过程。近来, 研究显示环氧合酶、肠道菌群、炎症细胞、NSAIDs的肝肠循环、胆汁及线粒体损伤均参与了NSAIDs相关性小肠损伤的发病。本文就NSAIDs相关性小肠损伤的机制及防治等进展作一综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 非甾体类抗炎药; 小肠损伤; 环氧合酶; 肠道菌群

**核心提示:** 非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关性小肠损伤发病率高、临床后果严重, 而其发病机制未明。近来, 研究显示环氧合酶、肠道菌群、炎症细胞、NSAIDs的肝肠循环、胆汁和线粒体损伤均参与了NSAIDs相关性小肠损伤的发病。

刘晨晨, 樊叶, 张振玉. 非甾体类抗炎药相关性小肠损伤研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5184-5189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5184>

## 0 引言

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是常见的解热、镇痛、抗炎药, 常用于治疗风湿和炎症性疾病; 据统计, 世界范围内每天3000万人在服用NSAIDs, 在美国, NSAIDs的处方每年有11100万, 价值约4.8亿美元<sup>[1]</sup>。然而, 长期服用NSAIDs可以引起胃黏膜损伤, NSAIDs相关性小肠损伤也很常见。目前NSAIDs相关性小肠损伤的确切机制尚不明确, 临床中也缺乏有效的治疗药物。本文就NSAIDs相关性小肠损伤的研究进展作一综述。

## 1 NSAIDs相关性小肠损伤的流行病学及临床表现

**1.1 流行病学** 世界范围内NSAIDs相关性胃和十二指肠损伤的发生率为9%-22%<sup>[2]</sup>, NSAIDs占消化性溃疡病因的35%, NSAIDs引起的10%以上溃疡伴有穿孔、阻塞等并发症<sup>[3]</sup>。临床试验结果显示, 服用萘普生的类风湿性关节炎患者中严重下消化系不良反应的发生率是0.9%<sup>[4]</sup>。应用胶囊内镜的研究发现, 短期

使用NSAIDs的患者中小肠损伤的发生率是50%-70%<sup>[5]</sup>, 老年患者中小肠损伤的发病率更高。一直以来, 临床中对NSAIDs引起的小肠损伤认识不足而重视不够。实际上, 在长期服用NSAIDs的人群中约70%的患者会出现小肠损伤<sup>[6]</sup>, NSAIDs相关性小肠损伤所致的出血发生率较NSAIDs相关性胃损伤更高<sup>[7]</sup>, 而且在大多数患者中这种损伤处于亚临床状态<sup>[8]</sup>。

**1.2 临床表现** 随着内镜技术的进步, 临床中发现NSAIDs相关性小肠损伤的发生率明显高于NSAIDs相关性胃和十二指肠损伤, 且病情危险性更高<sup>[9]</sup>。然而, 目前对于NSAIDs相关性小肠损伤没有明确有效的药物, 而且由于患者的组织损伤和临床症状之间的相关性较差, 临床诊断也充满了挑战。缺铁性贫血是NSAIDs相关性小肠损伤常见的首发症状<sup>[8]</sup>, 长期服用NSAIDs可以引起小肠出血、坏死、溃疡、穿孔、蛋白丢失等损伤<sup>[10]</sup>, 以及小肠阻塞、腹膜炎及横膈膜等疾病<sup>[11,12]</sup>。

## 2 NSAIDs相关性小肠损伤的机制

NSAIDs相关性小肠损伤是由多因素导致的、多步骤的过程, 可以分为前列腺依赖途径以及非依赖途径。环氧合酶(cyclooxygenases, COX)及其产物前列腺素(prostaglandins, PGs)在其病理过程中有重要作用。研究<sup>[13-15]</sup>发现, NSAIDs也可以通过诱导细胞凋亡、增加小肠上皮细胞的通透性而导致小肠损伤, 而这些损伤方式与前列腺素无关。

**2.1 PGs依赖途径** PGs存在于整个消化系, 对调节胃酸、碳酸盐、黏液的分泌、黏膜血流以及维持黏膜屏障完整性有重要作用<sup>[16]</sup>。COX介导了黏膜内PGs的合成, NSAIDs通过抑制炎症部位COX的活性来减少PGs的合成。COX有两种亚型: COX-1和COX-2, COX-1可以调控黏膜微循环<sup>[17]</sup>、介导PGs合成, 对维持黏膜稳态有重要作用, 抑制COX-1会增加黏膜通透性, 导致肠道细菌入侵, 引起诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达增加。而COX-2在保护肠道黏膜和调节PG产量的过程中也有重要作用<sup>[18]</sup>。选择性COX-1抑制剂和选择性COX-2抑制剂本身并不引起小肠损伤<sup>[19]</sup>, 而当这些药物合用则可引起肠道出血性损伤。对COX-1和COX-2抑制的双重抑制是NSAIDs引起肠道溃疡性损伤过程中重要环节。

## ■研究前沿

NSAIDs在临床中有广泛的应用, 但长期使用则会引起NSAIDs相关性小肠损伤。这一损伤是一个多因素导致的过程, 近来, 研究显示环氧合酶、肠道菌群、炎症细胞和NSAIDs的肝肠循环、胆汁、线粒体损伤均参与了NSAIDs相关性小肠损伤的发病。

## ■相关报道

Saitta等发现在大鼠中应用β-D-葡萄糖醛酸酶的抑制剂可以显著降低双氯芬酸引起的小肠损伤, 因此推测胆汁在这种肠损伤中有一定作用。Zhou等发现NSAIDs经肝肠循环进入胆汁后引起胆汁对细胞间通透性的破坏性作用增强。



**■ 创新盘点**

本文简要介绍了非甾体类抗炎药相关性小肠损伤的流行病学及临床表现, 详细阐述了环氧合酶、肠道菌群、炎症细胞、NSAIDs的肝肠循环、胆汁和线粒体损伤在NSAIDs相关性小肠损伤发病过程中的可能作用并简要介绍了最近的药物研究进展。

**2.2 不依赖PG依赖途径**

**2.2.1 细菌因素相关证据:** 肠道细菌在NSAIDs引起的小肠损伤中有重要作用, NSAIDs可以使肠道运动增强而打破了黏液层的完整性, 加速了细菌侵入黏膜; 肠道菌群可以释放内毒素, 主要成分是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), 内毒素上调iNOS的表达, 引起NO产量增加<sup>[20,21]</sup>。革兰阴性杆菌的LPS配体-Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)-在NSAIDs诱导的小肠损伤中有重要的作用<sup>[22]</sup>, 在TLR-4突变的小鼠和MyDD88(-/-)的小鼠中这种肠道损伤减轻, 提示肠道菌群在NSAIDs相关性小肠损伤中可能是通过TLR4/MyDD88依赖途径而产生作用的<sup>[22]</sup>。研究<sup>[23,24]</sup>显示, 吲哚美辛在无菌小鼠中不会引起黏膜损伤, 甲硝唑<sup>[25]</sup>、氨比西林<sup>[26]</sup>及益生菌<sup>[27]</sup>可以显著抑制NSAIDs相关性小肠损伤, 研究<sup>[27]</sup>证实, 益生菌对NSAIDs引起的小肠损伤具有保护作用。因此肠道中微生态的平衡对NSAIDs导致的小肠损伤中有重要作用。

**2.2.2 炎症因素相关证据:** 细菌入侵、黏膜损伤可以吸引中性粒细胞至炎症部位, Wallace等<sup>[28]</sup>发现, 中性粒细胞减少大鼠模型对NSAIDs导致肠道损伤有一定的抵抗力。中性粒细胞减少时其浸润减少而改善了NSAIDs相关性小肠损伤, 提示中性粒细胞浸润在此病理过程中有重要作用。中性粒细胞向炎症部位迁移和聚集, 并产生超氧阴离子自由基, 最终导致肠道损伤。NO与超氧阴离子相互作用产生对肠道黏膜的完整性有破坏作用的过氧化亚硝酸盐。研究<sup>[29]</sup>显示, 别嘌呤醇, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶通过抑制超氧化物阴离子的产生或者清除超氧化物阴离子而保护肠道免受损伤。

**2.2.3 肝肠循环因素相关证据:** NSAIDs的肝肠循环是其产生小肠损伤的重要因素之一, NSAIDs药物被吸收后在肝脏中进行葡萄糖醛酸化反应而分泌入胆汁。细菌的 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶可以水解NSAID-葡萄糖苷酸, 使得NSAIDs在回肠中易于吸收。抑制这种酶的活性可以防止NSAIDs的肝肠循环而降低这些药物引起的小肠损伤<sup>[30]</sup>。研究<sup>[31]</sup>显示, 在大鼠中应用 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸酶的抑制剂可以显著降低双氯芬酸引起的小肠损伤。在用NSAIDs诱导小肠损伤后延迟3 h使用这种抑制剂时则观察不到这种保护作用, 这与此抑制剂的半衰期短的特点一致<sup>[31]</sup>。研究<sup>[31]</sup>显示, 动物在胆管结扎时

NSAIDs相关性黏膜损伤发生率降低, 因此推测胆汁在这种肠损伤中有一定作用。而且, 联用NSAIDs和胆汁作用于小肠细胞的毒性远远大于单用其中任何一个。Wallace等<sup>[32]</sup>发现NSAIDs经肝肠循环进入胆汁后引起胆汁对细胞间通透性的破坏性作用增强, 比单用药物及胆汁任何一种的毒性都大。Sato等<sup>[33]</sup>推测NSAIDs结合胆汁后通过肠道细菌的降解作用可以转化成为自由活性的物质, 消胆胺也可以通过隔离胆汁预防此类损伤。

**2.2.4 线粒体因素相关证据:** NSAID导致消化系统黏膜损伤的“三级打击”学说, 首先, 脂溶性NSAIDs在黏膜表面的吸收入肠细胞后直接抑制线粒体的氧化磷酸化作用, ATP的产生减少, 钙离子从线粒体内溢到胞质增多<sup>[34]</sup>。其次, 氧化磷酸化受抑制后由于钙离子外溢而导致细胞间紧密连接受损, 引起肠道的通透性增加<sup>[35]</sup>。胞质中钙离子浓度升高激活了钙离子敏感性激酶, 增强细胞的脂质过氧化<sup>[36]</sup>。最终, 增高的黏膜通透性导致肠腔内容物胆汁酸、蛋白水解酶和肠道细菌等入侵肠黏膜屏障导致炎症细胞激活而引起非特异性炎症反应<sup>[35]</sup>。研究显示, 线粒体解偶联剂在未能引起PGs水平变化时就可以导致线粒体形态学的变化、肠道黏膜通透性增加及炎症反应。Somasundaram等<sup>[37]</sup>在动物中应用电镜的研究显示, 线粒体形态学变化发生在NSAIDs引起的小肠早期溃疡形成之前。线粒体的呼吸作用消耗了细胞中90%的氧气, 是在生理性条件下细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要来源<sup>[38]</sup>。吲哚美辛可以增加线粒体中ROS产量而显著增加小肠细胞的凋亡, 而外源性补充PGs并不能降低这些细胞的凋亡<sup>[13]</sup>。电镜研究<sup>[37]</sup>结果显示在NSAIDs引起的小肠损伤中线粒体源性ROS起了重要作用, 在用吲哚美辛处理的小肠细胞中观察到线粒体形成空泡、肿胀、线粒体嵴的消失等形态学改变。

**3 NSAIDs相关性小肠损伤的防治**

**3.1 抑酸剂使用的相关问题** PPI和H<sub>2</sub>RA对治疗NSAIDs引起的胃和十二指肠损伤效果明显, 但对NSAIDs引起的小肠损伤无效, 甚至可以加重损伤。许多临床研究显示了长期使用PPI或者H<sub>2</sub>RA可引起小肠菌群的过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO)和胆汁酸

代谢的紊乱等消化系改变<sup>[38-40]</sup>。研究<sup>[41]</sup>显示, PPI是通过诱发菌群失调而导致NSAIDs相关性小肠损伤加重的, 其中主要是肠道中双歧杆菌数量减少, 而肠道中补充双歧杆菌则可逆转这种现象。SIBO患者中将初级胆汁酸降解为次级胆汁酸的细菌数量增加而导致胆汁代谢紊乱<sup>[38,39,42]</sup>。次级胆汁酸对肠道上皮细胞有破坏作用, 细菌将初级胆汁酸降解为次级胆汁酸可以促进溃疡发生<sup>[43]</sup>。细菌降解胆汁酸增加了胆汁酸的疏水性, 增强了这种破坏作用<sup>[44]</sup>, 胆汁酸代谢紊乱可加重NSAIDs相关性小肠损伤。将初级胆汁酸转化为毒性更强的次级胆汁酸的细菌性酶对胆汁中NSAIDs的解离有重要作用, 这些细菌性酶可能是NSAID相关性小肠损伤治疗的新靶点。

3.2 探索中的新药 Satoh等<sup>[45]</sup>研究了上消化道保护剂米非司酮、伊索拉定、瑞巴派特对双氯芬酸引起的肠道损伤的作用; 结果显示, 米非司酮、伊索拉定、瑞巴派特可以抑制大剂量双氯芬酸引起的肠道损伤的形成, 也可以防治雷尼替丁和奥美拉唑引起的肠道损伤的加重。米索前列醇可以改善使用2 wk双氯芬酸引起的小肠损伤, 但是米索前列醇会引起难以耐受的不良反应<sup>[46]</sup>。研究<sup>[47]</sup>显示, 云母可以防治大鼠中双氯芬酸引起的小肠损伤, 可能是通过增加EGF的表达而增强了黏膜屏障。H<sub>2</sub>S是对消化系有潜在保护作用的物质, 研究显示, 使用一种可以释放H<sub>2</sub>S的蔡普生衍生物(ATB-346), 即使在很大剂量时也不引起胃黏膜损伤<sup>[32]</sup>。在胃黏膜屏障受损的大鼠中使用这种药物也不引起明显的损伤, 而蔡普生和塞来昔布则可以引起广泛的出血性损伤<sup>[32]</sup>。Blacker等<sup>[44]</sup>研究了ATB-346在诸如关节炎、肥胖、高血压等NSAIDs相关性小肠损伤易感患者中的效果, 结果显示, 患者中无一例引起明显的消化系损伤。而且, 当与低剂量阿司匹林和PPI联用时, 也不引起明显的小肠损伤, 而蔡普生和塞来昔布在同等的剂量下则引起严重的肠道溃疡和出血<sup>[44]</sup>。

## 4 结论

NSAIDs相关性小肠损伤的发生率高、临床后果严重, 逐渐引起了临床医师的共同关注。其发病机制尚不明确, 但可以确定的是除了药物本身对环氧合酶的抑制外, 其他多种因素也参

与了此病的发生。目前临床中尚无确切有效的药物, 对其发病机制的探索和理解可以为临床治疗找到新的靶点, 更多相关的基础和临床研究亟待进行。

## 5 参考文献

- Laine L. Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. *Gastroenterology* 2001; 120: 594-606 [PMID: 11179238 DOI: 10.1053/gast.2001.21907]
- Cann PA. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcers. *BMJ* 1990; 300: 875-876 [PMID: 2337706]
- Langman MJ, Weil J, Wainwright P, Lawson DH, Rawlins MD, Logan RF, Murphy M, Vessey MP, Colin-Jones DG. Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet* 1994; 343: 1075-1078 [PMID: 7909103]
- Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1520-1528, 2 p following 1528 [PMID: 11087881 DOI: 10.1056/NEJM200011233432103]
- Fujimori S, Seo T, Gudis K, Ehara A, Kobayashi T, Mitsui K, Yonezawa M, Tanaka S, Tatsuguchi A, Sakamoto C. Prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small-intestinal injury by prostaglandin: a pilot randomized controlled trial evaluated by capsule endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1339-1346 [PMID: 19243767 DOI: 10.1016/j.gie.2008.08.017]
- Graham DY, Opekun AR, Willingham FF, Qureshi WA. Visible small-intestinal mucosal injury in chronic NSAID users. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 55-59 [PMID: 15645405 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00603-2]
- McCarthy DM. GI bleeding: problems that persist. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 225-228 [PMID: 19631801 DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.247]
- Park SC, Chun HJ, Kang CD, Sul D. Prevention and management of non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal injury. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4647-4653 [PMID: 22180706 DOI: 10.3748/wjg.v17.i42.4647]
- 安敏, 张振玉. 非甾体类抗炎药相关性肠病. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 174-180
- Bjarnason I, Hayllar J, MacPherson AJ, Russell AS. Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterology* 1993; 104: 1832-1847 [PMID: 8500743]
- Bjarnason I, Price AB, Zanelli G, Smethurst P, Burke M, Gumpel JM, Levi AJ. Clinicopathological features of nonsteroidal antiinflammatory drug-induced small intestinal strictures. *Gastroenterology* 1988; 94: 1070-1074 [PMID: 3345876]
- Langman MJ, Morgan L, Worrall A. Use of anti-inflammatory drugs by patients admitted with small or large bowel perforations and

## 应用要点

本文简要阐述了NSAIDs相关性小肠损伤的流行病学及临床表现, 详细介绍了NSAIDs相关性小肠损伤的相关机制研究进展, 并对其治疗方面的进展作了概述, 对理解NSAIDs相关性小肠损伤机制有一定的帮助, 对临床治疗有一定的提示作用。

## ■ 名词解释

肠肝循环: 指由肝脏排泄的药物, 随胆汁进入肠道再吸收而重新经肝脏进入全身循环的过程, 具有肠肝循环的药物其作用时间一般较长;

细菌内毒素: 革兰阴性细菌细胞外壁层上的特有结构, 即脂多糖, 内毒素有外源性致热原, 他可激活中性粒细胞等, 使之释放出一种内源性热原质, 作用于体温调节中枢引起发热。

- 13 Omatsu T, Naito Y, Handa O, Mizushima K, Hayashi N, Qin Y, Harusato A, Hirata I, Kishimoto E, Okada H, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Ichikawa H, Yoshikawa T. Reactive oxygen species-quenching and anti-apoptotic effect of polaprezinc on indomethacin-induced small intestinal epithelial cell injury. *J Gastroenterol* 2010; 45: 692-702 [PMID: 20174833 DOI: 10.1007/s00535-010-0213-9]
- 14 Fukui A, Naito Y, Handa O, Kugai M, Tsuji T, Yoriki H, Qin Y, Adachi S, Higashimura Y, Mizushima K, Kamada K, Katada K, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Yoshikawa T. Acetyl salicylic acid induces damage to intestinal epithelial cells by oxidation-related modifications of ZO-1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G927-G936 [PMID: 22917627 DOI: 10.1152/ajpgi.00236.2012]
- 15 Handa O, Naito Y, Fukui A, Omatsu T, Yoshikawa T. The impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the small intestinal epithelium. *J Clin Biochem Nutr* 2014; 54: 2-6 [PMID: 24426183 DOI: 10.3164/jcbn.13-84]
- 16 Takeuchi K, Kato S, Amagase K. Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity. *J Pharmacol Sci* 2010; 114: 248-261 [PMID: 21041985]
- 17 Kelly DA, Piasecki C, Anthony A, Dhillion AP, Pounder RE, Wakefield AJ. Focal reduction of villous blood flow in early indomethacin enteropathy: a dynamic vascular study in the rat. *Gut* 1998; 42: 366-373 [PMID: 9577343]
- 18 Tanaka A, Hase S, Miyazawa T, Ohno R, Takeuchi K. Role of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibition in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced intestinal damage in rats: relation to various pathogenic events. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 1248-1254 [PMID: 12438549 DOI: 10.1124/jpet.102.041715]
- 19 Tanaka A, Hase S, Miyazawa T, Takeuchi K. Up-regulation of cyclooxygenase-2 by inhibition of cyclooxygenase-1: a key to nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced intestinal damage. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300: 754-761 [PMID: 11861778 DOI: 10.1124/jpet.300.3.754]
- 20 Takeuchi K, Tanaka A, Kato S, Amagase K, Satoh H. Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 459-466 [PMID: 20074562 DOI: 10.1016/j.cca.2009.12.026]
- 21 Boughton-Smith NK, Evans SM, Laszlo F, Whittle BJ, Moncada S. The induction of nitric oxide synthase and intestinal vascular permeability by endotoxin in the rat. *Br J Pharmacol* 1993; 110: 1189-1195 [PMID: 7507778]
- 22 Watanabe T, Higuchi K, Kobata A, Nishio H, Tanigawa T, Shiba M, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Asahara T, Nomoto K, Takeuchi K, Arakawa T. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal damage is Toll-like receptor 4 dependent. *Gut* 2008; 57: 181-187 [PMID: 17639086]
- 23 Robert A, Asano T. Resistance of germfree rats to indomethacin-induced intestinal lesions. *haemorrhage. Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 290: 347-349 [PMID: 3917814]
- 24 Whittle BJ, László F, Evans SM, Moncada S. Induction of nitric oxide synthase and microvascular injury in the rat jejunum provoked by indomethacin. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 2286-2290 [PMID: 8564261]
- 25 Bjarnason I, Hayllar J, Smethurst P, Price A, Gumpel MJ. Metronidazole reduces intestinal inflammation and blood loss in non-steroidal anti-inflammatory drug induced enteropathy. *Gut* 1992; 33: 1204-1208 [PMID: 1427372]
- 26 Konaka A, Kato S, Tanaka A, Kunikata T, Korolkiewicz R, Takeuchi K. Roles of enterobacteria, nitric oxide and neutrophil in pathogenesis of indomethacin-induced small intestinal lesions in rats. *Pharmacol Res* 1999; 40: 517-524 [PMID: 10660951 DOI: 10.1006/phrs.1999.0550]
- 27 Watanabe T, Nishio H, Tanigawa T, Yamagami H, Okazaki H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Asahara T, Nomoto K, Higuchi K, Takeuchi K, Arakawa T. Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota prevents indomethacin-induced small intestinal injury: involvement of lactic acid. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G506-G513 [PMID: 19589943 DOI: 10.1152/ajpgi.90553.2008]
- 28 Wallace JL, Keenan CM, Granger DN. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *Am J Physiol* 1990; 259: G462-G467 [PMID: 2169206]
- 29 Mizoguchi H, Ogawa Y, Kanatsu K, Tanaka A, Kato S, Takeuchi K. Protective effect of rebamipide on indomethacin-induced intestinal damage in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 1112-1119 [PMID: 11686837 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2001.02592.x]
- 30 LoGuidice A, Wallace BD, Bendel L, Redinbo MR, Boelsterli UA. Pharmacologic targeting of bacterial  $\beta$ -glucuronidase alleviates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 341: 447-454 [PMID: 22328575 DOI: 10.1124/jpet.111.191122]
- 31 Saitta KS, Zhang C, Lee KK, Fujimoto K, Redinbo MR, Boelsterli UA. Bacterial  $\beta$ -glucuronidase inhibition protects mice against enteropathy induced by indomethacin, ketoprofen or diclofenac: mode of action and pharmacokinetics. *Xenobiotica* 2014; 44: 28-35 [PMID: 23829165 DOI: 10.3109/00498254.2013.811314]
- 32 Wallace JL, Caliendo G, Santagada V, Cirino G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). *Br J Pharmacol* 2010; 159: 1236-1246 [PMID: 20128814 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00611.x]
- 33 Satoh H, Amagase K, Takeuchi K. Mucosal protective agents prevent exacerbation of NSAID-induced small intestinal lesions caused by antisecretory drugs in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 348: 227-235 [PMID: 24254524 DOI: 10.1124/jpet.113.208991]
- 34 Jörgensen TG, Weis-Fogh US, Nielsen HH, Olesen HP. Salicylate- and aspirin-induced uncoupling of oxidative phosphorylation in mitochondria isolated from the mucosal membrane of the



- stomach. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 649-654 [PMID: 1019575]
- 35 Higuchi K, Umegaki E, Watanabe T, Yoda Y, Morita E, Murano M, Tokioka S, Arakawa T. Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury. *J Gastroenterol* 2009; 44: 879-888 [PMID: 19568687 DOI: 10.1007/s00535-009-0102-2]
  - 36 Jain SK, Shohet SB. Calcium potentiates the peroxidation of erythrocyte membrane lipids. *Biochim Biophys Acta* 1981; 642: 46-54 [PMID: 6784765]
  - 37 Somasundaram S, Rafi S, Hayllar J, Sigthorsson G, Jacob M, Price AB, Macpherson A, Mahmood T, Scott D, Wrigglesworth JM, Bjarnason I. Mitochondrial damage: a possible mechanism of the "topical" phase of NSAID induced injury to the rat intestine. *Gut* 1997; 41: 344-353 [PMID: 9378390]
  - 38 Shindo K, Fukumura M. Effect of H<sub>2</sub>-receptor antagonists on bile acid metabolism. *J Invest Med* 1995; 43: 170-177 [PMID: 7735920]
  - 39 Shindo K, Machida M, Fukumura M, Koide K, Yamazaki R. Omeprazole induces altered bile acid metabolism. *Gut* 1998; 42: 266-271 [PMID: 9536953]
  - 40 Lombardo L, Foti M, Ruggia O, Chiecchio A. Increased incidence of small intestinal bacterial overgrowth during proton pump inhibitor therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 504-508 [PMID: 20060064 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.12.022]
  - 41 Wallace JL, Syer S, Denou E, de Palma G, Vong L, McKnight W, Jury J, Bolla M, Bercik P, Collins SM, Verdu E, Ongini E. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1314-1322, 1322.e1-e5 [PMID: 21745447 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.075]
  - 42 Begley M, Gahan CG, Hill C. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 625-651 [PMID: 16102595 DOI: 10.1016/j.femsre.2004.09.003]
  - 43 Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1861-1876 [PMID: 23569332 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1861]
  - 44 Blackler R, Syer S, Bolla M, Ongini E, Wallace JL. Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. *PLoS One* 2012; 7: e35196 [PMID: 22496907 DOI: 10.1371/journal.pone.0035196]
  - 45 Satoh H, Amagase K, Takeuchi K. Exacerbation of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal lesions by antisecretory drugs in rats: the role of intestinal motility. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 343: 270-277 [PMID: 22854201 DOI: 10.1124/jpet.112.197475]
  - 46 Park SH, Cho CS, Lee OY, Jun JB, Lin SR, Zhou LY, Yuan YZ, Li ZS, Hou XH, Zhao HC, Kachintorn U, Kositchaiwat C, Lertkupinit C. Comparison of Prevention of NSAID-Induced Gastrointestinal Complications by Rebamipide and Misoprostol: A Randomized, Multicenter, Controlled Trial-STORM STUDY. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 40: 148-155 [PMID: 18188417 DOI: 10.3164/jcbrn.40.148]
  - 47 Chao G, Zhang S. Therapeutic effects of muscovite to non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal disease. *Int J Pharm* 2012; 436: 154-160 [PMID: 22721845 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.05.063]

#### 同行评价

本研究选题紧扣和平民百姓相关的NSAIDs对肠黏膜损伤的机制及药物进展, 选题恰当, 参考文献较新, 值得广大临床医师和基础医学者阅读。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 简述功能性消化不良动物模型的建立与评价方法

吴震宇, 张声生, 张恒玉, 杨雪

### ■背景资料

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指一组目前尚无器质性原因可究的持续性或反复发作性的消化不良症候群。其动物模型的建立与评价方法不一。本文从该病动物模型的建立与评价两方面进行综述, 为其相关研究的发展提供思路。

吴震宇, 张声生, 张恒玉, 杨雪, 首都医科大学附属北京中医医院消化中心 北京市 100010

吴震宇, 张恒玉, 杨雪, 北京中医药大学 北京市 100029

吴震宇, 北京中医药大学在读博士, 中医药防治脾胃系疾病的临床及基础研究。

北京市科委课题“仁术健脾理气颗粒临床前研究”基金资助项目, No. Z131100002513012

北京市医院管理局临床医学发展专项经费资助项目, No. ZYLX201411

北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划基金资助项目, No. 2011-2-13

作者贡献分布: 张声生论文审校; 吴震宇负责论文撰写; 吴震宇、张恒玉及杨雪负责文献搜集整理。

通讯作者: 张声生, 教授, 主任医师, 100010, 北京市东城区美术馆后街23号, 首都医科大学附属北京中医医院消化中心。  
zhss2000@163.com  
电话: 010-52176634

收稿日期: 2015-08-17

修回日期: 2015-09-07

接受日期: 2015-09-11

在线出版日期: 2015-11-18

### Establishment and evaluation of animal models of functional dyspepsia

Zhen-Yu Wu, Sheng-Sheng Zhang, Heng-Yu Zhang, Xue Yang

Zhen-Yu Wu, Sheng-Sheng Zhang, Heng-Yu Zhang, Xue Yang, Center for Digestive Diseases, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China

Zhen-Yu Wu, Heng-Yu Zhang, Xue Yang, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Supported by: Beijing Municipal Science & Technology Commission Fund for Preclinical Study of “Ren Shu

Jian Pi Li Qi Granule”, No. Z131100002513012; Beijing Hospital Administration Special Fund for Clinical Medicine Development, No. ZYLX201411; High Level Health Technical Personnel Training Program of Beijing Health System, No. 2011-2-13

Correspondence to: Sheng-Sheng Zhang, Professor, Chief Physician, Center for Digestive Diseases, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, 23 Meishuguan Back Street, Dongcheng District, Beijing 100010, China. zhss2000@163.com

Received: 2015-08-17

Revised: 2015-09-07

Accepted: 2015-09-11

Published online: 2015-11-18

### Abstract

Functional dyspepsia (FD) is a group of persistent or recurrent dyspepsia syndrome in which the organic matter has not been found. According to the different symptoms of FD, it belongs to “Weipi” or “stomachache” in Chinese medicine. At present, there are many different methods for the establishment and evaluation of FD animal models. This paper summarizes the existing FD animal models from two aspects: establishment and evaluation.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Functional dyspepsia; Animal model; Establishment; Evaluation

Wu ZY, Zhang SS, Zhang HY, Yang X. Establishment and evaluation of animal models of functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5190-5195  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5190.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5190>

### ■同行评议者

唐文富, 教授, 主任医师, 四川大学华西医院中西医结合科; 王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

## 摘要

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指一组目前尚无器质性原因可究的持续性或反复发作性的消化不良症候群。根据其症状表现不同, 归属于中医“胃痞”、“胃脘痛”等范畴。目前FD动物模型的建立及评价方法各异, 本文主要从建立与评价两方面综述现有的FD动物模型。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 功能性消化不良; 动物模型; 建立方法; 评价方法

**核心提示:** 功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)动物模型的单因素造模与多因素造模方法都各自存在一定的优点与缺陷, 双因素造模是相对折中的选择。其动物模型的常用评价方法基本覆盖了FD的主要病理特征, 但仍需不断更新与改良。

吴震宇, 张声生, 张恒玉, 杨雪. 简述功能性消化不良动物模型的建立与评价方法. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5190-5195  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5190>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指一组目前尚无器质性原因可究的持续性或反复发作性的消化不良症候群<sup>[1]</sup>。现代医学认为, 胃排空延缓、内脏高敏感与胃顺应性降低是本病重要的病理生理改变<sup>[2]</sup>; 中医学根据FD的临床症状特点, 认为本病病位在胃, 与肝脾两脏密切相关, 情志不畅和饮食不节是主要诱因, 而脾虚气滞是中心病理环节<sup>[3,4]</sup>。目前已有多位国内外学者从中西医不同角度出發, 应用不同造模方法, 建立了多种FD动物模型, 其评价方法与指标也各有侧重。这些FD动物模型的建立与评价方法各有优势, 也各有缺陷。本文试从动物模型的建立与评价两方面综述现有的FD动物模型, 试图为建立更理想的FD动物模型提供思路。

## 1 FD动物模型的建立方法

### 1.1 单因素造模

1.1.1 碘乙酰胺灌胃法: 目前国际上较为公认的FD造模方法为碘乙酰胺灌胃法<sup>[5,6]</sup>, 其具体方法为: SD大鼠7 d起, 给予0.1%碘乙酰胺与2%

蔗糖的混合液0.2 mL灌胃, 1次/d, 持续6 d, 后正常饲养, 至大鼠8-10 wk时造模完成, 表现为模型动物内脏敏感性升高及胃顺应性下降。

目前认为, 早期炎症刺激是导致FD患者内脏高敏感形成的重要原因之一, 根据这一致病原理, 应用碘乙酰胺灌胃引起早期炎症反应从而建立模型的方法较好地模拟了FD患者胃敏感性升高、顺应性降低等病理表现。国内学者也逐渐采用该造模方法建立FD模型, 并将该动物模型的中医证候归类于中医脾虚证中<sup>[7]</sup>。

1.1.2 夹尾应激法: 目前国内应用最多的FD造模方法为“夹尾刺激法”<sup>[8]</sup>。具体方法为: 用长海绵钳夹大鼠尾巴远端1/3处, 以不破皮为度, 令其暴怒并与同笼其他大鼠厮打, 每次刺激30 min, 每隔3 h刺激1次, 4次/d, 连续7 d结束。为避免因抓伤引起感染, 每次造模结束后用0.5%的碘伏涂擦大鼠受伤部位。7 d后出现进食量减少, 胃排空率降低, 且可见动物紧张易怒, 体形渐瘦, 溏便, 毛发枯黄, 暗哑毛糙, 一定程度上模拟中医肝郁脾虚证。也有国内学者<sup>[9-11]</sup>在该模型基础上进行改良, 将夹尾次数调整为2次/d, 夹尾时间为30 min/次, 总共刺激时间延长至3 wk。相对于持续1 wk的郭氏夹尾刺激法, 改良后的3 wk夹尾刺激法更加符合FD的慢性发病过程。

情绪刺激也是FD的常见致病因素之一, 夹尾应激法一定程度地模拟了这一发病机制。该方法的缺点是实验员的操作手法对实验结果影响较大, 可能引起大鼠刺激程度的不同, 尚需对夹尾操作手法进行进一步的规范化与标准化, 故以该方法建立FD模型的研究人员仍以国内学者为主。然而, 该方法在模拟FD主要病因、症状的同时也模拟了FD患者紧张、焦虑等病理状态, 并且是为数不多的模拟了FD患者肝郁气滞中医证候的造模方法, 故也逐渐被国外学者所接受<sup>[12]</sup>。

1.1.3 束缚应激法: 岳利峰等<sup>[13]</sup>运用束缚应激法建立FD大鼠模型, 具体方法为: 每日将大鼠束缚于特制的束缚架上3 h, 连续束缚21 d, 每天束缚时间点不定。该模型可以导致大鼠焦虑、进食量减少、消瘦、腹泻等症状表现, 可以认为该模型基本符合FD肝郁脾虚证表现。

夹尾应激与束缚应激均可建立FD大鼠肝郁模型, 其造模方法均基于FD的心理应激发病

## ■ 研究前沿

胃排空延缓、内脏高敏感与胃顺应性降低是本病重要的病理生理改变, 如何围绕这三点病理基础进行动物模型的建立与评价是该领域中的热点, 如何将国内外与中西医在该领域中的研究进展有机结合是亟待研究的问题。

## ■ 相关报道

碘乙酰胺灌胃造模法已成为国际公认的方法, 较好地模拟了胃敏感性升高、顺应性降低等病理表现。通过应用恒压器进行模型评价, 也是相对客观的评价方法。



### ■ 创新盘点

本文从模型的建立与评价两方面, 对现有的FD动物模型进行了较全面的综述, 对国内外、中西医的造模与评价方法及进行了分述, 又进行了归纳与总结, 为探索更好的FD模型建立与评价方法提供了思路。

机制, 但两者孰优孰劣尚需要进一步对比实验予以证实。

1.1.4 酸刺激法: 曹峰等<sup>[14]</sup>采用冰稀盐酸灌胃法, 给予大鼠0.5 mol/L的冰稀盐酸按0.8 mL/100 g剂量灌胃, 1次/d, 持续2 wk, 建立了稳定的FD模型, 并认为该模型符合FD中医胃虚水停证的临床特点。也有学者用4 °C食醋按10 mL/kg给予大鼠灌胃, 1次/d, 连续10 d, 结果发现, 模型组大鼠血浆MOT水平、小肠推进比、胃内排空率较正常组均有下降<sup>[15,16]</sup>。Keto等<sup>[17]</sup>采用五肽胃泌素造模法, 刺激大鼠自身胃酸分泌增加而建立FD模型。

与酸刺激法相对应的, 也有学者应用碱刺激法<sup>[18]</sup>, 但有比较研究<sup>[19]</sup>发现, 酸刺激法造模所制备的模型较碱刺激更为稳定。酸刺激法造模的原理可能是稀酸可以进入胃黏膜下层, 刺激胃肠平滑肌收缩, 从而抑制胃蠕动<sup>[20]</sup>。也有研究表明, 0.15-0.50 mol/L的盐酸可以刺激胃分泌, 延缓胃排空<sup>[21]</sup>。

1.1.5 其他单因素造模方法: 除以上几种FD动物模型建立方法外, 还有其他单因素造模方法, 如采用吗啡、阿托品及抗肿瘤药物灌胃法<sup>[22-27]</sup>。此外, Sun等<sup>[28]</sup>应用胃内电极植入法造模, 具体方法为: 在狗胃大弯浆膜层植入起搏电极, 改变胃电节律, 从而模拟FD患者胃电节律紊乱的病理状态。但这些造模方法与FD的实际临床发病过程相差较远, 故未被广泛使用。

1.2 复合因素造模法 由于单一刺激建立动物模型易产生动物机体耐受性, 且多数单因素造模方法仅模拟FD的某些单一特征, 难以全面模拟FD复杂的病因病机及症状表现, 存在一定的局限性, 限制了FD相关动物实验的发展与创新, 故也有部分学者采用双因素及多因素联合刺激法建立FD动物模型。

1.2.1 双因素造模方法: 有学者以不规则喂养联合酸刺激法建立了胃电节律失常动物模型, 具体方法为: 动物单日进食, 双日禁食, 自由饮水(每升水加10 mol/L盐酸10 mL)<sup>[29,30]</sup>。韩秋艳等<sup>[31]</sup>联合应用夹尾刺激法及大黄灌胃法建立FD大鼠模型, 具体方法为: 3次/d夹尾刺激, 每次30 min, 持续3 d, 3 d后夹尾刺激改为2次/d, 每次15 min, 并开始联合应用大黄灌胃, 2次/d, 夹尾联合大黄灌胃共持续10 d, 造模总共13 d。

1.2.2 多因素造模方法: 郭建丽等<sup>[32]</sup>应用慢性束缚联合饮食失节及孤养的方法, 建立了符合中

医肝郁脾虚证的FD动物模型。具体方法为: 将大鼠放入自制的束缚笼中, 令其身躯及四肢不能自由活动, 每笼1只, 每天束缚6 h, 持续3 wk, 期间每周不定时禁食2 d。肖政华<sup>[33]</sup>运用多种刺激方式交替干预, 建立了肝脾气滞型FD小鼠模型, 具体方法为: (1)食物剥夺24 h; (2)饮水剥夺合并空瓶刺激12 h; (3)倒悬30 min; (4)束缚30 min; (5)夹尾1 h; (6)明暗颠倒24 h; (7)湿笼饲养24 h; (8)超声刺激2 h; (9)强迫游泳45 °C, 5 min。每天随机选取上述9种刺激中的1种, 连续刺激21 d, 相邻的2 d不允许使用同种刺激, 每种刺激方法平均使用2-3次。D'Aquila等<sup>[34]</sup>选取多种刺激因素对大鼠进行干预: (1)禁食24 h; (2)束缚30 min; (3)超声刺激2 h; (4)夹尾1 h; (5)明暗颠倒24 h。随机选取1种, 造模3 wk, 相邻的2 d不允许使用同种刺激。

多因素的造模方法虽然可以较全面地模拟FD患者的复杂发病机制及临床表现, 但与双因素造模方法相比较, 其模型建立程序随刺激种类的增多而复杂, 模型的稳定性也随刺激种类增多而难以保证。

总之, FD动物模型的单因素造模方法程序相对简单, 通常可以从某一侧面模拟FD的发病机制及症状表现; 而复合因素的造模方法能够更为全面地模拟FD发病因素的多样化、复杂化, 但刺激因素过多的造模方法, 造模流程复杂, 所建立模型的稳定性相对难以保证。

## 2 FD动物模型的评价方法

### 2.1 胃排空的评价方法

2.1.1 灌胃法检测胃排空率: 有学者采用淀粉糊剂灌胃检测大鼠胃排空率<sup>[35,36]</sup>。具体方法为: 大鼠禁食水24 h, 然后用1 g/mL的淀粉糊剂以10 mL/kg灌胃, 静置1 h后, 断头处死, 剖开腹腔, 用线结扎贲门和幽门, 紧贴结扎线剪断食管和十二指肠, 将胃取出。用天平称胃质量并作记录; 然后剪开胃壁, 用蒸馏水洗去胃内容物, 用滤纸将水吸干, 再称量空胃的质量, 最后计算胃排空率: 胃排空率 = [灌胃量 - (胃质量 - 胃净质量)] / 灌胃量 × 100%。也有学者在此基础上改进, 以半固体营养糊代替淀粉糊灌胃, 测得胃排空率<sup>[37,38]</sup>。半固体营养糊的制备: 取羧甲基纤维素钠(CMC-Na)10 g溶于200 mL蒸馏水中, 分别加入16 g奶粉、8 g糖、8 g淀粉、4 mL碳素墨水及蒸馏水, 每加一次搅拌均匀, 配制

成300 mL黑色半固体糊状物, 冰箱冷藏, 用前2 h取出, 恢复至室温。半固体营养糊与单纯淀粉糊相比较, 更能够模拟食物的理化特性。

也有学者应用酚红灌胃检测大鼠胃排空率<sup>[39,40]</sup>。具体方法为: 大鼠禁食1 d, 第2天以10%酚红灌胃(1 mL/100 g)30 min后处死大鼠。剖腹, 结扎贲门和胃窦并取下整胃, 沿胃大弯切开, 以蒸馏水冲洗胃内容物最终定容为6 mL。再加入0.15 mol/L的Ba(OH)<sub>2</sub> 2 mL搅拌, 静置10 min, 再加入5%ZnSO<sub>4</sub> 2 mL振荡5 min, 以3000 r/min离心1 min。吸取4 mL, 加入10%NaOH 0.5 mL混合, 分光光度计在560 nm波长下测定各组吸光度值, 查出酚红含量, 推算胃排空功能: 胃排空率 = (1-实测酚红吸光度/标准酚红吸光度) × 100%。此外, 也有学者应用相同原理, 以2%葡聚糖蓝2000溶液0.4 mL/只灌胃, 定量检测胃排空<sup>[41]</sup>。

虽然采用酚红灌胃检测酚红吸光度的方法较为精确, 但糊剂更能模拟食糜在胃内的状态, 因此考虑到检测方法的精确性及灌胃物质与食糜状态的相似性两方面, 有学者将糊剂灌胃与酚红灌胃结合, 以酚红糊(1 mL/100 g大鼠, 酚红浓度为10%, 每15 mL加1 g面粉加热成糊)灌胃<sup>[42]</sup>。目前现有的几种灌胃法检测胃排空率的稳定性、准确性及可操作性还有待比较实验证实其各自优劣。

**2.1.2 自主进食法检测胃排空率:** 李晓玲等<sup>[43]</sup>参照国外文献<sup>[44]</sup>进行大鼠胃排空检测: 大鼠8 wk时和给药结束后进行胃排空检测, 将各组大鼠单笼饲养, 胃排空前禁食12 h, 不禁水, 于次日给予3 h食量(15 g/只), 3 h后记录剩余食量, 计算3 h摄食量(3 h摄食量 = 15 g-3 h后剩余食量)。然后禁食、水, 3 h后检测胃排空。6 h后胃排空率的计算公式: 胃排空率(%) = [100-(3 h胃内食物残余量/3 h摄食量)] × 100%。

**2.1.3 其他检测方法:** 有学者用0.85%氯化钠稀释成浓度为0.1 mCi/mL的<sup>99m</sup>Tc-DTPA溶液3 mL灌胃, 置于双探头SPECT下动态采集图像90 min, 每分钟采集1帧图像, 共90帧。采集完毕, 勾画胃的轮廓, 计算机运用自带软件(GASTRIC EMPTYING)处理后获得胃排空-时间曲线, 通过曲线找出相对应的胃半排时间, 并任意选取2次同时检测的大鼠, 由图初步比较胃半排时间和放射性核素在胃内的残留率<sup>[45]</sup>。杨斌等<sup>[46]</sup>以犬胃大弯浆膜层电极植入术

造模, 于距幽门40 cm空肠近端行一造瘘口, 通过造瘘管收集食糜, 监测其胃排空率。

各种胃排空检测方法各有利弊, 但相较于其他几种方法, 大鼠自主进食法检测胃排空率的方法对动物的刺激度小, 对实验结果的影响低<sup>[43]</sup>。且该方法还可以观察大鼠进食量变化, 对FD大鼠食欲减退、进食量减少、胃排空延缓等表现均有所体现。

**2.2 胃敏感性检测方法** 目前FD动物模型胃敏感性的检测方法并不多, 通常是以动物对胃扩张刺激的行为学及电生理反应为观察指标<sup>[5,47-49]</sup>。而对实验动物的胃扩张刺激主要是通过电子恒压器对动物胃内气囊加压, 使气囊扩张来实现的。胃内气囊通常为无延展性质材料制成, 一端连接有导气管, 气囊仅可通过导气管与外界通气。实验前通过手术植入胃内气囊, 检测时将导气管连接于电子恒压器, 使其分阶段对胃内气囊加压, 同时观察大鼠行为表现, 记录腹壁撤离(abdominal withdrawal reflex, AWR)评分。或可同时记录大鼠颈部肌电, 辅以评价其胃敏感性。虽然各文献描述的手术及检测方法大致相同, 但气囊形状体积和具体加压程序却并不统一。

有学者应用5-5.5 cm的长条形气囊, 加压程序为: 分4次加压, 每次加压维持10 min, 且每次加压较上次加压增加5 mmHg, 每2次加压期间休息2 min, 首次压力为10 mmHg, 末次压力为25 mmHg<sup>[47]</sup>。也有学者应用直径2.0-2.5 cm, 最大容积7 mL的小气囊, 加压程序为: 分4次加压, 每次加压维持20 s, 且每次加压较上次加压增加20 mmHg, 每2次加压期间休息5 min, 首次压力为20 mmHg, 末次压力为80 mmHg<sup>[5]</sup>。另外, 也有国内学者模拟国外手术植入胃内气囊的方法检测大鼠胃敏感性, 但该研究在大鼠术后第2天进行敏感性检测, 而不给予大鼠足够的恢复时间, 因此大鼠手术创口的感觉异常可能在一定程度上影响了实验结果<sup>[48]</sup>。

在本实验方法中, 胃内气囊的形状与直径直接影响了实验结果。实验中胃内气囊直径需大于动物胃的内径, 否则可能出现气囊已完全扩张, 却不能对胃壁造成相应压力的情况; 而就气囊形状而言, 长条形的气囊会在胃内出现不规则折叠, 气囊扩张时可能对胃壁造成不均匀施压, 从而对实验结果造成影响。然而, 胃本身也并不是规则形状, 目前还没有研究应用与

#### 应用要点

本文对现有的FD动物模型进行了总结, 并分别简单评述了其优、缺点, 在前人基础上, 进一步探讨了这些造模、评价方法的改良思路, 对FD相关动物实验的设计提供了客观的参考, 并提出了作者团队的一些建议。

## ■名词解释

胃排空延缓: 食物由胃排入十二指肠的过程时间变长, 称为胃排空延缓;

内脏高敏感: 指内脏对外界刺激的反应过强, 出现各种临床症状;

胃顺应性降低: 指胃(尤其是近端胃)随内容物增多、压力升高而生理性扩张的能力下降。

胃形状完全一致的气囊进行检测。

2.3 胃顺应性检测方法 胃顺应性主要以胃内容积与压力比值来表示, 与胃敏感性检测方法相一致, 目前FD动物模型的胃顺应性检测方法也主要是应用电子恒压器对动物胃内球囊进行扩张, 从而检测球囊容积与压力比值, 但胃内气囊植入方法各异, 加压程序也不尽相同。

有学者通过胃底手术植入胃内气囊, 其气囊体积约为7 mL。加压程序为: 对大鼠胃内气囊分阶段加压, 以1 mmHg为起始压力, 维持10 min后, 每分钟压力升高1 mmHg直至10 mmHg, 再维持10 min<sup>[5]</sup>。也有学者采用相对无创的检测方法, 经大鼠食道植入胃内气囊, 气囊最大体积约为20 mL。加压程序为: 分10次加压, 每次加压维持30 s, 且每次加压较上次加压增加5 mmHg, 每2次加压期间休息3 min, 首次压力为5 mmHg, 末次压力为50 mmHg<sup>[6]</sup>。

相较于以往应用注射器手动对胃内球囊加压检测动物胃顺应性的方法<sup>[50]</sup>, 应用电子恒压器的可以有效避免因研究员的操作对实验结果造成误差, 可控性及客观性明显提高。在气囊植入方法的选择上, 经食道植入气囊的方法对动物的损伤更小。在气囊容积的选择上, 气囊体积过小, 不能有效反应真实的胃内容积; 气囊体积过大, 则可能引起动物贲门及幽门梗阻。与敏感性检测相类似, 有创的胃顺应性检测方法也应在手术后给予大鼠足够的恢复时间。有学者在经胃底手术切口植入小鼠胃内气囊术后30 min即进行胃顺应性检测, 其手术切口对实验结果所造成的影响还需进一步对比实验证实<sup>[51]</sup>。

## 3 结论

由于FD病因病机的复杂性、症状表现的多样性, 其动物模型的建立及评价方法尚处于不断探索与改良阶段。就目前已存在的模型建立方法而言, 单因素造模方法简单易行, 但所体现的致病因素及症状表现通常过于单一。多因素造模的方法虽然一定程度上更符合本病临床, 但操作复杂, 可控性差。相对单因素和多因素造模方法而言, 双因素造模方法可能是相对折中的选择。而目前FD模型的主要评价方法包括了胃排空检测、胃敏感性检测和胃顺应性检测, 基本覆盖了FD的主要病理生理改变, 但检测手段仍在不断更新与改良中。总而言之, FD

动物模型的建立与评价方法还不能完全模拟本病临床, 有待进一步的探索研究。

## 4 参考文献

- 1 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.059]
- 2 徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤. 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2530-2536
- 3 中华中医药学会脾胃病分会. 消化不良中医诊疗共识意见. *中华中医药杂志* 2010; 25: 722-725
- 4 薛丁文, 孟静岩. 中医药治疗功能性消化不良的研究进展. *光明中医* 2013; 28: 864-866
- 5 Liu LS, Winston JH, Shenoy MM, Song GQ, Chen JD, Pasricha PJ. A rat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation. *Gastroenterology* 2008; 134: 2070-2079 [PMID: 18448102 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.093]
- 6 Römer M, Painsipp E, Schwetz I, Holzer P. Facilitation of gastric compliance and cardiovascular reaction by repeated isobaric distension of the rat stomach. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 399-409 [PMID: 15916627 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00649.x]
- 7 李晓玲, 张声生, 杨成. 仁术健脾理气方对功能性消化不良大鼠胃排空功能及Ghrelin、5-HT、CGRP的影响. *中国中西医结合消化杂志* 2014; 22: 355-359
- 8 郭海军, 林洁, 李国成, 李亦武, 陶秀良, 罗树星. 功能性消化不良的动物模型研究. *中国中西医结合消化杂志* 2001; 9: 141-142
- 9 于文靖, 陈苏宁, 李慎贤, 吴艳惠. 胃痛消痞方对功能性消化不良大鼠血清及胃肠组织中CCK、VIP的影响. *实用药物与临床* 2012; 15: 461-463
- 10 包海兰, 梁靓靓, 陈苏宁. 胃痛消痞方对肝郁脾虚型FD大鼠胃泌素和生长抑素的影响. *实用药物与临床* 2012; 15: 691-694
- 11 吴艳慧, 于文靖, 陈苏宁. 胃痛消痞方对肝郁脾虚型功能性消化不良大鼠血清及胃窦组织中NT、SP含量的影响. *实用药物与临床* 2012; 15: 613-615
- 12 Wei W, Li X, Hao J, Zhang R, Guo J, Zong Y, Lu Y, Qu S, Tian J. Proteomic analysis of functional dyspepsia in stressed rats treated with traditional Chinese medicine "Wei Kangning". *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1425-1433 [PMID: 21054522]
- 13 岳利峰, 王玲, 赵健, 陈昌乐, 奚胜艳, 王琦. 肝郁脾虚证大鼠双侧海马CA1区注射AMPA后行为的变化及逍遥散的调节作用. *北京中医药大学学报* 2012; 35: 817-821
- 14 曹峰, 傅延龄. 茯苓甘草汤对功能性消化不良大鼠胃液体排空及胃窦一氧化氮及乙酰胆碱酯酶的影响. *中国中医急症* 2009; 18: 256-257
- 15 陈苏宁, 梁靓靓, 史业东. 胃痛消痞方对脾胃虚寒型功能性消化不良大鼠胃肠动力和胃动素的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 699-702
- 16 彭成, 罗亮. 过食酸味所致脾虚机理的实验研究. *山东中医学院学报* 1989; 13: 373-374
- 17 Keto Y, Hirata T, Takemoto Y, Yamano M, Yokoyama T. Influence of gastric acid on gastric emptying and gastric distension-induced pain response in rats--effects of famotidine and mosapride. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 147-153, e88 [PMID: 22066725]



- 18 邱赛红, 李飞艳, 尹健康, 罗跃龙, 吴红娟, 肖锦仁. 两种大鼠脾胃虚寒模型制备方法的比较研究. 湖南中医学院学报 2004; 12: 30-33
- 19 陈艳芬, 陈蔚文, 李茹柳. 大鼠寒热型胃黏膜损伤模型的研究. 中国药理与临床 2002; 18: 44-46
- 20 Schuligoi R, Jovic M, Heinemann A, Schöninkle E, Pabst MA, Holzer P. Gastric acid-evoked c-fos messenger RNA expression in rat brainstem is signaled by capsaicin-resistant vagal afferents. *Gastroenterology* 1998; 115: 649-660 [PMID: 9721162 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70144-1]
- 21 Holzer P, Painsipp E, Jovic M, Heinemann A. Acid challenge delays gastric pressure adaptation, blocks gastric emptying and stimulates gastric fluid secretion in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 2003; 15: 45-55 [PMID: 12588468 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2003.00382.x]
- 22 李冀, 刘蔚雯, 肖洪彬, 李胜志, 胡晓阳. 枳术汤治疗功能性消化不良的配伍研究. 中华中医药学刊 2007; 25: 199-201
- 23 郝建军. 胃必欢颗粒治疗功能性消化不良的实验研究. 武汉: 湖北中医学院, 2005
- 24 段嘉川. 中药复方芎术颗粒治疗功能性消化不良的药效机理研究. 成都: 成都中医药大学, 2002
- 25 曾玲, 江永苏. 胃消合剂治疗功能性消化不良疗效观察及机理研究. 重庆医学 2004; 33: 612-614
- 26 Lee TH, Kim KH, Lee SO, Lee KR, Son M, Jin M. Tetrahydroberberine, an isoquinoline alkaloid isolated from corydalis tuber, enhances gastrointestinal motor function. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 917-924 [PMID: 21659472 DOI: 10.1124/jpet.111.182048]
- 27 Takeda H, Sadakane C, Hattori T, Katsurada T, Ohkawara T, Nagai K, Asaka M. Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonism. *Gastroenterology* 2008; 134: 2004-2013 [PMID: 18439428 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.078]
- 28 Sun Y, Chen JD. Gastric electrical stimulation reduces gastric tone energy dependently. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 154-159 [PMID: 15764145 DOI: 10.1080/00365520410009582]
- 29 张勇, 王振华. 大鼠胃电节律失常模型的建立. 世界华人消化杂志 1998; 6: 612-613
- 30 Ma JL, Zhao SJ, Wang TT, Piao JH, Li X, Gao L, Wang XQ. [Effect of Dingguier umbilical paste on rats with functional dyspepsia and mice with splenic asthenia]. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 2013; 38: 1067-1070 [PMID: 23847959]
- 31 韩秋艳, 吴文尧, 王敏. 肝郁脾虚证动物模型的建立. 贵阳中医学院学报 2001; 23: 59-61
- 32 郭建丽, 冯玛莉, 宋美卿, 百灵. 情志刺激致大鼠肝郁脾虚证模型的研究. 中华中医药杂志 2012; 27: 2976-2978
- 33 肖政华. 四磨汤对功能性消化不良患者的临床疗效及模型小鼠Ghrelin、GHSR表达的影响. 长沙: 湖南中医药大学, 2012
- 34 D'Aquila PS, Brain P, Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav* 1994; 56: 861-867 [PMID: 7824585 DOI: 10.1016/0031-9384(94)90316-6]
- 35 陈思维, 薛淑英, 王敏伟. 介绍一种简易实验性胃排空测定方法. 中国药理学通报 1994; 10: 317
- 36 林江, 唐静芬, 蔡淦. 枳实消痞丸对大鼠胃排空影响的实验研究. 中华消化杂志 1999; 19: 45-47
- 37 黄爱华, 迟玉广, 曾元儿. 枳实黄酮对功能性消化不良大鼠胃肠动力的影响. 中药新药与临床药理 2012; 23: 612-615
- 38 周利, 程艳萍. 电针对功能性消化不良大鼠的胃排空和血浆Ghrelin的调节作用. 湖北中医杂志 2014; 36: 19-21
- 39 吴坚, 张星星, 沈洪. 半夏泻心汤对功能性消化不良大鼠胃排空率和胃窦组织Ghrelin的影响. 四川中医 2014; 32: 70-72
- 40 叶仁群, 张光奇. 二金汤对实验性功能性消化不良大鼠胃排空和胃肠激素的影响. 山东中医药大学学报 2005; 29: 156-158
- 41 王垂杰, 姜巍. 功能性消化不良肝郁模型大鼠胃排空障碍与胃平滑肌超微结构的关系. 中国中西医结合消化杂志 2009; 17: 86-88
- 42 祝捷, 李宇航, 王庆国. 半夏泻心汤对功能性消化不良大鼠胃排空及血浆胃动素的影响. 中华中医药杂志 2005; 20: 335-337
- 43 李晓玲, 张声生, 杨成, 汪正芳, 吴震宇, 齐英娜. 枳术丸对功能性消化不良大鼠胃排空功能及Ghrelin、5-HT、CGRP的影响. 北京中医药 2014; 33: 856-860
- 44 Martinez V, Barquist E, Rivier J, Taché Y. Central CRF inhibits gastric emptying of a nutrient solid meal in rats: the role of CRF2 receptors. *Am J Physiol* 1998; 274: G965-G970 [PMID: 9612279]
- 45 税典奎, 邱明义. 甘草煎剂建立胃动力低下大鼠模型的机制. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 388-390
- 46 杨斌, 宋耿青, 陈鑫, 王静, 郑建伟, 侯晓华. 胃多导电刺激及胃液体排空犬动物模型的建立. 中国实验动物学报 2014; 12: 223-226
- 47 Rouzade ML, Fioramonti J, Bueno L. A model for evaluation of gastric sensitivity in awake rats. *Neurogastroenterol Motil* 1998; 10: 157-163 [PMID: 9614674 DOI: 10.1046/j.1365-2982.1998.00091.x]
- 48 章菲菲, 莫剑忠, 吕有灵, 陈胜良, 吕鸣, 张珏莹, 杨龙. CGRP在大鼠胃痛觉过敏形成机制中的作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2484-2487
- 49 Arvidsson S, Larsson M, Larsson H, Lindström E, Martinez V. Assessment of visceral pain-related pseudo-affective responses to colorectal distension in mice by intracolonic manometric recordings. *J Pain* 2006; 7: 108-118 [PMID: 16459276 DOI: 10.1016/j.jpain.2005.09.003]
- 50 Xue L, Locke GR, Camilleri M, Schuurkes JA, Meulemans A, Coulie BJ, Szurszewski JH, Farrugia G. Effect of modulation of serotonergic, cholinergic, and nitrergic pathways on murine fundic size and compliance measured by ultrasonomicrometry. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G74-G82 [PMID: 16166345 DOI: 10.1152/ajpgi.00244.2005]
- 51 Monroe MJ, Hornby PJ, Partosoedarso ER. Central vagal stimulation evokes gastric volume changes in mice: a novel technique using a miniaturized barostat. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16: 5-11 [PMID: 14764200 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2003.00464.x]

#### ■同行评价

该文较为系统总结了FD的模型建立与评价方法, 引用参考文献较为全面. 从建立与评价两方面综述现有的消化不良动物模型, 条理清晰, 逻辑性强, 有一定新意, 对从事该领域的研究有一定的参考价值.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 神经酰胺在非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞脂质沉积中的作用

胡 杨, 刘朝霞, 傅 念, 吴 清, 阳学风, 刘浩雷

### ■背景资料

肝细胞内脂质沉积是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)形成和发展的一个先决条件,如果能早期对NAFLD患者肝内脂质沉积进行干预,则可能使NAFLD患者的病情得以缓解甚至是逆转。

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

刘浩雷, 湖南中医药高等专科学校第一附属医院感染科 湖南省株洲市 412000

胡杨, 副教授, 主要从事胃肠道疾病与肝病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81373465

作者贡献分布: 实验过程由胡杨、刘朝霞及傅念完成; 统计分析和论文撰写由胡杨与刘浩雷完成; 吴清与阳学风对论文进行审核。

通讯作者: 胡杨, 副教授, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院消化内科。nhhuyang@126.com  
电话: 0734-8358043

收稿日期: 2015-09-30  
修回日期: 2015-10-18  
接受日期: 2015-10-26  
在线出版日期: 2015-11-18

### Role of ceramide in hepatic lipid accumulation in rats with non-alcoholic fatty liver disease

Yang Hu, Zhao-Xia Liu, Nian Fu, Qing Wu, Xue-Feng Yang, Hao-Lei Liu

Yang Hu, Zhao-Xia Liu, Nian Fu, Qing Wu, Xue-Feng Yang, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, Hengyang 421002, Hu'nan Province, China

Hao-Lei Liu, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Hu'nan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou 412000, Hu'nan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81373465

Correspondence to: Yang Hu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, 336 Dongfeng

South Road, Hengyang 421002, Hu'nan Province, China. nhhuyang@126.com

Received: 2015-09-30

Revised: 2015-10-18

Accepted: 2015-10-26

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the role of ceramide in hepatic lipid accumulation in rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

**METHODS:** Male SD animals were randomly divided into three groups: a control group, an NAFLD model group and a myriocin group. The NAFLD model group was fed a high-fat diet, the myriocin group was fed a high-fat diet and treated with myriocin, and the control group was fed a standard rodent diet only. After 12 wk, the liver tissues of rats in the three groups were measured for lipids levels, the extent of hepatic steatosis and ceramide levels by enzyme assay, HE staining and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC/MS), respectively.

**RESULTS:** Compared with the control and myriocin groups, the levels of hepatic lipids, such as triglyceride and free fat acids, in the NAFLD model group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the extent of hepatic steatosis in the NAFLD model group was significantly higher as well ( $P < 0.05$ ). Corresponding to lipid accumulation, the levels of ceramides in rat liver, mainly C24:0 and C16:0 ceramides, were significantly higher in the NAFLD model group than in the control group and myriocin group ( $P < 0.05$ ).

### ■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

**CONCLUSION:** Ceramide contributes to hepatic lipid accumulation in rats with NAFLD, and inhibition of ceramide synthesis can reduce the extent of hepatic steatosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Non-alcoholic fatty liver disease; Ceramide; Lipid accumulation; Myriocin

Hu Y, Liu ZX, Fu N, Wu Q, Yang XF, Liu HL. Role of ceramide in hepatic lipid accumulation in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5196-5200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5196.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5196>

## 摘要

**目的:** 探讨非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝内神经酰胺水平与肝细胞脂质沉积之间的关系。

**方法:** 将♂SD大鼠随机分为正常对照组、NAFLD模型组和多球壳菌素组, NAFLD模型组采用高脂肪饲料喂养, 多球壳菌素组除了高脂肪饲料喂养外还给予多球壳菌素喂养, 正常对照组大鼠则喂养普通饲料。喂养12 wk后分别采用酶检测法、HE染色和高效液相色谱串联质谱法(high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC/MS)检测各组大鼠的肝组织脂质含量、脂质变性程度以及神经酰胺水平。

**结果:** NAFLD模型组大鼠肝组织中的甘油三酯和游离脂肪酸含量明显高于正常对照组和多球壳菌素组( $P<0.05$ ), 而且模型组大鼠肝组织标本的脂肪变性程度均明显高于正常对照组和多球壳菌素组( $P<0.05$ ); 与肝细胞内脂质沉积增加相应的是NAFLD模型组大鼠的肝内神经酰胺(主要是C24:0和C16:0神经酰胺)水平也明显高于正常对照组和多球壳菌素组( $P<0.05$ )。

**结论:** 神经酰胺参与了NAFLD大鼠肝细胞内的脂质沉积过程, 抑制神经酰胺的合成则有助于减轻肝细胞内的脂质沉积程度。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 非酒精性脂肪肝; 神经酰胺; 脂质沉积; 多球壳菌素

**核心提示:** 本文通过动物实验发现神经酰胺参与了非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease)大鼠肝细胞内的脂质沉积过程, 抑制神经酰胺的合成则有助于减轻肝细胞内的脂质沉积程度, 但具体机制尚需更深入的研究。

胡杨, 刘朝霞, 傅念, 吴清, 阳学风, 刘浩雷. 神经酰胺在非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞脂质沉积中的作用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5196-5200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5196.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5196>

## 0 引言

肝细胞内脂质沉积是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)形成的一个先决条件<sup>[1]</sup>, 如果能早期对肝细胞脂质沉积进行干预, 则可能使NAFLD的病情得以缓解甚至是逆转。近年来, 有研究发现高脂肪饲料喂养大鼠的肝内神经酰胺含量明显增加, 提示肝细胞脂质沉积与神经酰胺的生成可能存在一定的关系<sup>[2]</sup>。然而, 神经酰胺的增加是否只是肝细胞脂质沉积的“伴随”现象, 还是参与了脂质沉积过程尚不明确。为此, 我们采用了神经酰胺从头合成抑制剂多球壳菌素对NAFLD大鼠模型进行干预, 观察大鼠肝内脂质及神经酰胺水平的变化, 探讨神经酰胺与肝细胞脂质沉积之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂SD大鼠购自购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司; 高脂肪饲料购自南通特洛菲饲料科技有限公司; 多球壳菌素购自美国Cayman公司; C16、C17、C18和C24神经酰胺标准品购自美国Avanti公司。液相色谱条件为: 分析柱: Zorbax SB C8(2.1 mm×150.0 mm, 3.5 μm); 柱温: 35 °C; 流动相: 甲醇2 mmol/L醋酸铵(0.1%甲酸)和质谱条件如下: ESI离子源, 负离子模式。离子源参数如下: 气体温度: 325 °C; 气体流速: 5 L/min; 雾化器压力: 45 Psi; 鞘气温度: 350 °C; 鞘气流速: 11 L/min; 毛细管电压: 3500 V(+).

### 1.2 方法

**1.2.1 分组和造模:** 36只健康♂SD大鼠(体质量200 g±20 g)按体质量随机分为3组: 正常对照组, NAFLD模型组和多球壳菌素组。除正常对照组外, 其余2组皆进行适应性饲养1 wk后喂

## ■ 研究前沿

近年来的研究发现神经酰胺可能参与了NAFLD的发病, 目前主要集中于神经酰胺在胰岛素抵抗、氧化应激、炎症反应和细胞凋亡等病理过程中的作用, 但是对NAFLD肝内脂质沉积的研究不多。

## ■ 相关报道

国外学者发现神经酰胺能激活蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A), PP2A又对腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)具有抑制作用。AMPK的生理作用在于减少脂肪的合成, 促进脂肪酸β氧化, AMPK受抑制则使细胞内脂肪合成增加, 造成脂肪沉积。该机制可能是神经酰胺诱发NAFLD大鼠肝细胞脂质沉积的原因之一。



■ 创新盘点

通过采用酶检测法、HE染色和高效液相色谱串联质谱法检测正常对照组、模型组和多球壳菌素组大鼠的肝组织脂质含量、脂质变性程度以及神经酰胺水平,表明神经酰胺能促进NAFLD大鼠肝细胞内脂质沉积。

■ 应用要点

神经酰胺合成抑制剂可能有助于改善NAFLD患者肝内脂质沉积的程度,抑制NAFLD病情的一步发展。

表 1 各组大鼠肝脏脂质含量的比较 (mean ± SD)

分组	n	TG(mg/g)	TC(mg/g)	FFA(μmol/g)
正常对照组	11	18.18 ± 4.32	5.48 ± 1.98	72.89 ± 15.98
NAFLD模型组	9	28.16 ± 6.08 <sup>a</sup>	7.18 ± 1.61	134.38 ± 16.09 <sup>a</sup>
多球壳菌素组	9	20.13 ± 3.74 <sup>c</sup>	6.09 ± 1.23	95.74 ± 18.15 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 正常对照组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs NAFLD模型组。NAFLD: 非酒精性脂肪肝; TG: 甘油三酯; TC: 胆固醇; FFA: 游离脂肪酸。

饲高脂饲料(包含80.5%基础饲料, 2%胆固醇, 7%猪油, 10%蛋黄粉及其0.5%胆盐)进行造模, 共12 wk。多球壳菌素组大鼠于造模第1周开始予多球壳菌素灌胃, 剂量为6 mg/(kg·d), 每天1次。对照组和NAFLD组大鼠给予等体积生理盐水灌胃。造模12 wk后麻醉处死大鼠, 取大鼠肝脏组织作病理切片HE染色, 光镜下对大鼠肝组织脂肪沉积情况进行观察, 其判断标准符合《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》<sup>[3]</sup>。

1.2.2 肝脂质含量的检测: 按王咏波等<sup>[4]</sup>的方法检测同质量肝组织中的甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(total cholesterol, TC)和游离脂肪酸(free fat acid, FFA)。

1.2.3 肝组织标本HE染色: 留取肝组织标本, 经固定、包埋、切片和HE染色。按肝细胞脂肪变性占肝组织标本量的范围分为4度(F0-4)<sup>[3]</sup>。

1.2.4 HPLC/MS检测大鼠肝组织神经酰胺水平: 将2 mL甲醇分别加入C16、C17、C18和C24神经酰胺标准品中, 振荡混匀后使其彻底溶解, 置于-20℃冰箱备用, 使用时根据不同的浓度稀释。称量同质量肝组织(湿质量50 mg)于EP管中, 加1 mL氯仿和甲醇的混合液(V:V=2:1), 用BCA法测定蛋白浓度; 然后加入1 μg C17神经酰胺标准品作为内参; 收集下层氯仿层, 冷冻干燥后加入1 mL甲醇, 旋涡震荡混匀后置于-20℃冰箱保存待测。检测时先设定液相色谱条件和质谱条件, 再将各个不同浓度的神经酰胺标准品溶液进样, 并绘制各个神经酰胺的标准曲线, 计算线性回归方程和相关系数。然后将不同组别的脂类提取液1.5 μL进样, 记录色谱图和峰值起止时间、保留时间、峰值面积和峰值高度等数据。最后按照线性回归方程计算出不同实验组肝组织内的神经酰胺含量。

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计学软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, *t*检验各组间的差异; 等级资料采用秩和检验。

*P*<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

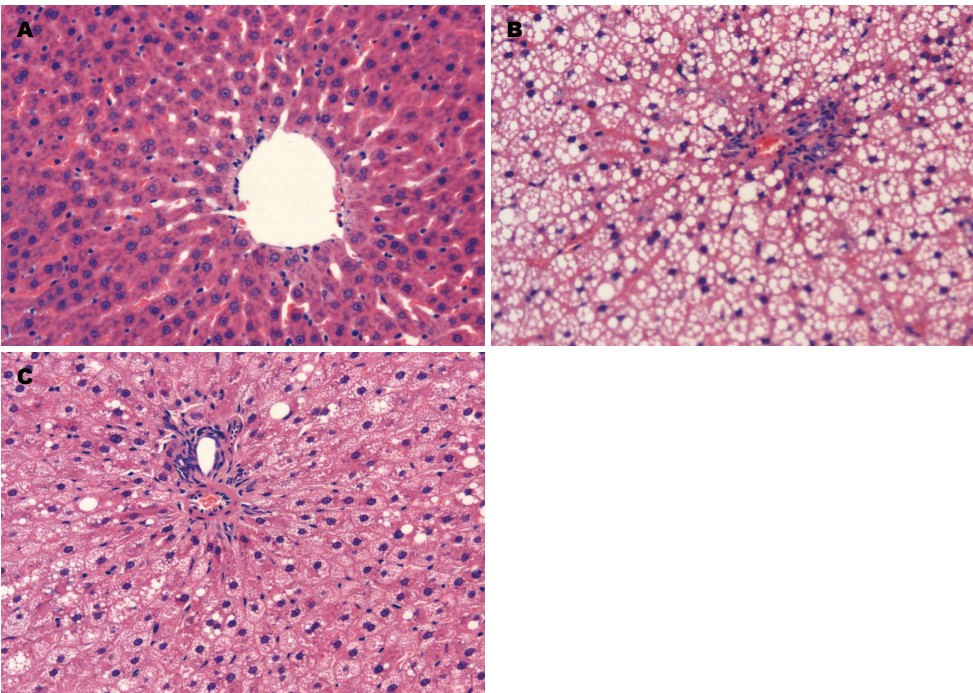
2.1 各组大鼠肝脏脂质含量的测定 大鼠肝组织中的TG、TC和FFA含量测定结果如表1, 结果显示NAFLD模型组大鼠肝组织中脂质成分主要是TG和FFA, 此两种脂质含量较正常对照组显著增加(*P*<0.05), 而多球壳菌素能显著降低NAFLD模型组大鼠肝组织中的TG和FFA水平(*P*<0.05)。

2.2 各组大鼠肝脏组织学检查 正常对照组肝组织结构正常, 成条索状分布, 肝窦清晰可见。NAFLD模型组肝组织出现弥漫性肝细胞脂肪变, 肝细胞浆内脂肪滴明显增大, 将胞核挤至一边。多球壳菌素组可见散在肝细胞中含有脂肪滴, 肝细胞索排列基本整齐(图1)。通过对各组大鼠肝组织脂肪变程度分级比较, 结果显示NAFLD模型组脂肪变程度明显高于正常对照组和多球壳菌素组(*P*<0.05)(表2)。

2.3 各组大鼠肝内神经酰胺水平的检测 对大鼠肝组织神经酰胺进行HPLC/MS检测, 结果显示NAFLD模型组大鼠肝组织中的主要神经酰胺种类是C24:0和C16:0, 此二种神经酰胺水平均明显高于正常对照组(*P*<0.05); 而喂养多球壳菌素的大鼠肝组织中神经酰胺水平则明显低于NAFLD模型组(*P*<0.05), 甚至低于正常对照组, 虽然正常对照组和多球壳菌素组之间差异无统计学意义(*P*>0.05)(表3)。

3 讨论

肝细胞脂质沉积是NAFLD主要病理特征之一, 也是NAFLD形成和发展的先决条件之一。因此, 有效的抑制肝细胞脂质沉积是防治NAFLD的重要途径。本研究采用高脂肪饲料诱导NAFLD大鼠模型, 肝内脂质含量明显高于正常对照组, 肝细胞脂肪变程度也与人类



**■名词解释**  
神经酰胺: 是由长链脂肪酸和鞘氨醇链接而成的鞘脂类物质. 他除了是细胞膜的组成成分, 还作为第二信使参与了细胞增殖, 分化和凋亡等信号通路的传导.

图 1 各组大鼠肝组织脂肪变比较(IHE染色 × 200). A: 正常对照组; B: NAFLD模型组; C: 多球壳菌素组. NAFLD: 非酒精性脂肪肝.

表 2 各组大鼠肝组织脂肪变性程度的比较

脂肪变性程度	正常对照组( <i>n</i> = 11)	NAFLD模型组( <i>n</i> = 9)	多球壳菌素组( <i>n</i> = 9)
F0-1	8	0	5
F2	3	4	3
F3	0	5	1
F4	0	0	0
<i>P</i> 值	<i>P</i> < 0.05 <sup>1</sup>	—	<i>P</i> < 0.05 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>与NAFLD模型组比较. NAFLD: 非酒精性脂肪肝.

表 3 各组大鼠肝组织神经酰胺含量的变化 (mean ± SD, μg/mg蛋白)

分组	C16:0 cer( <i>n</i> = 11)	C18:0 cer( <i>n</i> = 9)	C24:0 cer( <i>n</i> = 9)
正常对照组	4.86 ± 0.36	0.03 ± 0.01	8.26 ± 2.18
NAFLD模型组	11.69 ± 4.96 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.03 <sup>a</sup>	28.13 ± 15.28 <sup>a</sup>
多球壳菌素组	5.47 ± 0.82 <sup>c</sup>	0.03 ± 0.01 <sup>c</sup>	6.23 ± 1.75 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 正常对照组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs NAFLD模型组. NAFLD: 非酒精性脂肪肝; cer: 神经酰胺.

NAFLD相似, 说明NAFLD造模成功. NAFLD大鼠肝内脂质成分检测则显示主要是游离脂肪酸和甘油三酯, 与文献[5]报道相符合. 通过给NAFLD大鼠喂服神经酰胺从头合成抑制剂多球壳菌素后肝内脂质含量和肝脂肪变程度均明显得以改善, 说明抑制神经酰胺合成能减轻NAFLD大鼠肝内脂肪沉积. 本实验还采用

HPLC/MS检测了大鼠肝内神经酰胺含量. 由于大鼠肝内神经酰胺种类主要是C24:0, C16:0和C18:0<sup>[6]</sup>, 本研究未对其他种类的神经酰胺进行检测. 检测结果显示NAFLD模型组大鼠肝内神经酰胺主要是C24:0和C16:0, 其水平明显高于正常对照组, 而多球壳菌素组大鼠的神经酰胺水平则明显减少, 说明多球壳菌素能有效

### 同行评价

多球壳菌素是神经酰胺的阻滞剂, 作者用高脂肪饲料喂养复制大鼠脂肪肝模型, 并用神经酰胺阻滞剂多球壳菌素处理大鼠, 与正常组及模型组进行比较, 证实神经酰胺参与了NAFLD大鼠肝细胞内的脂质沉积过程, 减少神经酰胺有助于减轻肝细胞内的脂质沉积程度。实验设计合理, 结果可信, 论文写作规范, 有一定的可读性。

的抑制NAFLD大鼠肝内神经酰胺的生成。由于多球壳菌素能特异性的抑制神经酰胺从头合成途径的主要限速酶丝氨酸棕榈酰转移酶 (serine palmitoyl-CoA transferase, SPT)<sup>[7]</sup>, 因此也说明NAFLD大鼠肝内的神经酰胺主要来自于从头合成途径。通过对大鼠肝内脂质含量, 肝细胞脂肪变程度以及神经酰胺水平的检测, 我们发现神经酰胺水平与肝细胞脂质沉积具有很好的相关性, 人为的降低神经酰胺水平则能使大鼠肝细胞脂质沉积程度得以改善。

神经酰胺是一类主要分布于细胞膜的鞘脂类物质, 他作为第二信使参与了细胞的凋亡、分化和增殖<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9,10]</sup>发现神经酰胺能诱导胰岛素抵抗、促进线粒体活性氧的生成<sup>[11]</sup>以及肝细胞凋亡<sup>[12]</sup>。通过我们的研究发现神经酰胺能促进肝细胞脂质沉积的形成, 其可能机制是细胞内的神经酰胺能激活神经酰胺活化的蛋白磷酸酶即蛋白磷酸酶2A (protein phosphatase 2A, PP2A)<sup>[13-15]</sup>, PP2A能抑制腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK), AMPK是细胞内的能量代谢调节器, AMPK能减少脂肪的合成, 促进脂肪酸 $\beta$ 氧化, AMPK受抑制则使细胞内脂肪合成增加, 造成脂肪沉积<sup>[16]</sup>。然而其具体作用机制仍不明确, 有待进一步研究。

### 4 参考文献

- 1 楼琦, 石巧娟, 郭红刚, 李巍, 卢领群, 周文伟, 萨晓婴. 非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢及病理变化的动态观察. *中国比较医学杂志* 2012; 22: 5-11
- 2 Chocian G, Chabowski A, Zendzian-Piotrowska M, Harasim E, Łukaszuk B, Górski J. High fat diet induces ceramide and sphingomyelin formation in rat's liver nuclei. *Mol Cell Biochem* 2010; 340: 125-131 [PMID: 20174962 DOI: 10.1007/s11010-010-0409-6]
- 3 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝病杂志* 2006; 14: 161-163
- 4 王咏波, 陈璐璐, 周慙, 王保平. 胰岛素治疗对2型糖尿病大鼠肝脂质含量及胰岛素抵抗的影响. *中华肝病杂志* 2005; 13: 451-454
- 5 Jackson WD, Book LS. Nonalcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: the beleaguered hepatocyte. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015; 60: 287 [PMID: 25564813 DOI: 10.1097/MPG.0000000000000706]
- 6 Kasumov T, Huang H, Chung YM, Zhang R, McCullough AJ, Kirwan JP. Quantification of

- ceramide species in biological samples by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2010; 401: 154-161 [PMID: 20178771 DOI: 10.1016/j.ab.2010.02.023]
- 7 Lowther J, Naismith JH, Dunn TM, Campopiano DJ. Structural, mechanistic and regulatory studies of serine palmitoyltransferase. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 547-554 [PMID: 22616865 DOI: 10.1042/BST20110769]
- 8 Castro BM, Prieto M, Silva LC. Ceramide: a simple sphingolipid with unique biophysical properties. *Prog Lipid Res* 2014; 54: 53-67 [PMID: 24513486 DOI: 10.1016/j.plipres.2014.01.004]
- 9 Sajan MP, Ivey RA, Lee MC, Farese RV. Hepatic insulin resistance in ob/ob mice involves increases in ceramide, aPKC activity, and selective impairment of Akt-dependent FoxO1 phosphorylation. *J Lipid Res* 2015; 56: 70-80 [PMID: 25395359 DOI: 10.1194/jlr.M052977]
- 10 Chaurasia B, Summers SA. Ceramides - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders. *Trends Endocrinol Metab* 2015; 26: 538-550 [PMID: 26412155 DOI: 10.1016/j.tem.2015.07.006]
- 11 Longato L, Tong M, Wands JR, de la Monte SM. High fat diet induced hepatic steatosis and insulin resistance: Role of dysregulated ceramide metabolism. *Hepatol Res* 2012; 42: 412-427 [PMID: 22176347 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00934.x]
- 12 Pagadala M, Kasumov T, McCullough AJ, Zein NN, Kirwan JP. Role of ceramides in nonalcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab* 2012; 23: 365-371 [PMID: 22609053 DOI: 10.1016/j.tem.2012.04.005]
- 13 Zhang QJ, Holland WL, Wilson L, Tanner JM, Kearns D, Cahoon JM, Pettey D, Losee J, Duncan B, Gale D, Kowalski CA, Deeter N, Nichols A, Deesing M, Arrant C, Ruan T, Boehme C, McCamey DR, Rou J, Ambal K, Narra KK, Summers SA, Abel ED, Symons JD. Ceramide mediates vascular dysfunction in diet-induced obesity by PP2A-mediated dephosphorylation of the eNOS-Akt complex. *Diabetes* 2012; 61: 1848-1859 [PMID: 22586587 DOI: 10.2337/db11-1399]
- 14 Bharath LP, Ruan T, Li Y, Ravindran A, Wan X, Nhan JK, Walker ML, Deeter L, Goodrich R, Johnson E, Munday D, Mueller R, Kunz D, Jones D, Reese V, Summers SA, Babu PV, Holland WL, Zhang QJ, Abel ED, Symons JD. Ceramide-Initiated Protein Phosphatase 2A Activation Contributes to Arterial Dysfunction In Vivo. *Diabetes* 2015; 64: 3914-3926 [PMID: 26253611]
- 15 Oaks J, Ogretmen B. Regulation of PP2A by Sphingolipid Metabolism and Signaling. *Front Oncol* 2014; 4: 388 [PMID: 25642418 DOI: 10.3389/fonc.2014.00388]
- 16 Carling D, Mayer FV, Sanders MJ, Gamblin SJ. AMP-activated protein kinase: nature's energy sensor. *Nat Chem Biol* 2011; 7: 512-518 [PMID: 21769098 DOI: 10.1038/nchembio.610]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## FXR在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况

王洁萍, 张孟瑜, 李波, 夏先明

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, 李波, 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, 硕士, 主要从事腹部疾病康复研究.

四川泸州医学院附属医院课题资助项目, No.12284

**作者贡献分布:** 本课题由张孟瑜与夏先明设计; 研究过程与论文写作由王洁萍完成; 数据分析由张孟瑜完成; 试剂由李波提供.

**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

收稿日期: 2015-09-03

修回日期: 2015-10-19

接受日期: 2015-10-26

在线出版日期: 2015-11-18

### Farnesyl X receptor expression in rat bile duct cancer

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

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

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

**Supported by:** Fund of the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College of Sichuan Province, No. 12284

**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: 2015-09-03

Revised: 2015-10-19

Accepted: 2015-10-26

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To develop a rat model of bile duct cancer and detect farnesyl X receptor (FXR) expression in bile duct cancer tissues of this model, in order to provide a new method for the prevention and treatment of bile duct cancer.

**METHODS:** Seventy Wistar rats were randomly divided into either a control group or an experimental group, with 35 rats in each group. The control group was fed an ordinary diet, and the experimental group was fed a 3'-Me-DAB diet. After 20 wk, the bile duct cancer model was successfully established. Bile duct tissues were taken from rats of the control group and bile duct cancer tissues were taken from rats of the experimental group to detect the mRNA expression of FXR by real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and protein expression by immunohistochemistry.

**RESULTS:** qRT-PCR analysis showed that the relative expression level of FXR in the bile duct tissues was significantly higher than in the bile duct cancer tissues. Immunohistochemistry showed that in the experimental group, the positive expression rate of FXR was 21.3%, significantly lower than 72.6% in the control group ( $\chi^2 = 10.17$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The expression of FXR decreases significantly in rat bile duct cancer, which suggests that drugs targeting FXR may be a new therapeutic strategy for bile duct cancer.

### 背景资料

胆管癌的发生、发展和变化过程非常繁杂, 目前临床上现有的手术及非手术治疗手段有限, 且效果并非十分理想.

### 同行评议者

康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普外科

## ■ 研发前沿

目前研究的热点和重点为新型的治疗胆管癌的方法和药物, 而基因治疗目前尚未广泛应用于临床, 但又极具治疗前景, 所以尝试从相关基因入手, 为胆管癌治疗找到新的思路。

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *FXR* gene; Bile duct cancer; 3'-Me-DAB

Wang JP, Zhang MY, Li B, Xia XM. Farnesyl X receptor expression in rat bile duct cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5201-5206 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5201>

## 摘要

**目的:** 本研究通过建立胆管癌大鼠模型, 以法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)为研究对象, 初步探讨FXR在胆管癌大鼠胆管肿瘤组织中的表达状况, 以期治疗胆管癌找到新的方法。

**方法:** 取Wistar大鼠(♂、体质量160 g±8 g) 70只, 随机分为2组, 每组35只: 普通饮食对照组(简称对照组)予以普通饮食、3'-甲基-4-二甲氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)饮食实验组(简称实验组)予以含3'-Me-DAB饮食。经过20 wk, 建立胆管癌大鼠模型, 取对照组胆管组织和实验组胆管肿瘤组织: (1)实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)检测胆管组织和胆管肿瘤组织的FXR基因表达的强度; (2)石蜡切片后用免疫组织化学SP法检测胆管组织和胆管肿瘤组织的FXR蛋白表达的强度。

**结果:** (1) qRT-PCR结果显示: FXR/GAPDH比率在对照组胆管组织中为32, 在实验组胆管肿瘤组织中为9, 两组间的表达有统计学差异; (2)免疫组织化学SP法结果显示, 对照组胆管组织FXR表达阳性率为72.6%, 实验组胆管肿瘤组织FXR表达阳性率为21.3%, 存在统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 实验组大鼠胆管肿瘤组织的FXR基因的表达较对照组胆管组织减少, 提示我们在胆管癌的治疗中, FXR基因有成为新治疗靶点的可能。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** *FXR*基因; 胆管癌; 3'-甲基-4-二甲氨基偶氮苯

**核心提示:** 建立胆管癌大鼠模型, 以法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)为研究对象, 初步探讨FXR在胆管癌大鼠胆管肿瘤组织中的

表达状况, 以期治疗胆管癌找到新的手段和方法。

王洁萍, 张孟瑜, 李波, 夏先明. FXR在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5201-5206 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5201>

## 0 引言

在肝胆系统疾病中胆管癌是常见的恶性肿瘤之一, 治疗困难, 研究资料显示, 其发病率在近年有逐年升高的表现, 但目前各种治疗方法和手段有限, 想要达到良好的效果存在较大的难度。现阶段胆管癌的治疗方法是首选手术切除, 但手术有适应证和局限性, 首先手术切除率处于一个较低的范围, 其次术后5年生存率也不高, 对合并身体多器官功能障碍, 肿瘤已发生浸润或转移者, 则失去了手术的条件, 但化疗、放疗、介入栓塞等非手术治疗方法效果有限<sup>[1-3]</sup>。那么, 是否存在更为有效的方法? 而基因治疗是目前尚未广泛应用又极具前景的治疗方式, 所以, 我们尝试从相关基因入手, 法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)通过调节*Bsep*基因和*Ntcp*基因, 与胆汁酸的分泌及重吸收均有密切关系, 而胆汁酸分泌及重吸收如出现紊乱, 则可能在胆管内增多出现淤积, 形成结石, 进而可能导致胆管组织的恶变, 那么其在胆管癌组织中有无表达? 表达情况又如何? 目前尚无明确的研究, 因此, 本项目拟以FXR为研究对象, 研究在胆管癌大鼠胆管肿瘤细胞中FXR基因表达的状况, 尝试为胆管癌治疗提供新的思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年♂ Wistar大鼠70只, 体质量160 g±8 g, 由泸州医学院动物实验中心提供。主要试剂: 实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)试剂盒(大连宝生物, TaKaRa工程有限公司), FXR单克隆抗体(购自CHEMICON公司, 美国)等。主要仪器设备: ABI7500 qRT-PCR仪(ABI7500), 冰冻切片机(CM1950), HFsafe生物安全柜(1200A2), 显微摄像系统(PM-10A)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 胆管癌大鼠模型制备:** ♀ Wistar大鼠随机分为2组, 每组35只: 普通饮食对照组(简称对

## ■ 相关报道

已有研究通过对正常对照组(NC组)和DM模型组(DM组)FXR在回肠组织mRNA表达水平进行分析, 发现FXR表达异常与糖尿病的发病和糖尿病患者的体质量下降相关。

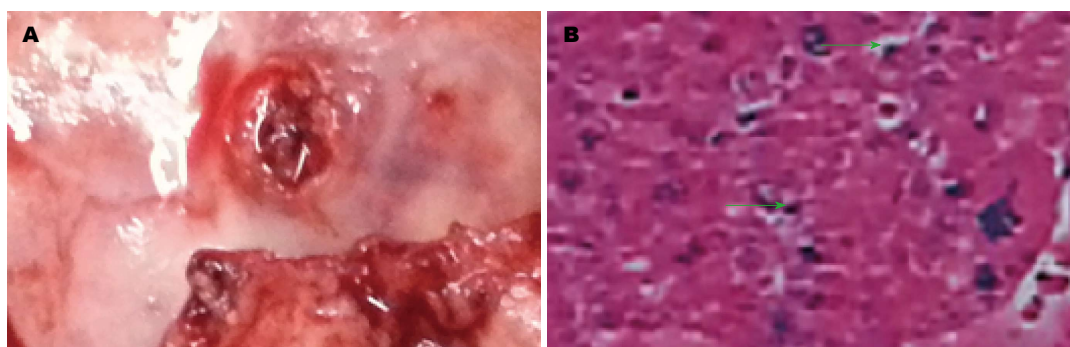


图1 病理检查证实胆管癌大鼠模型建立. A: 胆管癌组织的外观观察情况; B: 胆管癌组织观察情况, 箭头所指为发生核分裂的肿瘤细胞( $\times 100$ ).

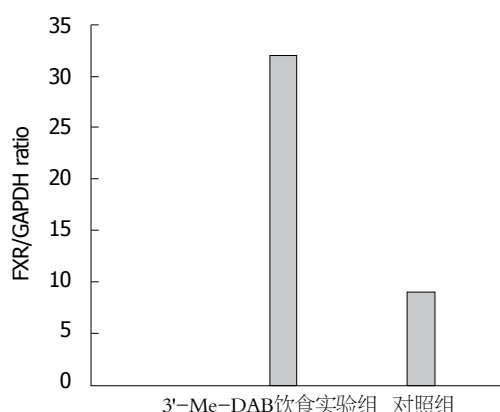


图2 qRT-PCR检测结果. 3'-Me-DAB: 3'-甲基-4-二甲基氨基偶氮苯. FXR: 法尼基衍生物X受体.

对照组)予以普通饮食、3'-甲基-4-二甲基氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)饮食实验组(简称实验组)予以含3'-Me-DAB饮食. 在实验中实验组饲以含3'-Me-DAB饮食, 连续20 wk后改为自由进食; 对照组, 自由饮水及进食. 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, 剖腹观察胆管情况, 记录胆管的形态质地等的变化, 20 wk后经病理检查证实胆管癌大鼠模型建立成功.

1.2.2 实验步骤: 提取建模成功大鼠胆管内胆汁及对对照组大鼠胆管内胆汁, 用自动生化仪检测与胆汁相关各项指标. 取对照组胆管组织和实验组胆管肿瘤组织: (1)qRT-PCR检测胆管组织和胆管肿瘤组织的FXR基因表达的强度, 胆管组织和胆管肿瘤组织中RNA的提取参照TRIzol试剂说明书进行操作, 序列扩增机器为ABI7500, 以GAPDH为内参照. 设计FXR的上游引物为5'-CCTCATTGTCTCCCCGACTTATCCT-3', 下游引物为3'-GCCTCTA

GAAAGCAGTGTTCACCTT-5'; GAPDH的上游引物为5'-GATGGTGGGTATGGGTCAGAA-3', 下游引物为3'-CTAGGAGCCAGGGCAGTAATC-5'; (2)石蜡切片后用免疫组织化学SP法检测胆管组织和胆管肿瘤组织的FXR蛋白表达的强度.

1.2.3 观察指标: FXR在正常胆管组织及胆管肿瘤组织中表达情况.

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 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 判断组间差异采用 $t$ 检验及 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

实验组大鼠自第6周开始, 进食量逐渐出现下降, 部分体质量与对照组相比明显偏低, 喂食至20 wk后死亡2只. 对照组大鼠生长及饮食较好, 未出现死亡病例. 20 wk后经病理检查证实已建立胆管癌大鼠模型, 模型建立成功率为92.6%, 病理类型均为腺癌, 未建模成功大鼠经镜下观察其部分胆管细胞也已成异形性改变. 实验组大鼠胆管肿瘤组织主要集中在肝门部, 少数在左右肝部分组织也出现肿瘤(图1).

同时, 提取建模成功大鼠胆管内胆汁及对对照组大鼠胆管内胆汁, 用自动生化仪检测与胆汁相关各项指标, 所得结果如表1.

2.1 qRT-PCR检测结果 使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表达FXR扩增情况, 经过8个循环后, 使用 $t$ 检验对组间差异进行分析, 所得结果显示 $t = 2.322$ ,  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义(图2).

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: 胆管组织和胆管肿瘤组织中FXR蛋白出现黄色染色颗粒为阳性细胞(绿

### 创新盘点

本文从胆管癌相关基因FXR入手, 初步发现了FXR在胆管癌组织中的表达状况, 为胆管癌治疗找寻新的方法.



应用要点

通过初步发现FXR在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况,为进一步寻找作用于FXR基因的药物打下基础,从而改善胆管癌治疗的方法和措施。

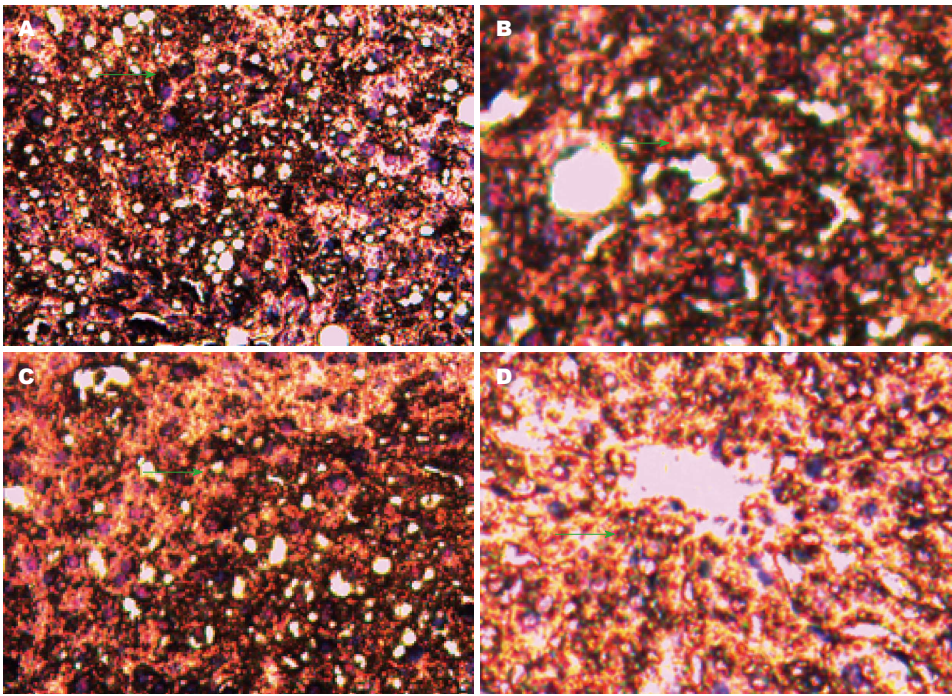


图 3 免疫组织化学SP法染色结果. A, B: FXR蛋白在实验组中的阳性表达(A:  $\times 100$ , B:  $\times 200$ ); C, D: FXR蛋白在对照组中的阳性表达(C:  $\times 100$ , D:  $\times 200$ ). 箭头所指即为FXR蛋白. FXR: 法尼基衍生物X受体.

表 1 胆管内胆汁相关指标检测结果 ( $n = 35$ , mean  $\pm$  SD)

胆汁相关指标	对照组	实验组
TC(mmol/L)	2.36 $\pm$ 0.15	5.92 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
TBA( $\mu$ mol/L)	1.79 $\pm$ 0.03	4.71 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
TBIL( $\mu$ mol/L)	3.82 $\pm$ 0.06	3.90 $\pm$ 0.05
DBIL( $\mu$ mol/L)	0.56 $\pm$ 0.03	1.67 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. TC: 胆固醇; TBA: 总胆汁酸; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素.

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.  $\chi^2$ 检验显示: 实验组胆管肿瘤组织FXR蛋白表达阳性率为21.3%, 对照组胆管组织FXR蛋白表达阳性率为72.6%( $\chi^2 = 10.17, P < 0.05$ ), 有统计学意义(图3).

3 讨论

胆管癌是胆道系统常见的恶性肿瘤之一, 以肝外胆管所占比例较高, 目前胆管癌的病因尚不完全清楚, 现认为其发病是各种因素综合作用的结果、且所经历的时间和过程均较长. 现阶段研究我们可以得知的是胆管结石、先天性胆管扩张等都可能与胆管癌发病相关, 但具体的变化过程并不十分明确. 由于导致胆管癌产

生的综合因素较多, 所以目前的治疗有各种困难存在<sup>[4-6]</sup>. 就现阶段的治疗方法来讲, 早期的胆管癌可以行根治性的手术切除, 而一旦肿瘤发生浸润或远处转移, 那么手术则不能再作为首选的治疗手段, 而各种非手术治疗方法效果有限, 即便是使用了上述的治疗方法, 胆管癌的5年生存率依然较低, 其治疗方法有待发展和提高. 所以, 我们反复思考, 能不能找到一种行之有效的办法? 而就目前而言, 基因治疗是一种尚未广泛应用于临床但又极具前景的治疗方案, 可能使胆管癌的治疗产生重大的变化. 所以, 我们从相关基因FXR入手设计了上述的对比试验, 以期能发现一些与胆管癌相关的变化<sup>[7-9]</sup>.

FXR是一种孤儿核受体, 胆汁酸是内源性FXR配体, 因此FXR又被称为胆汁酸受体<sup>[10-12]</sup>. FXR作为胆汁酸的受体可以通过调控参与胆汁酸代谢基因的表达来维持胆汁酸的内环境稳定, *Bsep*和*Ntcp*均为FXR靶基因. 胆汁酸形成后, 在FXR调节下, 胆汁酸首先通过*Bsep*分泌至肠道, 进入肠道后, 经过一系列受体和介质的作用, 约80%胆汁酸在*Ntcp*协助下, 重吸收进入肝脏, 形成胆汁酸的肠肝循环; *Bsep*与*Ntcp*的表达强弱, 直接决定着胆汁酸分泌与重吸收量的多少. 而*Bsep*与*Ntcp*的表达情况, 则直接受到FXR的调节和控制<sup>[13-15]</sup>. 因此一旦

FXR功能出现紊乱, 则胆汁酸排泄与重吸收出现紊乱, 造成胆汁酸淤积, 则可能出现胆固醇、胆色素等在胆管的沉积, 从而形成结石, 而胆管结石的长期存在, 反复刺激胆管及胆管周围组织产生炎症, 继而可引起胆管细胞的恶变; 而胆管结石正是我们目前了解的可能产生胆管癌的原因之一。因此, *FXR*基因的表达和变化情况是我们所关注的重点<sup>[16,17]</sup>。

我们在设计的试验中观察发现, 通过20 wk时间含3'-Me-DAB饮食的喂养, 在体质量及饮水量方面模型组大鼠均较对照组呈现逐步降低的状态, 除去建模过程中剖腹观察大鼠及死亡大鼠, 建立胆管癌大鼠模型成功率为92.6%, 病理检查类型均为腺癌, 浸润性生长者占绝大部分, 而其中2只大鼠出现了外生性生长的情况, 经镜下观察未建模成功大鼠其部分胆管细胞也已出现了异形性改变。肿瘤组织主要集中在肝门部, 约11.5%大鼠在左右肝部分组织也出现了肿瘤。当建立模型成功后, 在试验中首先检测对照组大鼠胆管内胆汁及建模成功大鼠胆管内胆汁各相关指标, 发现血清总胆汁酸(total bile acids, TBA)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)等指标在模型组中出现了上升的表现, 与对照组相比, 出现了统计学差异。通过使用qRT-PCR对*FXR*基因表达进行检测、发现在对照组胆管组织中*FXR*基因相对表达率约为模型组胆管肿瘤组织中*FXR*基因相对表达率的3.56倍; 免疫组织化学对FXR蛋白表达进行检测, 发现在对照组胆管组织中FXR蛋白阳性表达率约为模型组胆管肿瘤组织中FXR蛋白阳性表达率的3.41倍。从而证实胆管癌大鼠的胆管肿瘤组织中*FXR*基因出现了明显变化的情况, 表达降低显著, 较对照组有明显的减少; 说明在胆管癌的胆管肿瘤组织中胆汁酸的分泌及重吸收开始紊乱, 随着*FXR*基因表达的减少, 胆汁酸大量在胆管内积聚<sup>[18,19]</sup>, 由此我们初步考虑在正常生理状态时如果胆汁酸增加, 则会伴随*FXR*基因表达增强, 从而加快胆汁酸的排泄, 减少胆汁酸的重吸收, 降低胆管内胆汁酸的浓度, 避免过高浓度胆汁酸对肝细胞及胆管细胞的损害; 而胆管癌时则出现了胆汁酸的代谢障碍, 随着*FXR*基因表达的减弱, 在胆管内出现大量胆汁酸淤积, 进而导致胆固醇和胆色素的沉积, 刺激胆管上皮细胞, 出现胆管炎

及胆管周围组织炎症, 胆管细胞反复出现破坏及增生, 进一步可能导致胆管细胞发生恶变。那么, 既然已经发现在胆管癌胆管肿瘤组织中*FXR*基因表达降低, 其是否会体现出新的治疗方式? 我们会在此实验模型建立基础上继续进行*FXR*基因敲除, *FXR*基因增强表达, 多种药物干预等实验, 观察肿瘤大小和数量的变化情况。在目前所用治疗胆管癌的药物数量及品种稀缺, 其次普遍存在各种各样的问题, 可能无法完全达到治疗目的、服用时间较长、对胃肠道刺激大、损害身体其他器官功能、患者难以持续接受治疗等缺点, 上述情况阻碍了其作为临床治疗药物的广泛应用, 但目前尚无在临床广泛应用的药物, 既可以直接作用于胆管癌相关基因时又能产生较好疗效。因此, *FXR*基因表达变化的发现, 可能为在基础研究和临床治疗胆管癌时提供新的药物治疗靶点<sup>[20,21]</sup>, 找到一种新的治疗方向。

#### ■名词解释

法尼基衍生物X受体(FXR): 通过对Bsep及Ntcp的调节, 对胆汁酸盐浓度稳定的维持、胆汁酸盐的肠肝循环中胆汁酸分泌及重吸收等生理功能具有重要作用。

#### 4 参考文献

- 1 Ruzzenente A, Conci S, Valdegamberi A, Pedrazzani C, Guglielmi A. Role of surgery in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 2892-2900 [PMID: 26241545]
- 2 Ignjatović II, Matic SV, Dugalić VD, Knežević DM, Micev MT, Marko D Bogdanović SM. A Case of Autoimmune Cholangitis Misdiagnosed for Cholangiocarcinoma: How to Avoid Unnecessary Surgical Intervention? *Srp Arh Celok Lek* 2015; 143: 337-340 [PMID: 26259410]
- 3 Ciresa M, De Gaetano AM, Pompili M, Saviano A, Infante A, Montagna M, Guerra A, Giuga M, Vellone M, Ardito F, De Rose A, Giuliente F, Vecchio FM, Gasbarrini A, Bonomo L. Enhancement patterns of intrahepatic mass-forming cholangiocarcinoma at multiphasic computed tomography and magnetic resonance imaging and correlation with clinicopathologic features. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 2786-2797 [PMID: 26241531]
- 4 Park JI. Primary hepatic tuberculosis mimicking intrahepatic cholangiocarcinoma: report of two cases. *Ann Surg Treat Res* 2015; 89: 98-101 [PMID: 26236700 DOI: 10.4174/ast.2015.89.2.98]
- 5 Cheng CT, Chu YY, Yeh CN, Huang SC, Chen MH, Wang SY, Tsai CY, Chiang KC, Chen YY, Ma MC, Liu CT, Chen TW, Yeh TS. Peritumoral SPARC expression and patient outcome with resectable intrahepatic cholangiocarcinoma. *Oncotargets Ther* 2015; 8: 1899-1907 [PMID: 26251613 DOI: 10.2147/OTT.S78728]
- 6 Schmeding M, Neumann UP. Liver Transplant for Cholangiocarcinoma: A Comeback? *Exp Clin Transplant* 2015; 13: 301-308 [PMID: 26295179]
- 7 Vaquero J, Monte MJ, Dominguez M, Muntané J, Marin JJ. Differential activation of the human

# ■ 同行评价

本文研究了大鼠胆管肿瘤组织的FXR基因的表达, 样本量充足, 并提供了科学的、有意义的医疗信息, 具有一定的创新性与开拓性。

- 8 Farnesoid X receptor depends on the pattern of expressed isoforms and the bile acid pool composition. *Biochem Pharmacol* 2013; 86: 926-939 [PMID: 23928191 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.07.022]
- 9 Fiorucci S, Cipriani S, Mencarelli A, Baldelli F, Bifulco G, Zampella A. Farnesoid X receptor agonist for the treatment of liver and metabolic disorders: focus on 6-ethyl-CDCA. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 753-762 [PMID: 21707532]
- 10 Cully M. Obesity and diabetes: FXR and JAK step up to BAT. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14: 91 [PMID: 25633788 DOI: 10.1038/nrd4543]
- 11 Zhu Y, Li F, Guo GL. Tissue-specific function of farnesoid X receptor in liver and intestine. *Pharmacol Res* 2011; 63: 259-265 [PMID: 21211565 DOI: 10.1016/j.phrs.2010.12.018]
- 12 Carr RM, Reid AE. FXR agonists as therapeutic agents for non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Atheroscler Rep* 2015; 17: 500 [PMID: 25690590 DOI: 10.1007/s11883-015-0500-2]
- 13 Matsubara T, Li F, Gonzalez FJ. FXR signaling in the enterohepatic system. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 368: 17-29 [PMID: 22609541 DOI: 10.1016/j.mce.2012.05.004]
- 14 Chen Y, Song X, Valanejad L, Vasilenko A, More V, Qiu X, Chen W, Lai Y, Slitt A, Stoner M, Yan B, Deng R. Bile salt export pump is dysregulated with altered farnesoid X receptor isoform expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1530-1541 [PMID: 23213087 DOI: 10.1002/hep.26187]
- 15 Hambruch E, Miyazaki-Anzai S, Hahn U, Matysik S, Boettcher A, Perović-Ottstadt S, Schlüter T, Kinzel O, Krol HD, Deuschle U, Burnet M, Levi M, Schmitz G, Miyazaki M, Kremoser C. Synthetic farnesoid X receptor agonists induce high-density lipoprotein-mediated transhepatic cholesterol efflux in mice and monkeys and prevent atherosclerosis in cholesteryl ester transfer protein transgenic low-density lipoprotein receptor (-/-) mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 343: 556-567 [PMID: 22918042 DOI: 10.1124/jpet.112.196519]
- 16 Osório J. Obesity: Gut-specific FXR agonism. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11: 131 [PMID: 25623122 DOI: 10.1038/nrendo.2015.4]
- 17 Chen WD, Wang YD, Meng Z, Zhang L, Huang W. Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 888-892 [PMID: 21167938 DOI: 10.1016/j.bbdis.2010.12.006]
- 18 Modica S, Petruzzelli M, Bellafante E, Murzilli S, Salvatore L, Celli N, Di Tullio G, Palasciano G, Moustafa T, Halilbasic E, Trauner M, Moschetta A. Selective activation of nuclear bile acid receptor FXR in the intestine protects mice against cholestasis. *Gastroenterology* 2012; 142: 355-365.e1-e4 [PMID: 22057115 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.028]
- 19 Gray MA, James Squires E. Investigation of the dominant positive effect of porcine farnesoid X receptor (FXR) splice variant 1. *Gene* 2015; 560: 71-76 [PMID: 25623328 DOI: 10.1016/j.gene.2015.01.046]
- 20 Thomas AM, Hart SN, Kong B, Fang J, Zhong XB, Guo GL. Genome-wide tissue-specific farnesoid X receptor binding in mouse liver and intestine. *Hepatology* 2010; 51: 1410-1419 [PMID: 20091679 DOI: 10.1002/hep.23450]
- 21 Meng Q, Chen XL, Wang CY, Liu Q, Sun HJ, Sun PY, Huo XK, Liu ZH, Yao JH, Liu KX. Alisol B 23-acetate protects against ANIT-induced hepatotoxicity and cholestasis, due to FXR-mediated regulation of transporters and enzymes involved in bile acid homeostasis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2015; 283: 178-186 [PMID: 25655198 DOI: 10.1016/j.taap.2015.01.020]
- 22 Noh K, Kim YM, Kim YW, Kim SG. Farnesoid X receptor activation by chenodeoxycholic acid induces detoxifying enzymes through AMP-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase 1/2-mediated phosphorylation of CCAAT/enhancer binding protein  $\beta$ . *Drug Metab Dispos* 2011; 39: 1451-1459 [PMID: 21596890 DOI: 10.1124/dmd.111.038414]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





# 质量反馈理论对食管癌辅助化疗患者癌因性疲乏及生存质量的影响

林 芹, 何宁宁, 石海杰

林芹, 何宁宁, 海南省人民医院护理部 海南省海口市 570311

石海杰, 海南省人民医院消化内科 海南省海口市 570311

林芹, 副主任医师, 从事内科护理相关工作。

**作者贡献分布:** 此课题由林芹、何宁宁及石海杰设计; 研究过程及数据分析由林芹与何宁宁共同实施完成; 本论文写作由林芹完成。

**通讯作者:** 林芹, 副主任护师, 570311, 海南省海口市秀英区秀华路19号, 海南省人民医院护理部. xjw\_vh@163.com  
电话: 0898-68622161

收稿日期: 2015-07-29

修回日期: 2015-10-17

接受日期: 2015-10-26

在线出版日期: 2015-11-18

## Effect of quality feedback theory based nursing on cancer related fatigue and quality of life in esophageal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy

Qin Lin, Ning-Ning He, Hai-Jie Shi

Qin Lin, Ning-Ning He, Department of Nursing, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

Hai-Jie Shi, Department of Gastroenterology, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

**Correspondence to:** Qin Lin, Associate Chief Nurse, Department of Nursing, Hainan Provincial People's Hospital, 19 Xiuhua Road, Xiuying District, Haikou 570311, Hainan Province, China. xjw\_vh@163.com

Received: 2015-07-29

Revised: 2015-10-17

Accepted: 2015-10-26

Published online: 2015-11-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of quality feedback theory based nursing on cancer related fatigue and quality of life in esophageal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy.

**METHODS:** A total of 90 esophageal cancer patients treated at our hospital from July 2014 to July 2012 were randomly divided into a study group (45 cases) and a control group (45 cases). The control group received routine nursing, and the study group received quality feedback theory based nursing. Cancer related fatigue, anxiety (SAS score), depression (SDS score), quality of life, health knowledge, and satisfaction were compared between the two groups before and after nursing.

**RESULTS:** After nursing, SDS and SAS scores significantly decreased in both groups ( $P < 0.05$ ), and the improvement was more significant in the study group than in the control group ( $P < 0.05$ ). The fatigue level was significantly lower in the study group than in the control group, and the KPS score was significantly higher than in the control group ( $P < 0.05$ ). After nursing, social function, role function, physical function, cognitive function and the total score were significantly improved in both groups, and the improvement was more significant in the study group than in the control group ( $P < 0.05$ ). Health knowledge score and satisfaction degree were significantly

## ■背景资料

食管癌临床治疗中经常会辅助化疗, 长期化疗治疗很容易导致患者的不良情绪发生, 甚至出现癌因性疲乏的状况, 最终引起生活质量的下降。因此, 加强针对性的护理管理对提高化疗效果和改善不良情绪均具有重要的意义。

## ■同行评议者

孙莉, 副主任护师, 大连医科大学附属第一医院心脏重症监护室

## ■ 研究前沿

该研究对食管癌辅助化疗中面临的一系列护理问题进行深入的探讨,并准确的了解患者的需求,并通过引入质量反馈理论方法进行实施对患者的临床护理,更好的解决食管癌辅助化疗的护理问题,提高生活质量。

higher in the study group than in the control group, but the incidence rates of oral ulcer, esophagitis, esophageal obstruction, and gastrointestinal tract reaction were significantly lower in the study group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Quality feedback theory based nursing can significantly improve negative emotion, eliminate cancer related fatigue, and improve quality of life and prognosis in patients with esophageal cancer on chemotherapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Quality feedback theory; Esophageal cancer; Adjuvant chemotherapy; Cancer related fatigue; Quality of life

Lin Q, He NN, Shi HJ. Effect of quality feedback theory based nursing on cancer related fatigue and quality of life in esophageal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5207-5212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5207.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5207>

## 摘要

**目的:** 探讨质量反馈理论对食管癌辅助化疗患者癌因性疲乏及生存质量的影响。

**方法:** 将2013-07/2014-07在海南省人民医院拟行化疗的90例食管癌患者按照随机数字表法分为研究组45例和对照组45例,对照组给予常规护理方案,研究组以质量反馈理论为指导,制定护理计划;分别于护理前、护理后对两组患者癌因性疲乏、焦虑、抑郁评分、生存质量、健康知识得分、护理工作满意度进行评价。

**结果:** 护理后两组患者SAS、SDS评分均显著降低( $P < 0.05$ ),其中护理后研究组SAS、SDS评分亦显著低于对照组( $P < 0.05$ );护理后研究组疲乏程度显著低于对照组, KPS评分显著高于对照组( $P < 0.05$ )。两组患者护理后社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能、总分均显著提高,其中护理后研究组社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能、总分显著高于对照组( $P < 0.05$ )。护理后研究组健康知识得分、护理工作满意度得分均显著高于对照组,研究组口腔溃疡、食管炎、食管梗阻、胃肠道反应发生率均显著低于对照组,两组间比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:** 质量反馈理论能够显著改善食管癌化疗患者负性情绪,消除癌因性疲乏,提高患者生存质量,对促进患者预后具有重要作用。

**关键词:** 质量反馈理论; 食管癌; 辅助化疗; 癌因性疲乏; 生存质量

**核心提示:** 食管癌辅助化疗中存在负面情绪,且很容易产生癌因性疲乏(cancer related fatigue, CRF)状况。临床中应用质量反馈理论可以更好的改善患者的负面情绪,进一步提高其生活质量,最终极大地消除了CRF,临床应用价值高。

林芹, 何宁宁, 石海杰. 质量反馈理论对食管癌辅助化疗患者癌因性疲乏及生存质量的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5207-5212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5207.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5207>

## 0 引言

食管癌是临床上常见的消化系统恶性肿瘤,其发病率和死亡率居各类消化系统肿瘤的第2位<sup>[1]</sup>。手术、化疗是治疗食管癌的首选方法,然而食管癌化疗后所致的癌因性疲乏(cancer related fatigue, CRF)<sup>[2]</sup>严重影响了患者的生活质量与预后。调查显示食管癌化疗患者疲乏程度高于其他肿瘤,患者多因虚弱、易受累、缺乏激情等主观感受而抗拒治疗,部分患者甚至因CRF而中断治疗,给患者的治疗带来困扰<sup>[3]</sup>。质量反馈理论是基于实际工作中的问题,对下一步工作计划进行补充和改善,最终提高整体护理质量。本研究拟对食管癌辅助化疗患者以质量反馈理论为指导制定护理计划,观察患者的CRF及生活质量的影响,旨在为食管癌患者化疗护理提供依据,现将护理成果报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2013-07/2014-07在海南省人民医院行手术治疗食管癌的90例患者作为研究对象,所有患者均拟在术后住院行常规化疗。男57例,女33例;年龄32-76岁,平均60.4岁 $\pm$ 7.9岁;受教育程度:小学-初中27例,高中/中专39例,大专及以上24例;食管癌临床分期:Ⅰ期7例,Ⅱ期51例,Ⅲ期32例;CRF程度:轻度疲乏17例,中度疲乏58例,重度疲乏15例。纳入标准:(1)经病理活检证实为食管癌,手术切除后拟行化学治疗;(2)意识清晰,能够独立沟通;(3)卡氏评分 $\geq$ 40分;(4)取得患者知情,并签署知

## ■ 相关报道

食管癌辅助化疗中的临床护理方法在临床中已经有较多的报道,多数都是以问题的方式进行解决问题,最终达到改善的效果。但是,质量反馈理论的报道并不是很多见,且本次研究对质量反馈理论引入进行重点阐述。

表1 两组患者一般资料比较( $n=45$ )

分组	研究组	对照组	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
性别(男/女)	29/16	28/17	0.048	0.827
年龄(岁)	60.1 $\pm$ 6.4	60.7 $\pm$ 8.3	0.384	0.351
受教育程度			0.526	0.769
小学-初中	15	12		
高中/中专	19	20		
大专及以上	11	13		
临床分期			0.819	0.664
I	4	3		
II	27	24		
III	14	18		
疲乏程度			3.300	0.192
轻	7	10		
中	33	25		
重	5	10		

情同意书。排除标准: (1)合并有其他恶性肿瘤者; (2)肝肾功能不全、凝血功能异常或其他药物禁忌证者; (3)精神病史、意识障碍或语言表达不清者。将符合标准的90例患者按照随机数字表法分为研究组45例和对照组45例, 两组患者性别、年龄、受教育程度、临床分期、CRF程度等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性(表1)。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者术后行顺铂+5-Fu化疗方案, 即静脉滴注顺铂20 mg/m<sup>2</sup>, 第1-5天, 5-Fu 500 mg/m<sup>2</sup>; 或紫杉醇+顺铂+5-Fu化疗方案, 即第1天静脉滴注紫杉醇175 mg/m<sup>2</sup>、第1天顺铂80 mg/m<sup>2</sup>、第1-5天5-Fu 750 mg/m<sup>2</sup>。对照组给予常规护理方案, 包括化疗准备、心理支持、饮食指导、自我观察等, 患者入院时进行健康宣教, 告知患者注意事项。研究组以质量反馈理论为指导, 制定护理计划, 整个护理流程为: 评估患者情况-制定护理计划-实施护理-评价护理效果-修正、改进。

评估: 由护理部牵头、以护士长为负责人, 成立质量管理小组。患者入组后首先针对自身情况进行综合评估, 根据评估的结果制定个性化的护理方案, 并将护理方案请相关专家认证, 一经通过按照护理方案实施护理; 同时将护理方案上报至护理部备案。

实施护理: (1)运动指导: 根据患者的身体情况鼓励患者进行适当运动, 运动量以不感到疲劳为宜, 注意劳逸结合; 平时加强个人卫生

护理, 勤洗澡勤换衣; (2)饮食指导: 建议患者以流质或半流质饮食为主; 饮食结构以高热量、高蛋白、高维生素和纤维素为主, 避免使用辛辣、刺激性食物; (3)用药指导: 向患者及家属介绍化疗药物相关知识, 按时、按量、遵医嘱服药, 告诉患者有些不良反应如脱发、胃肠道反应是常见的不良反应, 停药后会自行消失, 避免因患者不了解药物情况而引起的恐慌。

效果评价: 在执行护理方案时, 责任护士将日常遇到的问题、执行步骤的偏差进行记录、总结; 护士长定期每周召开总结会, 对本周内出现的问题进行汇总, 并参考相关资料提出相应解决措施。

修正、改进: 将上一阶段护理中存在的问题解决办法以经验总结形式下发给每个病区护士, 并重新改进护理方案, 以完成逐渐循环、不断提升护理质量, 最终达到最佳护理效果。

1.2.2 观察指标: (1)采用Zung焦虑自评量表<sup>[4]</sup>(Self-Rating Anxiety Scale, SAS)和抑郁自评量表<sup>[5]</sup>(Self-Rating Depression Scale, SDS)对患者护理前后焦虑、抑郁情绪进行评价, SAS、SDS满分均为100分, 其中临界分值为50分, 得分越高患者焦虑、抑郁情绪越严重; (2)采用简明疲乏量表<sup>[6]</sup>(Brief Fatigue Inventory, BFI)对两组患者护理后CRF进行评价, BFI满分10分: 在纸上划10 cm直线, 0分代表无疲乏, 10分代表严重疲乏。0-10分分别代表不同程度的疲乏程度, 其中0分代表无疲乏; 1-3分代表轻度疲乏; 4-7分代表中度疲乏; 8-10分代表重度疲乏。采用KPS<sup>[7]</sup>对患者体能状况进行评价, KPS按照体能状况由低到高分10档, 每档10分, 满分100分, 得分越高代表体能状况越好; (3)分别于入院时、出院前1 d采用生存质量采用SF-36简明健康状况量表<sup>[8]</sup>进行评价, SF-36量表由社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能和总分5项组成, 每项满分均为100分, 得分越高代表患者生活质量越高; (4)采用自行设计的调查问卷对两组患者健康知识得分、护理工作满意度进行评价, 调查问卷预实验Cronbach's  $\alpha$ 系数分别为0.817, 信效度良好; (5)记录两组患者化疗期间不良反应发生情况。

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行检验, 计量资料采用mean $\pm$ SD示, 两组间比较采用 $t$ 检验, 计数资料以率的形式表示, 采用 $\chi^2$ 检验, 等级资料采用Wilcoxon秩和检验, 以

## 创新盘点

本研究对质量反馈理论引入食管癌辅助化疗护理中进行深入的分析, 并且从不同的角度和客观指标进行阐述应用的优越性, 尤其对提高患者的生活质量具有重要的应用价值, 文章的观点鲜明, 创新性也相对比较强。



应用要点

该研究在实际的临床工作中具有较好的指导意义, 尤其对提高食管癌化疗患者的生活质量和改善不良情绪方面具有重要的优越性。同时, 质量反馈理论的临床应用前景也相对比较广泛, 应用价值高。

表 2 两组患者护理前后SAS、SDS评分比较 (n = 45, mean ± SD, 分)

分组	SAS		t值	P值	SDS		t值	P值
	护理前	护理后			护理前	护理后		
研究组	58.7 ± 7.4	42.6 ± 4.9	12.169	0.000	62.8 ± 7.9	41.4 ± 5.1	15.267	0.000
对照组	59.3 ± 8.2	47.8 ± 5.3	7.901	0.000	61.3 ± 7.5	48.9 ± 6.7	8.271	0.000
t值	0.364	4.833			0.924	5.975		
P值	0.358	0.000			0.179	0.000		

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表。

表 3 两组患者护理后CRF状况比较 (n = 45, n%)

分组	CRF				KPS评分(分)
	无疲乏	轻度	中度	重度	
研究组	14	16	12	3	87.5 ± 13.7
对照组	2	17	22	4	81.4 ± 10.5
Z/t值		Z = 4.464			Z = 2.371
P值		0.000			0.010

CRF: 癌因性疲乏。

P<0.05代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者护理前后SAS、SDS评分比较 护理后两组患者SAS、SDS评分均显著降低 (P<0.05), 其中护理后研究组SAS、SDS评分亦显著低于对照组 (P<0.05)(表2)。

2.2 两组患者护理后CRF状况比较 护理后研究组疲乏程度显著低于对照组, KPS评分显著高于对照组, 两组间比较差异具有统计学意义 (P<0.05)(表3)。

2.3 两组患者护理前后生存质量比较 两组患者护理后社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能、总分均显著提高, 其中护理后研究组社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能、总分显著高于对照组 (P<0.05)(表4)。

2.4 两组患者健康知识得分、护理工作满意度比较 与对照组相比, 研究组护理后研究组康知识得分(61.6分±10.8分 vs 56.9分±8.9分)护理工作满意度得分(67.3分±12.6分 vs 57.9分±11.4分)均显著高于对照组, 两组间比较差异具有统计学意义 (P<0.05)。

2.5 两组患者不良反应发生率比较 护理后研究组口腔溃疡、食管炎、食管梗阻、胃肠道反应发生率均显著低于对照组, 两组间比较差异

具有统计学意义 (P<0.05)(表5)。

3 讨论

护理模式的不同, 对患者康复具有较大的影响。食管癌患者化疗过程中身体受到严重伤害, 导致负性情绪明显, 因此需要对此类患者加强心理、生理方面的护理。质量反馈理论是在不同总结护理工作中的经验, 并在下一步护理计划中进行改进和提升, 从而实现护理质量持续性提高, 对提高护理效率、改善患者预后具有重要作用。有报道<sup>[9]</sup>称化疗引起的机体损伤会随时间逐渐增加, 即使中断化疗, 损害的后续效应依然会持续一段时间, 因此加强食管癌化疗期间护理显得尤为重要。

化疗期食管癌患者常对病情持回避态度, 因此多表现出情绪低落、自卑、失望等负性情绪, 对患者康复产生严重影响<sup>[10,11]</sup>。本研究显示, 质量反馈理论能够显著改善患者的焦虑、抑郁情绪, 使患者保持健康的心理状态, 从内心增加战胜疾病的信心。调查显示约有80%的肿瘤患者存在疲乏的经历, 其中75%的患者在化疗期间至少有几天感到疲乏, 25%的患者几乎每天都经历疲乏<sup>[12]</sup>。食管癌患者由于进食障碍, 导致CRF显著高于其他肿瘤。虽然CRF已被临床医生所关注, 但是针对CRF专门性护理依然较少。本研究针对CRF的特点, 采用评估患者情况-制定护理计划-实施护理-评价护理效果-修正、改进模式, 保证了护理质量的连续性和持续改进性, 避免经验和直观护理的盲目性; 护理结果显示研究组疲乏程度显著低于对照组, KPS评分显著高于对照组, 与文献[13]报道结论一致, 说明质量反馈理论能够有效缓解患者疲乏、改善患者体力状态, 为提高患者预后提供了身体保障。

生存质量是个多维度概念, 包括躯体、社

表 4 两组患者护理前后生存质量比较 ( $n = 45$ , mean  $\pm$  SD,分)

分组	研究组	对照组	$t$ 值	$P$ 值
社会功能				
护理前	45.2 $\pm$ 8.1	43.9 $\pm$ 9.2	0.711	2.760
护理后	57.5 $\pm$ 9.1	52.7 $\pm$ 7.3	0.239	0.004
$t$ 值	6.773	5.026		
$P$ 值	0.000	0.000		
角色功能				
护理前	45.9 $\pm$ 8.5	45.1 $\pm$ 9.0	0.434	0.333
护理后	62.3 $\pm$ 7.6	58.5 $\pm$ 6.1	2.616	0.005
$t$ 值	9.649	8.268		
$P$ 值	0.000	0.000		
躯体功能				
护理前	35.3 $\pm$ 4.2	36.2 $\pm$ 5.2	0.903	0.184
护理后	53.1 $\pm$ 5.4	48.7 $\pm$ 4.9	4.048	0.000
$t$ 值	17.454	11.736		
$P$ 值	0.000	0.000		
认知功能				
护理前	42.5 $\pm$ 5.3	44.1 $\pm$ 5.7	1.379	0.086
护理后	57.7 $\pm$ 7.3	52.4 $\pm$ 6.4	3.662	0.000
$t$ 值	11.303	6.497		
$P$ 值	0.000	0.000		
总分				
护理前	45.1 $\pm$ 5.2	46.4 $\pm$ 4.9	1.221	0.113
护理后	61.9 $\pm$ 7.8	54.8 $\pm$ 7.1	4.516	0.000
$t$ 值	12.022	6.532		
$P$ 值	0.000	0.000		

■名词解释

癌因性疲乏: 是指由于肿瘤及相关治疗引起患者长期紧张和痛苦而产生的一系列主观感觉, 如虚弱、活动无耐力、注意力不集中、动力或兴趣减少等;  
生存质量: 全面评价生活优劣的概念, 通常指社会政策与计划发展的一种结果。

表 5 两组患者不良反应发生率比较 ( $n = 45$ ,  $n(\%)$ )

分组	口腔溃疡	食管炎	食管梗阻	皮炎	胃肠道反应
研究组	14(31.1)	11(24.4)	0	2(4.4)	16(35.6)
对照组	25(55.6)	22(48.9)	5(11.1)	3(6.7)	28(62.2)
$\chi^2$ 值	5.475	5.789	5.294	0.212	6.403
$P$ 值	0.019	0.016	0.021	0.645	0.011

会角色、认知、社会支持等各个方面, 影响肿瘤患者生存质量的原因较多, 其中CRF与生存质量关系最为密切。有研究<sup>[14]</sup>报道称疲乏状态越明显, 生存质量越低; 而最大程度控制患者症状对改善患者生存质量影响最为显著。质量反馈理论通过改善患者饮食结构、给予心理疏导、指导有氧运动等方式, 明显改善疲乏状态和临床症状, 使患者情绪高涨、精神愉快, 树立了患者对治疗的信心。研究结果显示护理后研究组社会功能、角色功能、躯体功能、认知功能、总分显著高于对照组, 说明质量反馈理论对改善食管癌化疗患者的生存质量是

积极有效的。此外在质量反馈理论中增加了患者健康教育环节, 让患者掌握自我护理的相关知识, 一旦发现问题及时与护理人员联系, 提高了患者的康复信心和遵医嘱行为。本研究结果显示研究组康知识得分、护理工作满意度得分均显著高于对照组, 研究组不良反应发生率显著低于对照组, 说明质量反馈理论在护理中针对护理工作的问题及时提出解决方案, 形成良性循环, 更能满足患者个性化的需求, 提高了护理质量、改善医患关系、促进患者预后。

总之, 质量反馈理论能够显著改善食管癌化疗患者负性情绪, 消除CRF, 提高患者生存

#### ■同行评价

本研究观点鲜明、可读性比较强, 文章的摘要明确, 全文概述也比较完整, 且重点也相对突出, 条理清晰, 文字简明扼要, 应用价值高, 对同行具较好的指导意义。

质量, 对促进患者预后具有重要作用。但是由于本研究样本量偏少, 对其护理的长期效果仍待进一步观察。

#### 4 参考文献

- 1 Shirai K, Tamaki Y, Kitamoto Y, Murata K, Satoh Y, Higuchi K, Ishikawa H, Nonaka T, Takahashi T, Nakano T. Prognosis was not deteriorated by multiple primary cancers in esophageal cancer patients treated by radiotherapy. *J Radiat Res* 2013; 54: 706-711 [PMID: 23381956 DOI: 10.1093/jrr/rrt002]
- 2 Yennurajalingam S, Kang JH, Cheng HY, Chisholm GB, Kwon JH, Palla SL, Bruera E. Characteristics of advanced cancer patients with cancer-related fatigue enrolled in clinical trials and patients referred to outpatient palliative care clinics. *J Pain Symptom Manage* 2013; 45: 534-541 [PMID: 22917716 DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2012.02.013]
- 3 李玉翠. 社区群体康复对老年食管癌术后化疗患者癌因性疲乏和生活质量的影响. *中华老年医学杂志* 2014; 33: 616-618
- 4 段泉泉, 胜利. 焦虑及抑郁自评量表的临床效度. *中国心理卫生杂志* 2012; 26: 676-679
- 5 王文菁, 谭文艳. Zung抑郁自评量表的因子分析. *广东医学* 2011; 32: 2191-2193
- 6 Catania G, Bell C, Ottonelli S, Marchetti M, Bryce J, Grossi A, Costantini M. Cancer-related fatigue in Italian cancer patients: validation of the Italian version of the Brief Fatigue Inventory (BFI). *Support Care Cancer* 2013; 21: 413-419 [PMID: 22790224 DOI: 10.1007/s00520-012-1539-z]
- 7 Partl R, Richtig E, Avian A, Berghold A, Kapp KS. Karnofsky performance status and lactate dehydrogenase predict the benefit of palliative whole-brain irradiation in patients with advanced intra- and extracranial metastases from malignant melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 85: 662-666 [PMID: 22901382 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2012.06.009]
- 8 张磊, 徐德忠, 黄久仪, 李良寿. SF-36量表中文版的应用及分级截断点选择的研究. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 69-73
- 9 徐灵莉, 邓本敏, 唐玲, 刘玲, 李真华. 护理风险管理在糖尿病合并恶性肿瘤患者化疗中的效果观察. *重庆医学* 2012; 41: 3833-3834, 3836
- 10 文红英, 杨艳, 孙雪梅, 邓力, 张小燕, 苟静. 人文关怀护理在食管癌患者中的应用. *中国实用护理杂志* 2010; 26: 23-24
- 11 周晓梅, 倪杰, 陆雁. 临床心理护理程序对食管癌放射治疗患者生活质量的影响. *中华护理杂志* 2012; 47: 1028-1031
- 12 Donovan KA, McGinty HL, Jacobsen PB. A systematic review of research using the diagnostic criteria for cancer-related fatigue. *Psychooncology* 2013; 22: 737-744 [PMID: 22544488 DOI: 10.1002/pon.3085]
- 13 Rovigatti U. Chronic Fatigue Syndrome (CFS) and Cancer Related Fatigue (CRF): two "fatigue" syndromes with overlapping symptoms and possibly related aetiologies. *Neuromuscul Disord* 2012; 22 Suppl 3: S235-S241 [PMID: 23182646 DOI: 10.1016/j.nmd.2012.10.018]
- 14 申维玺, 马慧利, 孙燕, 刘玉梅, 王留兴. 食管癌患者癌因性疲乏与临床特征相关性的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 624-625

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





# 六味五灵片联合恩替卡韦治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床疗效

洪海洲

洪海洲, 山东省东营市胜利石油管理局胜利医院中医院  
山东省东营市 257001

洪海洲, 副主任医师, 主要从事消化肝病的中医临床工作。

作者贡献分布: 本文由洪海洲独立完成。

通讯作者: 洪海洲, 副主任医师, 257001, 山东省东营市淄博路萃苑小区邮政信报箱8-14, 山东省东营市胜利石油管理局胜利医院中医院。hxtbn@sohu.com

收稿日期: 2015-09-15

修回日期: 2015-10-12

接受日期: 2015-10-19

在线出版日期: 2015-11-18

## Clinical efficacy of Liuweiwuling tablets combined with entecavir in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B

Hai-Zhou Hong

Hai-Zhou Hong, Traditional Chinese Medicine Hospital, the Branch of Shengli Hospital of Petroleum Administration, Dongying 257001, Shandong Province, China

Correspondence to: Hai-Zhou Hong, Associate Chief Physician, Traditional Chinese Medicine Hospital, the Branch of Shengli Hospital of Petroleum Administration, 8-14 Postal Mailboxes, Zibo Road, Dongying 257001, Shandong Province, China. hxtbn@sohu.com

Received: 2015-09-15

Revised: 2015-10-12

Accepted: 2015-10-19

Published online: 2015-11-18

## Abstract

**AIM:** To observe the clinical efficacy of Liu-

weiwuling tablets combined with entecavir (ETV) in treating HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B (CHB).

**METHODS:** One hundred and seventeen HBeAg-positive patients with CHB were randomly divided into a study group ( $n = 60$ ) and a control group ( $n = 57$ ). The control group was given ETV only (0.5 mg/d, orally), while the study group was additionally given Liuweiwuling tablets (1.5 g, *tid*, orally) on the basis of ETV. Both groups were treated for 24 wk. Clinical symptoms, liver function [alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), and total bilirubin (TBIL)] and the negative conversion rates of HBV DNA and HBeAg were compared between the two groups.

**RESULTS:** After 24 wk of treatment, ALT, AST and TBIL were all significantly lower in the observation group ( $36.4 \text{ U/L} \pm 6.8 \text{ U/L}$ ,  $39.4 \text{ U/L} \pm 8.3 \text{ U/L}$ ,  $21.3 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$ ) than in the control group ( $54.7 \text{ U/L} \pm 9.6 \text{ U/L}$ ,  $63.1 \text{ U/L} \pm 7.7 \text{ U/L}$ ,  $30.4 \mu\text{mol/L} \pm 9.1 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.05$ ). The negative conversion rates of both HBV DNA and HBeAg were higher in the study group than in the control group, but the differences between the two groups were not significant ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Liuweiwuling tablets combined with ETV in treating HBeAg-positive patients with CHB can significantly improve the liver function.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## 背景资料

目前治疗乙型肝炎的抗病毒药物主要有干扰素、核苷酸类似物等, 然而其并不能及时、直接地控制肝脏炎症反应。因而, 降酶抗炎类中药越来越受到关注。

## 同行评议者

牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所; 李慧, 副教授, 复旦大学基础医学院病理学系

## ■ 研发前沿

HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者大多处于乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)高复制状态,而持续高HBV载量与肝硬化累积发生率呈正相关,可独立预测肝硬化的发生。患者如果治疗不及时,极易发展为肝硬化。

**Key Words:** HBeAg-positive; Chronic; Hepatitis B; Liuweiwuling tablets; Entecavir

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5213.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5213>

Hong HZ. Clinical efficacy of Liuweiwuling tablets combined with entecavir in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5213-5216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5213.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5213>

## 摘要

**目的:** 探讨六味五灵片联合恩替卡韦(entecavir, ETV)治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的临床疗效。

**方法:** 将117例HBeAg阳性CHB患者按照随机数字表法分为研究组( $n = 60$ )和对照组( $n = 57$ )。对照组口服恩替卡韦0.5 mg, 1次/d; 研究组在对照组的基础上加服六味五灵片1.5 g, 3次/d。疗程均为24 wk。比较两组患者治疗前后的临床症状、肝功能血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、HBV DNA转阴率和HBeAg转阴率情况。

**结果:** 治疗24 wk后, 研究组患者ALT、AST、TBIL分别为 $36.4 \text{ U/L} \pm 6.8 \text{ U/L}$ ,  $39.4 \text{ U/L} \pm 8.3 \text{ U/L}$ ,  $21.3 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$ , 均明显低于对照 $54.7 \text{ U/L} \pm 9.6 \text{ U/L}$ ,  $63.1 \text{ U/L} \pm 7.7 \text{ U/L}$ ,  $30.4 \mu\text{mol/L} \pm 9.1 \mu\text{mol/L}$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗后研究组HBV DNA、HBeAg转阴率均高于对照组, 但两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**结论:** 六味五灵片联合ETV能显著改善HBeAg阳性CHB患者的肝功能, 同时降低ALT、AST。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** HBeAg阳性; 慢性; 乙型肝炎; 六味五灵片; 恩替卡韦

**核心提示:** 六味五灵片由五味子、莪术、灵芝孢子粉等6味中药材组方而成, 能从多靶点、多环节保护肝脏、抑制炎症因子对肝细胞的刺激。对于病毒性肝病患者, 在应用抗病毒药物的同时加用六味五灵片效果更优。

洪海洲. 六味五灵片联合恩替卡韦治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床疗效. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5213-5216

## 0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是导致肝硬化重要原因, 据WHO推算, 2002年全球因肝硬化死亡的患者约30%为乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化<sup>[1]</sup>。另外, 欧洲的两项研究<sup>[2,3]</sup>显示: 35%-55%的代偿期肝硬化患者的HBeAg为阳性, 且治疗后出现HBeAg血清转换或HBV DNA转阴的患者其预后一般较好。目前, 治疗CHB的抗病毒药物主要有干扰素、核苷酸类似物等, 其中恩替卡韦是以其高效、低耐药的特点被广泛认为是抗HBV的首选, 然而其并不能及时、直接地控制肝脏炎症反应, 如降低血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)<sup>[4]</sup>。因而, 降酶抗炎类中药越来越受到关注。为了进一步证实降酶抗炎类中药对HBeAg阳性CHB患者的治疗效果, 本研究应用六味五灵片联合恩替卡韦(entecavir, ETV)对HBeAg阳性CHB患者进行治疗, 报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-05/2014-05山东省东营市胜利石油管理局胜利医院中医院门诊及住院收治的HBeAg阳性CHB患者117例, 所有患者均符合《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[5]</sup>中关于CHB的诊断标准, 且HBsAg和HBeAg均为阳性, HBV DNA $>10^4$  copies/mL,  $10 \text{ ULN} > \text{ALT} \geq 2 \text{ ULN}$ , 总胆红素(total bilirubin, TBIL) $<84 \mu\text{mol/L}$ 。排除其他肝炎病毒感染者、自身免疫性肝病、脂肪肝、药物肝及重症肝病患者, 且近半年未应用过抗病毒药物。117例患者按随机数字表法分为两组: 研究组60例, 男39例, 女21例, 年龄 $43.5 \text{ 岁} \pm 11.2 \text{ 岁}$ , 病程 $6.7 \text{ 年} \pm 3.4 \text{ 年}$ ; 对照组57例, 男37例, 女20例, 年龄 $42.8 \text{ 年} \pm 12.6 \text{ 岁}$ , 病程 $7.1 \text{ 年} \pm 3.9 \text{ 年}$ 。两组患者在年龄、性别、病程、肝功能及病毒学指标方面比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。主要材料: 恩替卡韦片(国药准字H20052237, 中美上海施贵宝制药有限公司生产); 六味五灵片(国药准字Z20060238, 山东世博金都药业有限公司生产)。

**1.2 方法** 对照组口服恩替卡韦片0.5 mg, 1次/d;

## ■ 相关报道

颜炳柱等通过研究指出, 慢性乙型肝炎患者在应用恩替卡韦抗病毒的同时, 加用六味五灵片可长久维持治疗效果, 提高肝功能复常率, 阻断肝纤维化进展。

表 1 两组患者治疗前后血生化指标变化比较 (mean ± SD)

分组	n	时间	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μmol/L)
研究组	60	治疗前	137.4 ± 27.3	120.5 ± 22.6	65.4 ± 13.7
		治疗24 wk后	36.4 ± 6.8 <sup>bc</sup>	39.4 ± 8.3 <sup>bc</sup>	21.3 ± 7.4 <sup>bc</sup>
对照组	57	治疗前	139.2 ± 25.4	125.1 ± 65.4	62.6 ± 15.2
		治疗24 wk后	54.7 ± 9.6 <sup>b</sup>	63.1 ± 7.7 <sup>b</sup>	30.4 ± 9.1 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs 本组治疗前; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 对照组治疗24 wk后. TBIL: 总胆红素; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

表 2 两组治疗24 wk后血清HBV DNA、HBeAg转阴率比较 *n*(%)

分组	n	HBV DNA转阴率	HBeAg转阴率
研究组	60	40(66.7)	39(65.0)
对照组	57	34(59.6)	28(49.1)
χ <sup>2</sup> 值		0.619	3.011
<i>P</i> 值		0.431	0.083

HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎e抗原.

研究组在对照组的基础上加服六味五灵片1.5 g, 3次/d. 两组疗程均为24 wk.

观察指标: 采用日立7600全自动生化分析仪检测肝功能(ALT、AST及TBIL); 采用PCR荧光定量法检测HBV DNA(HBV DNA定量<10<sup>3</sup> copies/mL为阴性), 试剂盒由深圳凯杰公司提供; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测HBeAg(P/N<2.1为阴性)同时, 实时观察有无药物不良反应发生.

**统计学处理** 应用SPSS19.0进行统计处理, 计量资料用mean ± SD表示, 采用*t*检验; 计数资料用*n*表示, 采用χ<sup>2</sup>检验, *P*<0.05为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 两组治疗前后肝功能比较** 治疗后两组ALT、AST、TBIL均显著下降, 且研究组下降幅度更明显. 其中, 研究组治疗24 wk后ALT、AST、TBIL分别为36.4 U/L ± 6.8 U/L, 39.4 U/L ± 8.3 U/L, 21.3 μmol/L ± 7.4 μmol/L, 均明显低于对照组54.7 U/L ± 9.6 U/L, 63.1 U/L ± 7.7 U/L, 30.4 μmol/L ± 9.1 μmol/L, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

**2.2 两组治疗24 wk后HBV DNA、HBeAg转阴率比较** 研究组治疗24 wk后HBV DNA转阴率、HBeAg转阴率分别为66.7%和65.0%, 均高

于对照组(59.6%和49.1%, *P*>0.05), 但两组比较均无统计学意义(表2).

**2.3 不良反应** 研究组1例出现轻度腹泻, 告知饭后0.5 h服用六味五灵片, 腹泻症状消失.

## 3 讨论

HBeAg阳性CHB患者大多处于HBV高复制状态, 而持续高HBV载量与肝硬化累积发生率呈正相关, 可独立预测肝硬化的发生, 因此如果治疗不及时, 极易发展为肝硬化<sup>[6]</sup>. 另外, Li等<sup>[7]</sup>通过对684例CHB患者进行研究得出: 肝硬化的年发病率约为2.1%, 而持续HBeAg阳性者的肝硬化年患病率为3.5%. 因此, 促进HBV DNA及HBeAg转阴对于抑制CHB进展至关重要.

本研究中所用ETV对HBV DNA聚合酶反转录活性部位具有特异性抑制作用, 可有效抑制HBV DNA复制, 且作用持久, 耐药率低, 肾毒性小, 因此被公认为是治疗CHB的首选药物<sup>[5,8,9]</sup>. 然而, 恩替卡韦只能从病原学控制的角度阻止肝组织炎症的发生, 并无直接抗炎作用, 因此, 对于CHB患者, 只要ALT ≥ 2 ULN, 或证实存在明显炎症(分级 ≥ G2), 均应考虑应用抗炎保肝类药物<sup>[4]</sup>.

六味五灵片由五味子、连翘、女贞子、莪术、苣荬菜、灵芝孢子粉六味中药组成, 具有肝肾双补, 活血解毒的功效, 尤其适用于邪毒瘀热互结、肝肾两虚的CHB患者. 又由于六味五灵片多种药物成分, 能从多靶点、多环节保护肝脏、抑制炎症因子对肝细胞的刺激<sup>[10,11]</sup>, 因此对于各种原因所致的血清转氨酶居高不下、反复无常均具有较好的治疗效果. 方中五味子具有益气滋肾之效, 是为君药; 现代研究发现它具有保护和修复肝细胞、抗氧化及清除自由基的作用<sup>[12,13]</sup>. 莪术、连翘共为臣药, 其中莪术具有行气破血之效, 现代研究发现他还具有改善微循环及抗肿瘤的作用<sup>[14,15]</sup>, 其

## 应用要点

六味五灵片联合恩替卡韦可有效控制HBV DNA复制, 且能显著降低血清转氨酶水平, 改善肝功能, 且治疗过程中无任何与药物相关的不良反应.



# ■ 同行评价

本文较好地分析了中西医结合方法治疗慢性乙型肝炎的疗效, 实验目的明确, 结果显而易见, 撰文表达清晰。

有效成分莪术醇可有效抑制肝星状细胞的释放, 提示其具有抗肝纤维化的潜能; 连翘具有清热解毒、消肿散结之效, 现代研究发现其有效成分连翘苷、齐墩果酸等具有降低ALT的作用<sup>[16]</sup>。女贞子、菝葜菜共为佐药, 且其均含有抑制肝脏炎症的齐墩果酸, 另外, 女贞子还具有滋补肝肾的作用, 可协助君药五味子共同滋补肝肾<sup>[17,18]</sup>; 灵芝孢子粉为破壁后的灵芝, 破壁后其吸收率及药效得到明显提升, 益气扶正固本作用增强, 为方中使药; 现代研究发现其具有双向调节机体免疫的作用。刘方军等<sup>[10]</sup>通过应用抗病毒药物联合六味五灵片治疗HBeAg阳性CHB得出: 六味五灵片不影响PEG-IFN- $\alpha$ -2a的抗病毒疗效, 且两药联用还能获得更高的肝功能复常率, 这可能与六味五灵片均具有免疫调节及抗炎作用有关。另外, 颜炳柱等<sup>[11]</sup>通过研究指出, CHB患者在应用恩替卡韦抗病毒的同时, 加用六味五灵片可长久维持治疗效果, 提高CHB患者的肝功能复常率并改善肝纤维化程度。

本研究应用抗炎保肝类中药六味五灵片联合ETV治疗HBeAg阳性CHB患者24 wk后, 患者血清ALT、AST、TBIL均较治疗前显著下降, 且下降幅度大于单用ETV的对照组( $P<0.05$ ); 另外研究组HBV DNA、HBeAg转阴率分别为66.7%和65.0%, 虽然均高于对照组(59.6%和49.1%,  $P>0.05$ ), 但两组比较差异无统计学意义, 因此认为两组抗病毒作用相似。提示六味五灵片联合ETV可有效控制HBV DNA复制, 且能显著降低血清转氨酶水平, 改善肝功能, 且治疗过程中无任何与药物相关的不良反应。但由于CHB患者大多需要长期用药, 因此其远期疗效还有待考究。

## 4 参考文献

- 1 Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-538 [PMID: 16879891]

- 2 Realdi G, Fattovich G, Hadziyannis S, Schalm SW, Almasio P, Sanchez-Tapias J, Christensen E, Giustina G, Noventa F. Survival and prognostic factors in 366 patients with compensated cirrhosis type B: a multicenter study. The Investigators of the European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *J Hepatol* 1994; 21: 656-666 [PMID: 7814813]
- 3 de Jongh FE, Janssen HL, de Man RA, Hop WC, Schalm SW, van Blankenstein M. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992; 103: 1630-1635 [PMID: 1426884]
- 4 中华医学会感染病学分会, 肝脏炎症及其防治专家共识专家委员会. 肝脏炎症及其防治专家共识. *中国实用内科杂志* 2014; 34: 152-162
- 5 中华医学会肝病学会和感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). *实用肝脏病杂志* 2011; 14: 81-89
- 6 科技部十二五重大专项联合课题组. 乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理. *中华肝脏病杂志* 2014; 22: 327-335
- 7 Li CZ, Cheng LF, Li QS, Wang ZQ, Yan JH. Antiviral therapy delays esophageal variceal bleeding in hepatitis B virus-related cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 6849-6856 [PMID: 24187460]
- 8 Robinson DM, Scott LJ, Plosker GL. Entecavir: a review of its use in chronic hepatitis B. *Drugs* 2006; 66: 1605-1622; discussion 1623-1624 [PMID: 16956310]
- 9 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]
- 10 刘方军, 刘智慧. 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 2159-2162
- 11 颜炳柱, 陈立艳, 毕蔓茹, 杨宝山. 六味五灵片联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎患者80例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1191-1194
- 12 李丽波, 王玉祥, 杨宏艳, 辛亚兵, 高涵. 五味子乙素诱导的HSP27和HSP70对Con A诱导小鼠肝损伤的保护作用. *第三军医大学学报* 2013; 35: 1210-1214
- 13 齐彦, 郭丽新, 周迎春. 五味子对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的作用研究. *中医药学报* 2009; 37: 26-27
- 14 江远, 熊丽. 莪术治疗肝病的研究进展. *中西医结合肝病杂志* 2005; 15: 127-129
- 15 钟章锋, 陈修平, 吴铁, 王一涛. 莪术醇的研究进展. *中国药房* 2010; 21: 2959-2961
- 16 张海燕. 连翘化学成分及药理活性的研究进展. *中药材* 2000; 23: 657-660
- 17 邱蓉丽, 李璘. 中药女贞子化学与药理研究进展. *中药材* 2007; 30: 891-894
- 18 郭立忠, 张悦. 女贞子的化学成分及药理作用. *长春中医药大学学报* 2008; 24: 662

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 一氧化氮水平对肝硬化患者心功能的评估价值

纪文静, 梁灿灿, 丁永年, 熊静平, 白洁

纪文静, 梁灿灿, 丁永年, 熊静平, 白洁, 新疆医科大学第二附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830068

纪文静, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究。

新疆医科大学科技创新基金资助项目, No. XJC201258

**作者贡献分布:** 此课题由纪文静设计; 研究过程由梁灿灿与白洁操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由熊静平提供; 数据分析由丁永年完成; 本论文写作由纪文静完成。

**通讯作者:** 丁永年, 教授, 830068, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市南湖东路北二巷38号, 新疆医科大学第二附属医院消化内科. 124391294@qq.com  
电话: 0091-4609052  
传真: 0091-4609130

收稿日期: 2015-08-03  
修回日期: 2015-10-19  
接受日期: 2015-10-26  
在线出版日期: 2015-11-18

### Value of nitric oxide level in assessment of cardiac function in patients with cirrhosis

Wen-Jing Ji, Can-Can Liang, Yong-Nian Ding, Jing-Ping Xiong, Jie Bai

Wen-Jing Ji, Can-Can Liang, Yong-Nian Ding, Jing-Ping Xiong, Jie Bai, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830068, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

**Supported by:** Science and Technology Innovation Foundation of Xinjiang Medical University, No. XJC201258

**Correspondence to:** Yong-Nian Ding, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 38 Beiexiang, Nanhu East Road, Urumqi 830068, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 124391294@qq.com

Received: 2015-08-03

Revised: 2015-10-19  
Accepted: 2015-10-26  
Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To assess the correlations between heart function, serum nitric oxide (NO) level and Child-Pugh grade of liver cirrhosis in patients with cirrhosis.

**METHODS:** Cardiac systolic and diastolic function was measured by echocardiography, and serum concentrations of NO were measured by nitrate reductase method. The correlations between NO level, heart function and Child-Pugh grade were then analyzed.

**RESULTS:** Left ventricular ejection fraction (LVEF) was significantly higher in patients with Child-Pugh grade A or B cirrhosis than in those with Child-Pugh grade C, and there were also significant differences in LVEF between Child-Pugh grades A and B, and Child-Pugh grades B and C ( $P < 0.01$ ). The E/A ratio decreased with the increase in the grade of Child-Pugh classification, and there were significant differences in the E/A ratio between the three groups ( $P < 0.01$ ). Spearman correlation analysis showed that there was a significant negative correlation between E/A ratio and Child-Pugh grade ( $r = -0.935$ ,  $P < 0.01$ ). The left atrial diameter (LA) was significantly higher in patients with Child-Pugh grade C than in those with Child-Pugh grade A or B ( $P < 0.01$ ). Plasma NO levels were elevated with the increase in the grade of Child-Pugh classification, and there were significant differences in plasma NO levels between the three groups ( $P < 0.01$ ). Spearman

### ■背景资料

迄今为止, 国际上仍未形成肝硬化性心肌病的统一诊治体系, 近年来一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种新的细胞信使逐渐进入人们视野, 国内关于肝硬化与血NO水平的关系研究相对较少, 尤其对肝硬化患者心功能与血NO水平的检测研究甚少。

### ■同行评议者

李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科; 麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科

**■ 研究前沿**

肝硬化心肌病发病机制目前未能明了, 导致其目前缺乏有效的临床监测指标, 而依赖传统心脏彩色多普勒超声等心功能检测对疾病发展预测和严重程度评价价值有限。因此, 有必要寻找一种灵敏、高效的指标以监测CCM的发生、病情发展和预后较大的临床意义, 而且对履行肝移植换真手术风险评价有重要价值。

correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between plasma NO levels and Child-Pugh grade ( $r = 0.942$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Plasma NO levels in patients with liver cirrhosis are higher than in normal people, and increase with the increase in the grade of Child-Pugh classification. There is a correlation between cardiac function and the degree of hepatic dysfunction in liver cirrhosis patients. Plasma NO levels in patients with liver cirrhosis are related to the damage of liver function.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Cirrhosis; Heart function; Nitric oxide

Ji WJ, Liang CC, Ding YN, Xiong JP, Bai J. Value of nitric oxide level in assessment of cardiac function in patients with cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5217-5221 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5217>

**摘要**

**目的:** 研究肝硬化患者心功能、血一氧化氮(nitric oxide, NO)水平与肝硬化Child-Pugh分级的相关性。

**方法:** 应用心脏彩超检测反映心脏收缩、舒张功能的指标, 应用硝酸还原酶法测定血浆NO浓度, 将不同肝功能Child-Pugh分级的心功能及NO值比较, 分析相关性。

**结果:** LVEF方面Child-Pugh A、B级均高于Child-Pugh C级, Child-Pugh A级与Child-Pugh B级比较、Child-Pugh B级与Child-Pugh C级比较, 均有显著性差异( $P < 0.01$ )。E/A值随Child-Pugh分级逐步降低, Child-Pugh A、B、C级三者间两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), Spearman相关检验显示E/A值与Child-Pugh分级间呈负相关, 相关系数为-0.935( $P < 0.01$ ); Child-Pugh C级肝硬化患者LAs均高于Child-Pugh A、B级, LAs在不同肝硬化Child-Pugh分级间的差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。血NO在不同Child-Pugh分级间升高, Child-Pugh A、B、C级三者间两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ ), Spearman相关检验显示血NO与Child-Pugh分级呈正相关, 相关系数为0.942 ( $P < 0.01$ )。

**结论:** 肝硬化血NO值较正常组增高, 随Child-Pugh分级递增; 肝硬化心功能受损随肝功能恶化加重, 肝硬化血NO与肝功受损水平相关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝硬化; 心功能; 一氧化氮水平

**核心提示:** 本文利用心脏彩超及硝酸还原酶法测定肝硬化患者心功能、血一氧化氮(nitric oxide, NO)水平, 探讨两者与肝硬化Child-Pugh分级的相关性, 研究结果显示, 肝硬化患者血清NO水平增高, 随Child-Pugh分级递增, 肝硬化患者心功能受损程度随肝功能恶化而加重。所以, 跟踪监测肝病患者的血清NO水平对了解肝病的演变过程、改善患者的预后具有重要指导意义。

纪文静, 梁灿灿, 丁永年, 熊静平, 白洁. 一氧化氮水平对肝硬化患者心功能的评估价值. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5217-5221 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5217>

**0 引言**

相关研究<sup>[1-4]</sup>显示肝硬化患者可合并心功能不全。肝硬化患者并发心脏结构功能及电生理活动异常, 主要与心肌的损伤有关, 被称为“肝硬化性心肌病”<sup>[5,6]</sup>。迄今为止, 国际上仍未形成肝硬化性心肌病的统一诊治体系, 近年来一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种新的细胞信使逐渐进入人们视野, 国内关于肝硬化与血NO水平的关系研究相对较少, 尤其对肝硬化患者心功能与血NO水平的检测研究甚少, 本研究通过心脏彩超与血NO水平联合评价肝硬化患者心功能、肝功能状态。

**1 材料和方法**

**1.1 材料** 实验组: 2012-11/2013-11入住新疆医科大学第二附属医院的肝硬化患者60例, 年龄18-70岁, 诊断符合2000年全国传染病与寄生虫和肝病学会会议修订的标准, 上述所有患者均无既往慢性心脏病、高血压、慢性肺病史, 按肝功能Child-Pugh分级, A级18例, B级20例, C级22例。对照组: 体检中心年龄匹配的健康体检者60例, 肝功正常, 乙型肝炎病毒、乙型肝炎病毒标志物阴性, 无肝病病史, 无上述标准

**■ 相关报道**

NO是目前认识的肝硬化心肌病发病重要信号分子, cGMP常作为衡量NO合成的间接指标。目前在动物研究发现, 肝硬化动物模型血浆及心脏组织中NO依赖性cGMP含量显著增高, 且增加的NO主要由诱导型一氧化氮合酶iNOS诱导产生, 提示NO途径可能在肝硬化心肌病的发生中起重要作用。



表 1 肝功能 Child-Pugh 分级与 LVEF、E/A、LAs、血 NO 水平比较

Child-Pugh 分级	n	LVEF(%)	E/A	LAs(mm)	NO( $\mu\text{mol/L}$ )
Child-Pugh A 级	18	58.7 $\pm$ 0.38	1.01 $\pm$ 0.04	30.98 $\pm$ 0.54	87.79 $\pm$ 3.09
Child-Pugh B 级	20	60.80 $\pm$ 1.11 <sup>b</sup>	0.88 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	29.42 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	97.59 $\pm$ 2.80 <sup>b</sup>
Child-Pugh C 级	22	57.96 $\pm$ 0.67 <sup>bd</sup>	0.55 $\pm$ 0.04 <sup>bd</sup>	33.67 $\pm$ 0.75 <sup>bd</sup>	108.66 $\pm$ 2.74 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs Child-Pugh A 级; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs Child-Pugh B 级. NO: 一氧化氮; LVEF: 左室射血分数; LAs: 左房直径; E/A: E 波最大流速与 A 波最大流速比值.

所列疾病.

1.2 方法 (1)所有患者均行实验室检查, 包括肝功能检查、血凝检查; (2)所有患者均行心脏 B 超检查. 记录反应心脏收缩功能的指标: 左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF), 反应心脏舒张功能的指标: 左房直径(left atrial diameter, LAs)、E 波最大流速、A 波最大流速、E/A 比值; (3)所有病例均于清晨空腹采集肘静脉血 4 mL, 硝酸还原酶法测血浆 NO 水平, NO 测定由肝病实验室专业人员严格按照试剂说明书操作.

**统计学处理** 应用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析, 实验组与对照组 NO 水平的比较采用 *t* 检验; Child-Pugh A、B、C 级之间 LVEF、E/A、LAs、血 NO 的比较分别采用单因素的方差分析, 组间两两比较 *q* 检验, 血 NO 值、E/A 值与 Child-Pugh 分级间的相关性采用 Spearman 检验.  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 实验组与对照组的 LVEF、E/A、LAs 及血 NO 水平比较 实验组 LVEF、E/A 较对照组降低( $59.13\% \pm 1.46\%$  vs  $60.76\% \pm 1.21\%$ ,  $0.80 \pm 0.20$  vs  $1.26 \pm 0.14$ ), LAs、NO 较对照组升高( $31.44 \text{ mm} \pm 1.93 \text{ mm}$  vs  $27.55 \text{ mm} \pm 0.88 \text{ mm}$ ,  $98.71 \mu\text{mol/L} \pm 9.04 \mu\text{mol/L}$  vs  $71.71 \mu\text{mol/L} \pm 3.68 \mu\text{mol/L}$ ).

2.2 肝硬化患者心功能与肝功能 Child-Pugh 分级的关系 Child-Pugh A、B、C 级之间 LVEF、E/A、LAs、血 NO 的比较分别采用单因素的方差分析, 组间两两比较 *q* 检验, 血 NO 值、E/A 值与 Child-Pugh 分级间的相关性采用 Spearman 检验: LVEF 方面 Child-Pugh A、B 级均高于 Child-Pugh C 级, Child-Pugh A 级与 Child-Pugh B 级比较、Child-Pugh B 级与 Child-Pugh C 级比较, 均有显著性差异( $P < 0.01$ ). E/A 值随 Child-Pugh 分

级逐步降低, Child-Pugh A、B、C 级三者间两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), Spearman 相关检验显示 E/A 值与 Child-Pugh 分级间呈负相关, 相关系数为  $-0.935$  ( $P < 0.01$ ); Child-Pugh C 级肝硬化患者 LAs 均高于 Child-Pugh A、B 级, LAs 在不同肝硬化 Child-Pugh 分级间的差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 血 NO 在不同 Child-Pugh 分级间升高, Child-Pugh A、B、C 级三者间两两比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ ), Spearman 相关检验显示血 NO 与 Child-Pugh 分级呈正相关, 相关系数为  $0.942$  ( $P < 0.01$ )(表 1).

## 3 讨论

本研究结果表明, 肝硬化患者存在不同程度心功能的改变, 肝硬化患者的心功能受损程度随肝功能的恶化而加重, 肝硬化患者血 NO 水平与肝功受损水平相关.

肝硬化患者血流动力学的改变主要表现为高排低阻的高动力循环<sup>[7-9]</sup>, 本研究通过心脏 B 超记录反应心脏收缩功能的 LVEF, 观察到不同肝功能 Child-Pugh 分级的肝硬化患者的左室收缩功能的差异, Child-Pugh C 级肝硬化患者的 LVEF 值均低于 Child-Pugh A 级和 Child-Pugh B 级, 尤其 Child-Pugh C 级 LVEF 值明显低于 Child-Pugh B 级, 本结果表明, 随着肝功能的逐步恶化, 在轻度和中度肝硬化时, 即 Child-Pugh A 级和 Child-Pugh B 级, 心脏为了维持机体高动力循环状态而选择了增加输出量这种代偿性机制, 但到重度肝硬化时, 即 Child-Pugh C 级, 心脏的上述代偿机制远不能满足机体循环需要, 从而出现失代偿, 引起左室射血分数下降, 肝硬化患者长期处于这种高动力超负荷的血流动力学异常状态, 必然导致心脏收缩功能的损害, 在肝移植后, 患者心输出量下降, 说明心脏功能异常可随肝功能的好转而有所恢复.

心脏舒张功能减退在心脏彩色多普勒超

## 创新盘点

国内关于肝硬化与血 NO 水平的关系研究相对较少, 尤其对肝硬化患者心功能与血 NO 水平的检测研究甚少, 本研究通过心脏彩超与血 NO 水平联合评价肝硬化患者心功能、肝功能状态, 对了解肝病的演变过程、改善患者的预后具有重要指导意义.

## ■应用要点

跟踪监测肝病患者的血清NO水平对了解肝病的演变过程、改善患者的预后具有重要指导意义。无创性的彩色多普勒超声对发现肝硬化患者早期心功能不全亦具有重要价值, 当显示左室射血分数下降, 左房直径增大, E/A<1时应注意肝硬化心脏病发生的可能。

声上表现为E/A值下降、左房增大(左房直径>35 mm)。左室功能不全导致左室充盈压增高, 左房为了满足左室充盈的需要, 必须通过心肌的肥厚伸展增加心房壁的张力, 最终导致左房腔的扩大。本研究通过心脏B超记录E/A值、LAs, 观察到肝硬化患者E/A较正常组明显下降, LAs较正常组明显增加, 左房增大概率明显增加, 表明肝硬化患者心脏舒张功能减退, Child-Pugh B级E/A值较Child-Pugh A级降低, Child-Pugh C级E/A值较Child-Pugh A级和Child-Pugh B级显著降低, 且Child-Pugh C级肝硬化患者LAs显著增加, 考虑与晚期肝硬化患者心脏的代偿能力处于边缘状态有关。应用线性相关检验显示E/A值与Child-Pugh分级间呈负相关, 表明肝硬化患者心脏舒张功能的损害随着肝功能损害程度的加重而逐渐加重, 说明肝硬化患者存在左室舒张功能障碍, 与既往研究<sup>[10-12]</sup>相符。

近年来研究<sup>[13]</sup>认为, NO是参与肝硬化高动力循环的血管扩张剂。本研究显示肝硬化患者血NO水平与肝功损害程度有关, Spearman相关检验显示血浆NO值与Child-Pugh分级间呈正相关, 表明血浆NO值随Child-Pugh分级逐步增高。NO是具有多种生物活性的小分子物质, 属于细胞内信使和神经递质, 内源性的NO是一种强烈的血管舒张因子, 是L-精氨酸在NO合成酶作用下形成的。由于肠道黏膜屏障功能缺陷, 异常门-体分流等严重的肝脏血液循环紊乱, 肝硬化患者不少存在着内毒素血症, 导致心脏抑制性物质灭活减少而生成增加, 内毒素可诱导NO合成酶产生, NO产物的增多导致血管松弛, 故引起外周血管扩张, 促进高动力循环。

总之, 肝硬化心脏病是一个多因子参与的复杂过程, 其临床表现隐匿, 严重影响患者预后, 发病机制可能与体内神经体液调节紊乱等因素有关<sup>[14-19]</sup>, 故跟踪监测肝病患者的血清NO水平对了解肝病的演变过程、改善患者的预后具有重要指导意义。无创性的彩色多普勒超声对发现肝硬化患者早期心功能不全亦具有重要价值, 当显示左室射血分数下降, 左房直径增大, E/A<1时应注意肝硬化心脏病发生的可能。

## 4 参考文献

1 Nazar A, Guevara M, Sitges M, Terra C, Solà E,

- Guigou C, Arroyo V, Ginès P. LEFT ventricular function assessed by echocardiography in cirrhosis: relationship to systemic hemodynamics and renal dysfunction. *J Hepatol* 2013; 58: 51-57 [PMID: 22989573 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.08.027]
- 2 Hansen S, Møller S, Bendtsen F, Jensen G, Henriksen JH. Diurnal variation and dispersion in QT interval in cirrhosis: relation to haemodynamic changes. *J Hepatol* 2007; 47: 373-380 [PMID: 17459513]
- 3 Busk TM, Bendtsen F, Møller S. Cardiac and renal effects of a transjugular intrahepatic portosystemic shunt in cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 523-530 [PMID: 23325273 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835d09fe]
- 4 苗俊旺, 尹立雪. 肝硬化性心肌病的超声心动图研究进展. *中华超声影像学杂志* 2013; 22: 263-265
- 5 金国贤, 金硕, 陈刚, 邵丽春. 肝硬化患者血浆前脑利钠肽和血清心肌钙蛋白I水平变化及临床意义. *实用临床医药杂志* 2015; 19: 41-43
- 6 刘卫英, 肖琳, 张泽高, 邓泽润, 鲁晓擎, 张跃新. 乙型肝炎和肝硬化患者血清血管紧张素系统的变化及其与肝纤维化的关系. *实用肝脏病杂志* 2014; 17: 352-355
- 7 Rodseth RN, Biccari BM, Chu R, Lurati Buse GA, Thabane L, Bakhai A, Bolliger D, Cagini L, Cahill TJ, Cardinale D, Chong CP, Cnotliwy M, Di Somma S, Fahrner R, Lim WK, Mahla E, Le Manach Y, Manikandan R, Pyun WB, Rajagopalan S, Radovic M, Schutt RC, Sessler DI, Suttie S, Vanniyasingam T, Waliszek M, Devereaux PJ. Postoperative B-type natriuretic peptide for prediction of major cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: systematic review and individual patient meta-analysis. *Anesthesiology* 2013; 119: 270-283 [PMID: 23528538 DOI: 10.1097/ALN.0b013e32831829083f1]
- 8 Gassanov N, Caglayan E, Semmo N, Massenkeil G, Er F. Cirrhotic cardiomyopathy: a cardiologist's perspective. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 15492-15498 [PMID: 25400434 DOI: 10.3748/wjg.v20.i42.15492]
- 9 江登丰, 毛华, 黄纯炽, 陈春林. 肝硬化患者心功能改变及其与肝功能的关系. *肝脏* 2011; 16: 439-441
- 10 纪文静, 阿孜古力·阿不来提. 肝硬化心脏病. *医师在线* 2014; 1: 53-54
- 11 Sun FR, Wang Y, Wang BY, Tong J, Zhang D, Chang B. Relationship between model for end-stage liver disease score and left ventricular function in patients with end-stage liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 50-54 [PMID: 21269935]
- 12 Silvestre OM, Bacal F, de Souza Ramos D, Andrade JL, Furtado M, Pugliese V, Belletti E, Andraus W, Carrilho FJ, Carneiro D'Albuquerque LA, Queiroz Farias A. Impact of the severity of end-stage liver disease in cardiac structure and function. *Ann Hepatol* 2013; 12: 85-91 [PMID: 23293198]
- 13 Sampaio F, Pimenta J, Bettencourt N, Fontes-Carvalho R, Silva AP, Valente J, Bettencourt P, Fraga J, Gama V. Systolic and diastolic dysfunction in cirrhosis: a tissue-Doppler and speckle tracking echocardiography study. *Liver Int* 2013; 33: 1158-1165 [PMID: 23617332 DOI: 10.1111/liv.12187]

- 14 Giannini E, Botta F, Fumagalli A, Malfatti F, Testa E, Chiarbonello B, Polegato S, Bellotti M, Milazzo S, Borgonovo G, Testa R. Can inclusion of serum creatinine values improve the Child-Turcotte-Pugh score and challenge the prognostic yield of the model for end-stage liver disease score in the short-term prognostic assessment of cirrhotic patients? *Liver Int* 2004; 24: 465-470 [PMID: 15482344]
- 15 Ratanasit N, Karaketklang K, Chirakarnjanakorn S, Krittayaphong R, Jakrapanichakul D. Left atrial volume as an independent predictor of exercise capacity in patients with isolated diastolic dysfunction presented with exertional dyspnea. *Cardiovasc Ultrasound* 2014; 12: 19 [PMID: 24929939 DOI: 10.1186/1476-7120-12-19]
- 16 Wiese S, Hove JD, Bendtsen F, Møller S. Cirrhotic cardiomyopathy: pathogenesis and clinical relevance. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 177-186 [PMID: 24217347 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.210]
- 17 Licata A, Corrao S, Petta S, Genco C, Cardillo M, Calvaruso V, Cabibbo G, Massenti F, Cammà C, Licata G, Craxi A. NT pro BNP plasma level and atrial volume are linked to the severity of liver cirrhosis. *PLoS One* 2013; 8: e68364 [PMID: 23940514 DOI: 10.1371/journal.pone.0068364]
- 18 Møller S, Hove JD, Diken U, Bendtsen F. New insights into cirrhotic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2013; 167: 1101-1108 [PMID: 23041091 DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.089]
- 19 Brondex A, Arlès F, Lipovac AS, Richecoeur M, Bronstein JA. [Cirrhosis cardiomyopathy: a specific entity]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2012; 61: 99-104 [PMID: 22115174 DOI: 10.1016/j.ancard.2011.07.004]

#### ■ 同行评价

本研究探讨了肝硬化患者心功能、血NO水平与肝硬化Child-Pugh分级的相关性,具有一定的临床意义,研究分组可行,方法合理,结果可信。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。



## 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术与十二指肠乳头球囊扩张术在治疗胆总管结石中的比较

席利力, 高鸿亮, 排组拉·沙拉依阿当, 姚萍

### 背景资料

目前在胆总管结石的治疗中主要有内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)与十二指肠乳头球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation, EPBD)两种较为常用的内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)技术方法。两种方法在胆总管中小结石的治疗中均有一定价值,但是都有一定的优缺点及适用范围。

席利力, 高鸿亮, 排组拉·沙拉依阿当, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

席利力, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的诊断及内镜下治疗研究。

作者贡献分布: 席利力主要完成本课题的研究设计, 收集整理资料、数据分析及论文撰写; 高鸿亮参与论文撰写; 排组拉·沙拉依阿当参与收集整理资料; 技术操作由姚萍完成。

通讯作者: 姚萍, 主任医师, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化内科。pingyaozh@sina.com  
电话: 0991-4362608

收稿日期: 2015-08-17  
修回日期: 2015-09-29  
接受日期: 2015-10-19  
在线出版日期: 2015-11-18

### Endoscopic sphincterotomy vs endoscopic papillary balloon dilation for retrieval of common bile duct stones

Li-Li Xi, Hong-Liang Gao, Paizula·Shalayiadang, Ping Yao

Li-Li Xi, Hong-Liang Gao, Paizula·Shalayiadang, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan North Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2015-08-17  
Revised: 2015-09-29  
Accepted: 2015-10-19  
Published online: 2015-11-18

### 同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

### Abstract

**AIM:** To compare the efficacy and safety of endoscopic papillary balloon dilation (EPBD) with endoscopic sphincterotomy (EST) in the treatment of common bile duct stones.

**METHODS:** A retrospective review of 266 patients with common bile duct stones treated at our hospital was conducted. Basic situations, stone diameter, stone extraction method, stone-free rate, and complications were compared between the EST group and EPBD group.

**RESULTS:** Complete stone clearance was achieved in 94.1% of patients in the EST group and 95.4% of those in the EPBD group ( $P > 0.05$ ). Complications occurred in 9.6% of patients in the EST group and 11.5% of those in EPBD group ( $P > 0.05$ ). The frequency of acute pancreatitis was higher in the EPBD group than in the EST group (9.2% vs 3.7%;  $P < 0.05$ ). Hemorrhage occurred only in the EST group ( $P < 0.05$ ). Performances of pancreatography and mechanical lithotripsy were risk factors for postoperative pancreatitis. Billroth II gastrectomy, peripapillary duodenal diverticulum, and bile duct stone diameter were factors influencing successful stone removal.

**CONCLUSION:** EST and EPBD are approximately equivalent in terms of successful clearance of common bile duct stones and overall complications. Performances of pancreatography and mechanical lithotripsy are risk factors for postoperative pancreatitis. The procedure of EPBD is more simple and especially safer for

elderly and patients with coagulation dysfunction or requiring anti-coagulation treatment.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic sphincterotomy; Endoscopic papillary balloon dilation; Common bile duct stones

Xi LL, Gao HL, Paizula • Shalayiadang, Yao P. Endoscopic sphincterotomy vs endoscopic papillary balloon dilation for retrieval of common bile duct stones. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5222-5227 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5222.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5222>

## 摘要

**目的:** 对比研究内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)与十二指肠乳头括约肌球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation, EPBD)治疗胆管结石的安全性和有效性。

**方法:** 回顾性分析新疆医科大学第一附属医院266例胆管结石住院患者的临床资料, 分别对EST组和EPBD组病例的基本情况、结石直径、取石方法、结石取净率、并发症等进行比较。

**结果:** EST组和EPBD组结石清除率分别为94.1%和95.4%( $P>0.05$ ); EST组和EPBD组总体并发症的发生率分别为9.6%和11.5%( $P>0.05$ ); EPBD组术后胰腺炎的发生率高于EST组, 分别为9.2%和3.7%( $P<0.05$ ); 术后出血仅发生在EST组( $P<0.05$ ); 胰管造影和机械碎石是EST或EPBD术后急性胰腺炎的风险因素; 毕二式胃大部切除术后, 十二指肠乳头旁憩室, 胆管结石直径均是影响结石成功取出的因素。

**结论:** EST和EPBD在取石成功率方面效果相似; 总体并发症的发生率相近; 胰管造影和机械碎石是术后急性胰腺炎的风险因素; EPBD操作简便, 特别适合凝血功能障碍和需要抗凝治疗的患者, EPBD在胆管结石的治疗中有广泛前景。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 十二指肠乳头括约肌切开术; 十二指肠乳头球囊扩张术; 胆总管结石

**核心提示:** 目前十二指肠乳头小切开联合十二指肠乳头球囊扩张术(endoscopic papillary

balloon dilation, EPBD)后取石比较流行, 此类文章较多。但是对于中小结石来说, 单纯切开或扩张已经能解决大部分胆总管结石, 临床上对十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy)和EPBD两者取石的优缺点相关的文章较少, 通过此研究对两者在取石的成功率, 并发症及应用前景等方面的比较为临床提供参考。

席利力, 高鸿亮, 排组拉•沙拉依阿当, 姚萍. 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术与十二指肠乳头球囊扩张术在治疗胆总管结石中的比较. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5222-5227 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5222.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5222>

## 0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)由于较低的费用和较小的侵入已经逐步取代外科手术而成为治疗胆总管结石的有效方法<sup>[1]</sup>。目前在胆总管结石的治疗中主要有内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)与十二指肠乳头球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation, EPBD)两种较为常用的ERCP技术方法。但随着EST的广泛应用, 与EST相关的术后并发症却日益受到关注, 为了避免胆道括约肌的永久损坏, 早在20世纪80年代, Staritz等<sup>[2]</sup>就首次报道了EPBD是代替EST的有效方法。有报道<sup>[3]</sup>认为, EPBD比EST有较高的术后胰腺炎的发生率, 因此使其在临床上的应用受到了一定限制。但由于EPBD和EST具有相同的胆总管结石取尽率, 且其保留胆道括约肌功能, 使其再度流行起来<sup>[4]</sup>。本文性分析了新疆医科大学第一附属医院消化内科266例行EPBD和EST的病历资料, 通过对胆总管结石的一次取尽率、结石的直径、两种手术方式所产生的手术近期并发症等主要指标进行对比研究, 比较两种方法在治疗肝外胆管结石方面的异同, 为使其在临床上更好的应用提供经验。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-08/2015-03新疆医科大学第一附属医院诊断为肝外胆管结石并行EST和EPBD取石治疗的住院患者266例, 患者采取的治疗方式完全随机。其中行EST的136例, 行EPBD的130例。其中男性159例, 女性107例。患

## ■ 研究前沿

不同的取石方法在胆总管结石治疗的成功率及安全性方面均有一定的差异。如何用更安全及有效的方法是临床关注的焦点。用大样本的临床研究来比较不同的治疗方法, 从而选出最为合理的治疗手段是今后研究的方向。

## ■ 相关报道

ERCP在胰胆管疾病治疗中的应用日趋成熟, 因其具有安全、简便、并发症少等优点, 已成为胰胆管疾病治疗的重要手段。EPBD和EST是较为常用的方法, 比较两种方法在治疗肝外胆管结石方面的异同, 为使其在临床上更好的应用提供经验。

■ 创新盘点

分别对EST组和EPBD组病例的基本情况、结石直径、取石方法、结石取净率、并发症等进行比较, 得出两者在取石成功率方面效果相似, 总体并发症的发生率相近, EPBD组比EST组有较高急性胰腺炎的发生率, EPBD特别适合凝血功能障碍的患者。

表 1 研究对象临床资料

分组	<i>n</i>	性别 (男/女)	年龄 (岁)	胆管直径 (mm)	结石直径 (mm)	既往胆囊手术 <i>n</i> (%)	乳头旁憩室 <i>n</i> (%)
EST组	136	81/55	66.7 ± 17.9	14.3 ± 4.5	8.8 ± 3.5	46(33.8)	54(39.7)
EPBD组	130	78/52	61.7 ± 15.4	12.5 ± 5.6	7.9 ± 2.7	40(30.7)	41(31.5)

EST: 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术; EPBD: 十二指肠乳头球囊扩张术。

表 2 EST组与EPBD组结石取出情况比较 *n*(%)

分组	结石完全清除	操作次数			机械碎石
		1次	2次	≥3次	
EST组	128/136(94.1)	118/128(92.2)	8	2	39(30.5)
EPBD组	124/130(95.4)	116/124(93.5)	7	1	35(28.2)
<i>P</i> 值	>0.05	>0.05	—	—	>0.05

EST: 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术; EPBD: 十二指肠乳头球囊扩张术。

者的性别, 年龄, 胆总管直径, 结石数目, 结石大小, 既往手术史, 乳头旁憩室等基线资料在两治疗组中比较无统计学意义( $P>0.05$ )(表1)。所用设备有OLYMPUS JF240/TJF240内镜, 标准X线造影导管, ERBE200高频电发生器, 机械碎石网篮, 柱状扩张气囊及取石球囊。

1.2 方法

1.2.1 治疗: EPBD组患者在行ERCP和选择性胆管插管后, 将一根标准的0.025或0.035导丝插入胆管, 沿导丝插入适当直径的扩张球囊, 球囊定位于十二指肠乳头, 以6-8 atm(1 atm = 101.325 kPa)压力将造影剂注入球囊持续扩张, 待球囊中间的腰部消失, 停止注射, 扩张需要持续15-30 s 乳头扩张后再用取石网篮或取石球囊取尽结石。若结石较大, 机械碎石后再取出。EST组患者在常规行ERCP胆管造影后, 在导丝引导下放入十二指肠乳头切开刀, 使乳头位于左侧11点或12点方向, 接通电凝器切开乳头。后再用网篮或球囊取石, 结石较大难以取出时采用机械碎石。结石取出后放置胆管支架或行鼻胆管引流, 结石取出的标准是在造影后胆道无充盈缺损。

1.2.2 术后评价: 术后需要观察的临床症状有腹痛, 腹胀, 恶心, 呕吐, 发热及黑便。术后4、12和24 h后测定血淀粉酶。常见并发症为术后胰腺炎, 诊断标准如下: 术前无胰腺炎, 术后4 h血淀粉酶升高到正常3倍以上, 同时伴有腹痛, 恶心和呕吐, 发热和腹膜刺激征以及其他一些临

床体征; 通过影像学检查发现胰腺形态学改变。术后近期并发症包括1 wk内出现急性胰腺炎, 出血和消化系穿孔等<sup>[5,6]</sup>。

**统计学处理** 所有数据采用SPSS19.0软件包进行分析, 计量资料以mean ± SD表示, 各组间数据的比较采用*t*检验; 计数资料用 $\chi^2$ 检验使用非条件Logistic回归来评价手术成功率和术后胰腺炎的发生率。  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EST组与EPBD组结石取出情况比较 EST组与EPBD组结石取出情况比较如表2。EST组与EPBD组在对结石的总体清除率是相似的( $P>0.05$ ); 第一次取石成功率在EST与EPBD组无明显差异( $P>0.05$ ); 使用机械碎石在两组间也无明显差异( $P>0.05$ )。其结果表明无论EST或EPBD, 无论结石大小, 两组在结石的总体清除率方面无明显差异。EST组共有8例结石未能取出, 其中5例因结石较大, 机械碎石后也未能取出, 后转为外科手术, 其中1例发生十二指肠穿孔终止手术, 2例发生乳头切开后出血, 结石未取出。EPBD组有6例结石未能取出, 其中4例结石较大未能取出转外科手术, 1例患者无法配合终止操作, 1例由于毕二式术后操作困难, 插管失败而终止。

2.2 两组患者术后并发症情况 术后并发症情况如表3。EST组与EPBD组术后总体并发症的发



表 3 EST组与EPBD组术后并发症情况比较  $n(\%)$ 

分组	$n$	胰腺炎	胆管炎	出血	穿孔	合计
EST组	136	5(3.7)	4(2.9)	4(2.9)	1(0.7)	13(9.6)
EPBD组	130	12(9.2)	3(2.3)	0	0	15(11.5)
$P$ 值		$< 0.05$	$> 0.05$	$< 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$

EST: 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术; EPBD: 十二指肠乳头球囊扩张术。

表 4 多变量回归分析中术后胰腺炎的危险因素

危险因子	OR值	95%可信区间	$P$ 值
取石方法(EPBD)	5.00	1.21–20.19	0.02
机械碎石	5.78	1.36–22.57	0.02
胰管造影	40.3	2.70–503.4	0.00
结石直径( $\geq 10$ mm)	1.16	0.25–5.37	0.35
多发结石( $\geq 2$ )	1.37	0.13–13.72	0.76
年龄( $\geq 60$ 岁)	0.63	0.47–8.35	0.71
性别(女性)	1.89	0.51–7.47	0.34

EPBD: 十二指肠乳头球囊扩张术。

生率相似( $P>0.05$ ); 其中EPBD组术后胰腺炎的发生率明显高于EST( $P<0.05$ ); EST组与EPBD组术后胆管炎的发生率相似( $P>0.05$ ); 术后出血在EST组与EPBD组有差异( $P<0.05$ ); EST组发生穿孔1例, 两组无统计学差异。本组研究中共发生胰腺炎17例, 其中EST组中发生重症胰腺炎1例, 发生十二指肠穿孔1例, 消化道出血4例, 其中上消化道大出血1例。本研究中对不同取石方法, 患者性别, 年龄, 结石的大小与数目, 机械碎石与胰管造影等有可能影响术后胰腺炎发生的相关因素进行Logistic回归分析, 结果表明不同操作方法, EPBD会增加术后胰腺炎的风险( $OR = 5.00, P = 0.02$ ); 机械碎石( $OR = 5.78, P = 0.02$ )和胰管反复造影( $OR = 40.3, P = 0.00$ )都会增加术后胰腺炎的风险(表4)。

**2.3 结石成功取出的相关因素分析** 本研究中对影响结石成功取出的相关因素包括患者的性别, 年龄, 结石的直径, 胃大部切除术后毕二式, 乳头旁憩室, 胆囊切除术后史等相关因素进行多变量回归分析, 结果显示毕二式胃大部切除术后( $OR = 5.34, 95\%CI: 2.21-12.85, P<0.05$ ), 十二指肠乳头旁憩室( $OR = 2.37, 95\%CI: 1.06-5.42, P<0.05$ ), 胆管结石直径( $OR = 2.59, 95\%CI: 1.17-5.93, P<0.05$ )均是影响结石成功取出的因素(表4)。

### 3 讨论

20世纪80年代, EPBD由于频繁的并发症的发生被逐渐摒弃, 而这些并发症中主要是急性胰腺炎。但随着腹腔镜技术的发展, EPBD在ERCP中的使用再次兴起。在1993年, Mac Mathuna等<sup>[7]</sup>报道了用EPBD治疗胆管结石的良好疗效。随后, 有关EPBD在ERCP中的应用的相关研究逐渐增多。本研究主要针对EST和EPBD的有效性, 安全性以及在ERCP中的选择等诸多问题解决临床上长期存在的一些争议性话题。

在本组研究中, EST和EPBD具有相似的结石清除率。两种取石方法在结石的清除率中无明显差异, 表明两种方法最终都会达到较为满意的取石效果。但在很多研究中, 仅选择有小结石的患者做EPBD, 这样选择性治疗与未选择的EST治疗比较, 结石取净率是不恰当的。多重回归分析显示取石成功率与结石直径, 十二指肠乳头旁憩室以及毕二式胃大部切除术后相关。结石直径超过10 mm, 存在十二指肠乳头旁憩室或为毕二式胃大部切除术后, 都会加大取石难度。

本研究中EST组与EPBD组术后总体并发症发生率相似, 但EPBD组术后胰腺炎的发生率明显高于EST(9.2% vs 3.7%,  $P<0.05$ )。根据

### 应用要点

依据患者的具体情况, 选择较为合适的取石方法, 综合考虑安全性, 有效性以及患者的经济情况等, 具体问题具体分析, 做到量体裁衣。

## ■名词解释

内镜逆行胰胆管造影(ERCP): 是在内镜下经十二指肠乳头插管注入造影剂, 从而逆行显示胰胆管的造影技术, 是目前公认的诊断胰胆管疾病的金标准。

多重回归分析研究<sup>[8,9]</sup>结果表明, EPBD是术后胰腺炎发生的危险因素。本组研究术后胰腺炎多重分析结果( $OR = 5.00, P = 0.02$ ), 与报道吻合。研究表明胰管造影和EPBD是术后胰腺炎的危险因素。本研究中, EPBD组12例术后胰腺炎均为轻症, 经过内科保守治疗后均好转出院, EST组中1例发生重症胰腺炎, 经过积极的综合治疗1 mo后好转出院, 无术后胰腺炎死亡病例。据报道不必要的胰管内插管或胰管内造影( $OR = 2.7, 95\%CI: 1.2-6.3, P = 0.016$ )是EPBD术后发生胰腺炎的危险因素<sup>[10]</sup>。造影剂进入胰管, 流出不畅, 从而导致胰管压力增高是导致术后胰腺炎的主要原因<sup>[11,12]</sup>。另外导丝反复进入胰管, 会导致胰管水肿而诱发胰腺炎。本组研究中, 多重回归分析表明胰管造影会增加术后胰腺炎的风险( $OR = 40.3, P = 0.00$ ), 与报道<sup>[13]</sup>相符合。因此在进行内镜操作时应该避免不必要的胰管插管或胰管内注射造影, 同时, 我们认为乳头切开或球囊扩张后如果结石预计能够取出, 应该尽量减少机械碎石次数以降低术后胰腺炎发生风险。研究报道<sup>[14]</sup>EST术后出血及穿孔等并发症较多。本研究中, EST术后出血的发生率为2.2%, 而EPBD组出血的发生率为0( $P < 0.05$ )。其中1例肝硬化患者术后发生消化道大出血。因此在术式的选择上, 应该充分考虑到其可能引发的并发症情况: 根据ERCP2010年指南<sup>[15]</sup>对于有凝血功能障碍, 近期服用抗凝药(1 wk以内), 肝硬化门脉高压等的患者, 应先纠正凝血功能, 停用抗凝药物至少5-7 d, 但有时考虑到抗凝治疗的停止可能会导致血栓栓塞事件发生, 最好选用EPBD取石术; 而对于既往有胰腺炎和高淀粉酶血症病史的患者, 则最好选用EST取石术。一些学者<sup>[16,17]</sup>认为EST联合EPBD能提高疗效, 减少并发症。但我们认为单纯用EST及EPBD能取出绝大部分中小结石, EST联合EPBD是否具有更好的疗效及安全性还需要大样本临床研究来证实。

通过本研究两种术式在结石的取净率方面效果是相似的, 但是在术后并发症方面有差异。因此在术式的选择上, 应该充分考虑到其可能引发的并发症情况并权衡利弊综合考虑, 对于有凝血功能障碍者, 肝硬化门脉高压等的患者, 巨大憩室内乳头, 毕二式胃大部切除术后, 最好选EPBD; 而对于既往有胰腺炎或为胰腺炎急性期的患者则最好选用EST取石术。因

为乳头括约肌的收缩会影响结石排出, 造成结石在乳头处的嵌顿, 所以对于需要自然排石的患者, 建议选用EST取石术, 但切开后容易诱发反流性胆管炎从而导致逆行感染。对于需保留奥狄氏(Oddi)括约肌功能者, 建议选用EPBD取石术。

总之, EPBD在治疗胆总管结石中是不错的选择, 尽管EPBD的术后胰腺炎发生率高于EST, 但这些术后胰腺炎绝大部分为轻症, 经过保守治疗后都能好转, 同时由于EPBD操作简便, 能一定程度保留十二指肠乳头括约肌功能, 对于中小结石减少机械碎石的使用, 因此其在临床上的使用前景广阔。

## 4 参考文献

- 1 李兆申, 汪鹏. 内镜技术在胆总管结石治疗中的应用. 临床肝胆病杂志 2013; 29: 161-162
- 2 Staritz M, Ewe K, Meyer zum Büschenfelde KH. Endoscopic papillary dilation (EPD) for the treatment of common bile duct stones and papillary stenosis. *Endoscopy* 1983; 15 Suppl 1: 197-198 [PMID: 6872989 DOI: 10.1055/s-2007-1021507]
- 3 Baron TH, Harewood GC. Endoscopic balloon dilation of the biliary sphincter compared to endoscopic biliary sphincterotomy for removal of common bile duct stones during ERCP: a metaanalysis of randomized, controlled trials. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1455-1460 [PMID: 15307859 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.30151.x]
- 4 Liu Y, Su P, Lin S, Xiao K, Chen P, An S, Zhi F, Bai Y. Endoscopic papillary balloon dilatation versus endoscopic sphincterotomy in the treatment for choledocholithiasis: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 464-471 [PMID: 21913984 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06912.x]
- 5 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995 DOI: 10.1016/S0016-5107(91)70740-2]
- 6 麻树人, 邵晓东, 张宁, 潘汝明, 杨琳, 宫照杰. 治疗性ERCP在胆胰疾病中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 31-34
- 7 Mac Mathuna P, Lennon J, Crowe J. Endoscopic balloon sphincteroplasty for benign papillary stenosis--an alternative to surgical or endoscopic papillotomy? *Ir J Med Sci* 1993; 162: 355-357 [PMID: 8262759]
- 8 Wang P, Li ZS, Liu F, Ren X, Lu NH, Fan ZN, Huang Q, Zhang X, He LP, Sun WS, Zhao Q, Shi RH, Tian ZB, Li YQ, Li W, Zhi FC. Risk factors for ERCP-related complications: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 31-40 [PMID: 19098846 DOI: 10.1038/ajg.2008.5]
- 9 Chung JW, Chung JB. Endoscopic papillary balloon dilation for removal of choledocholithiasis: indications, advantages, complications, and long-

- term follow-up results. *Gut Liver* 2011; 5: 1-14 [PMID: 21461066 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.1]
- 10 Kuo CM, Chiu YC, Changchien CS, Tai WC, Chuah SK, Hu TH, Kuo YH, Kuo CH. Endoscopic papillary balloon dilation for removal of bile duct stones: evaluation of outcomes and complications in 298 patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 860-864 [PMID: 23060218 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182617a42]
  - 11 葛均波, 徐永健. 内科学. 第八版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 439-442
  - 12 郑侃, 李炜, 张计训, 陈亚峰, 倪雷, 曹亦军. 内镜下乳头括约肌小切开联合气囊扩张术对胆总管结石患者的疗效观察. *肝胆胰外科杂志* 2012; 24: 195-197
  - 13 郝立校, 王坚, 焦成文. 内镜下乳头气囊扩张术后并发胰腺损伤的高危因素分析. *中国内镜杂志* 2012; 18: 233-236
  - 14 单深良, 梁华钦, 欧希, 熊沛, 叶建宇. 内镜下乳头球囊扩张术在胆总管结石治疗中的应用. *医学综述* 2012; 18: 2863-2865
  - 15 中华医学会消化内镜分会ERCP学组. ERCP诊治指南(2010版). *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 113-118
  - 16 潘亚敏, 张嘉妍, 周玉保, 王田田, 刘润皇, 胡冰. 乳头大口径气囊扩张术治疗胆管结石的前瞻性随机对照研究. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 564-567
  - 17 Attasaranya S, Sherman S. Balloon dilation of the papilla after sphincterotomy: rescue therapy for difficult bile duct stones. *Endoscopy* 2007; 39: 1023-1025 [PMID: 18008210 DOI: 10.1055/s-2007-966922]

■同行评价  
本文选题有一定的新颖性, 思路清晰, 数据可信度较高, 有一定的临床学习价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》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l/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, 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, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub>, Vd, T<sub>1/2</sub> CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.



## 富含精氨酸肠内营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响

张海军

### ■背景资料

重型颅脑损伤患者伴随发病急、发展迅速等特点, 还有较高的病死率及致残率。治疗后大部分患者可以幸存, 但是, 患者会伴随不同程度的功能障碍。因此, 围术期的营养支持显得尤为重要。肠内营养结合免疫营养在临床的应用越来越受到关注。

张海军, 承德市中心医院神经外科 河北省承德市 067000

张海军, 副主任医师, 主要从事肠内营养方向的研究。

作者贡献分布: 本文由张海军独立完成。

通讯作者: 张海军, 副主任医师, 067000, 河北省承德市西大街路北11号, 承德市中心医院神经外科。hjjzhaiji@163.com  
电话: 03142028359

收稿日期: 2015-09-19

修回日期: 2015-10-14

接受日期: 2015-10-19

在线出版日期: 2015-11-18

### Effect of arginine-rich enteral nutrition support on prognosis of patients with severe brain injury

Hai-Jun Zhang

Hai-Jun Zhang, Department of Neurosurgery, Chengde Central Hospital, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Hai-Jun Zhang, Associate Chief Physician, Department of Neurosurgery, Chengde Central Hospital, 11 Dajie West Road North Bound, Chengde 067000, Hebei Province, China. hjzhaiji@163.com

Received: 2015-09-19

Revised: 2015-10-14

Accepted: 2015-10-19

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the effect of arginine-rich enteral nutrition support on the prognosis of patients with severe craniocerebral injury, and to provide scientific and effective nutritional support for patients with severe brain injury.

**METHODS:** A retrospective analysis was performed of clinical data of 309 patients with severe craniocerebral injury treated from July 2014 to July 2015 at our hospital. According to postoperative enteral nutrition the patients received, these patients were divided into a standard nutrition group (EN group) and an arginine enhanced group (AEN group). On postoperative day 7, nutritional indicators, immunological indexes, postoperative complications and prognosis were compared between the two groups.

**RESULTS:** Preoperative total protein content, albumin, hemoglobin and albumin levels showed no significant differences between the two groups ( $P > 0.05$ ). On day 7 after intervention total protein content showed no statistical significance between the two groups ( $P > 0.05$ ), but albumin, hemoglobin, and prealbumin levels were significantly higher in the AEN group than in the EN group ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in white blood cells or the proportion of CD8<sup>+</sup> cells between the two groups ( $P > 0.05$ ), but total lymphocyte content, proportion of CD4<sup>+</sup> cells, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio were significantly higher in the AEN group than in the EN group ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the rates of wound infection or respiratory tract infection between the two groups ( $P > 0.05$ ), but the total number of cases of urinary tract infections and the proportion of postoperative complications were significantly lower in the AEN group than in the EN group ( $P < 0.05$ ). Time to first defecation and hospital stay were significantly shorter in the AEN group than in the EN group ( $P < 0.05$ ).

### ■同行评议者

吴文溪, 教授, 主任医师, 江苏省人民医院普外科; 南京医科大学第一附属医院

**CONCLUSION:** Enteral nutritional support can not only effectively improve the nutritional status and immune function of patients with severe craniocerebral injury, but also effectively reduce the incidence of complications and shorten the length of hospital stay.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Arginine; Enteral nutrition; Severe head injury; Prognosis

Zhang HJ. Effect of arginine-rich enteral nutrition support on prognosis of patients with severe brain injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5228-5232 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5228.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5228>

## 摘要

**目的:** 探讨富含精氨酸肠内营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响, 为重型颅脑损伤患者提供科学有效的营养支持。

**方法:** 回顾性分析2014-07/2015-07承德市中心医院收治的重型颅脑损伤患者309例的临床资料, 根据患者接受的术后肠内营养不同分为标准营养组(EN组)和精氨酸强化组(AEN组), 主要评价两组患者术后7 d的营养学指标、免疫学指标、术后并发症以及预后情况。

**结果:** 两组患者术前总蛋白含量、白蛋白含量、血红蛋白含量以及前白蛋白含量的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 干预7 d后, 两组患者的总蛋白含量的差异无统计学意义( $P>0.05$ ), AEN组患者的白蛋白含量、血红蛋白含量、前白蛋白含量均显著地高于EN组, 且差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 两组患者白细胞含量与CD8<sup>+</sup>比例的差异无统计学意义( $P>0.05$ ), AEN组总淋巴细胞含量、CD4<sup>+</sup>含量、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比例均显著地高于EN组, 且差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 两组患者的伤口感染、呼吸道感染的差异无统计学意义( $P>0.05$ ), AEN组患者泌尿系统感染的比例以及术后并发症的总例数显著的低于EN组, 且差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), AEN组患者首次排便时间以及住院时间均显著的低于EN组, 且差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 富含精氨酸肠内营养支持不仅可以有

效改善重症颅脑损伤患者的营养指标和免疫功能, 还可以有效地降低患者并发症的发生, 缩短住院时间, 值得临床推广。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 精氨酸; 肠内营养; 重型颅脑损伤; 预后

**核心提示:** 回顾性分析309例重型颅脑损伤患者临床资料, 探讨富含精氨酸肠内营养支持对其预后的影响, 研究指出富含精氨酸肠内营养支持不仅可以有效改善重症颅脑损伤患者的营养指标和免疫功能, 还可以有效地降低患者并发症的发生。

张海军. 富含精氨酸肠内营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5228-5232 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5228.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5228>

## 0 引言

重型颅脑损伤患者伴随发病急、病情发展迅速等特点, 还有较高的病死率及致残率。目前, 最主要的治疗方式为外科治疗, 治疗后大部分患者可以幸存, 但是, 患者会伴随不同程度的功能障碍, 例如围术期的营养不良以及贫血较为常见<sup>[1,2]</sup>。患者在围术期的营养不良会引发患者体液免疫的抑制、炎症反应失调、伤口不宜愈合、提升感染的发生率等不良反应<sup>[3]</sup>。因此, 围术期的营养支持显得尤为重要<sup>[4,5]</sup>。与肠外营养相比, 肠内营养不仅可以有效的提供营养, 还可以促进肠的正常蠕动, 改善肠黏膜功能, 而且已经得到广泛的认可。而且肠内营养结合免疫营养越来越受到关注, 免疫营养支持是指在标准的营养物质中添加特殊的营养素, 例如氨基酸、脂肪酸等营养物质, 具有较好的治疗效果<sup>[6,7]</sup>。本研究回顾性分析2014-07/2015-07承德市中心医院收治的309例重型颅脑损伤患者, 探讨富含精氨酸肠内营养与标准营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究回顾性分析2014-07/2015-07承德市中心医院收治的重型颅脑损伤患者309例, 其中, 男性患者189例, 女性患者120例, 平均年龄37.23岁±9.39岁(19-63岁), 损伤部位分布情况: 硬膜下血肿126例, 硬膜外血肿81

## ■ 研究前沿

肠内营养与肠外营养提供方式, 以及提供何种营养素是该领域的重点与难点, 亟待解决的问题为如何针对不同的患者给予合适的营养素以及合理的营养提供方式。

## ■ 相关报道

国内外的许多研究显示, 与标准的肠内营养支持治疗的方式相比, 手术患者尤其是多发伤患者进行早期的免疫营养支持治疗对于患者机体的体液免疫和细胞免疫功能均有显著的改善。本研究采用富含精氨酸的肠内营养支持的治疗效果与国内的很多研究结果大体一致。

**■创新盘点**

富含精氨酸肠内营养支持不仅可以有效改善重症颅脑损伤患者的营养指标和免疫功能,还可以有效地降低患者并发症的发生,缩短住院时间,与本研究类似的文章报道过富含精氨酸对其他类型损伤患者的治疗,但是对颅脑损伤患者未见报道,本研究的创新点在于富含精氨酸肠内营养支持应用于重型颅脑损伤患者上,并取得满意的疗效。

例,脑内出血50例,脑干损伤42例,颅骨损伤10例。所有患者均通过计算机断层扫描(computed tomography, CT)以及临床检查确诊为重型颅脑损伤。本研究经过本院的伦理委员会审查同意。纳入标准:患者的年龄 $\geq 18$ 岁且 $\leq 65$ 岁;颅脑损伤后12 h内接受治疗的;首次颅脑损伤且无其他脏器的显著病变;格拉斯哥昏迷评分 $\leq 8$ 分的患者;不合并糖尿病和其他代谢类疾病;临床资料齐全的患者。排除标准:年龄 $< 18$ 岁以及 $> 65$ 岁的患者排除;颅脑损伤后超过12 h后接受治疗的排除;格拉斯哥昏迷评分 $> 8$ 分的患者排除;合并其他脏器损伤的患者排除,例如心脏病;合并糖尿病的患者排除;临床资料不全的患者排除。

**1.2 方法**

**1.2.1 分组:**本研究根据患者接受的术后肠内营养不同分为标准营养组(EN组)和精氨酸强化组(AEN组),其中,EN组共159例,AEN组150例。EN组男性患者96例,女性63例,平均年龄为平均年龄 $35.14 \pm 10.11$ 岁(19-61岁),体质指数(body mass index, BMI)值为 $22.16 \text{ kg/m}^2 \pm 2.06 \text{ kg/m}^2$ ,损伤部位分布情况:硬膜下血肿65例,硬膜外血肿41例,脑内出血27例,脑干损伤22例,颅骨损伤4例,手术时间为 $267.26 \text{ min} \pm 51.17 \text{ min}$ ,术中出血量 $152.73 \text{ mL} \pm 40.16 \text{ mL}$ ;AEN组男性患者93例,女性57例,平均年龄为平均年龄 $38.25 \pm 9.26$ 岁(20-63岁),BMI值 $23.29 \text{ kg/m}^2 \pm 2.15 \text{ kg/m}^2$ ,损伤部位分布情况:硬膜下血肿61例,硬膜外血肿40例,脑内出血23例,脑干损伤20例,颅骨损伤6例,手术时间为 $273.73 \text{ min} \pm 55.28 \text{ min}$ ,术中出血量 $158.15 \text{ mL} \pm 43.88 \text{ mL}$ 。两组患者一般资料的差异无统计学意义,具有可比性。

**1.2.2 EN组患者的营养支持方式:**本组患者行标准肠内营养支持治疗,其营养主要包含蛋白质40 g/L,脂肪19 g/L,碳水化合物123 g/L,纤维素15 g/L,微量元素6 g/L,维生素0.3 g/L,每1000 mL提供大约1000 kCal的能量。患者术前进行鼻腔插管,术后6 h后开始肠内营养支持治疗,输注温度为 $38^\circ\text{C}$ ,输注速度为2 mL/min,持续营养支持7 d,每天的输注总量为25 kJ/kg,氮元素的含量不少于0.2 g/kg,患者营养的不足部分均有肠外营养支持治疗给予,术后1 d给予患者需求量的25%,术后2-3 d给予患者需求量的50%,术后4 d给予所需的全部热量。

**1.2.3 AEN组患者的营养支持方式:**本组患者的治疗方案与EN组患者完全相同,在营养液中将蛋白质的含量降低为31.5 g/L,增添了精氨酸8.5 g/L。两组患者在第4天后接受所需的全部营养。

**1.2.4 评价指标:**主要评价两组患者术后7 d的营养学指标、免疫学指标、术后并发症以及预后情况。其中营养学指标包括血清总蛋白含量、白蛋白含量、血红蛋白含量、前白蛋白含量;免疫学指标主要包括淋巴细胞总数、白细胞含量、CD4与CD8T淋巴细胞含量;术后并发症主要包含伤口感染、呼吸道感染、脓毒症、泌尿系统感染以及吻合口瘘等;预后情况主要包含术后的首次排气时间、首次排便时间、住院时间。

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS19.0统计软件进行处理,定量数据均采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 进行表示;计量资料采用 $t$ 检验;计数资料均采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 两组患者营养学指标的比较** 研究结果显示,两组患者术前总蛋白含量、白蛋白含量、血红蛋白含量以及前白蛋白含量的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );干预7 d后,两组患者的总蛋白含量的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),AEN组患者的白蛋白含量、血红蛋白含量、前白蛋白含量均显著地高于EN组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

**2.2 两组患者免疫学指标的比较** 研究结果显示,两组患者白细胞含量与CD8<sup>+</sup>比例的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),AEN组总淋巴细胞含量、CD4<sup>+</sup>含量、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比例均显著地高于EN组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。

**2.3 两组患者术后并发症的比较** 研究结果显示,两组患者的伤口感染、呼吸道感染的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),AEN组患者泌尿系统感染的比例以及术后并发症的总例数显著的低于EN组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3)。

**2.4 两组患者预后情况的比较** 研究结果显示,AEN组患者首次排便时间以及住院时间均显著的低于EN组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3)。

**3 讨论**

重型颅脑损伤患者多伴随不同程度的运动、

**■应用要点**

本研究探讨富含精氨酸肠内营养与标准营养支持对重型颅脑损伤患者预后的影响,首先科学合理的为重症颅脑损伤患者营养支持提供科学依据,再次,在临床上可以真正改善患者的生存质量,具有很强的应用价值。



表 1 两组患者营养学指标的比较 (mean ± SD, g/L)

分组	总蛋白含量		白蛋白含量		血红蛋白含量		前白蛋白含量	
	术前	术后	术前	术后	术前	术后	术前	术后
EN组	64.75 ± 11.21	48.82 ± 9.96	33.17 ± 15.25	25.26 ± 3.72	124.28 ± 8.37	112.67 ± 9.27	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.02
AEN组	65.20 ± 10.69	54.18 ± 12.76	32.26 ± 13.47	30.15 ± 2.82	122.63 ± 8.82	123.21 ± 10.34	0.20 ± 0.02	0.27 ± 0.04
t值	0.021	0.917	0.056	3.281	0.087	6.192	0.012	3.192
P值	0.827	0.281	0.718	0.000	0.629	0.000	0.927	0.000

EN组: 标准营养组; AEN组: 精氨酸强化组.

表 2 两组患者免疫学指标的比较

分组	总淋巴细胞( $10^9/L$ )	白细胞( $10^9/L$ )	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
EN组	1.21 ± 0.02	5.1 ± 0.51	33.27 ± 5.28	17.24 ± 2.94	1.79 ± 0.35
AEN组	1.34 ± 0.02	5.3 ± 0.49	40.07 ± 3.81	19.23 ± 3.03	2.21 ± 0.31
t值	3.721	0.628	5.218	0.517	5.089
P值	0.000	0.317	0.000	0.473	0.000

EN组: 标准营养组; AEN组: 精氨酸强化组.

表 3 两组患者术后并发症和预后情况的比较

分组	并发症				预后	
	伤口感染	呼吸道感染	泌尿系统感染	n	首次排便时间(d)	住院时间(d)
EN组	16	8	8	32	3.31 ± 0.35	14.27 ± 2.29
AEN组	5	4	0	9	2.72 ± 0.30	11.02 ± 1.16
$\chi^2/t$ 值	2.402	1.153	7.723	15.078	2.729	4.203
P值	1.121	0.283	0.005	0.000	0.021	0.000

EN组: 标准营养组; AEN组: 精氨酸强化组.

认知、语言、感觉等方面的功能障碍. 临床研究证实, 中枢神经损伤患者可以通过代偿性补偿残留部分神经功能恢复机体部分损伤的神经功能, 此过程的营养支持尤为重要<sup>[8,9]</sup>. 因此, 本研究将富含精氨酸肠内营养支持的治疗方式应用于中性颅脑损伤患者, 并取得了满意的疗效.

干预7 d后, 两组患者的总蛋白含量的差异无统计学意义, AEN组患者的白蛋白含量、血红蛋白含量、前白蛋白含量均显著地高于EN组, AEN组总淋巴细胞含量、CD4<sup>+</sup>含量、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比例均显著地高于EN组, 且差异均具有统计学意义. 研究结果显示, 与标准肠内营养支持疗法相比, 富含精氨酸肠内营养支持

疗法可以较好的提升患者机体的营养以及改善患者的免疫系统. 很多研究<sup>[10,11]</sup>显示, 与标准的肠内营养支持治疗的方式相比, 手术患者尤其是多发伤患者进行早期的免疫营养支持治疗对于患者机体的体液免疫和细胞免疫功能均有显著的改善和提高, 本研究采用富含精氨酸的肠内营养支持的治疗效果与国内的很多研究<sup>[12,13]</sup>结果大体一致. 分析原因为颅脑损伤后, 患者的机体呈现高合成与代谢的状态, 此过程会伴随患者的心动加快、耗氧能力提升, 致使机体的肾上腺激素、去甲肾上腺以及胰高血糖素的提升, 也会影响生长因子与血管紧张素的剧增, 这一系列的改变最终导致体重减轻、肝糖原分解以及糖异生途径的开启, 患

■名词解释

重型颅脑损伤: 是因暴力直接或间接作用于头部引起颅脑组织的损伤. 根据格拉斯哥昏迷记分法确定: 伤后昏迷6 h以上或再次昏迷者为重型颅脑损伤.

### ■ 同行评价

精氨酸是一种条件必需氨基酸, 具有免疫促进作用, 以及生长促进作用。以往有围手术期使用富含精氨酸营养支持的研究工作。本研究对于重型颅脑损伤患者手术后给予含精氨酸肠内营养支持进行临床对照研究, 设计基本合理。

者接受外科手术治疗后, 身体也急需营养的补充。而且机体的创伤可能会导致患者免疫抑制效应<sup>[14,15]</sup>。本研究在营养液中加入精氨酸可以有效地改善患者的营养支持而且可以有效地提升免疫效应, 其机制为精氨酸可以有效地促进T淋巴细胞对外源性凝集素的有丝分裂, 刺激淋巴细胞的增殖, 而且有效地提升CD4含量。精氨酸还可以患者肝脾内白介素-2的分泌活性, 提高免疫调节能力<sup>[16]</sup>, 而且精氨酸对损伤机体的蛋白质的合成具有显著的促进作用。因此, 富含精氨酸的肠内营养支持可以有效地改善患者的营养指标以及免疫指标。

AEN组患者泌尿系统感染的比例以及术后并发症的总例数显著的低于EN组, AEN组患者首次排便时间以及住院时间均显著的低于EN组, 且差异具有统计学意义。研究结果显示, 富含精氨酸的肠内营养支持治疗方式可以有效地降低重型颅脑损伤患者的并发症和改善预后。一些研究<sup>[10,13]</sup>指出, 富含精氨酸的肠内营养可以改善癌症患者的预后, 与本研究的结果基本一致。分析原因可能与精氨酸对机体的免疫系统的恢复有关, 提升了患者的身体素质, 缩短了患者的住院时间。

总之, 富含精氨酸肠内营养支持不仅可以有效改善重症颅脑损伤患者的营养指标和免疫功能, 还可以有效地降低患者并发症的发生, 缩短住院时间, 值得临床推广。

### 4 参考文献

- 1 武幸福, 候祥位. 急性颅脑损伤患者治疗前后血清hs-CRP、NSE和AVP检测的临床意义. 放射免疫学杂志 2013; 26: 572-572
- 2 Chiang YH, Chao DP, Chu SF, Lin HW, Huang SY, Yeh YS, Lui TN, Binns CW, Chiu WT. Early enteral nutrition and clinical outcomes of severe traumatic brain injury patients in acute stage: a multi-center cohort study. *J Neurotrauma* 2012; 29: 75-80 [PMID: 21534720 DOI: 10.1089/neu.2011.1801]
- 3 Horn SD, Kinikini M, Moore LW, Hammond FM, Brandstater ME, Smout RJ, Barrett RS. Enteral Nutrition for Patients With Traumatic Brain Injury in the Rehabilitation Setting: Associations With Patient Preinjury and Injury Characteristics and Outcomes. *Arch Phys Med Rehabil* 2015; 96: S245-S255 [PMID: 26212401 DOI: 10.1016/j.apmr.2014.06.024]

- 4 袁俊峰, 樊启涛, 石浩. 重型颅脑损伤并发中枢性尿崩症55例临床分析. 山东医药 2011; 51: 29-30
- 5 Chourdakis M, Kraus MM, Tzellos T, Sardeli C, Peftoulidou M, Vassilikos D, Kouvelas D. Effect of early compared with delayed enteral nutrition on endocrine function in patients with traumatic brain injury: an open-labeled randomized trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 108-116 [PMID: 21965459 DOI: 10.1177/0148607110397878]
- 6 侯东元, 陈丽英, 金燕, 周美霞. 急性颅脑损伤患者血浆神经肽和电解质水平变化及其临床意义. 中国病理生理杂志 2011; 27: 791-793
- 7 孙瑾, 田新华, 张俊卿, 陈鐸. 早期肠内营养在老年重型颅脑损伤中的临床应用. 中华损伤与修复杂志(电子版) 2011; 6: 90-95
- 8 Wang X, Dong Y, Han X, Qi XQ, Huang CG, Hou LJ. Nutritional support for patients sustaining traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *PLoS One* 2013; 8: e58838 [PMID: 23527035 DOI: 10.1371/journal.pone.0058838]
- 9 谭敏, 卢小岚, 段军伟, 彭华, 朱京慈. 益生菌对重型颅脑损伤患者血糖水平及预后的影响. 中华危重病急救医学 2013; 25: 627-630
- 10 谭敏, 朱京慈, 杜江, 张丽梅, 尹华华. 早期肠内营养联合益生菌对重型颅脑损伤患者辅助性T淋巴细胞1/2免疫平衡及临床预后的影响. 中华烧伤杂志 2013; 29: 413-414
- 11 Doig GS, Heighes PT, Simpson F, Sweetman EA. Early enteral nutrition reduces mortality in trauma patients requiring intensive care: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Injury* 2011; 42: 50-56 [PMID: 20619408 DOI: 10.1016/j.injury.2010.06.008]
- 12 方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖. 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价. 世界华人消化杂志 2014; 22: 404-408
- 13 唐明贵, 王印华, 王宝华, 浦践一, 邱方, 李志强. 卡巴胆碱对弥漫性颅脑损伤后肠机械屏障的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22: 3161-3165
- 14 Malakouti A, Sookplung P, Siriussawakul A, Philip S, Bailey N, Brown M, Farver K, Zimmerman JJ, Bell MJ, Vavilala MS. Nutrition support and deficiencies in children with severe traumatic brain injury. *Pediatr Crit Care Med* 2012; 13: e18-e24 [PMID: 21317678 DOI: 10.1097/PCC.0b013e31820aba1f]
- 15 Fu X, Zhu M, Sun X, Fang D, Wang W, Dong N, Pang C, Liu X, Chen F, Ding L. Hyperbaric oxygen treatment and enteral nutrition support with glutamine relieves traumatic brain injury in the rats. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 5686-5690 [PMID: 25664091]
- 16 Chung CK, Whitney R, Thompson CM, Pham TN, Maier RV, O'Keefe GE. Experience with an enteral-based nutritional support regimen in critically ill trauma patients. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 1108-1117 [PMID: 24051065 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.08.006]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 鼻饲大黄治疗烧伤休克患者并胃肠功能障碍的临床疗效

张静涛, 徐 刚

张静涛, 徐刚, 唐山市工人医院烧伤整形科 河北省唐山市 063000

张静涛, 主任护师, 主要从事临床护理研究。

作者贡献分布: 本文主要由张静涛与徐刚共同写作完成。

通讯作者: 徐刚, 主任医师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山工人医院烧伤整形科。  
hbtszhang71223@163.com  
电话0315-3722275

收稿日期: 2015-09-01

修回日期: 2015-10-01

接受日期: 2015-10-13

在线出版日期: 2015-11-18

### Clinical efficacy of nasogastrically administered rhubarb for gastrointestinal dysfunction after burn shock

Jing-Tao Zhang, Gang Xu

Jing-Tao Zhang, Gang Xu, Department of Burn and Plastic Surgery I, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Gang Xu, Chief Physician, Department of Burn and Plastic Surgery I, Tangshan Gongren Hospital, 27 Wenhua Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. hbtszhang71223@163.com

Received: 2015-09-01

Revised: 2015-10-01

Accepted: 2015-10-13

Published online: 2015-11-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the therapeutic effects of rhubarb on gastrointestinal dysfunction after burn shock.

**METHODS:** This was a prospective, randomized, controlled study. Eighty-three patients with gastrointestinal dysfunction after burn shock were randomly divided into either an observation group (42 cases) or a control group (41 cases). The effective rate, duration of gastrointestinal dysfunction, days required for achieving negative occult blood (OB) test, oxygenation index ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), immunoglobulin (Ig) A, IgG, and IgM were compared for the two groups.

**RESULTS:** The effective rate for the observation group was significantly higher than that for the control group (88.10% vs 48.78%,  $P < 0.05$ ). The duration of gastrointestinal dysfunction and days required for achieving negative OB test were significantly lower in the observation group than in the control group ( $1.16 \text{ d} \pm 0.56 \text{ d}$  vs  $3.48 \text{ d} \pm 0.77 \text{ d}$ ,  $3.894 \text{ d} \pm 0.857 \text{ d}$  vs  $4.617 \text{ d} \pm 1.112 \text{ d}$ ,  $P < 0.05$ ). The levels of  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), ALT, AST, and IgM for the observation group were better after intervention than before intervention ( $P < 0.05$ ). The levels of SCr, BUN, and IgM for the control group were better after intervention than before intervention ( $P < 0.05$ ). The levels of  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ , SCr, BUN, ALT, and AST after intervention were better in the observation group than in the control group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Treatment with rhubarb shortens the duration of gastrointestinal dysfunction and the days required for achieving negative OB test in patients with gastrointestinal dysfunction after burn shock, suggesting that rhubarb can protect the gastric mucosa and enhance

### ■背景资料

烧伤休克后往往发生胃肠功能障碍, 临床在治疗胃肠功能障碍的时候, 传统的方法是采取抑酸剂、胃肠动力药等治疗, 效果欠佳。大黄是中药制剂, 有较好的保护肠黏膜、改善胃肠黏膜内血流灌注的效果, 还能够使胃肠蠕动功能恢复, 效果较好。

### ■同行评议者

袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所; 王富春, 教授, 长春中医药大学



## ■ 研发前沿

随着医学研究的进步, 关于多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)方面的研究已经成为医学研究的重点。胃肠道作为该病症的靶器官, 是治疗的关键。机体发生休克后, 容易发生肠源性菌血症、内毒素血症等, 使得休克成为不可逆病症。在该过程中, 采取大黄治疗, 可以提高胃肠内营养, 耐受性较好, 减轻机体的炎症情况。

## ■ 相关报道

医学研究发现, 胃肠道是休克后最容易受到损害的器官。采取有效的措施改善胃肠道功能障碍, 能够有效防止烧伤性休克患者发生MODS。

gastrointestinal tract motility.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Rhubarb; Burn shock; Gastrointestinal dysfunction

Zhang JT, Xu G. Clinical efficacy of nasogastrically administered rhubarb for gastrointestinal dysfunction after burn shock. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5233-5237 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5233.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5233>

## 摘要

**目的:** 探讨大黄在治疗烧伤休克患者并胃肠功能障碍中的临床效果。

**方法:** 采用前瞻性、完全随机对照的研究方法, 将83例因烧伤引起的休克并胃肠功能障碍患者作为研究对象, 采用随机对照法将研究对象分为观察组42例和对照组41例, 根据“应激性胃肠黏膜出血缓解标准”及“胃肠麻痹缓解标准”计算各组总有效率, 记录各组病例潜血试验转阴所需天数、胃肠功能障碍持续时间, 监测氧合指数(oxygenation index,  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ )、血肌酐(serum creatinine, SCr)、血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)A、IgG、IgM水平变化情况, 对上述所得结果进行统计学分析。

**结果:** 观察组患者治疗有效率显著高于对照组(88.10% vs 48.78%)( $P<0.05$ ); 胃肠功能障碍持续时间及潜血试验转阴时间显著短于对照组( $1.16 \text{ d} \pm 0.56 \text{ d}$  vs  $3.48 \text{ d} \pm 0.77 \text{ d}$ ,  $3.894 \text{ d} \pm 0.857 \text{ d}$  vs  $4.617 \text{ d} \pm 1.112 \text{ d}$ ,  $P<0.05$ )。观察组患者干预后 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 、SCr、BUN、ALT、AST、IgM水平均优于干预前( $P<0.05$ ); 对照组患者干预后SCr、BUN、IgM水平均优于干预前( $P<0.05$ ); 观察组患者干预后 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 、SCr、BUN、ALT及AST水平均优于对照组( $P<0.05$ )。

**结论:** 观察组加用大黄潜血试验转阴所需天数、胃肠功能障碍持续时间差异具有统计学意义, 提示大黄具有一定的保护胃黏膜、促进胃肠蠕动的功能, 对治疗烧伤性休克并胃肠功能障碍的临床效果显著, 应用价值较高。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 大黄; 烧伤性休克; 胃肠功能障碍

**核心提示:** 本文观察组患者采取大黄治疗, 发现其有效率较高, 胃肠功能障碍持续时间较短, 治疗效果佳。当机体胃肠功能恢复后, 就能够进行早期的胃肠内营养, 从而避免肠源性脓毒血症的发生, 提高机体免疫力。

张静涛, 徐刚. 鼻饲大黄治疗烧伤休克患者并胃肠功能障碍的临床疗效. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5233-5237 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5233.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5233>

## 0 引言

胃肠功能障碍(gastrointestinal dysfunction)是机体遭受各种打击如重症感染、多发创伤、大面积烧伤后发生全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)进展到多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)或多器官功能衰竭(multiple organs failure, MOF)过程中的一个重要病理表现、因素, 也是多种重症疾病的共同病理生理过程<sup>[1]</sup>。严重烧伤患者因失血性休克导致全身多器官缺血, 胃肠道是烧伤早期灌注不足最先受累器官, 也是缺血缺氧再灌注损伤的靶器官之一<sup>[2]</sup>。单纯的静脉液体复苏虽能恢复有效循环血容量, 但不能完全缓解胃肠道等脏器的缺血、缺氧状态及再灌注损伤对机体的二次打击。胃肠道损害后可引起细菌和内毒素易位, 导致肠源性感染, 进而诱发全身炎症反应及多脏器功能衰竭, 因此及时有效、快速的改善胃肠道功能障碍至关重要。唐山市工人医院采取大黄对烧伤休克患者并胃肠道功能障碍患者进行治疗, 效果较好。现将研究内容报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-02/2014-07唐山市工人医院收治的因烧伤休克并胃肠功能障碍患者83例作为研究对象。烧伤性休克诊断标准<sup>[3]</sup>: 存在烧伤病史; 周围循环灌注不足的表现: 意识障碍, 脉细速, 脉率 $>100$ 次/min或不能触知; 四肢湿冷, 皮肤花纹, 黏膜苍白或发绀; 尿量 $<30 \text{ mL/h}$ 或无尿; 收缩压 $<80 \text{ mmHg}$ , 脉压 $<20 \text{ mmHg}$ , 原有高血压者, 收缩压较原水平下降30%以上。胃

表 1 两组患者相关功能指标变化情况比较 (mean ± SD)

分组	n	时间	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mmHg)	SCr (μmol/L)	BUN (mmol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	IgA (g/L)	IgG (g/L)	IgM (g/L)
观察组	42	干预前	262.89 ± 22.34	125.78 ± 30.37	9.79 ± 2.77	58.29 ± 3.65	63.33 ± 2.88	1.66 ± 0.54	0.79 ± 0.22	7.29 ± 1.32
			362.57 ± 25.88 <sup>ac</sup>	58.87 ± 12.55 <sup>ac</sup>	4.87 ± 2.14 <sup>ac</sup>	38.49 ± 2.11 <sup>ac</sup>	46.44 ± 2.77 <sup>ac</sup>	1.88 ± 0.45	0.88 ± 0.25	12.09 ± 1.55 <sup>a</sup>
		干预后	271.98 ± 26.18	117.63 ± 27.44	10.55 ± 2.76	54.63 ± 3.28	67.18 ± 3.32	1.79 ± 0.44	0.68 ± 0.33	7.79 ± 1.44
对照组	41	干预前	271.98 ± 26.18	117.63 ± 27.44	10.55 ± 2.76	54.63 ± 3.28	67.18 ± 3.32	1.79 ± 0.44	0.68 ± 0.33	7.79 ± 1.44
			293.78 ± 30.11	92.66 ± 27.33 <sup>a</sup>	7.19 ± 3.33 <sup>a</sup>	48.64 ± 4.14	57.29 ± 2.98	1.88 ± 0.45	0.88 ± 0.24	10.29 ± 1.45 <sup>a</sup>
		干预后								

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 同组治疗前; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 对照组. PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>: 氧合指数; SCr: 血肌酐; BUN: 血清尿素氮; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; Ig: 免疫球蛋白.

肠功能障碍诊断标准<sup>[4]</sup>: 患者发生应激性胃肠黏膜病变出血, 伴有腹胀、肠麻痹等症状. 所有患者均签署知情同意书, 并申报伦理委员会批准, 批准号为伦审批2011(02). 患者均在休克后半小时内到达医院. 按照随机数字表法将患者分为观察组和对照组, 观察组42例, 对照组41例. 观察组: 男性患者30例, 女性患者12例; 患者年龄范围为26-54岁, 平均年龄为36.88岁±8.24岁; 胃肠黏膜出血10例, 肠麻痹18例, 胃肠黏膜出血伴肠麻痹14例. 对照组: 男性患者30例, 女性患者11例; 患者年龄范围为26-53岁, 平均年龄为36.47岁±8.13岁; 胃肠黏膜出血10例, 肠麻痹17例, 胃肠黏膜出血伴肠麻痹14例. 经统计学分析, 两组患者在性别、年龄等一般资料方面差异无统计学意义(*P*>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有研究对象, 在入院治疗前及治疗后均检测氧合指数(oxygenation index, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)、血肌酐(serum creatinine, SCr)、血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)A、IgG、IgM水平. 对照组: 依据患者一般情况, 给予病因治疗、抗感染、脏器功能支持、营养支持、维持电解质及酸碱平衡. 并予奥美拉唑钠、多潘立酮治疗, 两组均根据出血情况酌情使用止血药, 对于胃肠功能没有恢复的情况可以进行肠外营养治疗. 观察组: 在对照组治疗基础上加用大黄治疗, 用法及用量: 取3 g生大黄粉剂, 经鼻饲进

行治疗. 3次/d. 调整大黄使用剂量为患者每天大便1-3次为佳. 10 d为1个疗程, 服用1个疗程.

1.2.2 观察指标: 记录两组患者临床疗效、胃肠功能障碍持续时间、潜血试验转阴天数, 比较两组患者PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>、SCr、BUN、ALT、AST、IgA、IgG、IgM水平变化情况<sup>[5]</sup>.

1.2.3 疗效评价标准: 应激性胃肠黏膜出血缓解标准: 采取胃液潜血实验, 实验结果从++++或者+++下降至++及以下, 表示治疗有效, 症状缓解<sup>[6]</sup>. 胃肠麻痹缓解标准: 患者经治疗后3 d, 腹胀感觉有显著改善, 肠麻痹转变为中等强度肠鸣音, 或者肠鸣音活跃, 表示治疗有效, 症状缓解<sup>[7]</sup>.

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χ<sup>2</sup>检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗效果比较 观察组患者治疗有效37例, 有效率为88.10%; 对照组治疗有效20例, 有效率为48.78%. 两组比较, 观察组治疗有效率显著高于对照组(*P*<0.05).

2.2 两组患者胃肠功能障碍持续时间及潜血试验转阴所需天数比较 胃肠功能障碍持续时间及潜血试验转阴时间显著短于对照组(1.16 d ± 0.56 d vs 3.48 d ± 0.77 d, 3.894 d ± 0.857 d vs 4.617 d ± 1.112 d, *P*<0.05).

2.3 两组患者相关功能指标变化情况比较 观察组患者治疗后PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>、SCr、BUN、ALT、AST、IgM水平均优于治疗前, 差异具有统

■ 创新点

临床在治疗胃肠功能障碍的时候, 传统的方法是采取抑酸剂、胃肠动力药等治疗, 效果欠佳. 大黄有较好的保护肠黏膜、改善胃肠黏膜内血流灌注的效果, 还能使胃肠蠕动功能恢复. 本文观察组患者采取大黄治疗, 发现其有效率较高, 胃肠功能障碍持续时间较短, 治疗效果佳. 患者经治疗后, 各项指标均得到改善, 患者胃肠功能改善情况和患者烧伤改善情况呈相同趋势.

■ 应用要点

大黄是中药制剂, 有较好的保护肠黏膜、改善胃肠黏膜内血流灌注的效果, 还能够使得胃肠蠕动功能恢复, 效果较好.

## ■名词解释

胃肠功能障碍: 机体遭受各种打击如重症感染、多发创伤、大面积烧伤后发生全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)进展到MODS或多器官功能衰竭(multiple organs failure, MOF)过程中的一个重要病理表现、因素,也是多种重症疾病的共同病理生理过程。

计学意义( $P<0.05$ ); 对照组患者治疗后SCr、BUN、IgM水平均优于治疗前, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 观察组患者治疗后PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>、SCr、BUN、ALT及AST水平均优于对照组, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )(表1)。

## 3 讨论

胃肠道作为机体的重要屏障, 对机体有着一定的保护作用。胃肠道有一定的免疫功能, 作为内分泌器官, 对机体是十分重要的<sup>[8]</sup>。当机体发生休克后, 机体会出现缺血等情况, 毛细血管微循环障碍, 胃肠道最容易受到损伤。

休克后胃肠功能障碍的发病机制较复杂。机体休克后, 活性氧、炎症介质等出现利用障碍, 使得胃肠功能障碍发生<sup>[9]</sup>。在治疗的时候, 首先考虑的是进行原发病的治疗, 经过充分扩容, 缓解症状<sup>[10]</sup>。患者经治疗后, 依然难以恢复胃肠功能, 容易发生肠麻痹、肠腔内压力变大等, 使得机体发生MODS<sup>[11]</sup>。临床在治疗胃肠功能障碍的时候, 传统的方法是采取抑酸剂、胃肠动力药等治疗, 效果欠佳<sup>[12]</sup>。研究<sup>[13]</sup>表明, 对于没有溃疡病史的患者, 可不采取抑酸剂治疗。

大黄是中药制剂, 有较好的保护肠黏膜、改善胃肠黏膜内血流灌注的效果, 还能够使得胃肠蠕动功能恢复, 效果较好<sup>[14]</sup>。本文观察组患者采取大黄治疗, 发现其有效率较高, 胃肠功能障碍持续时间较短, 治疗效果佳。当机体胃肠功能恢复后, 就能够进行早期的胃肠内营养, 从而避免肠源性脓毒血症的发生, 提高机体免疫力, 利于烧伤后的机体恢复<sup>[15]</sup>。

随着医学研究的进步, 关于MODS方面的研究已经成为医学研究的重点。胃肠道作为该病症的靶器官, 是治疗该病症的关键<sup>[16]</sup>。机体发生休克后, 容易发生肠源性菌血症、内毒素血症等, 使得休克成为不可逆病症<sup>[17]</sup>。在该过程中, 采取大黄治疗, 可以提高胃肠内营养, 耐受性较好, 减轻机体的炎症情况<sup>[18]</sup>。

患者经治疗后, 各项指标均得到改善。患者胃肠功能改善情况和患者烧伤改善情况呈相同趋势, 可见大黄治疗适用于对于烧伤患者并胃肠功能障碍。本文研究结果显示, 观察组治疗有效率显著高于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 观察组胃肠功能障碍持续时间显著短于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 观察组患者应用大黄治疗后PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>、SCr、

BUN、ALT、AST水平均优于对照组未加用大黄治疗后, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

总之, 大黄在治疗烧伤休克患者胃肠功能障碍临床效果佳, 值得临床推广。

## 4 参考文献

- 1 段绍斌, 马磊, 董杨帆, 于亮, 刘郁, 张增峰. 创伤性休克复苏后多器官功能障碍综合征发生危险因素分析. 中国全科医学 2010; 13: 2367-2369
- 2 段宝民, 李兵, 王纪东. 急诊重症患者的胃肠功能障碍与胃泌素水平. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3584-3587
- 3 Talmor M, Hydo L, Barie PS. Relationship of systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction, length of stay, and mortality in critical surgical illness: effect of intensive care unit resuscitation. *Arch Surg* 1999; 134: 81-87 [PMID: 9927137]
- 4 Pham TN, Cancio LC, Gibran NS. American Burn Association practice guidelines burn shock resuscitation. *J Burn Care Res* 2008; 29: 257-266 [PMID: 18182930 DOI: 10.1097/BCR.0b013e31815f3876]
- 5 林瑾, 王海曼, 李昂, 王超, 阴赫宏, 张淑文, 段美丽. 多器官功能障碍综合征患者胃肠功能损伤流行病学调查. 中国临床医学 2009; 16: 863-864
- 6 Silvestri L, van Saene HK, Zandstra DF, Marshall JC, Gregori D, Gullo A. Impact of selective decontamination of the digestive tract on multiple organ dysfunction syndrome: systematic review of randomized controlled trials. *Crit Care Med* 2010; 38: 1370-1376 [PMID: 20308882 DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181d9db8c]
- 7 Östberg A, Virta J, Rinne JO, Oikonen V, Luoto P, Nägren K, Arponen E, Tenovu O. Cholinergic dysfunction after traumatic brain injury: preliminary findings from a PET study. *Neurology* 2011; 76: 1046-1050 [PMID: 21422456 DOI: 10.1212/WNL.0b013e318211c1c4]
- 8 李奇林, 熊俊. 加强对消化系统危重病急症的认识与救治. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3351-3356
- 9 Gomes de Lima KV, Maio R. Nutritional status, systemic inflammation and prognosis of patients with gastrointestinal cancer. *Nutr Hosp* 2012; 27: 707-714 [PMID: 23114934 DOI: 10.3305/nh/2012.27.3.5567]
- 10 孙刚毅, 王小军, 刘雷, 安岗. 130例胃肠功能障碍患者的临床诊治观察. 中国医药导刊 2011; 13: 604-605
- 11 黄絮, 李刚. 休克引起的胃肠道功能障碍及诊治进展. 中日友好医院学报 2013; 27: 351-354
- 12 邱方, 李志强, 安媛. 卡巴胆碱治疗创伤和感染后胃肠功能障碍78例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2091-2095
- 13 高志伟, 姚乃修, 陈栋玉, 吴伟. 肠道复苏法在急性胃肠功能障碍患者中的临床应用. 海南医学 2010; 21: 42-43
- 14 陆如凤, 黄小民, 何煜舟, 吴海波, 金水芳. 大黄预防严重创伤术后胃肠衰竭临床观察. 中国中医急症 2009; 18: 1247-1248
- 15 王冰, 任乾, 黎贵才, 凌海华, 谢恩. 大黄对多器官功能障碍综合征干预作用的临床研究. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 40-41
- 16 Cetinkaya M, Köksal N, Özkan H. A new



scoring system for evaluation of multiple organ dysfunction syndrome in premature infants. *Am J Crit Care* 2012; 21: 328-337 [PMID: 22941706 DOI: 10.4037/ajcc2012312]

17 白雪歌, 曹书华. 急性创伤后多器官功能障碍综合

征胃肠道功能障碍临床分析及治疗. *时珍国医国药* 2007; 18: 944-945

18 李文放, 林兆奋, 陈德昌, 赵良, 杨兴易. 大黄防治创伤性休克患者并发多器官功能障碍综合征的研究. *第二军医大学学报* 2004; 25: 1182-1185

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



#### ■同行评价

本文选取临床比较常见的创伤性休克伴胃肠功能障碍及多器官功能不全综合征患者做为研究对象, 并观察大黄在治疗中的价值, 选题比较有意义, 有助于研究如何发挥中药在治疗临床疑难病的特色, 有较好的研究价值。

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》消化护理学领域征稿启事

**本刊讯** 为了促进消化护理学领域的事业发展, 《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授([http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard\\_706.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm))等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EMBASE/Excerpta Medica, EM)和俄罗斯《文摘杂志》(Abstract Journal, AJ)收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志》(*World Journal of Gastroenterology, WJG*).(郭鹏)

## 幽门螺杆菌感染与胰岛素抵抗水平关系的Meta分析

岳春艳, 杨彩哲, 刘朝阳, 杨殷

### ■背景资料

胰岛素抵抗不仅是2型糖尿病重要发病机制,且加速其致病过程,还与多种代谢性疾病相关。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是世界范围内最常见的慢性感染细菌之一,在发展中国家感染率可达80%。*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平关系是当前研究热点,但二者是否相关目前尚存争议。本文对各中心的横断面及对照研究进行系统评价。

岳春艳, 杨彩哲, 刘朝阳, 杨殷, 空军总医院内分泌科 北京市 100142

岳春艳, 在读硕士, 主要从事内分泌与代谢病研究。

作者贡献分布: 岳春艳与杨彩哲对此文所作贡献均等; 此课题由岳春艳与杨彩哲设计; 文献筛选与质量评价由岳春艳与刘朝阳操作完成; 数据分析由岳春艳与杨殷完成; 本论文写作由岳春艳与杨彩哲完成。

通讯作者: 杨彩哲, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 空军总医院内分泌科。yangcaizhe2008@163.com  
电话: 010-66928242  
传真: 010-68730489

收稿日期: 2015-09-01  
修回日期: 2015-10-03  
接受日期: 2015-10-13  
在线出版日期: 2015-11-18

### Meta-analysis of relationship between *Helicobacter pylori* infection and level of insulin resistance

Chun-Yan Yue, Cai-Zhe Yang, Chao-Yang Liu, Yin Yang

Chun-Yan Yue, Cai-Zhe Yang, Chao-Yang Liu, Yin Yang, Department of Endocrinology, General Hospital of Air Force, Beijing 100142, China

Correspondence to: Cai-Zhe Yang, Associate Chief Physician, Department of Endocrinology, General Hospital of Air Force, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. yangcaizhe2008@163.com

Received: 2015-09-01  
Revised: 2015-10-06  
Accepted: 2015-10-13  
Published online: 2015-11-18

### ■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医药大学第一附属医院消化内科

### Abstract

**AIM:** To investigate the association between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and level

of insulin resistance (IR).

**METHODS:** The articles on the association of *H. pylori* with IR level were retrieved by searching databases from the inception of each database to July 2015. Data extraction and quality assessment were completed by two authors. Meta-analysis was performed using RevMan 5.3 software.

**RESULTS:** Seven papers with nine studies were included for meta-analysis. A total of 3097 patients, including 1718 *H. pylori* (+) subjects, were involved. The results of Meta-analysis showed that there was a significant difference in insulin resistance levels between patients with *H. pylori* infection and those without in the overall population (WMD = 0.38, 95%CI: 0.13-0.64,  $P < 0.05$ ). Subgroup analysis indicated that the significant difference in insulin resistance levels between patients with *H. pylori* infection and those without existed in patients aged  $< 45$  years (WMD = 0.63, 95%CI: 0.40-0.86,  $P < 0.05$ ), those who underwent endoscopic biopsy (WMD = 0.70, 95%CI: 0.46-0.94,  $P < 0.05$ ), those who had a body mass index (BMI)  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> (WMD = 0.72, 95%CI: 0.49-0.96,  $P < 0.05$ ), and Asian patients (WMD = 0.66, 95%CI: 0.44-0.87,  $P < 0.05$ ), but not in patients aged  $\geq 45$  years, those who underwent serum *H. pylori*-IgG antibody testing, those who had a BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>, or American patients. The results of publication bias and sensitivity analysis confirmed the reliability and stability of this Meta-analysis.

**CONCLUSION:** *H. pylori* infection is associated with elevated insulin resistance.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; Insulin resistance; Meta-analysis

Yue CY, Yang CZ, Liu CY, Yang Y. Meta-analysis of relationship between *Helicobacter pylori* infection and level of insulin resistance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5238-5249 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5238.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5238>

## 摘要

**目的:** 通过Meta分析探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)水平的关系。

**方法:** 检索国内外各大类型数据库自建库至2015-7发表的有关*H. pylori*感染与胰岛素抵抗关系的文献。由2名研究人员独立提取资料并评价纳入文献的质量, 采用Revman5.3软件进行Meta分析。

**结果:** 纳入7篇参考文献共9项研究, 总样本量3097例, 其中*H. pylori*(+) 1718例。Meta分析结果: *H. pylori*(+)组与*H. pylori*(-)组胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.38, 95%CI: 0.13-0.64,  $P < 0.05$ )。亚组分析显示: 在年龄均数 $< 45$ 岁人群中, *H. pylori*(+)组与*H. pylori*(-)组胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.63, 95%CI: 0.40-0.86,  $P < 0.05$ ), 在年龄均数 $\geq 45$ 岁组, 则无统计学意义; 在胃组织活检组*H. pylori*(+)人群与*H. pylori*(-)人群胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.70, 95%CI: 0.46-0.94,  $P < 0.05$ ), 而在血清*H. pylori*-IgG抗体检测组差异无统计学意义; 在体质指数(body mass index, BMI) $< 25$  kg/m<sup>2</sup>组, *H. pylori*(+)人群与*H. pylori*(-)人群胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.72, 95%CI: 0.49-0.96,  $P < 0.05$ ), 而在BMI $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>组差异则无统计学意义; 在亚洲组, *H. pylori*(+)人群与*H. pylori*(-)人群胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.66, 95%CI: 0.44-0.87,  $P < 0.05$ ), 而在美洲组差异无统计学意义。发表偏倚分析和敏感性分析结果证实上述Meta分析结果是稳定和可靠的。

**结论:** *H. pylori*感染和胰岛素抵抗水平升高具有相关性。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 胰岛素抵抗; Meta分析

**核心提示:** 本研究对国内外各大数据库自建库至2015-07公开发表的关于幽门螺杆菌感染(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胰岛素抵抗指数关系的文献进行Meta分析, 结果表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平升高相关。

岳春艳, 杨彩哲, 刘朝阳, 杨殷. 幽门螺杆菌感染与胰岛素抵抗水平关系的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2015; 23(32): 5238-5249 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5238.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i32.5238>

## 0 引言

胰岛素抵抗是指胰岛素分泌量在正常水平时其作用的靶器官或组织对胰岛素的生物效应反应性降低或丧失, 机体需要超过正常量的胰岛素才能在其效应器官产生正常的生理功能, 即机体对胰岛素的敏感性降低<sup>[1]</sup>。胰岛素抵抗不仅是2型糖尿病重要发病机制, 且加速其致病过程, 还与多种代谢性疾病相关, 严重威胁人类生命健康<sup>[2]</sup>。研究导致胰岛素抵抗的危险因素对于防治糖尿病及其他代谢性疾病具有重要意义, 导致胰岛素抵抗的确切机制目前并不完全清楚<sup>[3]</sup>。胰岛素抵抗是由多基因与多环境危险因素相互作用的结果<sup>[4-11]</sup>, 已经确定年龄、体质指数(body mass index, BMI)、糖毒性、脂毒性、糖尿病家族史、氧化应激、炎症反应等为胰岛素抵抗的重要危险因素<sup>[8-11]</sup>。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种微需氧革兰氏阴性弯曲杆菌, 可长期定植于人体胃黏膜, 与消化性溃疡、慢性胃炎、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌密切相关<sup>[12]</sup>。越来越多的研究<sup>[13-18]</sup>表明*H. pylori*感染不仅可导致多种消化系统疾病, 还与糖尿病、缺铁性贫血、特发性血小板减少性紫癜、动脉粥样硬化性疾病、心血管疾病、非酒精性脂肪性肝病和其他代谢性疾病等胃肠外疾病密切相关。*H. pylori*感染与胰岛素抵抗的关系是当前研究热点, 有研究<sup>[19-21]</sup>发现: *H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平升高相关。还有研究表明<sup>[22-25]</sup>: *H. pylori*感染与胰岛素抵抗无明显相关性。因此本研究采用Meta分析对国内外大型数据库自建库至2015-07公开发表的关于*H. pylori*感染与胰岛素抵抗指数关系的文献进行综合定量分析。

## ■ 研究背景

胰岛素抵抗是由多基因与多环境危险因素相互作用的结果, 其确切机制目前并不完全清楚。*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平升高是否相关报道不一。研究导致胰岛素抵抗的危险因素对于防治糖尿病及其他代谢性疾病具有重要意义。



## ■ 相关报道

2014年Vafaeim-anesh等的一项横断面研究,共纳入糖尿病患者211例,其中*H. pylori*阳性139例,*H. pylori*阴性72例,*H. pylori*感染者胰岛素抵抗指数明显高于对照组。2012年Jeon等的一项前瞻性队列研究,共纳入782例年龄>60岁的非糖尿病患者,根据血清*H. pylori*抗体分为*H. pylori*阳性组和*H. pylori*阴性组,追踪随访10年,*H. pylori*阳性组发生糖尿病的风险是阴性组的2.7倍。

## 1 材料和方法

1.1 材料 文献检索: (1)在Cochrane Library、Embase、PubMed、CNKI、万方、中国生物医学文献数据库、中国优秀博硕士学位论文全文数据库、维普资讯网中检索2015-07之前发表的关于*H. pylori*感染与胰岛素抵抗关系的文献。英文检索词为: “*Helicobacter pylori* OR *H. pylori* OR HP”、“insulin resistance OR insulin sensitivity OR IR”; 中文检索词为: “幽门螺杆菌 OR HP”、“胰岛素抵抗 OR 胰岛素敏感”; (2)对所获文献题目、摘要、关键词以及主题词进行分析,以进一步确定文献检索的关键词; (3)检索策略遵循Cochrane系统评价手册,采用主题词与自由词结合的方式,并手工追查已获文献的参考文献,以获取以上检索未发现的研究资料。

## 1.2 方法

1.2.1 文献纳入及排除标准: 纳入标准: (1)研究类型: 横断面研究或病例对照研究,包括病例组和对照组,病例数量和匹配方式不限,病例组和对照组有确切的样本量,胰岛素抵抗指数均值及标准差; (2)研究对象: 研究对象为健康成年人,性别、年龄、人种、国籍等不限; (3)发表语种不限。排除标准: (1)文献类型为动物试验、综述、评论、病例报道、邮件、会议纪要等; (2)研究对象为年龄<18岁或糖尿病患者; (3)采用定性或半定量标准评估胰岛素抵抗; (4)无对照组研究; (5)未控制混杂因素的研究; (6)重复使用同一数据、信息较少及质量太差等无法利用的研究。

1.2.2 文献筛选与资料提取: 由2位研究人员独立筛选文献、提取数据,并进行交叉核对,如对结果意见不一致,则共同讨论或由第三名高年资研究者判断解决,对不采纳的研究说明排除理由。本研究采用预先制定的数据提取表格从最终纳入Meta分析的文献中提取资料,摘录内容包括第一作者、发表年份、研究对象特征(年龄、性别、BMI)、研究类型、研究地区、*H. pylori*感染诊断标准、病例组和对照组的样本量、胰岛素抵抗指数mean±SD。

1.2.3 文献质量评价: 选用Cochrane协作网推荐的横断面研究质量评价标准对纳入的文献进行质量评估<sup>[26]</sup>。该量表共11个条目,包括研究对象选择、研究质量控制和数据处理等方面,用“是”“否”和“不清楚”回答。质量评价

由2名研究人员同时独立进行,产生分歧时经讨论后由第三方进行裁决。

**统计学处理** 应用Cochrane协作网提供的Revman 5.3软件进行系统分析。采用加权均数差(weighted mean difference, WMD)及95%CI对计量资料进行定量分析。采用 $I^2$ 对各研究间的异质性进行定量检验,若 $I^2 \leq 50\%$ ,认为异质性无统计学意义,采用固定效应模型分析;反之, $I^2 > 50\%$ 认为异质性有统计学意义,采用随机效应模型分析,并探索异质性来源,根据可能产生异质性的因素进行亚组分析。为保证Meta分析结果的稳定性进行敏感性分析: 将纳入的研究逐个去除后,重新进行合并分析,比较合并前后效应值间有无显著性差异。用Begg's检验和Egger's检验定量评估发表偏倚,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,提示不排除发表偏倚存在。若纳入的研究数少于10个,则加用剪补法消除发表偏倚后进一步评估结论的稳定性。

## 2 结果

2.1 文献检索结果 初检出相关文献276篇,其中英文252篇,中文24篇,通过阅读文章题目和摘要,纳入18篇文献。进一步查找和阅读全文,排除未控制混杂因素3篇、质量太差无法利用5篇、信息太少无法利用2篇及数据重复使用1篇,最终纳入7篇文献进行Meta分析(图1)。7篇文献均可提取出*H. pylori*感染组和未感染组的样本量、胰岛素抵抗指数均值±标准差及其他信息(表1, 2)。其中6项为横断面研究,1项为病例对照研究。7篇文献均以英文发表,包括土耳其3篇、伊朗2篇、美国2篇。*H. pylori*感染者1718人,阴性者1379人。Malamug等<sup>[23]</sup>的研究按非西班牙裔白人(NHW)、非西班牙裔黑人(NHB)、墨西哥裔美国人(MA)分别评价*H. pylori*感染与胰岛素抵抗的关系,遂将Malamug等<sup>[23]</sup>的研究作为3项研究分别纳入,共9项研究进行Meta分析。其中3项研究表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平相关,6项研究表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平无明显相关性。纳入标准虽包含多种定量评估胰岛素抵抗的方法,但纳入的9项研究均采用稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)评估。

2.2 质量评价 所有纳入的横断面研究人群资料

表 1 纳入研究的基本特征

第一作者	发表年份	国家	研究类型	病例来源	<i>H. pylori</i> 检测
Aydemir等 <sup>[19]</sup>	2005	土耳其	横断面	医院	组织学检测
Eshraghian等 <sup>[20]</sup>	2009	伊朗	横断面	医院	IgG
Aslan等 <sup>[21]</sup>	2006	土耳其	横断面	医院	RUT+组织学检测
Vafaeimanesh等 <sup>[22]</sup>	2014	伊朗	横断面	医院	IgG
Malamug等 <sup>[23]</sup>	2014	美国	横断面	社区	IgG
Jeon等 <sup>[24]</sup>	2012	美国	横断面	社区	IgG
Gokcel等 <sup>[25]</sup>	2003	土耳其	病例对照	医院	组织学检测

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

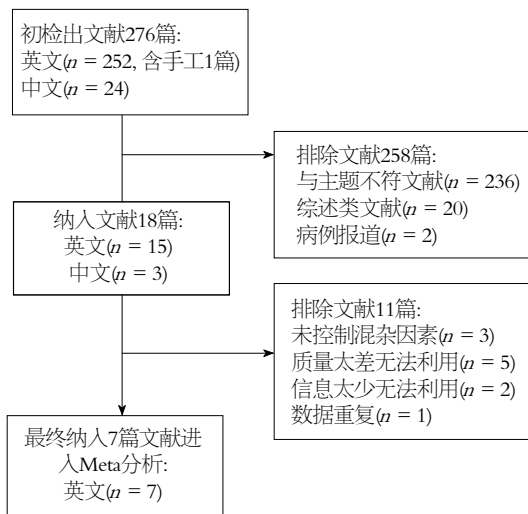


图 1 文献筛选流程及结果.

来源、纳入排除标准均很明确, 混杂因素得到了合理控制. 但只有部分研究明确报告了排除分析任何患者的理由<sup>[20,23,24]</sup>和丢失数据的处理方法<sup>[24]</sup>(表3).

**2.3 Meta分析结果** 用Revman5.3软件进行异质性检验,  $I^2 = 53\%$ ,  $P = 0.03$ , 表明纳入的9项研究异质性有统计学意义, 故应用随机效应模型进行合并分析. 9项研究WMD = 0.38, 95%CI: 0.13-0.64, 不包括0, 说明*H. pylori*感染人群与未感染人群胰岛素抵抗水平之间差异有统计学意义, *H. pylori*感染与胰岛素抵抗增加有相关性(图2).

**2.3.1 亚组分析:** 因纳入的9项研究存在异质性, 故对可能影响研究结果同质的因素进行亚组分析. (1)按年龄分析: 按*H. pylori*感染组年龄均数<45岁和≥45岁分为青年和中老年2个亚组, 两亚组异质性检验均无统计学意义( $P>0.05$ ). 共有4项研究来自于青年组, 其中2项

为阳性结果; 5项研究来自于中老年组, 其中1项为阳性结果. 在青年组, *H. pylori*(+)组与*H. pylori*(-)组胰岛素抵抗指数水平之间的差异有统计学意义(WMD = 0.63, 95%CI: 0.40-0.86,  $P<0.05$ ); 在中老年组, 差异无统计学意义(WMD = 0.20, 95%CI: -0.03-0.44,  $P>0.05$ )(图3A); (2)按*H. pylori*感染诊断标准分析: 按*H. pylori*感染诊断标准分为胃活组织检查组和血清*H. pylori*-IgG抗体检测组, 两亚组异质性检验均无统计学意义( $P>0.05$ ). 胃活组织检查组共纳入3项研究, 2项为阳性结果; 血清*H. pylori*-IgG抗体检测组6项研究, 1项为阳性结果. 在胃活组织检查组, *H. pylori*感染人群与未感染人群胰岛素抵抗指数水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.70, 95%CI: 0.46-0.94,  $P<0.05$ ); 在血清HP-IgG抗体检测组, 差异无统计学意义(WMD = 0.19, 95%CI: -0.03-0.41,  $P>0.05$ )(图3B); (3)按BMI分析: 按*H. pylori*感染组BMI均数<25 kg/m<sup>2</sup>和≥25 kg/m<sup>2</sup>分为2个亚组进行分析, 两亚组异质性检验均无统计学意义( $P>0.05$ ). 共有4项研究来自于BMI<25 kg/m<sup>2</sup>组, 其中3项为阳性结果; 5项研究来自于BMI≥25 kg/m<sup>2</sup>组, 全部为阴性结果. 在BMI<25 kg/m<sup>2</sup>组, *H. pylori*感染人群与*H. pylori*未感染人群胰岛素抵抗指数水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.72, 95%CI: 0.49-0.96,  $P<0.05$ ); 在BMI≥25 kg/m<sup>2</sup>组, 差异无统计学意义(WMD = 0.14, 95%CI: -0.09-0.37,  $P>0.05$ )(图3C); (4)按地区分析: 分为亚洲和美洲2个亚组进行分析, 两亚组异质性检验均无统计学意义( $P>0.05$ ). 共有5项研究来自于亚洲组, 其中3项为阳性结果; 4项研究来自于美洲组, 全部为阴性结果. 在亚洲组, *H. pylori*感染人群与

#### 创新盘点

目前尚未见有关研究*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平相关性的系统性综述, 本研究以Meta分析研究二者之间的相关关系.

应用要点

胰岛素抵抗的发病机制目前并不完全清楚。本次Meta分析发现 *H. pylori* 感染与胰岛素抵抗水平具有相关性, *H. pylori* 感染患者胰岛素抵抗水平升高, 如能进一步通过前瞻性随机对照研究证实 *H. pylori* 感染是胰岛素抵抗的病因, 可从新的角度考虑胰岛素抵抗的治疗。

表 2 纳入研究 *H. pylori* 阳性与阴性患者数据资料

第一作者	<i>n</i>		年龄(岁)		性别(男/女)		BMI(kg/m <sup>2</sup> )		HOMA-IR	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Aydemir等 <sup>[19]</sup>	36	27	46.10 ± 10.1	48.50 ± 10.70	21/15	14/13	23.50 ± 3.00	24.40 ± 3.00	2.56 ± 1.54	1.73 ± 1.10
Eshraghian等 <sup>[20]</sup>	43	28	32.20 ± 14.2	33.00 ± 8.05	22/21	15/13	23.15 ± 4.50	24.04 ± 3.20	3.54 ± 2.20	2.46 ± 1.9
Aslan等 <sup>[21]</sup>	55	48	37.00 ± 12	35.00 ± 15.00	29/26	28/20	23.50 ± 1.60	22.50 ± 3.10	1.67 ± 0.99	0.89 ± 0.47
Vafaeimanesh等 <sup>[22]</sup>	110	108	39.88 ± 12.5	39.18 ± 12.44	52/58	57/51	26.24 ± 4.33	26.25 ± 5.04	3.01 ± 2.12	2.74 ± 2.18
Malamug等 <sup>[23]</sup>	183	687	60.00 ± 28.50	47.48 ± 15.06	90/93	329/358	27.61 ± 5.63	27.54 ± 5.99	3.11 ± 3.45	2.71 ± 2.33
Malamug等 <sup>[23]</sup>	187	192	49.00 ± 18.53	39.12 ± 26.92	99/88	79/113	29.42 ± 7.73	29.35 ± 7.56	3.35 ± 2.94	3.41 ± 2.9
Malamug等 <sup>[23]</sup>	361	211	45.48 ± 19.02	36.83 ± 19.05	173/188	86/125	28.34 ± 5.69	27.60 ± 5.80	3.32 ± 2.36	3.29 ± 2.51
Jeon等 <sup>[24]</sup>	719	63	68.80 ± 6.81	66.80 ± 7.04	270/449	26/37	28.70 ± 4.81	28.90 ± 6.52	1.90 ± 1.41	1.80 ± 2.01
Gokcel等 <sup>[25]</sup>	24	15	42.83 ± 1.79	44.53 ± 2.89	0/24	0/15	24.38 ± 0.7	23.23 ± 0.52	1.95 ± 0.93	1.66 ± 0.85

*H. pylori*: 幽门螺杆菌; BMI: 体质量指数; HOMA-IR: 稳态模型胰岛素抵抗指数。

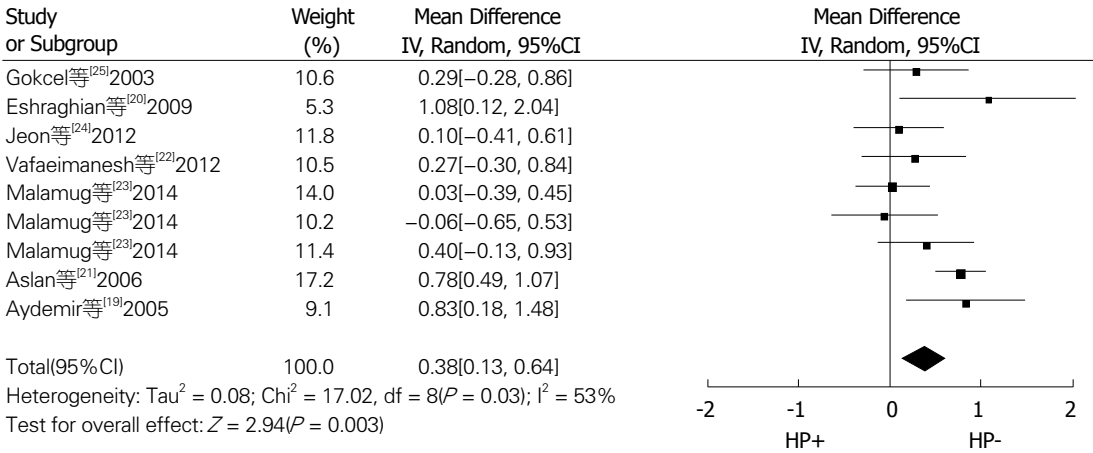


图 2 *H. pylori* 感染与胰岛素抵抗水平关系的Meta分析森林图. *H. pylori*: 幽门螺杆菌。

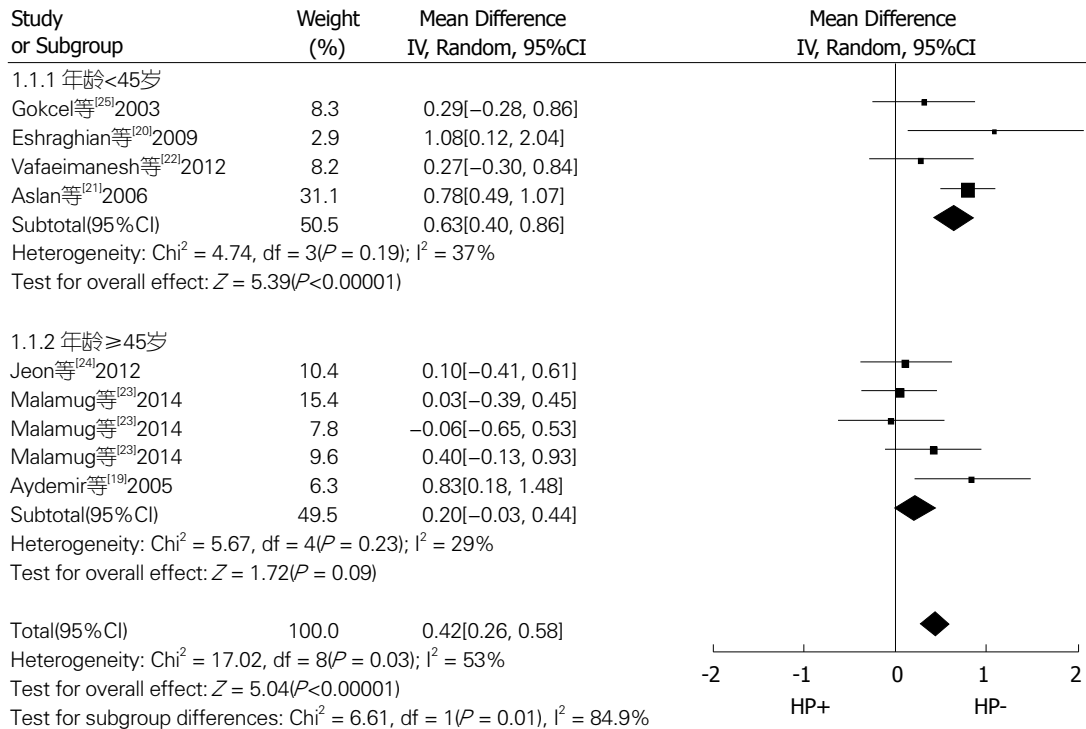
*H. pylori* 未感染人群胰岛素抵抗指数水平之间差异有统计学意义(WMD = 0.66, 95%CI: 0.44-0.87,  $P < 0.05$ ); 在美洲组, 二者之间差异无统计学意义(WMD = 0.11, 95%CI: -0.14-0.36,  $P > 0.05$ )(图3D)。本次Meta分析共有8项研究为横断面研究, 1项研究为病例对照研究, 故不对研究类型进行亚组分析。

2.3.2 敏感性分析: 为保证结论的稳定性, 对Meta分析的结果进行敏感性分析。采用逐个剔除各项研究的方法重新进行Meta分析, 估

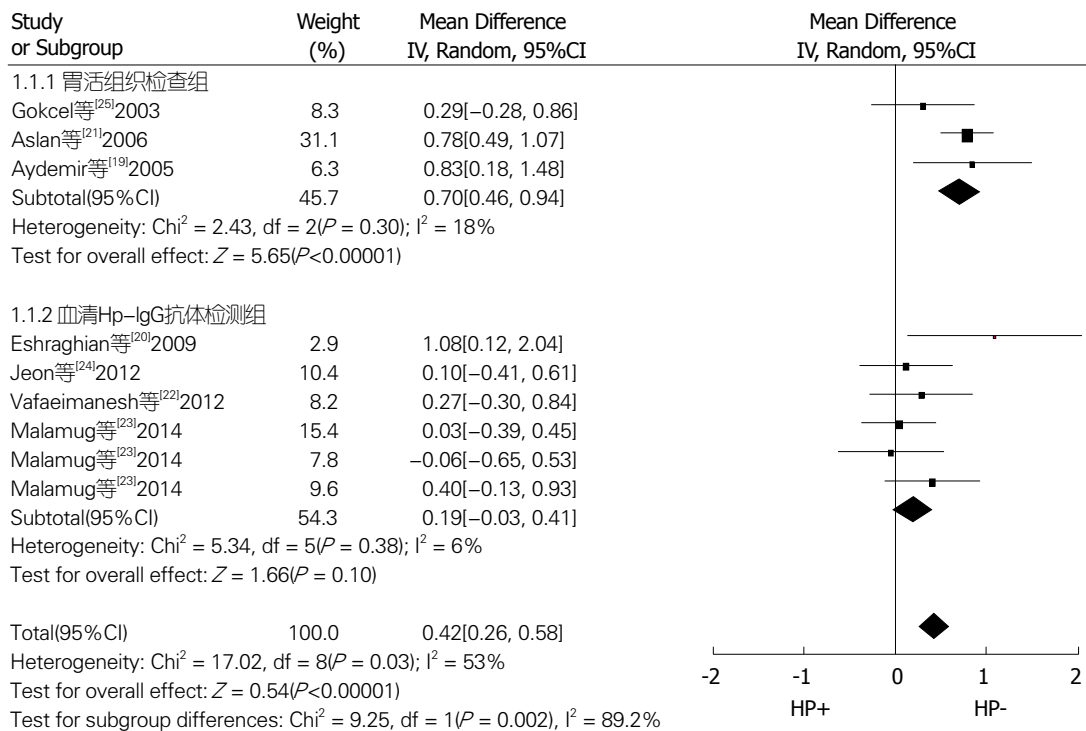
计合并效应量, 并与剔除前的合并效应量进行比较。结果显示, 剔除每项研究前后的合并效应量均无明显变化, 提示本研所得结果稳定可靠。

2.3.3 发表偏倚分析: 对纳入Meta分析的9项研究进行发表偏倚评价, Begg's检验漏斗图显示未见明显不对称分布( $P > 0.05$ ); Egger's检验( $P > 0.05$ ), Egger回归线通过0点, 表明无显著发表偏倚存在。考虑本研究纳入文献数少于10个, 用剪补法进一步评估发表偏倚, 补充的研究数



**A****名词解释**

剪补法: 由Taylor和Tweedie提出, 其基本思想是首先剪掉初估后漏斗图中不对称的部分, 用剩余对称部分估计漏斗图的中心值, 然后沿中心两侧黏补上被剪切部分以及相应的遗漏部分, 最后基于贴补后的漏斗图估计合并效应值的真实值。

**B**

同行评价

该文章通过对国内外已发表关于“*H. pylori*感染与胰岛素抵抗指数关系”的文献数据进行综合分析,寻找*H. pylori*感染与胰岛素抵抗间的关系,有一定科学意义.该文献亚组分组合理,分析详细,条理清晰,引用文献较新.

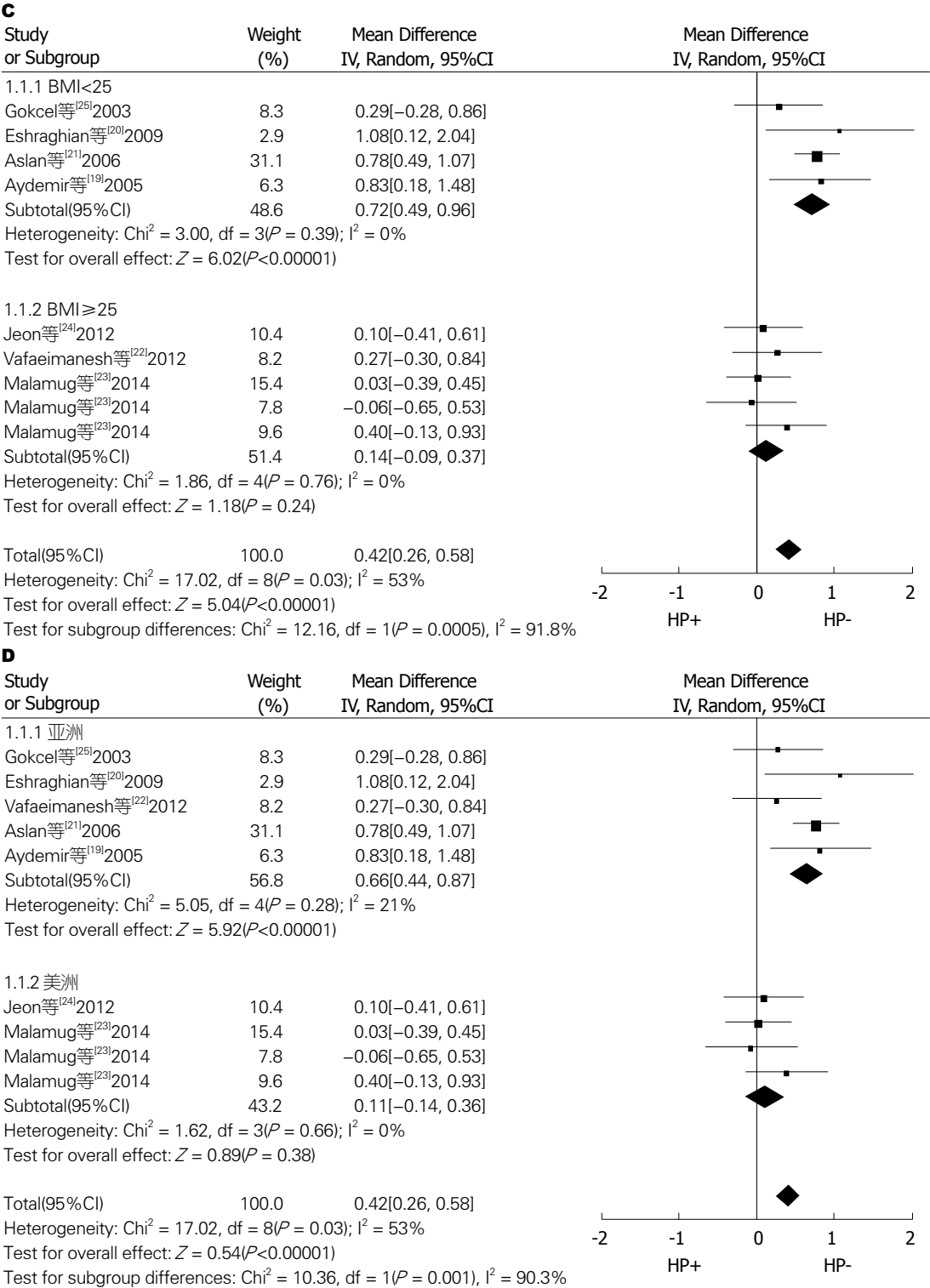


图 3 *H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平关系亚组分析森林图. A: 按年龄分组; B: 按*H. pylori*感染诊断标准分组; C: 按BMI 分组; D: 按地区分组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; BMI: 体质量指数.

为0, 剪补前后固定效应模型及随机效应模型的结果无变化, 提示本次Meta分析无明显发表偏倚, 对最终*H. pylori*感染增加胰岛素抵抗的合并效应值无实质影响(图4).

3 讨论

*H. pylori*是世界范围内最常见的慢性感染细菌之一, 在发展中国家的感染率可达80%, 其相关危险因素主要包括: 地理区域、年龄、社会

表 3 所纳入7篇研究的质量评价

第一作者	发表年份	质量评价										
		(1)	(2)	(3) <sup>1</sup>	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11) <sup>3</sup>
Aydemir等 <sup>[19]</sup>	2005	是	是	是	是	不清楚	是	否	是	否	是	否
Eshraghian等 <sup>[20]</sup>	2009	是	是	是	是	否	是	是	是	否	是	否
Aslan等 <sup>[21]</sup>	2006	是	是	是	是	否	是	否	是	否	是	否
Vafaeimanesh等 <sup>[22]</sup>	2014	是	是	是	是	否	是	否	是	否	是	否
Malamug等 <sup>[23]</sup>	2014	是	是	是	是 <sup>2</sup>	否	是	是	是	否	是	否
Jeon等 <sup>[24]</sup>	2012	是	是	是	是 <sup>2</sup>	否	是	是	是	是	是	否
Gokcel等 <sup>[25]</sup>	2003	是	是	是	是	否	是	否	是	否	是	否

<sup>1</sup>所有文献均有明确的*H. pylori*感染诊断标准; <sup>2</sup>文献人员来源于社区; <sup>3</sup>所有文献均未随访. (1)是否明确了资料的来源(调查, 文献回顾)? (2)是否列出了暴露组和非暴露组(病例和对照)的纳入及排除标准或参考以往的出版物? (3)是否给出了鉴别患者的时间阶段? (4)如果不是人群来源的话, 研究对象是否连续? (5)评价者的主观因素是否掩盖了研究对象其他方面情况? (6)描述了任何为保证质量而进行的评估(如对主要结局指标的检测/再检测); (7)解释了排除分析的任何患者的理由; (8)描述了如何评价和(或)控制混杂因素的措施; (9)如果可能, 解释了分析中是如何处理丢失数据的; (10)总结了患者的应答率及数据收集的完整性; (11)如果有随访, 查明预期的患者不完整数据所占的百分比或随访结果.

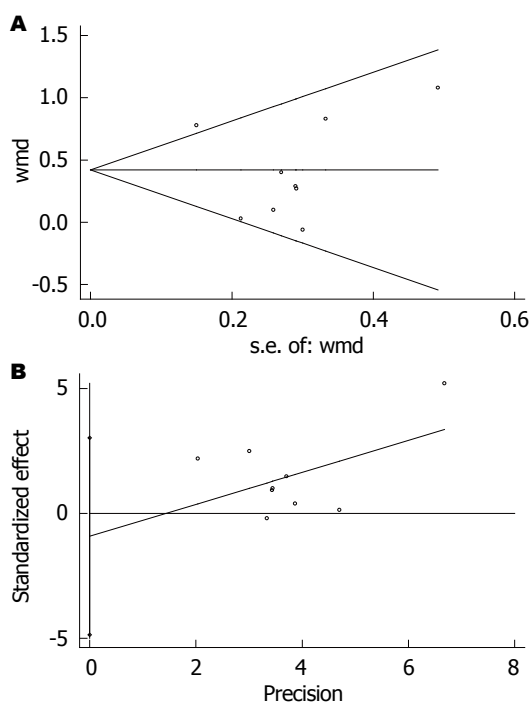


图 4 发表偏倚评价图. A: Begg's检验; B: Egger's检验.

经济地位、教育程度、居住环境和职业等<sup>[27]</sup>. 目前诊断*H. pylori*感染的方法包括侵入性和非侵入性两类. 侵入性检查依赖胃镜, 包括快速尿素酶试验、组织学检测、细菌培养、基因方法检测. 非侵入性检查不依赖胃镜, 包括<sup>13</sup>C或<sup>14</sup>C尿素呼气试验、血清*H. pylori*抗体检测和粪便*H. pylori*抗原检测等. 目前国际并无诊断*H. pylori*感染的金标准<sup>[28]</sup>. 本次Meta分析9项研究中3项采用胃活组织检查诊断*H. pylori*感染,

其中2项采用组织学检测(敏感度: 66%-100%, 特异度: 94%-100%), 1项采用快速尿素酶试验+组织学检测(敏感度>95%, 特异度>95%)<sup>[29]</sup>. 胃镜下活组织检查诊断*H. pylori*感染的敏感度和特异度较高, 但该操作复杂、有创, 不宜在健康人群中推广. 6项采用血清*H. pylori*-IgG抗体检测, 该方法的敏感度和特异度分别为85%和79%<sup>[28]</sup>. 只需单次静脉采血, 可反映一段时间内*H. pylori*感染情况, 不同试剂盒检测的准确性差异较大, 且受机体免疫反应、营养状况、*H. pylori*感染暴露时间等影响, 与其他细菌抗原有一定交叉反应. *H. pylori*根除后血清抗体可以维持数月至数年, 不能区分现症感染或既往感染, 有一定假阳性率和假阴性率, 主要适用于临床实践和流行病学调查<sup>[30]</sup>.

目前定量评估胰岛素抵抗的方法有两类: 动态评估法和静态评估法. 前者基于外源性葡萄糖和胰岛素的使用, 包括高胰岛素正常血糖钳夹试验、高葡萄糖钳夹试验、胰岛素抑制试验、口服糖耐量试验、间歇采样静脉葡萄糖耐量试验. 后者基于空腹血糖和胰岛素等指标的单次测量, 包括稳态模型评估胰岛素抵抗指数、定量胰岛素敏感性检测指数. 高胰岛素正常血糖钳夹试验为评估胰岛素抵抗的金标准, 但其操作复杂, 需要多次抽血, 且抽血间隔时间短, 费时, 对操作人员要求高, 需要床旁血糖分析仪, 价格昂贵, 只适用于小样本的科研工作, 用于大样本人群检测胰岛素抵抗有一定



难度<sup>[31]</sup>. 本研究均采用HOMA-IR评估胰岛素抵抗, 该方法只需单次静脉采血测定空腹血糖和胰岛素, 通过公式 $HOMA-IR = \text{空腹血糖}(\text{mmol/L}) \times \text{空腹胰岛素}(\text{mU/L}) / 22.5$ 即可算出, 具有操作简单、无创、省时、省力等优点, 是临床实践和流行病学调查最常使用的评估胰岛素抵抗的方法<sup>[32]</sup>. 该指数可同时反映肝脏及外周胰岛素抵抗情况, 结果与高胰岛素正常血糖钳夹试验一致性最好<sup>[33]</sup>. 其缺点为测定的结果受胰岛细胞功能的干扰, 只能近似反映胰岛素抵抗水平. 目前国际并无关于HOMA-IR的正常范围, 在不同人群其上限值在2-3之间<sup>[34-36]</sup>.

本次Meta分析计量资料研究表明, *H. pylori*阳性组胰岛素抵抗水平(HOMA-IR)较*H. pylori*阴性组有明显升高, 说明*H. pylori*感染和胰岛素抵抗加重有相关性. 通过亚组分析发现: (1)按*H. pylori*感染组年龄均数<45岁和≥45岁分为青年和中老年2个亚组, 青年组*H. pylori*感染与胰岛素抵抗增加具有相关性, 而中老年组差异无统计学意义. 有研究<sup>[37]</sup>表明: 胰岛素抵抗随年龄增长而增加. 本次研究在年龄≥45岁人群中*H. pylori*感染与胰岛素抵抗无明显相关性, 可能是因为5项研究中仅有1项表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗相关, 所占权重最小, 影响结果的评估<sup>[19]</sup>; 也可能是在年龄≥45岁人群中*H. pylori*感染与胰岛素抵抗无关. 为进一步探讨二者的关系在≥45岁人群中是否存在, 仍需大样本的研究进行更详细的年龄段分层来分析在中老年患者中*H. pylori*感染是否为胰岛素抵抗的危险因素; (2)按*H. pylori*感染诊断标准分为2个亚组后, 胃活组织检查组*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平相关, 而血清*H. pylori*-IgG抗体检测组差异无统计学意义. 这可能是因为*H. pylori*-IgG抗体检测组共纳入6项研究, 其中仅1项为阳性结果(*H. pylori*阳性43例, *H. pylori*阴性28例)<sup>[20]</sup>, 与亚组总例数(*H. pylori*阳性1603例, *H. pylori*阴性1289例)相比所占比例太少, 可能影响到结果的评估. 也可能因为胃镜活组织检查诊断*H. pylori*感染的敏感度和特异度较高, 结果较为准确可靠, 血清*H. pylori*-IgG抗体检测有一定的假阳性率和假阴性率, 影响结果评估; (3)按*H. pylori*感染组BMI均数<25和BMI≥25分为2个亚组, BMI<25人群中*H. pylori*感染与胰岛素抵抗具有相关性, 而BMI≥25的人群差异无统计学意义. 本研究纳入BMI≥25的

5项研究均显示*H. pylori*感染与胰岛素抵抗无明显相关性. 这可能是由于BMI为影响胰岛素抵抗的独立危险因素, 随BMI增加胰岛素抵抗明显增加<sup>[38]</sup>, 可能掩盖了*H. pylori*感染增加胰岛素抵抗的作用. Gerig<sup>[39]</sup>等的研究亦表明在严重肥胖患者中*H. pylori*感染与胰岛素抵抗无明显相关性, 与本次亚组分析结果相一致. 为进一步论证*H. pylori*感染与胰岛素抵抗的相关性在BMI≥25的人群中是否存在, 还需更多BMI≥25的人群为研究对象的大样本原始研究来证实; (4)按地区分布分析, 亚洲*H. pylori*感染者胰岛素抵抗指数明显高于未感染者, 而在美洲却未发现. 来源于美洲的4项研究均表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗不相关, 这可能由于不同种族基因遗传以及不同地区人群生活方式的差异所致<sup>[40]</sup>.

在解释结果时要考虑偏倚. 首先, *H. pylori*感染的错误分类可能影响结果的评估. 本次Meta分析9项研究中, 3项采用胃活组织检查, 6项采用血清*H. pylori*-IgG抗体检测, 敏感度和特异度均不能达到100%, 由*H. pylori*感染诊断错误造成的分组错误可能影响结果的评估. 其次, 本研究中胰岛素抵抗的评估均采用公式 $HOMA-IR = \text{空腹血糖}(\text{mmol/L}) \times \text{空腹胰岛素}(\text{mU/L}) / 22.5$ 计算得出, 该方法只需单次采血测定空腹血糖和胰岛素即可. 但胰岛素释放呈脉冲式, 理想情况下应空腹每隔5 min采血1次共3次, 混匀后测量的胰岛素值才能用于HOMA-IR计算. 该公式基于上世纪80年代胰岛素测量方法下产生, 并根据当时试验技术条件进行了一定的校正. 现在使用的胰岛素测量方法更为精确, 排除了胰岛素原的干扰, 仍使用同样的公式, 可能会低估胰岛素抵抗, 不排除测量偏倚的可能. 统一*H. pylori*感染的诊断标准和寻找精确易行的胰岛素抵抗评价方法对结果的分析至关重要. 另外, 由于近年来公开发表的文献中有一些为研究结果不完整, 仅以*H. pylori*感染组HOMA-IR>2.5(或2.0)的发病率高于*H. pylori*阴性组作为评估*H. pylori*感染增加胰岛素抵抗的指标<sup>[8,35]</sup>, 分析时不能利用, 造成信息量的丢失. 另外, 在某些研究中, 并不是以胰岛素抵抗或胰岛素敏感为研究目的<sup>[24,25]</sup>, 所以阴性结果也得以发表, 发表偏倚在本研究中未得到体现. 9项研究中8项为横断面研究, 1项为病例对照研究. 横断面研究收集的信息只反映调查当时个体

的*H. pylori*感染及胰岛素抵抗情况, 而不能推断是长期*H. pylori*感染诱发了胰岛素抵抗或是胰岛素抵抗改变机体免疫状态增加了*H. pylori*的感染. 病例对照研究难免受到选择性偏倚的影响, 其结果不如前瞻性研究真实可靠, 存在一定的局限性, 这不可避免的影响到研究结果的真实性. 但本次Meta分析对检索到的参考文献按照纳入标准严格筛选, 排除未控制混杂因素的研究, 根据主要影响因素: 年龄(以中年人45岁为界)、BMI(以超重BMI $\geq 25$ 为界)、*H. pylori*感染诊断标准(胃活组织检查和血清*H. pylori*-IgG抗体)、地区(亚洲和美洲)进行亚组分析, 尽量减少各研究结果间的异质性, 但每个亚组分析仅从一个角度加以分析, 且样本量减少, 可能影响到结果的评估. 如果同时有多个混杂因素存在, 目前方法尚无法解决.

从研究结果看, 各*H. pylori*感染组与未感染组HOMA-IR的差异均数在0.38-0.72之间, 具有统计学意义, 与临床意义评价相一致. 目前认为*H. pylori*感染增加胰岛素抵抗的生物学机制尚不十分清楚<sup>[34]</sup>, 可能包括: (1)释放大量炎症反应因子和血管活性物质, 诱发和加重胰岛素抵抗<sup>[41]</sup>; (2)改变胃黏膜环境, 影响胃肠激素分泌, 增加糖异生, 降低糖利用, 导致糖毒性引起胰岛素抵抗<sup>[42]</sup>; (3)产生氧化应激, 参与胰岛素抵抗的发生发展<sup>[10]</sup>; (4)影响脂质代谢, 加重血管炎症反应, 触发胰岛素抵抗<sup>[43]</sup>; (5)增强血小板的活化和聚集功能, 引起胰岛素抵抗<sup>[44]</sup>; (6)导致慢性萎缩性胃炎从而减少维生素B12和叶酸的吸收, 导致血中同型半胱氨酸浓度升高, 参与胰岛素抵抗相关性疾病的发生发展<sup>[45]</sup>; (7)改变细胞凋亡过程, 在胰岛素抵抗相关性疾病的病理生理学机制中起重要作用<sup>[46]</sup>. *H. pylori*感染与胰岛素抵抗的关系是近几年研究的重点课题之一, 由于受到各种混杂因素的限制, 临床意义仍有待更高质量的临床研究证实, 如进一步扩大样本量, 统一*H. pylori*感染的诊断标准和胰岛素抵抗评价方法, 按不同地区、不同种族来分析*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平的关系.

总之, 本次Meta分析结果表明*H. pylori*感染与胰岛素抵抗水平升高相关, 样本量较大, 在一定程度上揭示了二者的关系, 结果可信. *H. pylori*感染是否为胰岛素抵抗的病因尚待大样本前瞻性队列研究证实, 以及需要进行设计

周密的随机对照试验来研究根除*H. pylori*感染能否改善胰岛素抵抗. 虽然可能存在某些偏倚(选择偏倚、诊断偏倚、测量偏倚)影响本次Meta分析结果, 但还是可以提示*H. pylori*感染可能在胰岛素抵抗的发生发展中起一定作用, 对其防治有一定启示.

#### 4 参考文献

- Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 738-749 [PMID: 21984069 DOI: 10.1038/nri3071]
- Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med* 2009; 9: 299-314 [PMID: 19355912]
- Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 6184-6223 [PMID: 24733068 DOI: 10.3390/ijms15046184]
- Stefanowicz M, Strączkowski M, Karczewska-Kupczewska M. [The role of SIRT1 in the pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle]. *Postępy Hig Med Dosw (Online)* 2015; 69: 63-68 [PMID: 25614674 DOI: 10.5604/17322693.1136379]
- Iovino S, Burkart AM, Kriauciunas K, Warren L, Hughes KJ, Molla M, Lee YK, Patti ME, Kahn CR. Genetic insulin resistance is a potent regulator of gene expression and proliferation in human iPS cells. *Diabetes* 2014; 63: 4130-4142 [PMID: 25059784 DOI: 10.2337/db14-0109]
- Arora A, Dey CS. SIRT2 negatively regulates insulin resistance in C2C12 skeletal muscle cells. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842: 1372-1378 [PMID: 24793418 DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.04.027]
- Tang Z, Zhang W, Wan C, Xu G, Nie X, Zhu X, Xia N, Zhao Y, Wang S, Cui S, Wang C. TRAM1 protect HepG2 cells from palmitate induced insulin resistance through ER stress-JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 457: 578-584 [PMID: 25600807 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.01.027]
- Chen LW, Chien CY, Yang KJ, Kuo SF, Chen CH, Chien RN. Helicobacter pylori Infection Increases Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Residents Younger than 50 Years Old: A Community-Based Study. *PLoS One* 2015; 10: e0128671 [PMID: 26020514 DOI: 10.1371/journal.pone.0128671]
- Gruzdeva O, Uchasova E, Dyleva Y, Belik E, Shurygina E, Barbarash O. Plasminogen activator inhibitor-1, free fatty acids, and insulin resistance in patients with myocardial infarction. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2013; 6: 293-301 [PMID: 23976861 DOI: 10.2147/DMSO.S46627]
- Henriksen EJ, Diamond-Stanic MK, Marchionne EM. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 993-999 [PMID: 21163347 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.005]

- 11 McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity* 2014; 41: 36-48 [PMID: 25035952 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.05.010]
- 12 Marie MA. Relationship between *Helicobacter pylori* virulence genes and clinical outcomes in Saudi patients. *J Korean Med Sci* 2012; 27: 190-193 [PMID: 22323867 DOI: 10.3346/jkms.2012.27.2.190]
- 13 Franceschi F, Tortora A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter* 2014; 19 Suppl 1: 52-58 [PMID: 25167946 DOI: 10.1111/hel.12159]
- 14 Monzón H, Forné M, Esteve M, Rosinach M, Loras C, Espinós JC, Viver JM, Salas A, Fernández-Bañares F. *Helicobacter pylori* infection as a cause of iron deficiency anaemia of unknown origin. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4166-4171 [PMID: 23864779 DOI: 10.3748/wjg.v19.i26.4166]
- 15 Li X, Sheng G, Xing H. Relationships among HLA-DRB1 Alleles, *Helicobacter pylori* infection and idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Minerva Pediatr* 2015; 67: 377-379 [PMID: 26129806]
- 16 Chmiela M, Gajewski A, Rudnicka K. *Helicobacter pylori* vs coronary heart disease - searching for connections. *World J Cardiol* 2015; 7: 187-203 [PMID: 25914788 DOI: 10.4330/wjc.v7.i4.187]
- 17 Polyzos SA, Kountouras J, Papatheodorou A, Patsiaoura K, Katsiki E, Zafeiriadou E, Zavos C, Anastasiadou K, Terpos E. *Helicobacter pylori* infection in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2013; 62: 121-126 [PMID: 22841522 DOI: 10.1016/j.metabol.2012.06.007]
- 18 Shin DW, Kwon HT, Kang JM, Park JH, Choi HC, Park MS, Park SM, Son KY, Cho B. Association between metabolic syndrome and *Helicobacter pylori* infection diagnosed by histologic status and serological status. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 840-845 [PMID: 23064216 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182522477]
- 19 Aydemir S, Bayraktaroglu T, Sert M, Sokmen C, Atmaca H, Mungan G, Gun BD, Borazan A, Ustundag Y. The effect of *Helicobacter pylori* on insulin resistance. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2090-2093 [PMID: 16240220]
- 20 Eshraghian A, Hashemi SA, Hamidian Jahromi A, Eshraghian H, Masoompour SM, Davarpanah MA, Eshraghian K, Taghavi SA. *Helicobacter pylori* infection as a risk factor for insulin resistance. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1966-1970 [PMID: 19009348 DOI: 10.1007/s10620-008-0557-7]
- 21 Aslan M, Horoz M, Nazligul Y, Bolukbas C, Bolukbas FF, Selek S, Celik H, Erel O. Insulin resistance in H pylori infection and its association with oxidative stress. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6865-6868 [PMID: 17106938]
- 22 Vafaeimanesh J, Parham M, Seyyedmajidi M, Bagherzadeh M. *Helicobacter pylori* infection and insulin resistance in diabetic and nondiabetic population. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 391250 [PMID: 25405220 DOI: 10.1155/2014/391250]
- 23 Malamug LR, Karnchanasorn R, Samoa R, Chiu KC. The Role of *Helicobacter pylori* Seropositivity in Insulin Sensitivity, Beta Cell Function, and Abnormal Glucose Tolerance. *Scientifica (Cairo)* 2014; 2014: 870165 [PMID: 24790772 DOI: 10.1155/2014/870165]
- 24 Jeon CY, Haan MN, Cheng C, Clayton ER, Mayeda ER, Miller JW, Aiello AE. *Helicobacter pylori* infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35: 520-525 [PMID: 22279028 DOI: 10.2337/dc11-1043]
- 25 Gokcel A, Gumurdulu Y, Kayaselcuk F, Serin E, Ozer B, Ozsahin AK, Guvener N. *Helicobacter pylori* has no effect on plasma ghrelin levels. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 423-426 [PMID: 12656662]
- 26 Guise JM, Chang C, Viswanathan M, Glick S, Treadwell J, Umscheid CA, Whitlock E, Fu R, Berliner E, Paynter R, Anderson J, Motu'apuaka P, Trikalinos T. Agency for Healthcare Research and Quality Evidence-based Practice Center methods for systematically reviewing complex multicomponent health care interventions. *J Clin Epidemiol* 2014; 67: 1181-1191 [PMID: 25438663 DOI: 10.1016/j.jclinepi.2014.06.010]
- 27 Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett* 2014; 345: 196-202 [PMID: 23981572 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.08.016]
- 28 Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: what should be the gold standard? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 12847-12859 [PMID: 25278682 DOI: 10.3748/wjg.v20.i36.12847]
- 29 Bytzer P, Dahlerup JF, Eriksen JR, Jarbøl DE, Rosenstock S, Wildt S. Diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Dan Med Bull* 2011; 58: C4271 [PMID: 21466771]
- 30 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组, 全国幽门螺杆菌研究协作组. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *中华内科杂志* 2012; 51: 932-937
- 31 Gierach M, Gierach J, Junik R. Insulin resistance and thyroid disorders. *Endokrynol Pol* 2014; 65: 70-76 [PMID: 24549605 DOI: 10.5603/EP.2014.0010]
- 32 Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23: 57-63 [PMID: 10857969]
- 33 Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, Malloy J, Triplitt CL. Assessment of pancreatic  $\beta$ -cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev* 2014; 10: 2-42 [PMID: 24524730]
- 34 Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Deretzi G. The association between *Helicobacter pylori* infection and insulin resistance: a systematic review. *Helicobacter* 2011; 16: 79-88 [PMID: 21435084 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00822.x]
- 35 Naja F, Nasreddine L, Hwalla N, Moghames P, Shoaib H, Fatfat M, Sibai A, Gali-Muhtasib H. Association of H. pylori infection with insulin resistance and metabolic syndrome among Lebanese adults. *Helicobacter* 2012; 17: 444-451 [PMID: 23066847 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00970.x]
- 36 Singh Y, Garg MK, Tandon N, Marwaha RK. A study of insulin resistance by HOMA-IR and



- its cut-off value to identify metabolic syndrome in urban Indian adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2013; 5: 245-251 [PMID: 24379034 DOI: 10.4274/Jcrpe.1127]
- 37 Oya J, Nakagami T, Yamamoto Y, Fukushima S, Takeda M, Endo Y, Uchigata Y. Effects of age on insulin resistance and secretion in subjects without diabetes. *Intern Med* 2014; 53: 941-947 [PMID: 24785884]
- 38 Mendes LL, Gazzinelli A, Velásquez-Meléndez G. [Factors associated with insulin resistance in rural populations]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009; 53: 332-339 [PMID: 19578594]
- 39 Gerig R, Ernst B, Wilms B, Thurnheer M, Schultes B. Gastric *Helicobacter pylori* infection is associated with adverse metabolic traits in severely obese subjects. *Obesity* (Silver Spring) 2013; 21: 535-537 [PMID: 23592660 DOI: 10.1002/oby.20098]
- 40 Tan VM, Lee YS, Venkataraman K, Khoo EY, Tai ES, Chong YS, Gluckman P, Leow MK, Khoo CM. Ethnic differences in insulin sensitivity and beta-cell function among Asian men. *Nutr Diabetes* 2015; 5: e173 [PMID: 26192451 DOI: 10.1038/nutd.2015.24]
- 41 Semper RP, Mejías-Luque R, Groß C, Anderl F, Müller A, Vieth M, Busch DH, Prazeres da Costa C, Ruland J, Groß O, Gerhard M. *Helicobacter pylori*-induced IL-1 $\beta$  secretion in innate immune cells is regulated by the NLRP3 inflammasome and requires the *cag* pathogenicity island. *J Immunol* 2014; 193: 3566-3576 [PMID: 25172489 DOI: 10.4049/jimmunol.1400362]
- 42 Hemmasi G, Zamani F, Khonsari M, Sohrabi M, Abdollahi N, Ajdarkosh H. Association between *Helicobacter pylori* and Serum Leptin in Iranian Dyspeptic Patients. *Middle East J Dig Dis* 2013; 5: 158-162 [PMID: 24829687]
- 43 Aswad H, Forterre A, Wiklander OP, Vial G, Danty-Berger E, Jalabert A, Lamazière A, Meugnier E, Pesenti S, Ott C, Chikh K, El-Andaloussi S, Vidal H, Lefai E, Rieusset J, Rome S. Exosomes participate in the alteration of muscle homeostasis during lipid-induced insulin resistance in mice. *Diabetologia* 2014; 57: 2155-2164 [PMID: 25073444 DOI: 10.1007/s00125-014-3337-2]
- 44 Rocha AM, Souza C, Melo FF, Clementino NC, Marino MC, Rocha GA, Queiroz DM. Cytokine profile of patients with chronic immune thrombocytopenia affects platelet count recovery after *Helicobacter pylori* eradication. *Br J Haematol* 2015; 168: 421-428 [PMID: 25257094 DOI: 10.1111/bjh.13141]
- 45 Evrengul H, Tanriverdi H, Kuru O, Enli Y, Yuksel D, Kilic A, Kaftan A, Kirac S, Kilic M. Elevated homocysteine levels in patients with slow coronary flow: relationship with *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2007; 12: 298-305 [PMID: 17669101]
- 46 de Bernard M, Josenhans C. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2014; 19 Suppl 1: 11-18 [PMID: 25167940 DOI: 10.1111/hel.12160]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 内镜下切除食管良性颗粒细胞瘤2例

刘婉, 朱海航, 徐永居, 卜平

### ■背景资料

颗粒细胞瘤 (granular cell tumors, GCTs) 是一种非常罕见的软组织肿瘤, 消化系统的GCTs更为罕见, 多发生在食管的下段, 外科手术治疗创伤较大, 本文对发现的2例食管下段GCT采用内镜下治疗, 效果显著。

刘婉, 卜平, 扬州大学临床医学院 江苏省扬州市 225001

朱海航, 徐永居, 苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

刘婉, 在读硕士, 主要从事胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 课题设计由刘婉与卜平完成; 病历提供由朱海航与徐永居完成; 图片整理及文章撰写由刘婉完成; 文章审校由卜平完成。

通讯作者: 卜平, 教授, 225001, 江苏省扬州市淮海路11号, 扬州大学临床医学院. [boping1955@hotmail.com](mailto:boping1955@hotmail.com)  
电话: 0514-87978872

收稿日期: 2015-09-17

修回日期: 2015-09-30

接受日期: 2015-10-13

在线出版日期: 2015-11-18

### Endoscopic resection of benign esophageal granular cell tumors: Report of two cases

Wan Liu, Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Ping Bo

Wan Liu, Ping Bo, Clinical Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ping Bo, Professor, Clinical Medical College, Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. [boping1955@hotmail.com](mailto:boping1955@hotmail.com)

Received: 2015-09-17

Revised: 2015-09-30

Accepted: 2015-10-13

Published online: 2015-11-18

### ■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

### Abstract

Granular cell tumors of the esophagus are

rare and mostly isolated lesions, many of which have no clinical symptoms and are usually accidentally discovered during annual endoscopic examination. Benign and malignant GCTs have similar histopathology, and there are no clear histological diagnostic criteria for the differentiation of benign and malignant tumors. With the wide application of endoscopic techniques, the detection rate of esophageal GCTs and treatment strategy have greatly changed. Here we report two cases of benign GCTs of the esophagus and reviewed the literature.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic treatment; Esophageal; Granular cell tumor

Liu W, Zhu HH, Xu YJ, Bo P. Endoscopic resection of benign esophageal granular cell tumors: Report of two cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(32): 5250-5254 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5250.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5250>

### 摘要

食管颗粒细胞瘤在临床上较少见, 大部分为孤立性结节且多无特异性临床症状, 多在胃镜检查时被发现。对于食管颗粒细胞瘤仅依据组织学诊断不能确定肿瘤的良恶性。随着内镜技术的广泛应用, 肿瘤的发现率及治疗方式在不断改变。本文报道经内镜下切除食管颗粒细胞瘤2例, 并查阅相关文献进行复习。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内镜治疗; 食管; 颗粒细胞瘤

**核心提示:** 食管颗粒细胞瘤多无特异性临床症状, 经常被误诊, 术前确诊率极低, 即使术后病理确诊为良性病变, 肿瘤仍存在复发或转移的可能, 临床医师应对确诊病例做好密切的随访。

刘婉, 朱海航, 徐永居, 卜平. 内镜下切除食管良性颗粒细胞瘤2例. 世界华人消化杂志 2015; 23(32): 5250-5254 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5250.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i32.5250>

## 0 引言

颗粒细胞瘤(granular cell tumors, GCTs)是一种非常罕见的软组织肿瘤, 可发生于全身各个部位, 约有8%的GCTs发生于消化系, 近1/3的消化系颗粒细胞瘤发生在食管, 以食管下段为主要发生部位。现总结本院近期内镜下切除食管GCTs 2例, 结合国内外文献进行学习, 就食管GCTs的诊疗做一讨论。

## 1 病例报告

病例1, 刘某, 男, 44岁, 因胸骨后不适于2015-03-09行电子胃镜检查, 见距门齿40 cm处食管下段近前壁隆起性病变, 大小约0.7 cm×0.7 cm, 黏膜光滑淡黄(图1A), 移动性好, 门诊拟“食管间质瘤”收入院。入院后完善相关检查, 无手术禁忌, 行内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD), 常规麻醉后, Q260J内镜进镜至贲门食管侧可见食管前壁隆起性病变, 约0.6 cm×0.7 cm大小, 沿病变基部数点注射1:10000肾上腺素生理盐水靛胭脂液总量约10 mL, 病变处明显抬举隆起, 应用hook刀沿标记之外0.5 cm左右切开黏膜, 找见肿块黏膜下剥离, 最后用圈套器摘除(图1B), 以钛夹夹闭。切除完整标本送病理检查, 病灶标本约0.6 cm×0.8 cm大小(图1C)送检。标本HE染色: 组织被覆鳞状上皮, 其下可见呈巢状、器官样排列分布的细胞, 细胞浆丰富、红染(图1D)。免疫组织化学结果: S100(+), NSE(+), CD56(+), Syn(-), CgA(-), Desmin(-), SMA(-), H-caldesmon(-)。

病例2, 昌某某, 女, 56岁, 因时有反酸、嗝气不适于2015-03-03行胃镜检查见距门齿约30 cm处食管可见一小隆起, 约0.7 cm×0.8 cm, 表面光滑(图2A)。超声胃镜提示低回声团块, 回声均匀, 向腔内突出, 边界清楚, 起源于黏膜

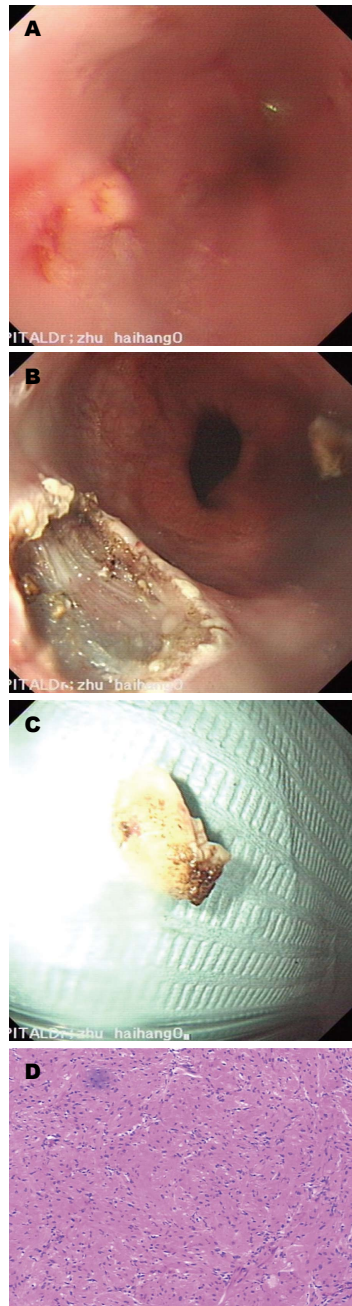


图1 病例1手术前后及病理。A: 电子胃镜下可见距门齿40 cm处食管下端近前壁隆起性病变, 大小约0.7 cm×0.7 cm, 黏膜光滑, 淡黄色; B: 肿块黏膜下剥离并用圈套器摘除后; C: 完整切除后的标本, 病灶约0.6 cm×0.8 cm; D: 术后病理(×40), 组织被覆鳞状上皮, 其下可见呈巢状、器官样排列分布的细胞, 细胞浆丰富、红染。

肌层(图2B)。无手术禁忌, 行内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR), 常规麻醉后见食管距门齿30 cm处一0.6 cm×0.7 cm半球状隆起, 表面光滑, 中央无溃疡形成, 无黏膜桥形成, 再将圈套器置于病灶基底部后, 收紧圈套钢丝, 通以高频电流, 强度约为45-50 W, 分次凝切, 切下后创面无渗血(图2C), 予钛夹

## ■ 相关报道

病理被认为是诊断肿瘤良恶性的金标准, 但是少数GCT病例依照病理不能诊断为恶性, 而临床却出现复发或转移。张明等认为P53的表达、Ki-67阳性细胞数的多少与肿瘤的恶性潜能相关, 良性及无复发GCTs的Ki-67增殖指数较低, 这有助于鉴别肿瘤的良恶性。

## ■ 创新点

本文的创新处在于系统的总结了食管颗粒细胞瘤的诊治现状, 有助于临床医师全面的了解食管颗粒细胞瘤的诊断与治疗。



# 应用要点

对食管颗粒细胞瘤良恶性的鉴别, 在依据病理诊断的基础上, 可完善P53、Ki-67免疫化学、超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS)检查, 全面的评估病情, 指导患者随访, 预防肿瘤的恶变。

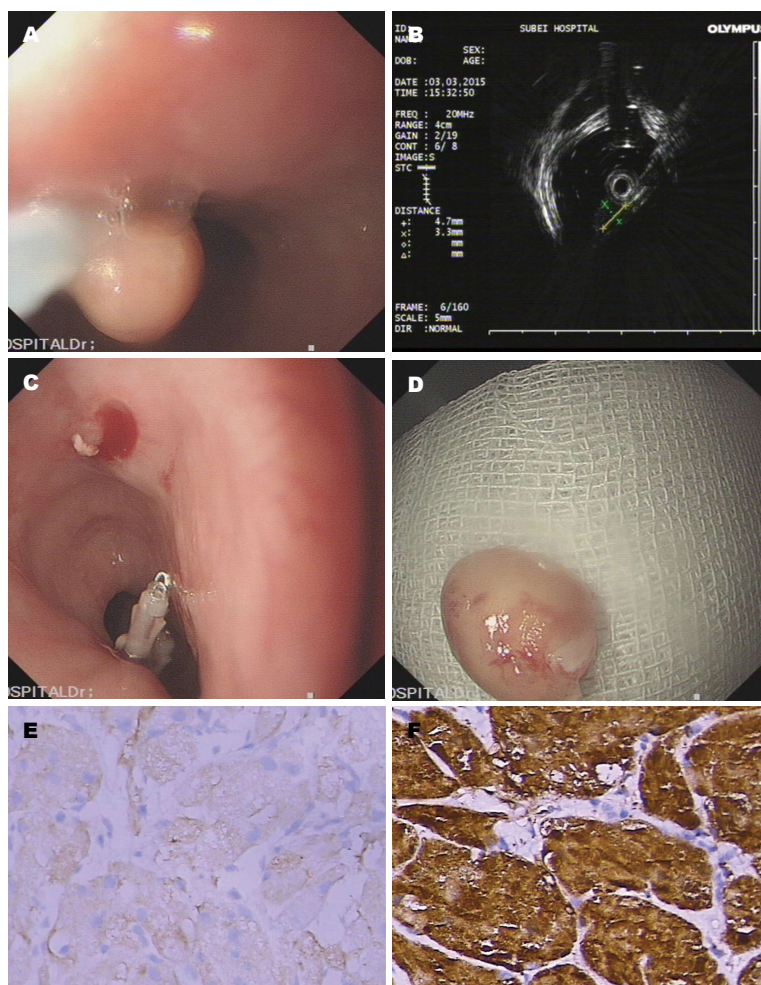


图2 病例2手术前后及病理: A: 距门齿约30 cm处食管可见一半球状小隆起, 约0.7 cm×0.8 cm, 表面光滑, 中央无溃疡形成, 无黏膜桥形成, 活动度可; B: EUS提示低回声团块, 回声均匀, 向腔内突出, 边界清楚, 起源于黏膜肌层; C: EMR术后; D: 完整切除后的标本, 病灶约0.6 cm×0.7 cm; E: NSE(+)(×400); F: S-100(+)(×400). EUS: 超声内镜; EMR: 内镜黏膜切除术。

3枚夹闭创面; 息肉以五爪钳收住后随镜取出(图2D)后送检。HE染色: 组织被覆鳞状上皮, 上皮见增生的组织样细胞, 胞浆丰富、颗粒状。免疫组织化学: 组织样细胞S-100(+)(图2E)、NSE(+)(图2F); SMA、Desmin、CD117、Dog-1均(-)。

## 2 讨论

2.1 来源 因形态学上发现肿瘤组织与神经有密切联系, 免疫组织化学及电镜也证实瘤细胞来源于雪旺细胞。但极少数颗粒细胞瘤胞浆内可见肌丝、密体及微饮泡, 免疫组织化学染色瘤细胞Desmin、Actin阳性, 其亦可来源于平滑肌细胞; 本组2例结合病理及免疫组织化学符合雪旺细胞学说来源。

2.2 临床表现 食管GCTs好发于40岁左右的女性, 多无特异性症状, 仅在胃镜检查时被发现,

真正表现为进食梗阻、出血而就诊的多因肿瘤较大, 且占GCTs的级少数; 食管GCTs常表现为上腹痛、反酸、嗝气、胸闷等不典型症状, 即使将食管GCT完整的摘除, 患者不适仍可能存在, 可能其内脏的感觉系统受到永久的损害, 本组两例患者1例表现为胸骨后不适, 1例表现为反酸、嗝气, 均不具有特异性。

2.3 诊断 食管GCTs内镜下多为直径在0.5-2.0 cm黏膜下隆起性结节, 多为单发, 亦可见多发结节, 多发GCTs常见于国外报道; 表面光滑, 少数病例出现黏膜过度增生、粗糙或伴糜烂、黏膜桥形成。黏膜呈淡黄色, 有学者认为淡黄色颗粒结节是GCTs的特征性表现, 但也有黏膜灰白色、正常食管黏膜颜色的颗粒细胞瘤被确诊<sup>[1]</sup>, 本组两例患者术前内镜观察1例表现为淡黄色, 另1例黏膜色泽于食管黏膜颜色相同, GCTs外观并不具有特征性变, 术前误诊

率较高, 这有待于大量文献的总结报道。

超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS)主要为低回声、均质回声结节, 也有回声不均质的, 但是内部回声并不影响肿瘤的病理特征<sup>[2]</sup>, 起源于黏膜层及黏膜肌层的GCTs肿瘤边界尚清楚, 起源于黏膜下层的肿瘤境界不清, 浸润至肌层, 边界是否清楚与肿瘤的生长方式及起源有关, 有部分瘤体超声内镜下显示的起源层次与实际切除时不相符合, 部分瘤体在超声内镜下的数量与实际不符<sup>[1,2]</sup>。根据EUS灰度值的不同, 可将其与其他肿瘤进行鉴别<sup>[3]</sup>, EUS-FNA能获得组织学标本, 但有潜在的瘤体破裂和转移可能, 本组第2例患者超声胃镜提示食管隆起病灶处为低回声、均质回声团块, 边界清楚, 起源于黏膜肌层, 行EMR术即能完整切除瘤体, 而第1例患者术前未能行EUS检查, 对于手术存在一定的困难, 我们认为术前常规行EUS检查, 可以明确肿瘤的起源, 更有助于手术方式的选择。

组织学镜下细胞排列成巢状或条索状, 巢间见少量纤维组织分隔, 胞体较大, 胞质丰富, 充满嗜伊红颗粒; 核小、居中、大小一致, 常深染, 少数核增大、异型, 但这并不代表恶性; PSA染色阳性, 并耐淀粉酶消化; 间质稀少, 有时细胞巢间或肿瘤组织周围可见灶状淋巴细胞浸润。本文两例与以往文献报道有相同的内镜下表现。

电镜下异染色质散在于核内, 核仁明显, 位于核的中央; 胞浆内充满大量由单层膜包绕形成的自噬泡, 亦可见小泡融合的多泡体; 瘤细胞巢周或细胞间见基板围绕, 少数颗粒细胞瘤的瘤细胞可见角小体或轴索样结构, 亦有超微结构显示细胞质内可见angulated小体, 少数瘤细胞内见肌丝、密体及微饮泡。

GCTs阳性表达一些神经特异性标记, 如S-100、NSE、MBP、vimentin等, 而一些肌源性、组织细胞源性、上皮源性等免疫组织化学为阴性, 其中S-100蛋白和NSE是神经嵴来源肿瘤两种较为可靠的标记, 特别是S-100在瘤细胞胞浆和胞核均表达; 本组两例患者均S-100(+), NSE(+), 与既往文献报道相一致。

**2.4 肿瘤良恶性的鉴别** GCTs诊疗的难点是鉴别良性颗粒细胞瘤(benign granular celltumor, BGCT)与恶性颗粒细胞瘤(malignant granular

celltumor, MGCT), MGCTs极少见, 发生率约为2%; 消化系内MGCTs更是极其罕见。恶性颗粒细胞瘤直径多>2 cm, 瘤体>5 cm是一个潜在恶性的临床指标, 也有肿瘤直径小于1cm后经病理证实为恶性的报道。病理学被认为是鉴别肿瘤良恶性的金标准, 但BGCTs和MGCTs在病理组织学上表现相似, 目前尚无统一的鉴别良恶性GCTs的标准。应用最广泛的是Fanburg-Smith等提出恶性者5个判断指标: 瘤细胞变梭形, 空泡状核并有大核仁, 核分裂象( $\geq 2$ 个/10 HPF), 肿瘤性坏死, 高核质比和多形性; 符合3个或3个以上的被视为组织学恶性; 但有少数病例按照上述标准不能诊断为恶性, 而临床已出现复发或转移。因此有学者提出将核分裂象的诊断指标改为 $\geq 5$ 个/50 HPF, 以便更确切地反映肿瘤的核分裂活动。有报道P53的表达、Ki-67阳性细胞数的多少与肿瘤的恶性潜能相关, 良性及无复发GCTs的Ki-67增殖指数较低<sup>[1]</sup>。在MGCTs中, 大肿块、快速增殖、肿瘤性坏死和临近组织的侵犯或转移及早期局部复发、局部引流区域出现肿大淋巴结时被认为比病理学更有力的证据; 而多发性病例似乎并不具有更高的恶性风险。通过EUS确认肿瘤有无浸润肌层及其以外的各层, 对于鉴别良恶性有重要的意义, 但对于早期无浸润表现的MGCTs, 仍不能识别。

**2.5 治疗** BGCTs有恶变可能, 目前大多数学者主张进行积极的治疗。术前EUS可帮助明确病变起源和性质, 并根据起源及病变大小选择合适的治疗方法。对直径<2 cm、位于黏膜层的食管GCTs首选内镜治疗, 大部分随访未发现肿瘤的复发及转移。对多发的或侵及肌层的, 此类GCTs多为恶性, 既往多采取手术治疗, 近年来通过内镜黏膜下隧道肿瘤切除术、内镜全层切除术<sup>[4,5]</sup>可达到与外科完整切除肿瘤的效果; 同时双镜联合即内镜与胸腔镜联合手术微创治疗食管GCTs也越来越受到人们的重视, 内镜下治疗食管GCTs显得越来越重要。但对于发生转移的MGCT, 外科手术仍是主要的治疗手段。MGCT术后局部复发率高达50%, 转移率68%, 最常见的转移部位为区域淋巴结和肺, 平均生存期为2.5年, 化疗和放疗并不能改善MGCT的临床病程。对于具有潜在恶性的GCT, 应定期随访, 以尽早发现其局部复发和转移, 提高患者的生存质量。

#### ■名词解释

EUS灰度值: EUS图像是一种二维灰阶图像, 图像中有丰富的灰度信息, 黑-灰-白-连续变化的灰度值量化为256个灰度级, 灰度值的范围为0-255, 表示亮度从深到浅, 对应图像中的颜色为从黑到白。

### 同行评价

本文报道了2例少见疾病-食管颗粒细胞瘤, 并且进行了详细的讨论和文献回顾, 具有良好的临床示范作用。

### 3 参考文献

- 1 张明, 樊祥山, 李运红, 吴毓麟, 吕瑛, 张晓琦, 邹晓平. 食管颗粒细胞瘤的临床、内镜及病理特征分析. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 520-522
- 2 郭花, 盛剑秋, 金鹏, 王海红, 李娜, 赵晓军. 超声内镜对消化道黏膜下肿物的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2014; 31: 508-512
- 3 Seo SW, Hong SJ, Han JP, Choi MH, Song JY, Kim HK, Lee TH, Ko BM, Cho JY, Lee JS, Lee MS. Accuracy of a scoring system for the differential diagnosis of common gastric subepithelial tumors based on endoscopic ultrasonography. *J Dig Dis* 2013; 14: 647-653 [PMID: 23992089]
- 4 徐丽霞, 梁玮, 邓万银, 王丽珍, 高丽影, 郭仙斌. 经内镜黏膜下隧道肿瘤切除术治疗食管固有肌层肿瘤. 中华实验外科杂志 2014; 31: 2891-2893
- 5 Xu MD, Cai MY, Zhou PH, Qin XY, Zhong YS, Chen WF, Hu JW, Zhang YQ, Ma LL, Qin WZ, Yao LQ. Submucosal tunneling endoscopic resection: a new technique for treating upper GI submucosal tumors originating from the muscularis propria layer (with videos). *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 195-199 [PMID: 22056087 DOI: 10.1016/j.gie.2011.08.018]

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》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)



## 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1039位专家组成, 分布在中国31个省市、自治区及特别行政区和美国。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OA最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版43种临床医学OA期刊, 其中英文版42种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA,

■ 《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议。

■《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP, *T*<sub>1/2</sub>不能写成t<sub>1/2</sub>或T, *V*<sub>max</sub>不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CT*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 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<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M<sub>r</sub>*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿酸、胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 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 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如 $3614.5 \text{ g} \pm 420.8 \text{ g}$ , SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成 $3.6 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$ , 过多的位数并无意义. 又如 $8.4 \text{ cm} \pm 0.27 \text{ cm}$ , 其 $\text{SD}/3 = 0.09 \text{ cm}$ , 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该 $23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24$ . 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律

用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上



■ 《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行,每月8、18、28日出版。

上海交通大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China  
基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征, 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ ,

后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加

方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,研究<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID和DOI编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接,包括首次提交的稿件,同行评议人报告,作者给审稿人回信和作者修回稿,以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见,指出问题与不足;作者也可以随时修改完善自己发表的论文,使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

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

### 4.2 研究原著写作格式实例

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

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

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

### 4.4 文献综述写作格式实例

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

### 4.5 研究快报写作格式实例

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

### 4.6 临床经验写作格式实例

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

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿,不接受其他方式的投稿,如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线

提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审,2位或以上通过为录用,否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回,所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期):起页-止页。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

■ 《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2015年国内国际会议预告

2015-01-15/17  
2015年胃肠道癌症研讨会(GCS)  
会议地点: 美国  
联系方式: <http://gicasymp.org/>

2015-02-05/07  
欧洲癌症研究协会大会(EACR)  
会议地点: 德国  
联系方式: <http://www.eacr.org/radiationbiology2015/>

2015-03-12/15  
2015年第24届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)  
会议地点: 土耳其  
联系方式: <http://apasl.info/about>

2015-03-11/13  
2015年欧洲神经内分泌肿瘤学会第12届年度会议(ENETS)  
活动地点: 西班牙  
联系方式: <http://www.aihcc.com>

2015-06-08/21  
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/>



安力彬 教授  
大连大学护理学院

李连红 主任护师  
大连医科大学附属第一医院

柏愚 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

李苏宜 教授  
安徽省肿瘤医院肿瘤营养与代谢治疗科

程斌 教授  
华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

程英升 教授  
上海交通大学附属第六人民医院放射科

吕宾 教授  
浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)

崔清波 副高职  
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

吕农华 教授  
南昌大学第一附属医院

江建新 主任医师  
湖北省肿瘤医院肝胆胰腺外科

门秀丽 教授  
河北联合大学(原华北煤炭医学院)

姜慧卿 教授  
河北医科大学第二医院消化科

彭亮 副教授  
中山大学附属第三医院感染科

管樑 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院核医学科

单信芝 副主任护师  
青岛大学附属医院消化内科

吉建华 副主任护师  
昆明医科大学第一附属医院

卢晓梅 教授  
新疆医科大学第一附属医院医学研究中心

江建新 主任医师  
湖北省肿瘤医院肝胆胰腺外科

卢宁 副主任医师  
中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤诊疗中心

江米足 教授  
浙江大学医学院附属儿童医院

禄韶英 副教授  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

姜春萌 教授  
大连医科大学附属第二医院

麻勇 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院

康春博 副主任医师  
航天中心医院

门秀丽 教授  
河北联合大学(原华北煤炭医学院)

兰英华 副教授  
哈尔滨医科大学附属第一医院感染科

彭亮 副教授  
中山大学附属第三医院感染科

李华山 主任医师  
中国中医科学院广安门医院

沈克平 主任医师  
上海中医药大学附属龙华医院

## 志谢

孙学英 教授  
哈尔滨医科大学第一附属医院

谭晓冬 副教授  
中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

唐世刚 教授  
湖南省人民医院

唐文富 教授  
四川大学华西医院中西医结合科

唐旭东 主任医师  
中国中医科学院西苑医院

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

王忠裕 教授  
大连医科大学附属一院

肖恩华 教授  
中南大学湘雅二医院

徐建明 主任医师  
中国人民解放军军事医学科学院附属医院(解放军307医院)

杨江华 副教授  
芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

于珮 主任医师  
天津医科大学代谢病医院

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

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院



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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

