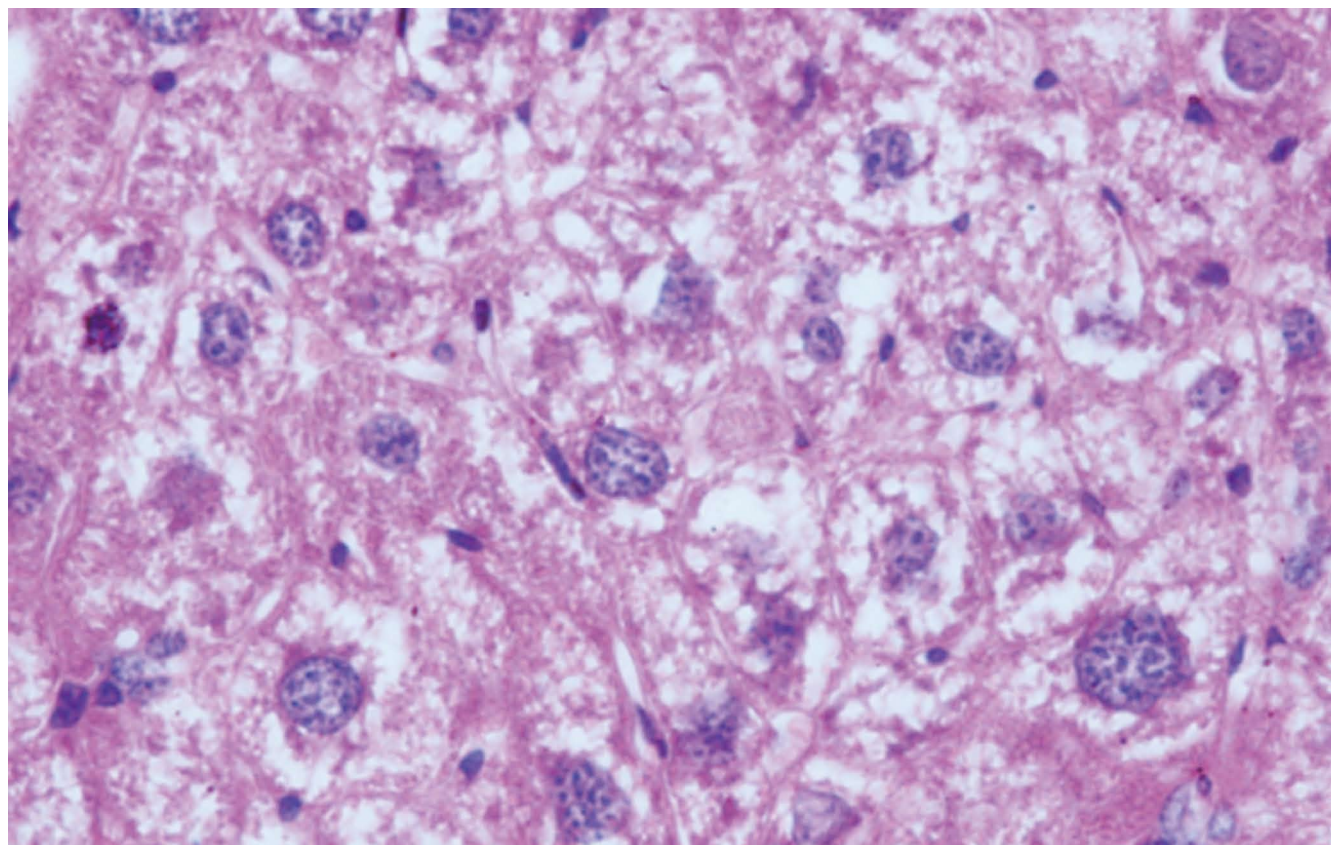


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 2 月 28 日 第 22 卷 第 6 期 (Volume 22 Number 6)



6/2014

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思风教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
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
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

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

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
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
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
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
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年2月28日 第22卷 第6期 (总第446期)

基础研究

- 751 Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义
孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁
- 759 骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响
袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新
- 766 手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用
冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊

文献综述

- 773 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展
田磊, 肖秀英, 叶明
- 782 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用
周振华, 陈国栋, 杨林
- 788 胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制
刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉
- 795 结肠电刺激的研究进展
郭晓娟, 姚树坤
- 801 结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展
邱野, 付祥胜, 彭燕
- 807 高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用
刘贤伟, 周丁华

研究快报

- 813 RNAi沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响
李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博
- 819 六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和ITC的影响及意义
全晓红, 叶冬梅, 唐晓光
- 825 大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用
黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄千荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

临床经验

- 831 超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用
王锦飞, 王金林, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌
- 837 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估
马超, 孔德润
- 842 奥美拉唑的不良反应
王子娟, 张弋
- 846 胃胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系
李伟, 隋红, 周建华
- 853 L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例
许进军, 甘宁
- 858 ¹³C-噤噤西啶呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价
江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫
- 862 腹腔镜微创治疗肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响
仇奕然, 张海燕
- 868 原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系
孙静, 褚燕君, 张芳宾, 郑聪
- 874 蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用
朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳
- 880 NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值
司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋
- 885 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响
杜童, 韩琳, 牛洪欣
- 890 MiRNA-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的系统评价
谢文群, 谭诗云, 王晓凡

病例报告	898 多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例 王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	758 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 781 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 794 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 800 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 867 《世界华人消化杂志》参考文献 897 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁. Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 751-758 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 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 2014-02-28

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, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 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

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 Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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

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

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

February 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 6

BASIC RESEARCH	<p>751 Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice <i>Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN</i></p> <p>759 Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure <i>Yuan SF, Jiang T, Hu LY, Sun LH, Zheng RJ, Zhang YX</i></p> <p>766 Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats <i>Feng S, Jia GL, Xi HL, Wang XK, Tian ZL</i></p>
REVIEW	<p>773 Molecular targeted therapy of gastric cancer <i>Tian L, Xiao XY, Ye M</i></p> <p>782 Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma <i>Zhou ZH, Chen GD, Yang L</i></p> <p>788 Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation <i>Liu BB, Kong J, Wu SD, Wang Y</i></p> <p>795 Advances in research of colonic electrical stimulation <i>Guo XJ, Yao SK</i></p> <p>801 Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma <i>Qiu Y, Fu XS, Peng Y</i></p> <p>807 Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases <i>Liu XW, Zhou DH</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>813 RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model <i>Li J, Lu HP, Mo WJ, Li HR, Feng ZB</i></p> <p>819 Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats <i>Quan XH, Ye DM, Tang XG</i></p> <p>825 Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of <i>Helicobacter pylori</i> to clarithromycin <i>Huang YQ, Huang XF, Zhao LJ, Huang GR, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>831 EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis <i>Wang JF, Wang JL, Zhang P, Sun Q, Wu XL, Chen NJ, Hou W, Cheng B</i></p> <p>837 Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices <i>Ma C, Kong DR</i></p> <p>842 Adverse reactions of omeprazole <i>Wang ZJ, Zhang Y</i></p> <p>846 Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis <i>Li W, Sui H, Zhou JH</i></p> <p>853 Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma <i>Xu JJ, Gan N</i></p> <p>858 ¹³C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis <i>Jiang ZY, Su BZ, Yuan DD, Chang ZH, Zhang JJ, Pang HF, Tang BF</i></p> <p>862 Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications <i>Qiu YR, Zhang HY</i></p> <p>868 Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis <i>Sun J, Chu YJ, Zhang FB, Zheng C</i></p> <p>874 Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner <i>Zhu Y, Wang QE, Wang Y, Gong YY, Sun XM, Lin L</i></p> <p>880 Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps <i>Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu KL, Lin W, Wei N, Jiang GJ, Liu H, Tai WP, Su H, Liu FX</i></p> <p>885 Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients <i>Du T, Han L, Niu HX</i></p> <p>890 Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review <i>Xie WQ, Tan SY, Wang XF</i></p>

CASE REPORT	898 Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report <i>Wang N, Qi R, Ding Q, Jiang HQ</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN.</i> Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(6): 751-758 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date February 28, 2014

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, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

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

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

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, 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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.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

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. 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 this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021

孔娜, 在读硕士, 主要从事肿瘤免疫与基因治疗方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30760278

作者贡献分布: 此课题由匡志鹏设计; 研究过程由孔娜与李韵秋操作完成; 数据分析由孔娜、杨帆及吴继宁完成; 本论文写作由孔娜完成; 匡志鹏提供实验材料, 并审阅论文、指导论文修改。

通讯作者: 匡志鹏, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部。

kgzhou@163.com

收稿日期: 2013-11-17 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice

Na Kong, Zhi-Peng Kuang, Fan Yang, Yun-Qiu Li, Ji-Ning Wu

Na Kong, Zhi-Peng Kuang, Fan Yang, Yun-Qiu Li, Ji-Ning Wu, Department of Experimental Research, the Affiliated Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30760278

Correspondence to: Zhi-Peng Kuang, Professor, Department of Experimental Research, the Affiliated Cancer Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. kgzhou@163.com

Received: 2013-11-17 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To detect the expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice, and to reveal the relationship between Wnt/ β -catenin signaling pathway and liver cancer.

METHODS: Ninety-five C57BL/6J mice were randomly divided into either an experimental group ($n = 50$) or a control group ($n = 45$). In the experimental group, primary hepatocellular carcinoma (HCC) was induced by using diethylnitrosamine (DEN), carbon tetrachloride (CCl_4) and ethanol for twenty weeks. Five mice of each group were randomly sacrificed every two weeks to collect specimens. The expression of Wnt-1 mRNA and protein was dynamically

observed by real-time PCR, Western blot and immunohistochemistry.

RESULTS: Liver cancer in C57BL/6J mice was successfully induced chemically after 20 weeks. Real-time PCR showed that the expression of Wnt-1 mRNA in the experimental group significantly increased compared to the control group at various time points during the period from weeks 14 to 20, while there was no significant difference from weeks 4 to 12. In the experimental group, Wnt-1 mRNA expression increased with time from weeks 14 to 16 and 18 (4.192 ± 0.322 vs 5.630 ± 0.579 vs 8.060 ± 0.795 , $P < 0.05$), but there was no significant difference between weeks 18 and 20. Western blot analysis showed that Wnt-1 protein expression was weak in both groups from weeks 4 to 12, but increased with time in the experimental group, although there was also no significant difference between weeks 18 and 20. Immunohistochemistry showed that Wnt-1 was expressed weakly in both groups before week 8, but began to increase from week 16 in the experimental group, peaking at week 20.

CONCLUSION: Wnt-1 may be associated with the occurrence of HCC, and Wnt/ β -catenin signaling pathway may play an important role in this process.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Signaling pathway; Liver neoplasm; Wnt-1; Chemical carcinogenesis

Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN. Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 751-758 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751>

摘要

目的: 检测Wnt/ β -catenin信号通路中Wnt-1在化学诱发小鼠肝癌过程中的表达, 揭示Wnt/ β -catenin通路与肝癌发生之间的关系。

■背景资料

世界范围内肝癌在男、女癌症死亡原因中分别居第2、6位。近年来发现, 包括肝癌在内的人类多种肿瘤都存在Wnt通路的异常激活。目前, 对肝癌的研究中已有较多关于Wnt通路异常活化的报道, 但更多着眼于下游信号分子 β -catenin/T细胞因子(T-cell factor, TCF)等关键环节。因此Wnt通路对肝癌发生的调控作用尚未明确。本文通过化学法诱导小鼠肝癌发生模型动态观察Wnt-1基因、蛋白表达水平变化, 目前相关研究报道较少。

■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■ 研发前沿

Wnt是一种分泌型糖蛋白, 目前已经发现19种Wnt蛋白参与细胞的生长分化、胚胎形成和肿瘤形成. 已有研究发现在多种肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达, 这些基因的异常表达可能参与了Wnt通路的激活, 从而导致了肿瘤的发生与发展. 两者的关系已成为目前研究的热点.

方法: 95只C57BL/6J♂小鼠随机分为实验组($n = 50$)和对照组($n = 45$). 实验组联合二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)/四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)/乙醇(ethanol)诱发小鼠肝癌. 实验组和对照组每2周各随机抽取5只小鼠定期处死并取组织标本进行病理学观察, 并通过Real-time PCR、Western blot、免疫组织化学动态监测肝组织的Wnt-1 mRNA及蛋白表达情况.

结果: (1)化学诱导20 wk后, 成功诱发小鼠肝癌; (2)Real-time PCR显示, Wnt-1 mRNA的表达在第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性, 第14至20周实验组较同期对照组表达升高, 且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1 mRNA表达逐渐升高(4.192 ± 0.322 vs 5.630 ± 0.579 vs 8.060 ± 0.795 , $P < 0.05$), 第18周和第20周表达差异没有显著性(8.060 ± 0.795 vs 8.038 ± 0.649 , $P > 0.05$); (3)Western blot显示对照组Wnt-1蛋白微弱表达; 实验组Wnt-1蛋白第4至12周微弱表达, 第14至18周随着诱癌时间延长Wnt-1蛋白表达逐渐升高, 第18周和第20周蛋白表达差异没有显著性; (4)免疫组织化学显示, Wnt-1在实验组第8周和对照组仅见微弱表达, 实验组从16 wk开始较对照组表达增加, 至20 wk时表达最强.

结论: Wnt-1参与了小鼠肝癌的发生发展, Wnt/ β -catenin信号通路在肝癌的发生过程中可能扮演重要角色.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 信号通路; 肝肿瘤; Wnt-1; 化学诱癌

核心提示: Wnt-1参与了小鼠肝癌发生发展的全过程, 可能是由于在化学诱导肝癌过程中Wnt通路被激活, 随着肝癌的形成相互作用的结果. 明确Wnt-1在肝癌发生过程中各时期的表达, 为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据.

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁. Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 751-758
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.751>

0 引言

目前, 世界范围内男性肝癌在恶性肿瘤中发病率居第5位, 在癌症死亡原因中居第2位; 女性肝癌在恶性肿瘤中的发病率居第7位, 在癌症死亡原因中居第6位^[1]. 肝癌的发生机制还不完全清

楚, 到目前为止, 考虑与多种细胞间信号传导通路紊乱有关. 在多种慢性损伤因素的作用下, 肝脏组织反复损伤修复, 导致肝纤维化肝硬化; 由于周围内环境的改变, 肝干细胞在肝脏的修复过程中不能向正常肝细胞分化, 在信号通路异常的情况下, 肝干细胞无限增殖形成肝细胞癌. 近年来发现, 包括肝癌在内的人类多种肿瘤都存在Wnt通路的异常激活^[2-7]. Wnt通路现已成为研究肝癌发生机制的热点.

前期研究证实, 二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)/四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)/Ethanol联合可成功诱导小鼠肝癌, 该动物模型的发生具有与人肝癌发生相似的病理过程^[8], 因而对开展人肝癌的研究十分重要. 本研究基于此动物模型的构建, 通过Real-time PCR、Western blot、免疫组织化学观察Wnt通路中Wnt-1的mRNA及相应蛋白表达水平的变化, 初步明确该通路与肝癌发生发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 DEN购自Sigma公司, CCl_4 购自天津化学试剂研究所, 乙醇和橄榄油购自北京化学试剂公司. 总RNA提取试剂TRIzol Reagent(Invitrogen), 逆转录试剂盒(Thermo), SYBR Premix Ex TaqTM(RR420A)购自TaKaRa公司. 引物由上海生工生物工程公司设计合成. Western blot检测用GAPDH的一抗购自美国Cell Signaling公司, Wnt-1一抗购自Abcam, 二抗购自Proteintech Group, 蛋白裂解液RIPA、蛋白酶抑制剂PMSF、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术研究. 免疫组织化学检测用Wnt-1购自Abcam, 免疫组织化学检测试剂盒SP-9001、浓缩型DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 化学诱导小鼠肝癌模型的建立: 化学诱导小鼠肝癌模型的建立参照文献^[8]. C57BL/6J♂小鼠95只, 6-8周龄, 体质量20-30 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 符合国标GB14922-94 SPF级质量标准. 购入动物后适应环境7 d, 动物随机分为2组, 实验组50只对照组45只. 实验组小鼠首先用DEN 100 mg/kg腹腔注射, 3 d后 CCl_4 和橄榄油(配制体积比20:80)灌胃(5 mL/kg), 2次/wk; 第3周再次腹腔注射DEN 1次(50 mg/kg), 同时开始给予含有90 mL/L乙醇的饮用水; 第4

表 1 PCR引物序列

基因名称	引物	产物长度(bp)
<i>β-actin</i>	F: 5'-GTGACGTTGACATCCGTAAGA-3'	148
	R: 5'-GCCGGACTCATCGTACTCC-3'	
<i>Wnt-1</i>	F: 5'-GCTGGGTTTCTACTACGTTGCT-3'	103
	R: 5'-GAGGAGGCTATGTTACGATG-3'	

周开始加大CCl₄的剂量至8 mL/kg, 共给药20 wk, 实验期间同时喂以小鼠颗粒饲料. 对照组小鼠仅喂养小鼠颗粒饲料, 并自由饮用灭菌普通水. 观察两组小鼠的生长、体质量、精神食欲等情况. 在诱癌开始后第4、6、8、10、12、14、16、18、20周, 从实验组和对照组各随机抽取5只小鼠, 摘取肝脏组织做后续试验.

1.2.2 组织病理学观察: 取新鲜实验组和对照组部分肝组织, 用3%中性多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 制成5 μm厚的切片, 苏木精-伊红(HE)染色, 光镜观察病理形态学变化.

1.2.3 Real-time PCR检测Wnt-1 mRNA表达: TRIzol法提取实验组和对照组肝组织的总RNA, 分光光度计测定RNA的A值以检测RNA质量. 取总RNA 3 μg定量, 按逆转录试剂盒说明书把RNA逆转录成cDNA -20 °C保存. 将样品cDNA稀释16倍后取样2 μL, 冰上配制PCR反应液. 反应体系20 μL: cDNA 2 μL, SYBR Premix Ex Taq(2×)10 μL, 10 μmol/L上、下游引物各0.4 μL, RNase-free Water 7.2 μL(PCR引物序列如表1). 于BIO-RAD Real-time PCR仪中进行PCR反应, 反应条件为: 95 °C变性30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共40个循环. PCR反应结束后, 建立溶解曲线分析. 反应结束后电脑自动分析荧光信号并将其转换Ct值, 2^{-ΔΔCt}法计算Wnt-1基因和β-actin基因之间的相对含量.

1.2.4 Western blot检测Wnt-1蛋白: 提取总蛋白放入-80 °C冰箱保存. BCA试剂盒测定蛋白浓度. 制备10%SDS-PAGE凝胶, 以GAPDH为内参, 根据测定的浓度计算上样量; 电泳: 80 V 30 min转至100 V 1 h; 转膜: GAPDH、Wnt-1为120 mA 1.5 h, 冰上转膜; 5%脱脂牛奶封闭1 h, TBST洗膜2次×5 min; 加一抗4 °C过夜(所有一抗稀释比例均为1:1000), TBST洗膜3次×5 min; 加二抗(稀释比例1:6000)摇床上1 h, TBST 4次×5 min, 显影定影. 每个诱癌阶段对照组和实验组各取一个标本进行实验, 重复3次以确保实验的准确性. Quantity One软件测定条带灰度值, 计算

Wnt-1/GAPDH灰度比值.

1.2.5 免疫组织化学染色: 采用免疫组织化学SP法, 操作步骤按SP法免疫组织化学检测试剂盒说明书进行, Wnt-1一抗工作浓度为1:100, DAB染色, 苏木精复染. 以PBS代替一抗作为阴性对照, 每次试验均设阴性对照. 以胞浆出现黄色颗粒为阳性反应, 每张切片上随机观察10个高倍视野(×200), 计数阳性细胞百分比, 阳性细胞数<5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, 76%-100%为4分; 阳性着色强度无色为0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分. 将两者计分相乘即为阳性等级: 0分为阴性(-), 1-4分为弱阳性(+), 5-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++).

统计学处理 使用SPSS16.0软件进行统计学分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用完全随机设计资料的方差分析和t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 化学诱发小鼠肝癌对照组和实验组肝组织病理形态学改变 在化学诱癌过程中, 50只实验组小鼠在诱癌的第8、18、20周时分别死亡2、2、1只, 死亡率为5.26%(5/95); 对照组45只无死亡. 对照组小鼠肝组织的形态学特点为肝组织结构正常, 肝细胞以中央静脉为中心排列成索状, 呈放射状排列, 肝细胞质嗜酸性, 核嗜碱性(图1A). 实验组第8周小鼠肝组织的部分肝细胞损伤, 变性水肿, 有炎细胞浸润(图1B). 实验组第12周小鼠肝组织的肝细胞变性坏死, 炎细胞浸润, 肝内广泛纤维增生, 肝板紊乱, 部分肝细胞增生(图1C). 实验组第16周的肝细胞排列紊乱, 细胞异型性增生, 肝细胞呈多边形, 胞质丰富, 核圆形深染, 大小不等, 可见核分裂像(图1D). 诱癌第20周癌细胞呈多边形, 核大深染, 大小不等, 核分裂像明显, 核质比增大, 细胞异型性明显(图1E).

2.2 小鼠肝组织Wnt-1的mRNA表达差异 Wnt-1

■ 相关报道

Wei等发现Wnt-1蛋白在肝癌组织及其细胞系中高表达, Wnt-1蛋白的抗体能降低细胞系Huh7和Hep40的增生能力, 诱导肿瘤细胞凋亡, 而对正常细胞没有影响, 同时Wnt-1蛋白抗体也能降低Wnt通路靶基因*c-myc*、*cyclinD1*的表达.

■创新盘点

既往的研究多集中在人手术标本中检测Wnt通路中Wnt-1的表达情况,而没有从肝脏损害出现病变开始到完全形成肿瘤的全过程观察其动态性变化规律,而本实验试图通过对化学诱发小鼠肝癌发生全过程的不同阶段对Wnt-1进行动态跟踪和系统研究,为阐明该通路对肝癌发生发展所起的关键调控作用及相互关系打下基础。

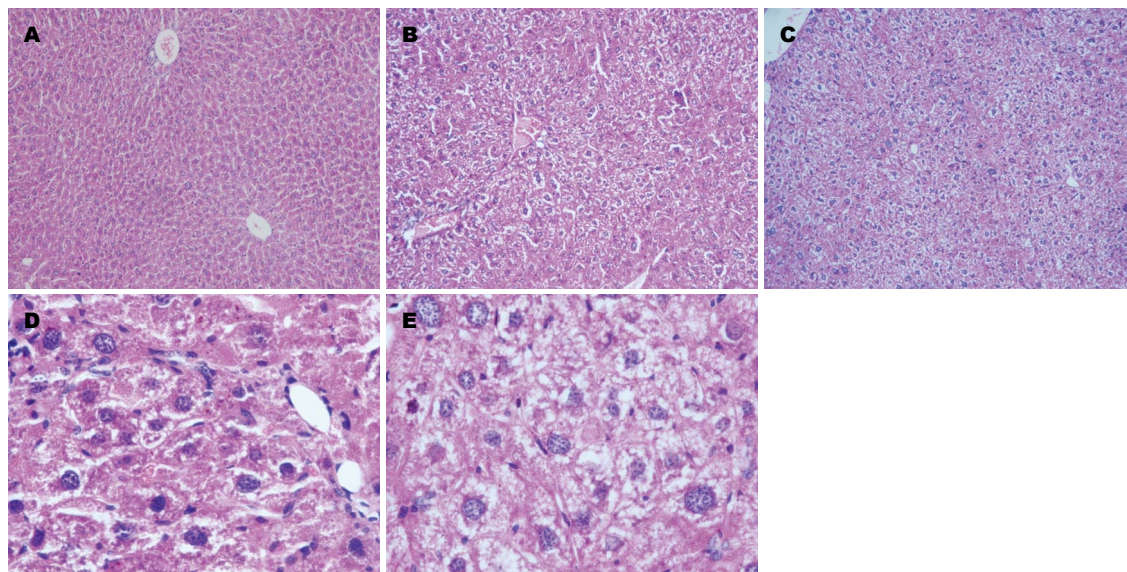


图1 对照组和实验组小鼠肝组织病理形态学改变。A: 对照组(HE × 100): 肝组织结构正常, 肝细胞以中央静脉为中心排列成索状, 呈放射状排列, 肝细胞质嗜酸性, 核嗜碱性; B: 实验组第8周(HE × 100): 部分肝细胞损伤, 变性水肿, 有炎细胞浸润; C: 实验组第12周(HE × 100): 肝细胞变性坏死, 炎细胞浸润, 肝内广泛纤维增生, 肝板紊乱, 部分肝细胞增生; D: 实验组第16周(HE × 400): 肝细胞排列紊乱, 细胞异型性增生, 肝细胞呈多边形, 胞质丰富, 核圆形深染, 大小不等, 可见核分裂像; E: 实验组第20周(HE × 400): 癌细胞呈多边形, 核大深染, 大小不等, 核分裂像明显, 核质比增大, 细胞异型性明显。

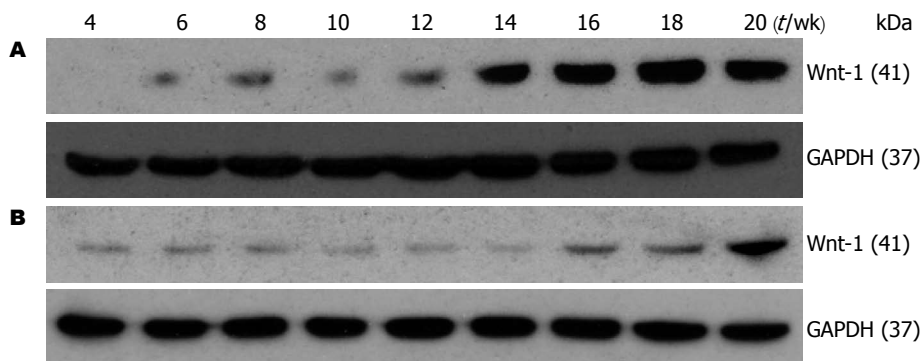


图2 不同时段小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达的电泳图。A: 实验组; B: 对照组。

mRNA的表达在第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性, 第14至20周实验组较同期对照组表达升高, 且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1 mRNA表达逐渐升高 (4.192 ± 0.322 vs 5.630 ± 0.579 vs 8.060 ± 0.795 , $P < 0.05$), 第18和20周表达差异没有显著性 (8.060 ± 0.795 vs 8.038 ± 0.649 , $P > 0.05$)。

2.3 小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达水平的比较 如图2, 表2所示, 对照组Wnt-1蛋白微弱表达; 实验组Wnt-1蛋白第4至12周微弱表达且差异没有统计学意义, 第14至18周随着诱癌时间延长Wnt-1蛋白表达逐渐升高, 第18和20周蛋白表达差异没有显著性。

2.4 免疫组织化学结果 实验组第8周和对照组小鼠肝组织Wnt-1仅见微弱的胞膜淡黄色表达; 实

验组第16周Wnt-1表达弱阳性3只、阳性2只, 在胞浆中呈散在或片状淡黄色表达; 实验组第20周Wnt-1均为阳性表达, 呈黄色片状或团块状表达(图3)。实验组从16 wk开始较对照组表达增加, 至20 wk时表达最强。

3 讨论

Wnt信号通路是一条进化上高度保守的信号转导途径, 通常与调节干细胞自我更新和肿瘤形成有关^[9], 特别是经典信号通路Wnt/ β -catenin信号通路, 其信号分子通过级联方式, 由细胞膜经过细胞质转导至细胞核^[10]。经典Wnt信号通路与肝癌发生的过程: Wnt蛋白在低密度脂蛋白相关蛋白(LRP-5/6)的协助下与跨膜受体蛋白Frizzled结合, 将信号传递至胞内, 通过Dvl蛋白能将

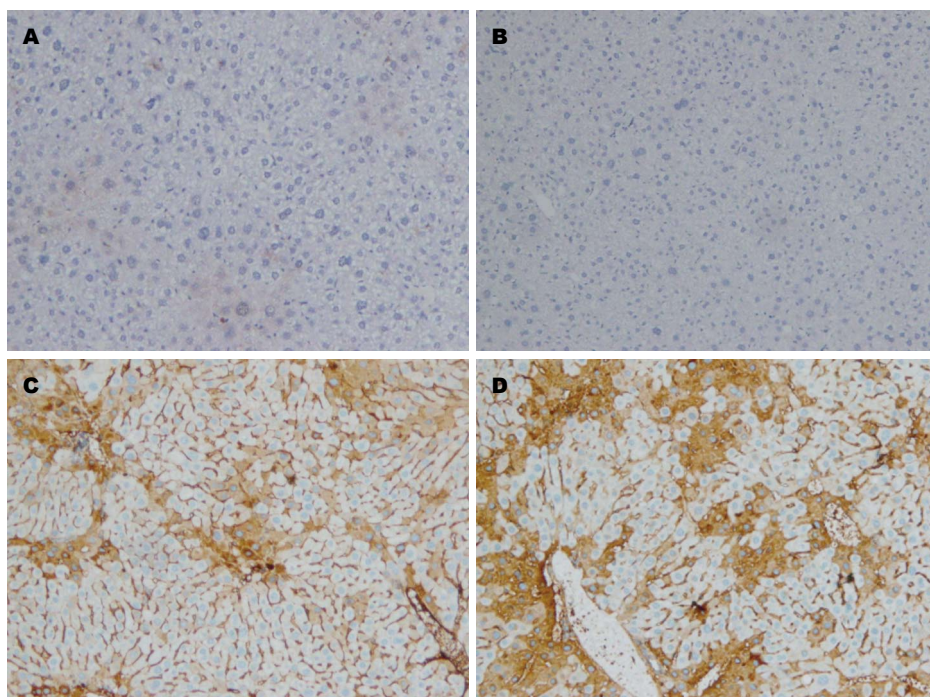


图3 免疫组织化学检测Wnt-1蛋白表达(DAB × 100). A: 对照组: Wnt-1蛋白仅见微弱的胞膜淡黄色表达; B: 实验组第8周: Wnt-1蛋白呈微弱的胞膜淡黄色表达; C: 实验组第16周: Wnt-1蛋白在胞浆中呈散在或片状淡黄色表达. D: 实验组第20周: Wnt-1蛋白呈黄色片状或团块状表达.

■应用要点

肝癌的发病机制尚不清楚, 缺乏有效的一级预防, 因此早期诊断及治疗成为重点. 分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点之一. 本文明确Wnt-1在肝癌发生发展过程中的表达, 为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据.

表2 不同时段小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达量的比较 (mean ± SD)

时间	实验组	n1	对照组	n2
第4周	0.110 ± 0.019	5	0.125 ± 0.008	5
第6周	0.116 ± 0.011	5	0.123 ± 0.017	5
第8周	0.126 ± 0.030	5	0.123 ± 0.011	5
第10周	0.119 ± 0.037	5	0.113 ± 0.026	5
第12周	0.171 ± 0.076	5	0.116 ± 0.008	5
第14周	0.518 ± 0.050 ^{ac}	5	0.115 ± 0.007	5
第16周	0.692 ± 0.063 ^{ae}	5	0.116 ± 0.010	5
第18周	0.815 ± 0.071 ^{ag}	5	0.117 ± 0.023	5
第20周	0.797 ± 0.043 ^a	5	0.128 ± 0.032	5

^a*P* < 0.05 vs 同期对照组; ^c*P* < 0.05 vs 实验组第12周; ^e*P* < 0.05 vs 实验组第14周; ^g*P* < 0.05 vs 实验组第16周.

GSK-3β磷酸化, 抑制β-catenin-Axin-APC-GSK3复合物的形成, 从而抑制β-catenin磷酸化, 稳定β-catenin, 使其在胞质中聚集最后进入胞核. 核内出现β-catenin即视为Wnt通路被激活^[11]. 核内β-catenin与T细胞因子/淋巴增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancing factor, TCF/LEF)转录因子结合形成转录复合物, 共同调控下游的靶基因而影响病理生理过程^[12]. 如靶基因*c-myc*启动子上含有β-catenin/TCF/LEF复合物的结合位点,

转录复合物作用于此处, 使其活化表达导致肿瘤的发生^[13]. 有研究表明肝癌干细胞标志物上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, *EpCAM*)是Wnt通路的靶基因, Wnt通路的激活促进*EpCAM*的表达^[14]. 另外在肝癌组织中, OV6表达阳性的细胞在成瘤能力和耐药性上均强于OV6表达阴性的细胞, 而OV6表达阳性的肿瘤细胞产生是依赖于Wnt信号通路的激活. 所以说Wnt信号通路激活与肝癌干细胞密切相关, 能促使肝细胞向肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)方向发展.

目前已经发现, Wnt信号通路主要通过激活下游的靶基因而导致肝癌的发生发展, 其中下游信号分子β-catenin在细胞内的累积被认为是Wnt信号通路激活的标志, 肿瘤组织中β-catenin的异常累积常与肿瘤细胞的增殖活性^[15]、肿瘤的分化程度^[16]、血管浸润及预后^[15-17]密切相关. β-catenin突变在肝癌中是频发事件, 发生率可达44.1%^[18]. 有研究发现20%到90%的肝癌中均有多种机制导致β-catenin的激活, 其中包括基因突变编码β-catenin及CT NNB1、Axin-1、Axin-2、Frizzled-7的上调, 并抑制GSK-3β的激活^[19]. 本课题组前期研究发现随着化学诱发肝癌的演变, 细胞浆内的β-catenin蛋白有可能向细胞核

■同行评价

本文采用化学法诱导小鼠肝癌发生模型,动态观察了Wnt/ β -catenin信号转导通路中信号分子Wnt-1基因、蛋白表达水平变化,提示Wnt-1参与了肝癌发生过程,具有一定理论参考价值。

内移位,致使细胞核内 β -catenin蛋白更进一步累积,激活一系列靶基因,导致肝癌形成,表明 β -catenin与肝癌的发生发展有密切关系^[20]。所以为了更透彻的研究Wnt信号通路激活参与化学诱发肝癌的发生发展过程,本实验研究了Wnt信号通路中上游信号分子Wnt-1在化学法诱发肝癌过程的动态变化。

Wnt是一种分泌型糖蛋白,目前已经发现19种Wnt蛋白参与细胞的生长分化、胚胎形成和肿瘤形成。已有研究发现在多种肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达,这些基因的异常表达可能参与了Wnt通路的激活,从而导致了肿瘤的发生与发展^[21-23]。Kruger等^[24]在检测小鼠乳腺癌4T1细胞和小鼠神经母细胞瘤NXS2细胞的SP细胞时发现,Wnt-1表达上调。Wei等^[25]发现Wnt-1蛋白在肝癌组织及其细胞系中高表达,Wnt-1蛋白的抗体能降低细胞系Huh7和Hep40的增生能力,诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞没有影响,同时Wnt-1蛋白抗体也能降低Wnt通路靶基因*c-myc*、*cyclinD1*的表达。Myung等^[26]发现:Wnt/ β -catenin通路的异常表达可激活肝星状细胞,参与肝纤维化的形成。在HBV和HCV相关的肝细胞肝癌中,Wnt-1基因过度表达,Wnt-1蛋白的表达水平可被看作肝癌术后复发的有用指标^[27]。此外,在转基因小鼠*c-myc*/E2F1研究中发现,Wnt-1的高表达是Wnt通路中 β -catenin核内累积的主要原因,因而促进了转基因小鼠肝癌的发生^[28]。上述结果提示Wnt-1表达失调与肿瘤的发生有着密切的关系。

本研究检测了Wnt-1在诱发小鼠肝癌变过程中的表达情况,Real-time PCR、Western blot显示在诱癌的第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性,免疫组织化学显示实验组第8周和对照组Wnt-1也仅见微弱的胞膜淡黄色表达,此时期的病理变化主要是肝细胞变性坏死等药物性肝炎的变化和部分肝细胞增生的表现。在第14至18周实验组较同期对照组表达升高,且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1表达逐渐升高(蛋白水平: 0.518 ± 0.050 vs 0.692 ± 0.063 vs 0.815 ± 0.071 , $P < 0.05$),而第18和20周表达差异没有显著性变化。免疫组织化学也显示第16周Wnt-1表达呈胞浆散在或片状淡黄色表达,第20周Wnt-1均为阳性表达。这段时期肝脏由轻度的肝细胞非典型增生和间质中出现纤维组织的增生的变化至第18周肝

细胞出现异型性,说明在肝癌诱发的早期阶段Wnt-1表达就发生了变化。以上结果提示Wnt-1参与了化学诱发小鼠肝癌的发生发展过程。

另外考虑到第14周开始正常肝小叶结构破坏,间质纤维组织增生提示开始有肝纤维化改变^[29],可在一定程度上说明肝纤维化Wnt/ β -catenin通路也可能表达异常,与Myung等^[26]发现一致。所以,如果能在肝纤维化阶段对Wnt/ β -catenin通路进行干预,可以延缓肝纤维化、肝硬化向肝癌的进展,为防止肝癌的形成起到了重要作用。但Yuzugullu等^[30]发现在所有肝癌细胞系中经典Wnt通路中的Wnt-1并不表达。本研究与此结果相反,猜测可能是经典与非经典Wnt通路共同作用的结果,因此需要进一步的研究。

本实验存在的不足之处只是初步探索了Wnt/ β -catenin信号通路中上游信号分子Wnt-1在化学法诱发肝癌过程中的变化,其Wnt/ β -catenin信号通路中上下游信号分子的相互作用及对化学法诱发肝癌发生的具体调控机制有待进一步研究。

总之,Wnt通路中的各级信号原件的结构和功能改变都可能激活Wnt通路,参与肿瘤的发生与转移。本实验采用DEN/CCl₄/Ethanol联合成功诱导小鼠肝癌模型,在小鼠成癌过程中动态监测Wnt-1的表达水平,证实了Wnt-1参与了小鼠肝癌的发生发展,我们推测可能是在化学诱导肝癌过程中Wnt通路被激活,随着肝癌的形成相互作用的结果。明确Wnt-1在肝癌发生过程中的表达,为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据。

志谢:感谢郝帅给予的帮助。

4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Lachenmayer A, Alsinet C, Savic R, Cabellos L, Toffanin S, Hoshida Y, Villanueva A, Minguez B, Newell P, Tsai HW, Barretina J, Thung S, Ward SC, Bruix J, Mazzaferro V, Schwartz M, Friedman SL, Llovet JM. Wnt-pathway activation in two molecular classes of hepatocellular carcinoma and experimental modulation by sorafenib. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4997-5007 [PMID: 22811581 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2322]
- 3 Moravec M. [Colorectal cancer and canonical Wnt signalling pathway]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 335-342 [PMID: 22913786]

- 4 Cai C, Zhu X. The Wnt/ β -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1191-1196 [PMID: 22367735 DOI: 10.3892/mmr.2012.802]
- 5 Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1126-1130 [PMID: 18705344]
- 6 Pan KF, Liu WG, Zhang L, You WC, Lu YY. Mutations in components of the Wnt signaling pathway in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1570-1574 [PMID: 18330950 DOI: 10.3748/wjg.14.1570]
- 7 Zhu J, Zhang S, Gu L, Di W. Epigenetic silencing of DKK2 and Wnt signal pathway components in human ovarian carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2334-2343 [PMID: 22964660 DOI: 10.1093/carcin/bgs278]
- 8 匡志鹏, 谢裕安, 杨帆, 梁安民, 罗小玲, 吴继宁. C57BL/6J小鼠肝癌动物模型的建立. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 657-660
- 9 Noda T, Nagano H, Takemasa I, Yoshioka S, Murakami M, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Takeda Y, Dono K, Umeshta K, Matsuura N, Matsubara K, Doki Y, Mori M, Monden M. Activation of Wnt/ β -catenin signalling pathway induces chemoresistance to interferon-alpha/5-fluorouracil combination therapy for hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1647-1658 [PMID: 19401692 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605064]
- 10 Nejak-Bowen KN, Monga SP. Beta-catenin signaling, liver regeneration and hepatocellular cancer: sorting the good from the bad. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 44-58 [PMID: 21182948 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.010]
- 11 Yang W, Yan HX, Chen L, Liu Q, He YQ, Yu LX, Zhang SH, Huang DD, Tang L, Kong XN, Chen C, Liu SQ, Wu MC, Wang HY. Wnt/ β -catenin signaling contributes to activation of normal and tumorigenic liver progenitor cells. *Cancer Res* 2008; 68: 4287-4295 [PMID: 18519688 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6691]
- 12 Zulehner G, Mikula M, Schneller D, van Zijl F, Huber H, Sieghart W, Grasl-Kraupp B, Waldhör T, Peck-Radosavljevic M, Beug H, Mikulits W. Nuclear beta-catenin induces an early liver progenitor phenotype in hepatocellular carcinoma and promotes tumor recurrence. *Am J Pathol* 2010; 176: 472-481 [PMID: 20008139 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090300]
- 13 He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998; 281: 1509-1512 [PMID: 9727977 DOI: 10.1126/science.281.5382.1509]
- 14 Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Wang XW. Activation of hepatic stem cell marker EpCAM by Wnt- β -catenin signaling in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10831-10839 [PMID: 18006828 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0908]
- 15 Inagawa S, Itabashi M, Adachi S, Kawamoto T, Hori M, Shimazaki J, Yoshimi F, Fukao K. Expression and prognostic roles of beta-catenin in hepatocellular carcinoma: correlation with tumor progression and postoperative survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 450-456 [PMID: 11839663]
- 16 Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565 [PMID: 10836294 DOI: 10.1053/hp.2000.6683]
- 17 Wong CM, Fan ST, Ng IO. beta-Catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma: clinicopathologic and prognostic significance. *Cancer* 2001; 92: 136-145 [PMID: 11443619 DOI: 10.1002/1097-0142(20010701)92:1<136::AID-CNCR1301>3.0.CO;2-R]
- 18 Oishi N, Wang XW. Novel therapeutic strategies for targeting liver cancer stem cells. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 517-535 [PMID: 21552419 DOI: 10.7150/ijbs.7.517]
- 19 Tycko B, Li CM, Buttyan R. The Wnt/ β -catenin pathway in Wilms tumors and prostate cancers. *Curr Mol Med* 2007; 7: 479-489 [PMID: 17691963 DOI: 10.2174/156652407781387118]
- 20 唐超莉, 匡志鹏, 杨帆. β -catenin在小鼠化学肝癌形成过程中的动态变化. *现代肿瘤医学* 2012; 21: 1204-1208
- 21 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602]
- 22 Yan L, Della Coletta L, Powell KL, Shen J, Thames H, Aldaz CM, MacLeod MC. Activation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway in ATF3-induced mammary tumors. *PLoS One* 2011; 6: e16515 [PMID: 21304988 DOI: 10.1371/journal.pone.0016515]
- 23 Carmon KS, Loose DS. Development of a bioassay for detection of Wnt-binding affinities for individual frizzled receptors. *Anal Biochem* 2010; 401: 288-294 [PMID: 20227380 DOI: 10.1016/j.ab.2010.03.009]
- 24 Kruger JA, Kaplan CD, Luo Y, Zhou H, Markowitz D, Xiang R, Reisfeld RA. Characterization of stem cell-like cancer cells in immune-competent mice. *Blood* 2006; 108: 3906-3912 [PMID: 16912222 DOI: 10.1182/blood-2006-05-024687]
- 25 Wei W, Chua MS, Grepper S, So SK. Blockade of Wnt-1 signaling leads to anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 76 [PMID: 19778454 DOI: 10.1186/1476-4598-8-76]
- 26 Myung SJ, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee JH, Kim KM, Shin CS, Jang JJ, Lee SH, Lee SM, Lee HS. Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2007; 581: 2954-2958 [PMID: 17544413]
- 27 Lee HH, Uen YH, Tian YF, Sun CS, Sheu MJ, Kuo HT, Koay LB, Lin CY, Tzeng CC, Cheng CJ, Tang LY, Tsai SL, Wang AH. Wnt-1 protein as a prognostic biomarker for hepatitis B-related and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma after surgery. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1562-1569 [PMID: 19423534 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0039]
- 28 Calvisi DF, Conner EA, Ladu S, Lemmer ER, Factor VM, Thorgerirsson SS. Activation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway confers growth advantages in c-Myc/E2F1 transgenic mouse model of liver cancer. *J Hepatol* 2005; 42: 842-849 [PMID: 15885355 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.01.029]
- 29 唐超莉, 匡志鹏, 杨帆, 吴继宁. 化学诱导小鼠肝癌模型中CD133的动态变化. *肿瘤* 2012; 32: 585-591
- 30 Yuzugullu H, Benhaj K, Ozturk N, Senturk S, Celik E, Toyulu A, Tasdemir N, Yilmaz M, Erdal E, Akcali

KC, Atabey N, Ozturk M. Canonical Wnt signaling is antagonized by noncanonical Wnt5a in hepatocel-

lular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 90 [PMID: 19849855 DOI: 10.1186/1476-4598-8-90]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响

袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新

袁淑芳, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新, 新疆医科大学第一附属医院感染病中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
姜涛, 新疆医科大学医学动物模型重点实验室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
胡兰英, 新疆医科大学第五附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
袁淑芳, 副主任医师, 博士研究生, 主要从事干细胞治疗肝衰竭的研究。
新疆医科大学动物模型重点实验室开放课题基金资助项目, No. XJDX1103-2012-01
作者贡献分布: 此课题由袁淑芳与张跃新设计; 研究过程由袁淑芳、胡兰英及孙丽华操作完成; 姜涛负责实验评估、提供分析工具; 数据分析由郑嵘灵完成; 本论文写作由袁淑芳完成。
通讯作者: 张跃新, 教授, 主任医师, 博士生导师, 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感染病中心。zhangyx3103@163.com
收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-08-02
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2014-02-28

Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure

Shu-Fang Yuan, Tao Jiang, Lan-Ying Hu, Li-Hua Sun, Rong-Jiong Zheng, Yue-Xin Zhang

Shu-Fang Yuan, Li-Hua Sun, Rong-Jiong Zheng, Yue-Xin Zhang, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Tao Jiang, Key Laboratory of Xinjiang Medical Animal Model Research, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Lan-Ying Hu, Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: Key Laboratory of Xinjiang Medical Animal Model Research of China, No. XJDX1103-2012-01
Correspondence to: Yue-Xin Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangyx3103@163.com
Received: 2013-05-29 Revised: 2013-08-02
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC) transplantation in the treatment of acute liver failure (ALF) in

rats and optimize the administration route.

METHODS: D-galactosamine (D-GalN)/lipopolysaccharide (LPS) were used to make a rat model of experimental ALF. Seventy-two rats were randomly divided into an ALF group, a tail vein group, and a portal vein transplantation group. At different time points (24, 72, 120, and 168 h) after BMSC transplantation, serum ALT and AST were detected. TUNEL assay was applied to detect hepatocyte apoptosis. Immunohistochemistry and Western blot were performed to detect the expression of Caspase1 and IL-18 proteins in liver tissue.

RESULTS: Serum levels of ALT and AST in the ALF group were gradually increased with the progression of the disease. Compared with the ALF group, significant improvement of liver function parameters and histological findings was observed in the transplantation group 120 and 168 h after transplantation ($P < 0.05$ for both). The apoptosis indexes in the tail vein group and portal vein transplantation group (120 h: $28.17\% \pm 17.08\%$, $20.67\% \pm 12.68\%$; 168 h: $19.67\% \pm 11.82\%$, $13.00\% \pm 6.84\%$) were significantly lower than those in the ALF group ($P < 0.01$ for all). The expression levels of Caspase1 and IL-18 proteins in the two transplantation groups were decreased significantly at 120 and 168 h compared with the ALF group ($P < 0.05$ for both). Both administration routes had a therapeutic effect against ALF in rats, but no significant difference was observed between them.

CONCLUSION: BMSCs can improve the liver function, inhibit hepatic apoptosis and reduce the levels of Caspase1 and IL-18 proteins in ALF rats. Caspase1 and IL-18 play an important role in the pathogenesis of ALF and are expected to be predictors of ALF and future therapeutic targets.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bone mesenchymal stem cells; Acute

■背景资料

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由多种病因引起的一种综合征,因其进展快、并发症多、治疗难度大、病死率高、预后差,是临床治疗中至今尚未克服的难题。ALF的发生涉及众多炎症因子和细胞因子,发病机制与肝细胞凋亡关系密切。

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研究前沿

近年来干细胞及其“横向分化”特性的发现为ALF治疗提示了新的切入点。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)能抑制炎症反应、细胞凋亡。Caspase1和IL-18在ALF的发病过程中起重要作用。明确ALF的发病机制,早期阻止肝细胞凋亡、促进肝再生是提高ALF患者生存率的关键。

liver failure; Cell transplantation; Caspase1; IL-18; Rat model

Yuan SF, Jiang T, Hu LY, Sun LH, Zheng RJ, Zhang YX. Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 759-765 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.759>

摘要

目的: 探讨骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)大鼠的疗效、移植途径。

方法: 用D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GalN)/脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导大鼠ALF模型。72只大鼠随机分为ALF对照组、尾静脉移植组、门静脉移植组。于BMSCs移植后24、72、120、168 h取血清和肝组织,分别检测血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST);采用TUNEL法检测肝细胞凋亡;采用免疫组织化学、Western blot方法检测肝组织中半胱氨酸蛋白酶1(cysteine-containing aspartate-specific proteases 1, Caspase1)和白介素18(interleukin-18, IL-18)蛋白的表达情况。

结果: ALF对照组大鼠血清ALT、AST水平随病程逐渐升高。在移植后120、168 h, BMSCs移植组的血清ALT、AST与对照组相比差别有统计学意义($P<0.05$);尾静脉、门静脉移植组细胞凋亡指数分别为 $28.17\% \pm 17.08\%$ 、 $20.67\% \pm 12.68\%$ 、 $19.67\% \pm 11.82\%$ 、 $13.00\% \pm 6.84\%$,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.01$)。BMSCs移植组Caspase1、IL-18蛋白表达水平逐渐降低,在移植后120、168 h与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$);且二者的表达有明显的相关性($P<0.01$)。尾静脉、门静脉移植途径对ALF大鼠均有治疗作用,但二种途径相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: BMSCs能够改善ALF肝衰竭大鼠的肝功能,抑制肝细胞凋亡、降低Caspase1、IL-18蛋白水平。Caspase1和IL-18在肝衰竭的发病过程中起重要作用;Caspase1和IL-18可望成为急性肝衰竭的预测因子和未来的治疗靶点。

关键词: 骨髓间充质干细胞;急性肝衰竭;细胞移植;半胱氨酸蛋白酶1;白介素-18;大鼠模型

核心提示: 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells)能够改善急性肝衰竭(acute liver failure)大鼠的肝功能,抑制肝细胞凋亡、降低半胱氨酸蛋白酶1(cysteine-containing aspartate-specific proteases 1, Caspase1)、白介素18(interleukin-18, IL-18)蛋白水平。Caspase1和IL-18在肝衰竭的发病过程中起重要作用;Caspase1和IL-18可望成为急性肝衰竭的预测因子和未来的治疗靶点。

袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新. 骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 759-765 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.759>

0 引言

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由多种病因引起的一种综合征,以短时间内大量肝细胞变性、坏死和炎性细胞浸润等为特征^[1,2],因其进展快、并发症多、治疗难度大、病死率高、预后差,是临床治疗中至今尚未克服的难题^[3,4]。近年来干细胞及其“横向分化”特性的发现为肝衰竭的治疗提供了新的希望^[5,6]。干细胞移植治疗肝衰竭具有操作简单、应用灵活、可重复进行、免疫源性弱、治疗费用低等优点得到较快发展,成为继原位肝移植后又一治疗肝功能衰竭的有效方法^[7,8]。ALF的发生涉及众多炎症因子和细胞因子,其发病机制与肝细胞凋亡密切相关。感染后炎症因子介导的肝细胞凋亡,坏死是促进ALF发展的重要因素,同时机体也通过自身的调节释放抗炎因子,以及抑制免疫来调控炎症反应^[9,10]。诸多报道认为肝细胞凋亡的发生受Fas/FasL、Bcl-2家族、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(cysteine-containing aspartate-specific proteases, Caspase)家族等因素的调控^[11]。白细胞介素18(interleukin-18, IL-18)是近年来新近发现的致炎细胞因子,其前体无生物学活性,需经Caspase1催化后,才能转化为活性分子,发挥多种致炎效应,促进各种疾病的发生。研究显示,IL-18及其诱导产生的细胞因子与肝损害密切相关^[12,13]。为此我们通过构建大鼠ALF模型,观察骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗大鼠ALF的疗效;探讨BMSCs

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

表 1 两种途径移植治疗ALF肝功能的比较 (IU/L)

分组	24 h		120 h		168 h	
	ALT	AST	ALT	AST	ALT	AST
对照组	129.33 ± 45.99	165.17 ± 78.31	133.00 ± 64.84	174.50 ± 73.98	138.50 ± 25.32	185.67 ± 53.33
尾静脉移植组	127.00 ± 37.29	163.50 ± 36.82	94.83 ± 11.16 ^a	113.67 ± 11.62 ^c	76.00 ± 13.78 ^a	92.00 ± 11.85 ^c
门静脉移植组	125.17 ± 42.93	160.67 ± 36.99	72.83 ± 10.28 ^a	100.67 ± 14.72 ^c	49.50 ± 15.81 ^a	69.17 ± 20.97 ^c

^aF=12.17, ^bP<0.05; ^cF=12.17, ^cP<0.05 vs 对照组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

移植对肝细胞凋亡、肝组织中Caspase1、IL-18蛋白表达的影响. 为临床开展骨髓MSCs移植治疗ALF、评价ALF患者的病情严重程度及预后指标应用于临床实践中, 提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 采用健康♂ Sprague-Dwley(SD)大鼠72只, 体质量250-300 g, SPF级(许可证号SCXK新2003-0002).

1.2 方法

1.2.1 MSC的培养和动物模型建立: 采用全骨髓法分离SD大鼠BMSCs, 进行体外培养. 应用流式细胞仪分析对BMSCs进行表型鉴定. 采用10%D-氨基半乳糖(D-galactosamine)1.4 g/(kg·次)、12 h一次和0.005%脂多糖(lipopolysaccharide LPS)20 μg/kg, 经腹腔注射制备大鼠ALF模型. 通过门静脉和尾静脉注射的方式移植BMSCs. 72只大鼠随机分为3组, 对照组给予等体积生理盐水腹腔注射. 尾静脉移植组给予 1.4×10^7 细胞/kg P3代的BMSCs进行尾静脉注射. 门静脉移植组: 大鼠麻醉, 暴露腹腔, 经门静脉注射 1.4×10^7 细胞/kg的P3代BMSCs进行移植. 于移植后24、72、120、168 h收集血液样本和肝组织标本. 用4%的多聚甲醛固定肝组织标本, 进行病理组织学研究. 取部分新鲜肝组织快速投入液氮冻存, 然后贮存于-80 °C供蛋白质检测.

1.2.2 生化指标的测定: 血液离心, 采用全自动生化分析仪(Unicel DXC 800; BECKMAN COULTER)测定不同时间点大鼠血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)变化.

1.2.3 苏木素-伊红(HE)与原位细胞凋亡检测(TUNEL法): 大鼠肝组织石蜡包埋后4 μm连续切片, 切取3-5张切片行HE染色, 每张切片分别随机选择5个低倍(×200)和高倍视野(×400), 光镜下观察BMSCs移植后肝组织病理变化. 用

TUNEL检测试剂盒(购自瑞士Roche Applied Science)检测细胞凋亡. 按照TUNEL检测试剂盒说明书操作步骤进行, 光镜下分析结果. 每张切片观察500个细胞, 计算每100个细胞中平均阳性细胞数, 即凋亡指数(apoptosis index, AI).

1.2.4 采用免疫组织化学方法检测肝组织Caspase1、IL-18蛋白的表达: 加Caspase1(1:100, ab17820, abcam MA, USA)或IL-18抗体(1:100, sc-6179, Santa Cruz Biotechnology), 再加生物素标记的第二抗体及链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 经DAB显色, 苏木素复染, 中性树脂封片. 在阳性标本上以磷酸盐缓冲液代替第一抗体作阴性对照. 细胞膜或胞浆染成棕黄色的为阳性细胞.

1.2.5 采用Western blot检测肝组织Caspase1、IL-18蛋白的表达: 称取不同时间点的肝组织约100 mg, 加入预冷的细胞裂解液, 冰磨匀浆3-5 min, 按1:3加入上样缓冲液, 加热变性(96 °C加热5 min). 用10%聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳, 待溴酚蓝接近底线时终止电泳. 将分离后的蛋白质从SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳转至硝酸纤维素滤膜上, 封闭液室温封闭1 h. 加入一抗Caspase1(1:200)、IL-18(1:200)、GAPDH(1:1000, sc-25778, Santa Cruz Biotechnology), 4 °C过夜. 次日, TBST洗膜后, 置于碱性磷酸酶标记的二抗中孵育, 洗后显色, 免疫反应在酶的作用底物下显影. 用Quantity One分析软件进行图像分析, 以GAPDH的测定结果相比较, 计算其比值.

统计学处理 采用SPSS18.0统计学软件进行统计学处理. 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用随机区组设计的方差分析; 计数资料采用秩转换后的方差分析; 相关分析采用Pearson相关分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清ALT、AST的水平变化 从表1可知经

■ 相关报道

Parekkadan等发现BMSCs来源的细胞因子能够防止肝细胞坏死, 提高暴发性肝衰竭的生存率. 研究发现BMSCs具有抑制肝细胞凋亡、促进肝细胞增殖作用. BMSCs能通过旁分泌作用, 分泌多种细胞因子和生长因子, 促进肝细胞再生, 抑制炎症反应及细胞凋亡.

■创新盘点

ALF病情凶险, 客观、及时有效地评价ALF患者的病情及预后并指导临床治疗显得尤为重要。该研究提示Caspase1、IL-18治疗过程中的变化趋势可以一定程度上反映ALF的治疗效果及预后, 因此Caspase1、IL-18可望成为ALF的预后评估和未来的治疗靶点。

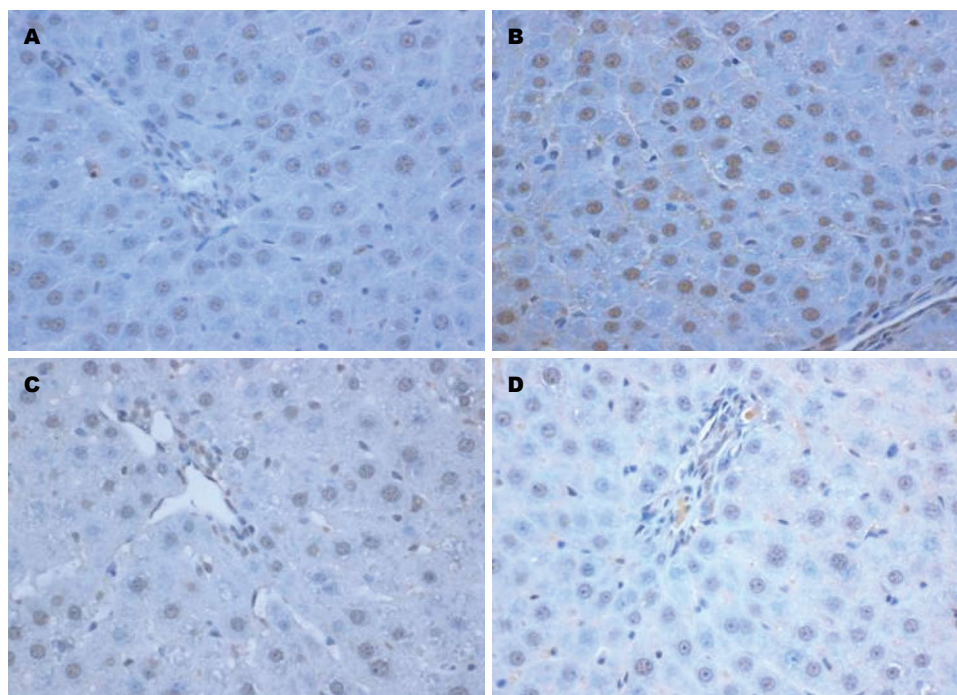


图1 肝细胞凋亡(TUNEL $\times 400$). A: TUNEL对照组成模24 h; B: TUNEL对照组成模168 h; C: TUNEL尾静脉组168 h; D: TUNEL门静脉组168 h.

表2 BMSCs治疗ALF对肝细胞凋亡指数的影响(%)

分组	24 h	72 h	120 h	168 h
对照组	47.00 \pm 17.64	51.17 \pm 11.37	55.17 \pm 10.08	57.17 \pm 6.82
尾静脉移植	45.33 \pm 13.05	41.67 \pm 7.17	28.17 \pm 17.08 ^a	19.67 \pm 11.82 ^b
门静脉移植	43.83 \pm 14.95	40.00 \pm 15.11	20.67 \pm 12.68 ^a	13.00 \pm 6.84 ^b

^a $F = 23.07$; ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

D-GalN/LPS处理后, 对照组大鼠血清ALT、AST水平随着时间的延长逐渐升高, BMSCs移植组的大鼠血清ALT、AST逐渐下降. 移植后120、168 h BMSCs移植组的血清ALT、AST与对照组相比差别有统计学意义($P < 0.05$)(表1). 尾静脉与门尾静脉移植组之间血ALT、AST差异无统计学意义($P > 0.05$).

2.2 BMSCs移植对肝细胞凋亡的影响 TUNEL染色可见BMSCs移植组肝细胞坏死、凋亡明显减轻. 移植后120 h尾静脉组、门静脉组细胞凋亡指数分别为28.17% \pm 17.08%、20.67% \pm 12.68%; 移植后168 h细胞凋亡指数分别为19.67% \pm 11.82%、13.00% \pm 6.84%, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$). 尾静脉和门静脉移植组之间肝细胞凋亡改善情况无统计学差异($P > 0.05$)(图1, 表2).

2.3 免疫组织化学检测大鼠肝组织中Caspase1、

IL-18蛋白的表达 免疫组织化学显示: BMSCs移植组中Caspase1、IL-18蛋白的表达水平随肝功能的好转逐渐降低, 在移植后120、168 h与对照组相比有显著性差异($P < 0.05$, 表3). 相关分析发现Caspase1、IL-18两者呈正相关, 相关系数为0.56($P < 0.01$); Caspase1、IL-18与肝细胞凋亡之间均有明显的相关性, 相关系数分别0.753、0.737($P < 0.01$)(图2).

2.4 Western blot检测大鼠肝组织中Caspase1、IL-18蛋白的表达 Western blot结果显示: BMSCs移植组中Caspase1、IL-18灰度值随肝功能好转逐渐下降. 移植后120 h BMSCs移植组中Caspase1、IL-18灰度值分别为0.46 \pm 0.24、0.10 \pm 0.01; 移植后168 h, Caspase1、IL-18灰度值分别为0.38 \pm 0.25、0.08 \pm 0.02, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$). 相关分析显示Caspase1、IL-18两者呈正相关($r = 0.719$, $P < 0.01$, 图3).

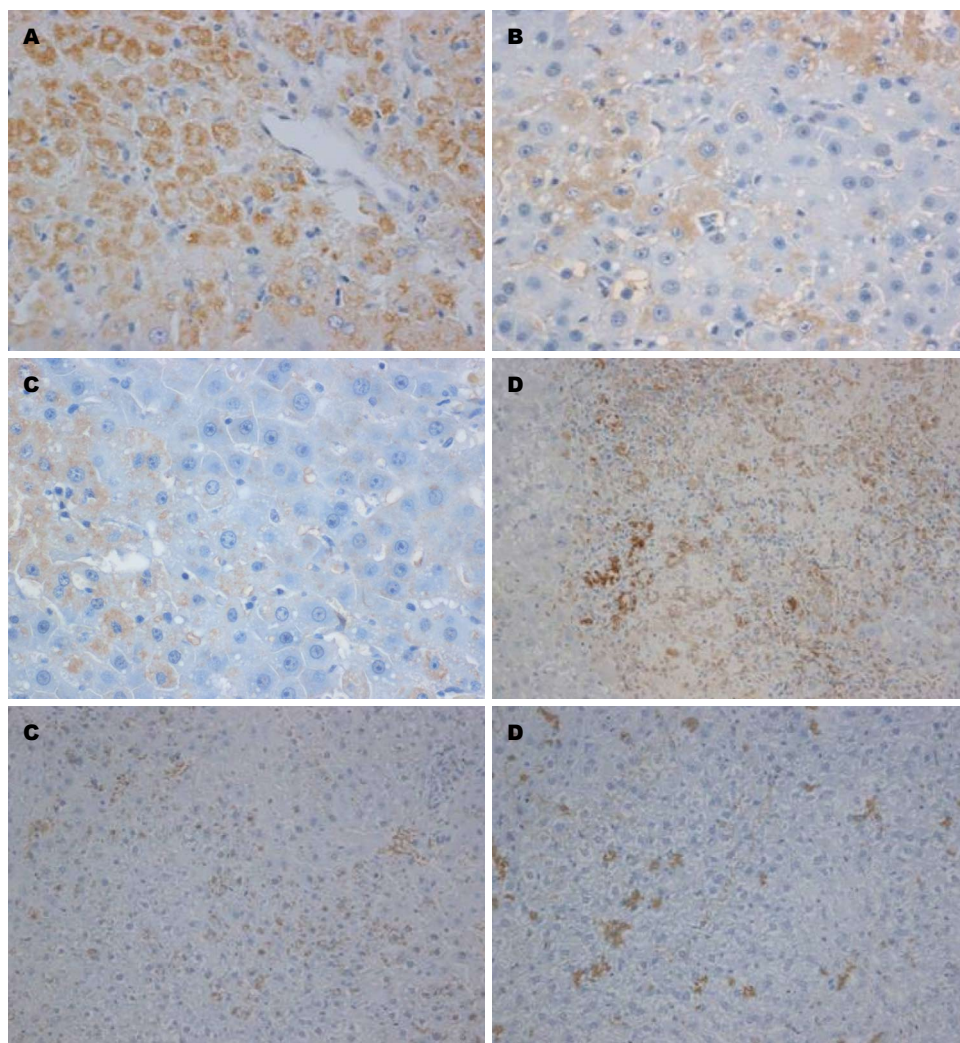


图2 免疫组织化学检测Caspase1、IL-18蛋白的表达。A: Caspase1对照组168 h($\times 400$); B: Caspase1尾静脉组168 h($\times 400$); C: Caspase1门静脉组168 h($\times 400$); D: IL-18对照组168 h($\times 200$); E: IL-18尾静脉组168 h($\times 200$); F: IL-18门静脉组168 h($\times 200$)。Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18。

■应用要点

本研究通过观察BMSCs治疗大鼠ALF的疗效,探讨BMSCs移植对肝细胞凋亡、肝组织Caspase1、IL-18蛋白表达的影响,为临床开展BMSCs移植治疗ALF、评价ALF患者的病情严重程度及预后指标应用于临床实践中提供实验依据。

3 讨论

肝衰竭是一种重症肝病,可由不同原因引发,但归根结底表现为肝细胞和肝脏内其他类型细胞的过度死亡^[14,15]。目前认为肝脏大面积坏死的机制主要和肝细胞凋亡、微循环障碍等因素有关。其中细胞凋亡是导致肝脏二次打击的重要细胞机制^[5,16]。近年来关于细胞死亡的细胞内信号转导机制研究已取得了很大进展。Parekkadan等^[17]发现BMSCs来源的细胞因子能够防止肝细胞坏死,提高暴发性肝衰竭的生存率。研究发现BMSCs具有抑制肝细胞凋亡、促进肝细胞增殖作用^[18,19]。BMSCs能通过旁分泌作用,分泌多种细胞因子和生长因子,促进肝细胞再生,抑制炎症反应及细胞凋亡^[20,21]。明确急性肝衰竭的发病机制,在早期阻止肝细胞凋亡、促进肝再生是提高ALF患者生存率的关键^[22]。目前研究显示在肝脏严重受损、肝细胞增殖受抑制时,BMSCs

具有持久生成肝细胞和胆管细胞的能力,在肝损伤后的修复过程中,参与补充因损伤而减少的肝细胞数量,参与修复因损伤破坏的肝组织结构^[23]。国内外多次实验证明,将BMSCs移植入受损的肝脏组织中,通过免疫荧光标记和体内成像追踪均有BMSCs在肝脏中的定植,且对比BMSCs移植入肝损伤组和正常组后,发现BMSCs在肝损伤组中定植的数量、分布范围明显高于正常组^[24]。Aurich等^[25]将人BMSCs在体外用特定的生长因子向肝细胞诱导分化,BMSCs表现了肝细胞的形态和功能,将此种诱导的BMSCs移植入免疫缺陷小鼠肝脏内,BMSCs可在肝脏内定居,并且细胞开始贮存糖原、表达白蛋白、表达人肝细胞特异性抗原等,这表明移植的细胞保持了肝细胞的特性,因此BMSCs有望为肝脏疾病治疗提供新的细胞来源。

本研究采用了D-Gal/LPS诱导的大鼠AHF模

■同行评价

本文结果可靠, 条理分明, 实验证据较充足, 得出的科学结论有一定价值, 为今后ALF在临床方面的快速进展展示了曙光。

表 3 BMSCs治疗ALF对Caspase1、IL-18蛋白表达的影响 (mean ± SD)

分组	24 h		120 h		168 h	
	Caspase1	IL-18	Caspase1	IL-18	Caspase1	IL-18
对照组	48.17 ± 20.52	44.75 ± 21.91	52.75 ± 12.87	43.50 ± 19.49	56.67 ± 12.14	46.75 ± 21.33
尾静脉移植组	44.92 ± 9.59	44.25 ± 13.80	22.67 ± 14.20 ^a	25.50 ± 20.21 ^c	18.08 ± 11.23 ^a	23.50 ± 18.22 ^c
门静脉移植组	40.33 ± 16.16	43.50 ± 19.49	16.00 ± 13.23 ^a	23.50 ± 18.22 ^c	13.50 ± 0.01 ^a	18.25 ± 6.74 ^c

^aF = 21.51, ^aP < 0.05; ^cF = 4.243, ^cP < 0.05 vs 对照组. Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18.

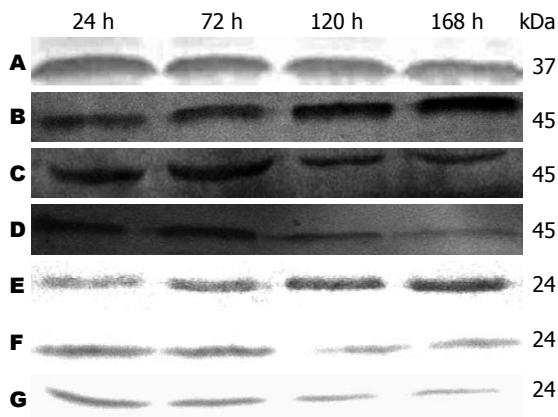


图 3 Western blot检测Caspase1、IL-18蛋白的表达. A: GAPDH; B: Caspase1对照组; C: Caspase1尾静脉组; D: Caspase1门静脉组; E: IL-18对照组; F: IL-18尾静脉组; G: IL-18门静脉组. Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18.

型. 模型建立后, 肝衰竭对照组大鼠血清ALT、AST水平和肝细胞凋亡指数较BMSCs移植组明显升高. BMSCs移植120、168 h后大鼠肝功能逐渐恢复, 肝细胞坏死、凋亡较对照组明显减轻, 与以往报道一致. 提示BMSCs移植可抑制炎症反应及细胞程序性死亡, 从而修复缺损组织, 说明BMSCs对ALF大鼠具有一定治疗作用.

Caspases是一组天门冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白酶, Caspases的活化是导致凋亡的中心环节. Caspase1是Caspase家族的奠基成员, 因可催化IL-1 β 转化为活性分子, 曾被命名为IL-1转化酶, 他不仅参与多种细胞的凋亡, 而且对致炎细胞因子IL-18、IL-1 β 的成熟起着至关重要的作用, 是IL-18活化所必须的蛋白酶. 通过对小鼠的Caspase1基因敲除后也发现, Caspase1^{-/-}小鼠缺乏成熟的IL-18, 提示Caspase1为发育成熟的IL-18所必须. Caspase1还可通过FasL刺激机制及其他IL-18前体切断酶来增加IL-18的产生^[26,27]. IL-18是一种能强烈诱导 γ 干扰素(interferon- γ , INF- γ)的新型细胞因子, 主要由活化的巨噬细胞产生, 诱导Th1、NK、NKT细胞, 同时还具有抗感染、介导炎症反应、诱导神经细胞凋亡等多种生

物学活性^[28,29]. IL-18可诱导免疫细胞产生大量INF- γ 、肿瘤坏死因子- α 、Fas配体及穿孔素, 还能增强自然杀伤细胞及CTL活性杀伤靶细胞活性, 引起肝细胞坏死和凋亡, 在重型肝炎发病机制中起着重要的作用^[30,31].

我们通过免疫组织化学和Western blot法检测了大鼠ALF肝组织中Caspase1、IL-18表达的情况, 发现二者的表达趋势一致. 随着凋亡的加重, 其表达逐渐增高, 且Caspase1、IL-18与肝细胞凋亡之间有明显的相关性, 说明Caspase1、IL-18在肝细胞凋亡中发挥一定作用. 由于Caspase1是IL-18的活化酶, ALF时二者的同时增高提示Caspase1的表达激活并增加了IL-18的释放, 后者参与并进一步加重了组织的损伤, 促进了ALF的发生.

本研究结果发现, 随着血清中ALT、AST水平的升高, ALF大鼠肝组织Caspase1、IL-18水平显著升高, 反映了肝功能的急剧恶化和疾病严重程度, 说明Caspase1、IL-18在ALF的发病过程中起到相当重要的作用, 提示Caspase1、IL-18可作为ALF的诊断和预后观察的敏感标志蛋白. BMSCs移植治疗后, 肝组织中Caspase1、IL-18的表达水平呈下降趋势, 大鼠肝功能逐渐恢复, 提示BMSCs移植能改善ALF大鼠的免疫状况、对ALF大鼠有一定的保护作用, 可以降低Caspase1、IL-18水平, 调节促炎与抗炎因子达到新的平衡, 这可能是BMSC移植治疗ALF的作用机制之一. 肝衰竭病情凶险, 客观、及时有效地评价肝衰竭患者的病情及预后并指导临床治疗显得尤为重要. 该研究提示Caspase1、IL-18治疗过程中的变化趋势可以一定程度上反映ALF的治疗效果及预后, 因此Caspase1、IL-18可望成为ALF的预后评估和未来的治疗靶点.

4 参考文献

- Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, Wendon J. Acute liver failure. *Lancet* 2010; 376: 190-201 [PMID: 20638564 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60274-7]

- 2 Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: A perspective from Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 65-71 [PMID: 21199516]
- 3 Korman JD, Vollenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology* 2008; 48: 1167-1174 [PMID: 18798336]
- 4 Stravitz RT, Kramer DJ. Management of acute liver failure. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 542-553 [PMID: 19652652]
- 5 Muraca M. Evolving concepts in cell therapy of liver disease and current clinical perspectives. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 180-187 [PMID: 20869923]
- 6 Chen Y, Xiang LX, Shao JZ, Pan RL, Wang YX, Dong XJ, Zhang GR. Recruitment of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells towards injured liver. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 1494-1508 [PMID: 19780871 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00912.x]
- 7 Stutchfield BM, Forbes SJ, Wigmore SJ. Prospects for stem cell transplantation in the treatment of hepatic disease. *Liver Transpl* 2010; 16: 827-836 [PMID: 20583084 DOI: 10.1002/lt.22083]
- 8 Bajek A, Olkowska J, Drewna T. [Mesenchymal stem cells as a therapeutic tool in tissue and organ regeneration]. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2011; 65: 124-132 [PMID: 21358000 DOI: 10.5604/17322693.933878]
- 9 Stuart WD, Kulkarni RM, Gray JK, Vasiliaskas J, Leonis MA, Waltz SE. Ron receptor regulates Kupffer cell-dependent cytokine production and hepatocyte survival following endotoxin exposure in mice. *Hepatology* 2011; 53: 1618-1628 [PMID: 21520175 DOI: 10.1002/hep.24239]
- 10 Lee WM, Squires RH, Nyberg SL, Doo E, Hoofnagle JH. Acute liver failure: Summary of a workshop. *Hepatology* 2008; 47: 1401-1415 [PMID: 18318440]
- 11 Tschoeke SK, Oberholzer A, Moldawer LL. Interleukin-18: a novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 1225-1233 [PMID: 16540967 DOI: 10.1097/01.CCM.0000208356.05575.16]
- 12 张示渊. IL-18和caspase-1在大鼠急性肝衰竭模型中表达及其意义. 第三军医大学学报 2011; 33: 2034-2039
- 13 Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776]
- 14 Kisseleva T, Gigante E, Brenner DA. Recent advances in liver stem cell therapy. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 395-402 [PMID: 20495456 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328333]
- 15 Popp FC, Renner P, Eggenhofer E, Slowik P, Geissler EK, Piso P, Schlitt HJ, Dahlke MH. Mesenchymal stem cells as immunomodulators after liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 1192-1198 [PMID: 19790154 DOI: 10.1002/lt.21862]
- 16 Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut* 2005; 54: 1024-1033 [PMID: 15951554 DOI: 10.1136/gut.2004.053850]
- 17 Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 87-117 [PMID: 20415588]
- 18 Cho KA, Ju SY, Cho SJ, Jung YJ, Woo SY, Seoh JY, Han HS, Ryu KH. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow. *Cell Biol Int* 2009; 33: 772-777 [PMID: 19427913 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.04.023]
- 19 Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant* 2011; 20: 5-14 [PMID: 21396235 DOI: 10.3727/096368910X]
- 20 Sordi V, Piemonti L. Therapeutic plasticity of stem cells and allograft tolerance. *Cytotherapy* 2011; 13: 647-660 [PMID: 21554176 DOI: 10.3109/14653249.2011.583476]
- 21 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982]
- 22 Peterbauer-Scherb A, van Griensven M, Meinel A, Gabriel C, Redl H, Wolbank S. Isolation of pig bone marrow mesenchymal stem cells suitable for one-step procedures in chondrogenic regeneration. *J Tissue Eng Regen Med* 2010; 4: 485-490 [PMID: 20112279 DOI: 10.1002/term.262]
- 23 Petrie Aronin CE, Tuan RS. Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2010; 90: 67-74 [PMID: 20301222]
- 24 Ju S, Teng GJ, Lu H, et al. In vivo MR tracking of mesenchymal stem cells in rat liver after intrasplenic transplantation. *Radiology* 2007; 245: 206-215
- 25 Aurich I, Mueller LP, Aurich H, Luetzkendorf J, Tislar K, Dollinger MM, Schormann W, Walldorf J, Hengstler JG, Fleig WE, Christ B. Functional integration of hepatocytes derived from human mesenchymal stem cells into mouse livers. *Gut* 2007; 56: 405-415 [PMID: 16928726 DOI: 10.1136/gut.2005.090050]
- 26 邓利娟, 李湛军, 罗楹, 范慧红. Caspase抑制剂F1013对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响. 中国临床药理学与治疗学 2010; 15: 1229-1233
- 27 Fantuzzi G, Puren AJ, Harding MW, Livingston DJ, Dinarello CA. Interleukin-18 regulation of interferon gamma production and cell proliferation as shown in interleukin-1beta-converting enzyme (caspase-1)-deficient mice. *Blood* 1998; 91: 2118-2125 [PMID: 9490698]
- 28 佟春玲, 陆涛峰, 余露露, 章嘎, 巴音吉日嘎拉, 关伟军, 马月辉. IL-18在临床疾病中的作用. 生物技术通报 2009; (Z1): 101-103
- 29 Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Semin Nephrol* 2007; 27: 98-114 [PMID: 17336692 DOI: 10.1016/j.semnephrol.2006.09.013]
- 30 Dinarello CA. Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 447S-455S [PMID: 16470011]
- 31 党双锁, 高宁, 程延安. 实验性肝硬化大鼠细胞因子IL-18、TNF- α 、IFN- γ 的变化及意义. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 148-153

编辑 田滢 电编 鲁亚静



手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用

冯 苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊

■背景资料

外科手术改善2型糖尿病研究已过渡到临床, 虽然已发现部分机制, 但仍有不足之处, 个别机制还存在争议, 动物研究可以很好的阐明一些机制, 并指导临床的研究. 本文通过不同术式的比较, 通过胆胰液的转流来探索相关的机制, 是外科手术改善II型糖尿病研究一个补充.

冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊, 徐州市中心医院(东南大学医学院附属徐州医院) 江苏省徐州市 221009

冯苏, 住院医师, 主要从事胃旁路术改善2型糖尿病的研究.

徐州市中心医院博士(硕士)创新团队科技基金资助项目, No. xzs2012057

作者贡献分布: 冯苏与贾高磊对此文所作贡献均等, 主要负责课题的设计, 具体实验的实施, 数据的采集及统计学分析, 相关文献的查找, 论文的撰写; 实验过程中数据的采集和相关试剂的购买, 得到王小凯医师的协助; 实验设计指导, 论文书写指导, 结果讨论分析得到田志龙与奚海林博士的指导.

通讯作者: 贾高磊, 高年资主治医师, 221009, 徐州市泉山区解放南路199号, 徐州市中心医院(东南大学医学院附属徐州医院) 普外科诊疗中心. 305351160@qq.com
电话: 051683956131

收稿日期: 2013-11-13 修回日期: 2013-12-09

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats

Su Feng, Zhi-Long Tian, Hai-Lin Xi, Xiao-Kai Wang, Gao-Lei Jia

Su Feng, Zhi-Long Tian, Xiao-Kai Wang, Hai-Lin Xi, Gao-Lei Jia, Department of General Surgery, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China

Supported by: Doctoral Innovation Team Fund of Xuzhou Central Hospital, No. xzs2012057

Correspondence to: Gao-Lei Jia, Attending Physician, Department of General Surgery, Xuzhou Central Hospital, 199 Jiefang North Road, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China. 305351160@qq.com

Received: 2013-11-13 Revised: 2013-12-09

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To compare the effect of modified biliopancreatic diversion (MBPD) surgery versus duodenal-jejunal bypass (DJB) surgery in improving glucose levels in Goto-Kakizaki (GK) rats, and to explore the possible mechanisms.

METHODS: Thirty male GK rats were randomized into three groups to undergo sham operation, MBPD surgery and DJB surgery, respectively. Body mass, fasting plasma glucose and random plasma glucose were determined 1 week before and 1, 4, 8 wk after operation. Insulin, oral glucose tolerance test (OGTT), cholesterol,

triglyceride and free fatty acid were determined 1 wk before and 4 wk after operation.

RESULTS: One week after the surgery, body mass of MBPD- and DJB-treated rats significantly decreased ($304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$ vs $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$, $P = 0.011$; $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$ vs $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$, $P = 0.024$). MBPD- and DJB-treated rats had better oral glucose tolerance ($17.350 \text{ mmol/L} \pm 2.220 \text{ mmol/L}$ vs $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$, $P = 0.009$; $18.238 \text{ mmol/L} \pm 1.364 \text{ mmol/L}$ vs $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$, $P = 0.024$) compared with the sham operation group. Random plasma glucose ($9.620 \text{ mmol/L} \pm 0.794 \text{ mmol/L}$ vs $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$, $P < 0.001$; $9.200 \text{ mmol/L} \pm 1.000 \text{ mmol/L}$ vs $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$, $P < 0.001$), insulin ($0.476 \text{ ng/mL} \pm 0.068 \text{ ng/mL}$ vs $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$, $P < 0.05$; $0.542 \text{ ng/mL} \pm 0.055 \text{ ng/mL}$ vs $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$, $P < 0.05$), cholesterol ($2.550 \text{ mmol/L} \pm 0.691 \text{ mmol/L}$ vs $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$; $2.450 \text{ mmol/L} \pm 0.424 \text{ mmol/L}$ vs $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$) and free fatty acid ($697.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 103.77 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ vs $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$, $P < 0.05$; $670.333 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 129.421 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ vs $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$, $P < 0.05$) of MBPD- and DJB-treated rats were lower than those in the sham operation group after operation, but triglycerides ($1.329 \text{ mmol/L} \pm 0.716 \text{ mmol/L}$ vs $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$; $1.569 \text{ mmol/L} \pm 0.612 \text{ mmol/L}$ vs $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$) of MBPD- and DJB-treated rats were significantly higher.

CONCLUSION: Modified biliopancreatic diversion surgery is superior to bowel bypass in improving glucose levels in Goto-Kakizaki rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Modified biliopancreatic diversion surgery; Duodenal-jejunal bypass surgery; Goto-Kakizaki (GK) rats; Random plasma glucose; Insulin; Cholesterol; Triglyceride; Free fatty acid

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属医院第一医院

Feng S, Tian ZL, Xi HL, Wang XK, Jia GL. Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 766-772 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.766>

摘要

目的: 通过比较改良胆胰转流术和十二指肠改道术对非肥胖性2型糖尿病模型鼠(Goto-Kakizaki, GK)大鼠的降糖作用, 以此探索外科手术改善糖尿病的部分机制。

方法: 将30只GK大鼠随机分为A、B、C组, 每组10只。分别对A组行假手术, 对B组行改良胆胰转流术(modified biliopancreatic diversion surgery, MBPD), 对C组行十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass surgery, DJB)。术前1 wk及术后第1、4、8周两组大鼠空腹血糖、随机血糖和体质量。术前1 wk及术后第4周糖耐量、胰岛素和血脂(胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸)。

结果: 术后1 wk B和C组体质量下降明显, 与A组比较有差异($304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$ vs $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$, $P = 0.011$; $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$ vs $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$, $P = 0.024$)。术后4、8 wk 三组间体质量无差异性。术后B组和C组随机血糖小于A组($9.620 \text{ mmol/L} \pm 0.794 \text{ mmol/L}$ vs $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$, $P < 0.001$; $9.200 \text{ mmol/L} \pm 1.000 \text{ mmol/L}$ vs $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$, $P < 0.001$), 有统计学意义。三组空腹血糖术前、术后未见明显的差异。术后4 wk B组和C组糖耐量峰值($17.350 \text{ mmol/L} \pm 2.220 \text{ mmol/L}$ vs $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$, $P = 0.009$; $18.238 \text{ mmol/L} \pm 1.364 \text{ mmol/L}$ vs $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$, $P = 0.024$)、胰岛素含量($0.476 \text{ ng/mL} \pm 0.068 \text{ ng/mL}$ vs $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$, $P < 0.05$; $0.542 \text{ ng/mL} \pm 0.055 \text{ ng/mL}$ vs $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$, $P < 0.05$)明显低于A组, 有统计学意义, 术后B组和C组胆固醇($2.550 \text{ mmol/L} \pm 0.691 \text{ mmol/L}$ vs $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$; $2.450 \text{ mmol/L} \pm 0.424 \text{ mmol/L}$ vs $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$)、游离脂肪酸($697.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 103.77 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ vs $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$, $P < 0.05$; $670.333 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 129.421 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ vs $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$, $P < 0.05$)含量小于A组, 有统计学意义, 术后B组和C组甘油三酯含量大于A组($1.329 \text{ mmol/L} \pm 0.716 \text{ mmol/L}$ vs $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$; 1.569

$\text{mmol/L} \pm 0.612 \text{ mmol/L}$ vs $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$), 有统计学意义。

结论: 十二指肠改道术改善GK大鼠血糖方面不优于改良胆胰转流术, 胆胰液的转流在2型糖尿病的改善中起到重要的作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 改良胆胰转流术; 十二指肠改道术; GK大鼠; 随机血糖; 胰岛素; 胆固醇; 甘油三酯; 游离脂肪酸

核心提示: 本文通过单独的胆胰液转流术和十二指肠改道术对比研究, 可以针对性地研究胆胰液的作用, 食物的消化吸收受到胆胰液的影响, 术后必然存在消化吸收的改变, 相关的变化机制有待进一步阐明, 可以更好指导临床的治疗。

冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊. 手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 766-772 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.766>

0 引言

减肥手术可以有效地改善肥胖型2型糖尿病, 其效果已得到大量的临床及基础研究证实, 对非肥胖2型糖尿病的外科治疗也有大量的研究^[1]。Rubino通过(Goto-Kakizaki, GK)大鼠(非肥胖性2型糖尿病模型鼠)研究证实十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass, DJB)(图1)可以有效地改善血糖, 其机制可能与肠道的旷置和胆胰液的转流有关^[2]。外科手术后, 消化系重建, 胆汁和胰液与食物混合的时间推迟, 而胆汁和胰液对食物的消化起着决定性的作用, 很可能对食物的消化造成影响。不含肠道旷置的胆胰液转流后是否使得食物中的糖类、脂类消化吸收发生改变, 从而改善血糖呢? 改良胆胰转流手术(modify biliopancreatic diversion, MBPD)(图2)仅推迟胆汁和胰液与食物混合的时间与部位, 避开了肠道的旷置, 可以独立出胆胰液转流的因素^[3]。DJB则包含肠道(十二指肠和空肠上段)的旷置和胆胰液的转流, 通过观察这两种术式的降糖效果, 探讨外科手术治疗2型糖尿病中的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 12-14周龄SPF级♂GK大鼠30只, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 实验动物证号: SCXK(沪)2007-0005, 合格证编码:

■ 研发前沿

外科手术改善2型糖尿病研究中, 胆胰液的转流和肠道的旷置共同起到的作用, 但胆胰液的转流到底起到什么样的作用, 尚不清楚, 本文通过对比研究探索胆胰液的转流所起到的作用, 来进一步探索相关机制。

■相关报道

最新的研究显示手术改善Ⅱ型糖尿病可以起到很好的作用,临床应用患者数也在逐年增加,患者耐受性好,但也存在部分患者效果差,原因有待进一步研究。



图1 十二指肠改道术。



图2 改良胆胰转流术。

2007000522007. 体质量280-300 g/只,饲养于实验动物中心,动物自由进饮,喂食5%脂肪的饲料,20-25 g/d,适应环境2 wk。

1.2 方法

1.2.1 分组及手术治疗: 30只大鼠编号,根据随机数字表,将GK大鼠随机分为A、B、C组,每组10只。对A组行假手术,对B组行改良胆胰转流术,对C组行十二指肠改道术。术前1 d大鼠禁食不禁饮,手术过程间断吸入七氟烷麻醉。DJB组:于幽门下结扎部分血管后横断十二指肠与幽门连接处,远端结扎;在距Treitz韧带10 cm处切断空肠,远端空肠与幽门做端端吻合,近端空肠与距Treitz韧带20 cm处空肠做端侧吻合(图1)。MBPD组:在胆肠汇合点处肠管的近端0.5 cm处横断十二指肠,远端封闭;胆肠汇合点远端0.5 cm处横断十二指肠,将近端十二指肠与远端十二指肠吻合,并将胆肠汇合点1 cm肠管与距Treitz韧带20 cm处肠管行端侧吻合(图2)。假手术组:在胆管上距幽门1 cm处切断十二指肠后原位缝合。

1.2.2 实验过程中各指标的检测:所有大鼠适应环境2 wk后,检测大鼠体质量、空腹血糖、随机血糖及糖耐量(oral glucose tolerance, OGTT),术前1 wk内毗静脉取血。术后第1、4、8周检测大鼠体质量、空腹血糖、随机血糖,术后4 wk检测OGTT,内毗静脉取血。各指标的检测方法: (1)体质量:禁食后电子秤称质量; (2)空腹血糖:禁食后,尾部取血。随机血糖:非禁食状态下于早上随机时间尾部取血。都使用罗氏活力型一键式微量血糖仪检测; (3)OGTT:大鼠隔夜禁食12-14 h后,检测大鼠空腹血糖,按2 g/kg予以500 mL/L葡萄糖溶液灌胃,分别在灌胃后30、60、120、180 min时,尾部取血,使用罗氏活力型一键式微量血糖仪检测; (4)内毗静脉取血:内毗静脉取血约1 mL左右,3000 r/min在4℃

离心15 min,分离后的血清保存在-20℃冰箱中待测量; (5)血脂:血清送检验科,检测血清甘油三酯、胆固醇、游离脂肪酸含量; (6)血浆胰岛素:用ELISA法检测血浆胰岛素含量。

统计学处理 使用SPSS17.0统计软件进行分析,数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。对体质量、空腹血糖、随机血糖,血脂和胰岛素数值分别采用术前术后配对 t 检验,用 F 检验多因素方差分析进行术前和术后多组及组间统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体质量变化 术前3组大鼠间体质量无统计学差异,术后1 wk, DJB、MBPD组大鼠体质量降至 $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$ 、 $304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$,与术前($322.540 \text{ g} \pm 13.123 \text{ g}$ 、 $324.640 \text{ g} \pm 16.798 \text{ g}$)比较,差异有统计学意义($P < 0.01$), DJB与假手术组比较($P = 0.024 < 0.05$)、MBPD与假手术组比较($P = 0.011 < 0.05$)有统计学意义。假手术组大鼠体质量在手术后也下降,但是术后与术前无统计学差异。术后4、8 wk, 3组间差异无统计学意义(表1)。

2.2 空腹血糖、随机血糖及OGTT含量的变化

2.2.1 空腹血糖:术前3组大鼠间空腹血糖无明显差异,术后1 wk, 3组大鼠血糖值均降低,与术前比较差异无统计学意义。相同周数时3组大鼠间空腹血糖差异也无统计学意义(表2)。

2.2.2 随机血糖:术前3组大鼠间随机血糖无明显差异,术后1、4、8 wk, DJB、MBPD组大鼠的随机血糖明显低于术前,差别具有统计学意义($P < 0.01$),与假手术组分别比较,差异有统计学意义($P < 0.001$)。DJB组与MBPD组比较无统计学意义(表3)。

2.2.3 OGTT:术前3组大鼠间OGTT无明显差异,术后4 wk, DJB、MBPD组峰值为 18.238 mmol/L

表 1 3组大鼠体重术前、术后变化 (g, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	326.557 \pm 15.582	320.568 \pm 10.607	332.271 \pm 16.11	351.357 \pm 18.652
MBPD	324.640 \pm 16.798	304.990 \pm 12.156 ^{ac}	328.380 \pm 13.894	346.356 \pm 17.840
DJB	322.540 \pm 13.123	308.540 \pm 9.637 ^{ac}	324.513 \pm 15.832	341.714 \pm 16.105

^a $P < 0.05$ vs 假手术组; ^c $P < 0.05$ vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 2 3组大鼠空腹血糖术前、术后变化 (mmol/L, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	6.443 \pm 0.670	5.857 \pm 0.562	6.661 \pm 0.519	6.543 \pm 0.656
MBPD	6.950 \pm 0.474	6.180 \pm 0.426	6.150 \pm 0.659	6.278 \pm 0.644
DJB	6.788 \pm 0.577	6.175 \pm 0.276	6.725 \pm 0.636	6.743 \pm 0.490

MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 3 3组大鼠随机血糖术前、术后变化 (mmol/L, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	16.771 \pm 1.660	14.471 \pm 2.531	16.714 \pm 1.753	17.500 \pm 1.860
MBPD	17.180 \pm 3.383	9.620 \pm 0.794 ^{bd}	11.090 \pm 1.315 ^{bd}	12.589 \pm 1.840 ^{bd}
DJB	17.088 \pm 3.708	9.200 \pm 1.000 ^{bd}	10.850 \pm 1.848 ^{bd}	11.763 \pm 1.756 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 假手术组; ^d $P < 0.01$ vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 4 术后4 wk 3组大鼠糖耐量峰值术前、术后变化 (mmol/L, mean \pm SD)

时间	DJB	MBPD	假手术组
术前1 wk	20.112 \pm 1.727	20.360 \pm 3.501	20.114 \pm 1.497
术后4 wk	18.238 \pm 1.364 ^{ab}	17.350 \pm 2.220 ^{ab}	20.600 \pm 2.381

^a $P < 0.05$ vs 假手术组; ^b $P < 0.01$ vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

± 1.364 mmol/L、 17.350 mmol/L ± 2.220 mmol/L, 较术前明显改善($P < 0.01$), 且明显低于假手术组. DJB组与假手术组比较($P = 0.024 < 0.05$)、MBPD组与假手术组比较($P = 0.009 < 0.01$)差异有统计学意义. DJB组和MBPD组比较无统计学意义(表4).

2.3 空腹胆固醇含量的变化 术前1 wk, 3组大鼠血清胆固醇值差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清胆固醇比术前下降, 差别有统计学意义. 假手术组术后均值也有下降, 但与术前相比, 差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB组与MBPD组大鼠血清胆固醇值差别有统计学意义($P < 0.05$, 表5).

2.4 空腹甘油三酯含量的变化 术前1 wk, 3组大鼠空腹血清甘油三酯差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清甘油三酯与术前及假手术组相比, 差别具有统计学意义. 假手术组术后4 wk甘油三酯均值基本不变, 差别无统计学意义(表6).

2.5 空腹游离脂肪酸含量的变化 术前1 wk, 3组大鼠血清游离脂肪酸差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清游离脂肪酸与术前相比, 差别无统计学意义, 但是小于假手术组($P < 0.05$). 而假手术组大鼠血清游离脂肪酸术后明显上升($P < 0.05$, 表7).

2.6 血清胰岛素含量的变化 术前1 wk, 3组大鼠

■创新盘点

本文通过单独的胆胰液转流术和十二指肠改道术对比研究, 可以针对性的研究胆胰液的作用, 通过研究可以更好的指导临床的治疗. 食物的消化吸收受到胆胰液的影响, 部分2型糖尿病患者通过饮食可以控制, 胆胰液的转流在食物的消化吸收方面的影响有多大, 有待进一步研究, 对指导临床的治疗有一定的意义.

■应用要点

本文通过比较胆胰转流术和十二指肠改道术来探索相关的机制,从胆胰液方面分析术后血糖的变化、血脂的变化、胰岛素的变化,对以后的动物研究有一定的指导意义,并扩大了相关的思路。

表 5 空腹状态各组大鼠胆固醇变化 (mmol/L, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	3.415 \pm 0.291	3.125 \pm 0.267
MBPD	3.200 \pm 0.278	2.550 \pm 0.691 ^{ac}
DJB	3.220 \pm 0.185	2.450 \pm 0.424 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 假手术组; ^c $P < 0.05$ vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

表 6 空腹状态各组大鼠甘油三酯变化 (mmol/L, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	0.792 \pm 0.077	0.754 \pm 0.236
MBPD	0.737 \pm 0.200	1.329 \pm 0.716 ^{ac}
DJB	0.660 \pm 0.049	1.569 \pm 0.612 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 假手术组; ^c $P < 0.05$ vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

血浆胰岛素水平差别无统计学意义。术后4 wk, DJB、MBPD组空腹血清胰岛素浓度明显低于假手术组, 差别均有统计学意义。假手术组空腹血清胰岛素由术前0.372 ng/mL \pm 0.050 ng/mL升高至0.724 ng/mL \pm 0.192 ng/mL ($P < 0.05$, 表8)。

3 讨论

外科手术可以有效地改善甚至治愈2型糖尿病,但其机制仍然存在疑问。我们通过观察仅转移胆胰液基本不旷置肠管,对GK大鼠进行研究,结果表明MBPD能够改善GK大鼠血糖,胆胰液转流术和十二指肠改道术有相似的降糖效果。

本实验结果显示,术后1 wk, DJB、MBPD组体质量明显的小于假手术组,可以看出手术对GK大鼠的体质量还是有一定的影响,术后4、8 wk 3组大鼠的体质量明显的增加并大于术前水平,而且3组间无明显的差异,可以看出,外科手术在术后更长时间内并没有影响体质量的增加,其术后体质量下降可能是手术本身造成的,毕竟手术对消化吸收造成了一定的影响,随着大鼠肠道功能的代偿,体质量可以逐渐上升。

本实验的GK大鼠空腹血糖有所下降,但是并没有统计学意义。MBPD、DJB组可以明显的降低随机血糖,并在术后一直保持在较低水平,不管是手术前后对比还是与假手术组对比都有统计学意义。文献报道空腹血糖值跟糖尿病风险不成线性关系,许多的糖尿病患者需要糖尿

表 7 空腹状态各组大鼠游离脂肪酸变化 (μ Eq/L, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	627.052 \pm 371.840	994.667 \pm 257.817 ^a
MBPD	762.167 \pm 214.440	697.667 \pm 103.774 ^c
DJB	630.000 \pm 66.216	670.333 \pm 129.421 ^c

^a $P < 0.05$ vs 术前; ^c $P < 0.05$ vs 假手术组. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

表 8 各组大鼠血浆胰岛素变化 (ng/mL, mean \pm SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	0.372 \pm 0.050	0.724 \pm 0.192 ^a
MBPD	0.375 \pm 0.023	0.476 \pm 0.068 ^c
DJB	0.372 \pm 0.023	0.542 \pm 0.055 ^c

^a $P < 0.05$ vs 术前; ^c $P < 0.05$ vs 假手术组. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

量的检测后才能被筛查出来^[4]。可以看出空腹血糖值得变化对糖尿病的敏感性还是有限的,糖耐量的数值检测对于糖尿病的诊断要优于空腹血糖值^[5]。随机血糖是在非禁食的状态下检测,符合人一天中的状态。既往对糖尿病的研究大多关注空腹血糖,而忽视了随机血糖。随机血糖值明显的大于空腹血糖值,其变化的敏感性要大于空腹血糖值。非禁食状态下高血糖的“葡萄糖毒性作用”早期可直接引起高胰岛素血症,使靶组织对胰岛素的敏感性下降。继之导致B细胞代偿耗竭而出现胰岛素分泌不足^[6]。对糖尿病患者来说,非禁食状态下的高血糖不但可以加速并发症的发生而且可以加重原发的糖尿病^[7]。随机血糖作为非禁食状态下的良好指标,其数值的降低更有意义。本实验证明改良胆胰转流术和十二指肠改道术可以有效地降低随机血糖,两种术式的降糖效果无统计学差异。

那么,MBPD、DJB术改善随机血糖的可能机制是什么呢?本实验结果显示,术后1 wk MBPD、DJB组大鼠体质量下降明显,但术后1 wk之后显示3组间并无差异。假手术组体质量虽有下降但是手术前后并无统计学意义。以往普遍认为外科减肥手术能够改善肥胖患者伴有的2型糖尿病和体质量的关系不大^[8],但是最近的有关文献显示体质量的丢失对于胰岛素敏感性可以起到重要的作用^[9]。本实验提示术后体质量的下降可能也起到一定的作用。

此外, 胆汁和胰液是最重要的消化液, 对食物的消化起着决定性的作用, 胆胰液的转流很可能对食糜中的糖类及脂类物质的消化造成影响, 使得这些物质消化不完全. MBPD、DJB组术后与术前比较胆固醇明显的降低、甘油三酯明显上升, 但游离脂肪酸无明显的变化, 假手术组与术前比较胆固醇、甘油三酯无明显的变化, 但游离脂肪酸是明显的上升的. 可以看出MBPD、DJB组能够显著地降低胆固醇, 阻止游离脂肪酸的升高, 提高了甘油三酯.

血清胆固醇升高与胰岛素分泌减少之间存在直接相关性, 随着胆固醇水平的下降, 胰岛素分泌恢复正常^[10]. 动物实验显示胆固醇的减少有利于高脂饮食引起的糖尿病的改善^[11]. 游离脂肪酸过高, 胰岛素的作用会减弱, 导致血糖增加^[12]. 胆固醇的降低和低水平的游离脂肪酸增强了胰岛素敏感性, 术后DJB、MBPD组胰岛素明显的小于假手术组, 可以看出可能是DJB、MBPD组术后胰岛素敏感性上升低了随机血糖.

正常饮食状态下甘油三酯分解是受限的, 空腹状态下甘油三酯大量分解, 分解产物包括游离脂肪酸^[13]. 空腹状态下MBPD、DJB组术后甘油三酯的水平是高于假手术组的, 可能是由于MBPD、DJB组术后胰岛素敏感性增强, 糖利用增强, 不需要大量的脂肪动员, 所以血清甘油三酯分解减少致含量升高. 孟德尔随机研究不支持循环甘油三酯水平影响2型糖尿病风险、血糖及胰岛素抵抗^[14]. 在糖尿病个体中高甘油三酯血症显示出其保护作用, 临床上做过外科减肥手术的患者显示, 手术后高甘油三酯可以预示胰岛素敏感性增强^[15]. 胰岛素抑制脂肪的分解及减少肝糖原的释放、减少甘油三酯的转化与氧化, 通过增加糖的利用从而降低血糖^[16]. MBPD、DJB组术后甘油三酯的升高可能是由于胰岛素敏感性的升高, 导致甘油三酯的分解减少.

MBPD、DJB组术后空腹胰岛素水平明显小于假手术组. 临床上糖尿病患者的血糖改善后, 胰岛素的使用量也相应地下降, 相应研究表明是胰岛素的敏感性增强降低了胰岛素的水平^[17,18]. MBPD、DJB组术后胰岛素小于假手术组, 可能是由于胰岛素敏感性增强, 机体需要量相应的减少^[19].

本实验研究结果表明MBPD和DJB能够改善GK大鼠随机血糖, 术后血脂也呈现出明显的变化, DJB改善血糖、血脂方面尽管有肠道的旷置但并不优于MBPD, 由此也说明胆胰液的转

流在DJB中也起到重要的作用. 由于MBPD的特点是胆胰液的转流, 胆胰液在消化吸收中起到重要的作用, 提示在血糖改善方面外科手术造成的消化吸收变化起到很大的作用. 既往的实验研究重视在胃肠道重建后激素的变化对血糖的影响, 本文证明外科手术导致的胆胰液对消化吸收的影响在血糖改善方面起到重要的作用, 增加肠道旷置的作用未见明显的叠加效应.

4 参考文献

- 1 Wolfe BM, Purnell JQ, Belle SH. Treating diabetes with surgery. *JAMA* 2013; 309: 2274-2275 [PMID: 23736737 DOI: 10.1001/jama.2013.4772]
- 2 Patrìti A, Facchiano E, Donini A. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* 2004; 240: 388-389; author reply 388-389 [PMID: 15273570]
- 3 翁山耕, 冯苏, 徐常国, 石铮, 林春忠, 张斌. 改良胆胰转流术对Goto-Kakizaki大鼠血糖的影响. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 42-44
- 4 Schulze MB, Fritsche A, Boeing H, Joost HG. Fasting plasma glucose and Type 2 diabetes risk: a non-linear relationship. *Diabet Med* 2010; 27: 473-476 [PMID: 20536521 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02919.x]
- 5 Abdul-Ghani MA, Lyssenko V, Tuomi T, Defronzo RA, Groop L. The shape of plasma glucose concentration curve during OGTT predicts future risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2010; 26: 280-286 [PMID: 20503260 DOI: 10.1002/dmrr.1084]
- 6 侯文芳, 刘国强, 洪天配. 肠促胰岛素在减肥手术治疗肥胖2型糖尿病患者中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 324-328
- 7 Tanaka M. Relationship between fasting and 2-hour postprandial plasma glucose levels and vascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res* 2012; 40: 1295-1303 [PMID: 22971481 DOI: 10.1177/147323001204000408]
- 8 Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2011; 55: 367-382 [PMID: 22011853 DOI: 10.1590/S0004-27302011000600003]
- 9 Martin MJ. Comment on: Postprandial hypertriglyceridemia predicts improvement in insulin resistance in obese patients after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2013; 9: 219-220 [PMID: 22055388 DOI: 10.1016/j.soard.2011.09.017]
- 10 Hao M, Head WS, Gunawardana SC, Hasty AH, Piston DW. Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes* 2007; 56: 2328-2338 [PMID: 17575085 DOI: 10.2337/db07-0056]
- 11 Suzuki R, Lee K, Jing E, Biddinger SB, McDonald JG, Montine TJ, Craft S, Kahn CR. Diabetes and insulin in regulation of brain cholesterol metabolism. *Cell Metab* 2010; 12: 567-579 [PMID: 21109190 DOI: 10.1016/j.cmet.2010.11.006]
- 12 Deng YT, Chang TW, Lee MS, Lin JK. Suppression of free fatty acid-induced insulin resistance by phytopolyphenols in C2C12 mouse skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 1059-1066 [PMID: 22191431 DOI: 10.1021/jf204496f]
- 13 De Silva NM, Freathy RM, Palmer TM, Donnelly

■同行评价

本文通过动物实验研究, 可以很好的反应实际的问题, 数据可靠, 对相关的研究有一定的借鉴.

- LA, Luan J, Gaunt T, Langenberg C, Weedon MN, Shields B, Knight BA, Ward KJ, Sandhu MS, Harbord RM, McCarthy MI, Smith GD, Ebrahim S, Hattersley AT, Wareham N, Lawlor DA, Morris AD, Palmer CN, Frayling TM. Mendelian randomization studies do not support a role for raised circulating triglyceride levels influencing type 2 diabetes, glucose levels, or insulin resistance. *Diabetes* 2011; 60: 1008-1018 [PMID: 21282362 DOI: 10.2337/db10-1317]
- 14 Vega-López S, Calle MC, Fernandez ML, Kollan-noor-Samuel G, Chhabra J, Todd M, Segura-Pérez S, D'Agostino D, Damio G, Pérez-Escamilla R. Triglyceride screening may improve cardiometabolic disease risk assessment in Latinos with poorly controlled type 2 diabetes. *J Health Care Poor Underserved* 2013; 24: 1739-1755 [PMID: 24185167 DOI: 10.1353/hpu.2013.0171]
- 15 Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI, Clemente-Postigo M, Fernnandez-Garcia D, Mingrone G, Cardona F. Postprandial hypertriglyceridemia predicts improvement in insulin resistance in obese patients after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2013; 9: 213-218 [PMID: 22153002 DOI: 10.1016/j.soard.2011.08.022]
- 16 Deguil J, Pineau L, Rowland Snyder EC, Dupont S, Beney L, Gil A, Frapper G, Ferreira T. Modulation of lipid-induced ER stress by fatty acid shape. *Traffic* 2011; 12: 349-362 [PMID: 21143717 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2010.01150.x]
- 17 Currò G, Centorrino T, Low V, Navarra G. Plasma insulin and glucose time courses after biliary pancreatic diversion in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Surg* 2012; 204: 180-186 [PMID: 22481065 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.09.025]
- 18 冯苏, 贾高磊, 王小凯, 田志龙. 胆胰转流术改善2型糖尿病的研究进展. *基础医学与临床* 2014; 34: 278-281
- 19 Li Z, Zhang HY, Lv LX, Li DF, Dai JX, Sha O, Li WQ, Bai Y, Yuan L. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of beta-cells in Goto-Kakizaki rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2244-2251 [PMID: 20458761 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2244]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



胃癌分子靶向药物治疗的研究进展

田磊, 肖秀英, 叶明

田磊, 肖秀英, 叶明, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科 上海市 200127

田磊, 硕士研究生, 主要从事肿瘤的同步放化疗及其靶向治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101648

作者贡献分布: 本文综述由田磊完成; 肖秀英与叶明审核。

通讯作者: 叶明, 教授, 主任医师, 200127, 上海市浦东新区东方路1630号, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科。

renjiyeming@163.com

电话: 021-68383459

收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Molecular targeted therapy of gastric cancer

Lei Tian, Xiu-Ying Xiao, Ming Ye

Lei Tian, Xiu-Ying Xiao, Ming Ye, Department of Oncology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101648

Correspondence to: Ming Ye, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 1630 Dongfang Road, Pudong New District, Shanghai 200127, China. renjiyeming@163.com

Received: 2013-12-11 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

Gastric cancer is one of the most frequent malignancies of the digestive system. Despite decreasing incidence and mortality rate, the incidence of gastric cancer still ranks second and the mortality rate ranks third in China. Surgical resection is the preferred treatment for gastric cancer. However, due to the lack of typical early symptoms, the majority of gastric cancer patients are diagnosed at advanced stages, and the prognosis remains poor. In the past decades, a large number of studies have found a series of genes driving the development of gastric cancer. Molecular targeted therapies based on these genes have been developed, greatly improving the efficiency of treatment of gastric cancer and playing an important role in guiding individualized treatment of this malignancy. This review summarizes the advances in the molecular targeted therapy of

gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Targeted genes; Molecular targeted therapy

Tian L, Xiao XY, Ye M. Molecular targeted therapy of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 773-781
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/773.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.773>

摘要

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一。尽管近年来世界范围内胃癌的发生率和死亡率在下降, 但我国胃癌的发病率仍居于恶性肿瘤第2位, 死亡率居第3位。手术切除是胃癌首选治疗方法, 但由于缺乏典型早期症状, 多数患者就诊时已处于中晚期, 因此效果并不理想。过去几十年, 大量研究发现一系列涉及胃癌发生发展的驱动基因, 以之为基础的分子靶向药物也不断出现, 很大程度上提高了胃癌治疗的有效率, 对指导胃癌的个体化治疗发挥了重要作用。本文就近年来在胃癌的分子靶向药物治疗方面的研究进展做一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 驱动基因; 分子靶向治疗

核心提示: 在胃癌高发病率和高死亡率的背景下, 低手术切除率和低化疗有效率使靶向药物在胃癌领域应用显示出重要价值。曲妥珠单抗的成功和其他大规模临床试验的失败, 再次提示在靶向药物的研究和应用中分子标志物检测的重要价值。

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(6): 773-781 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.773>

0 引言

胃癌是世界范围内尤其是亚洲国家癌症死亡的主要原因之一, 其发生与环境因素和自身因素

■背景资料

我国是胃癌大国, 胃癌的发病率和死亡率分别居恶性肿瘤的第2位和第3位。尽管传统手术和化疗的不断发展, 胃癌5年生存率仍低于40%。过去几十年, 一系列的靶向药物问世, 尤其是曲妥珠单抗在胃癌的成功应用, 开启了胃癌靶向治疗的序幕。

■同行评议者

刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室

■ 研发前沿

在EXPAND、REAL-3、AVA-GAST等大规模的临床试验均未能取得阳性结果的背景下, 基于ToGA研究的曲妥单抗仍是目前胃癌靶向治疗的主方向。然而, 随着耐药性等问题出现, 寻找新的分子标志物及靶点成为胃癌靶向药物研究的新方向和制约点。

相关。2008年全球胃癌新发病例和死亡病例估计为989600和738000例, 约占癌症新发病例和死亡例的8%和10%, 其中70%以上出现在发展中国家尤以东亚发病率最高^[1]。手术切除是早期胃癌最有效治疗手段, 但由于早期症状不明显, 半数患者就诊时已有远处转移, 失去了手术治疗机会。尽管近年来联合化疗和外科手术治疗不断发展, 胃癌患者的生活质量和总生存有所提高, 但在我国胃癌五年生存率仍低于40%^[2]。过去几十年, 随着肿瘤生物学的快速发展以及肿瘤分子标志物的不断发现, 使众多靶向药物应运而生, 如抗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的药物、抗血管生成药物、细胞周期抑制剂和促凋亡药物等, 本文主要就上述靶向药物做一简要综述。

1 针对EGFR的靶向治疗

EGFR是癌基因*c-erbB1*的表达产物, 属于受体酪氨酸激酶家族成员, 存在于细胞表面, 通过与其配体, 包括表皮生长因子和转换生长结合, 启动下游信号转导通路, 调节正常细胞的增值, 分化和生存。EGFR家族包括4个成员, 人类表皮生长因子受体1(human epidermal growth factor receptor 1, HER-1)、HER-2、HER-3、HER-4。其中, EGFR-1和HER-2在胃癌中呈高表达, 与临床分型和预后差相关, 针对HER-2的靶向药物是目前临床中用于治疗胃癌的主要靶向药物之一^[3]。

1.1 抗HER-2的单克隆抗体 癌基因*HER-2*位于染色体17q21, 其产物为分子量为185 kDa的跨膜糖蛋白, 包括653个氨基酸组成的膜外配体结合区, 654到675个氨基酸组成的单跨膜区和675到1255个氨基酸组成的胞内酪氨酸激酶区^[4]。胃癌组织中HER-2的扩增约占所有胃癌患者的10%-20%, 其中胃食管交界处和贲门处胃癌HER-2的阳性率略高于胃体胃癌^[5]。曲妥单抗是一种重组的人源化的IgG1型单克隆抗体, 用于HER-2阳性的乳腺癌治疗的历史已长达十年之久。目前曲妥单抗用于胃癌治疗已进入临床, 增加了HER-2阳性胃癌患者的疗效, 其机制可能通过增加细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂p27(KIP1)表达, 降低细胞周期蛋白的表达使细胞停滞于G₁期, 使胃癌细胞系中S期细胞比例下降, 也可以抑制HER-2磷酸化从而下调下游信号分子包括信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)和胞外信号调节激

酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)^[6]。提醒注意的是, 单用曲妥单抗对HER-2不同表达水平的胃癌细胞系均未观察到明显抑制作用, 只有曲妥单抗联合化疗药物顺铂和氟尿嘧啶才具有协同抗肿瘤作用^[7,8]。临床上由24个国家、122个中心参与的III期随机对照实验-ToGA评估了曲妥单抗联合化疗治疗HER-2阳性胃癌的有效性和安全性^[9], 通过免疫组织化学或原位荧光杂交技术筛选HER-2阳性患者594例, 随机分为对照组(296例)和实验组(298例), 对照组接受卡培他滨或顺铂加氟尿嘧啶, 实验组在对照组基础上加用曲妥单抗, 3 wk 1次, 直到疾病进展。实验组和对照组中位随访时间分别为18.6 mo和17.1 mo, 实验组和对照组中位生存期分别为13.8 mo和11.1 mo($P = 0.0046$), 无进展生存期分别为6.7 mo和5.5 mo($P = 0.0002$), 两组最常见的不良反应均为恶心、呕吐和中性粒细胞减少, 并且这些不良反应两组间无明显差异。该研究证实了曲妥单抗治疗胃癌的安全性及有效性, 因此, 欧盟和美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)分别于2010-01和2010-10批准曲妥单抗联合卡培他滨或5-FU加DDP用于转移性胃癌或胃食管连接处癌的治疗。中国食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)于2012-08批准曲妥单抗用于HER-2阳性转移性胃癌的治疗。

曲妥单抗-*emtansine*(trastuzumab-*emtansine*, T-DM1)是一种抗体-药物偶联物, 通过稳定的硫醚键将单克隆抗体曲妥单抗与细胞毒抑制剂DM1连接^[10]。临床前期研究中发现对曲妥单抗抵抗的乳腺癌细胞仍具有抑制作用, II期临床研究结果显示^[11], 对HER-2阳性的局部复发的晚期或转移性乳腺癌患者, T-DM1在无进展生存期和安全性方面优于曲妥单抗加多西紫杉醇。用于胃癌的治疗目前尚处于临床研究阶段, 期望有一个良好的结果。

与HER-2相关的另一个单抗是帕妥珠单抗, 这是一种人源化的单克隆抗体, 主要通过与HER-2结构域II区结合, 抑制HER-2的二聚体化发挥抗肿瘤作用, 也可以介导抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)杀伤肿瘤细胞。与曲妥单抗不同, 帕妥珠单抗的疗效并不严格依赖HER-2的过表达, 因此在HER-2低表达的肿瘤细胞, 帕妥珠单抗具有更优效果^[12]。帕妥珠单

抗在胃癌中尚处于研究阶段, 在HER-2阳性的人胃癌的异体移植瘤模型中, 联合使用曲妥珠单抗和帕妥珠单抗可以抑制EGFR-HER-2、HER-2-HER-3信号转导, 增强ADCC作用和抗血管生成作用, 抗肿瘤作用明显强于单用一种单抗^[13].

靶向HER-2在胃癌治疗领域已经取得肯定疗效, 然而与乳腺癌不同, HER-2阳性率与胃癌预后之间的关系仍存在争议, 如Kim等^[14]的研究认为, HER-2过表达的胃癌细胞通常显示较差的生物学行为, HER-2过表达可以作为胃癌复发的独立危险因素, 而根据Oh等^[15]的报告, HER-2突变与年龄较大、组织学高分化或中分化以及肠型胃癌成正相关, 而与胃癌预后之间并不存在独立相关性. 因此, HER-2能否作为胃癌预后判断标记还有待进一步研究证实.

1.2 抗EGFR胞外区的单克隆抗体 西妥昔单抗是一种人-鼠嵌合的单抗, 可竞争性肿瘤细胞表面EGFR相结合, 阻断下游信号转导, 抑制肿瘤细胞增殖, 促进凋亡. 希罗达联合顺铂加或不加西妥昔单抗治疗初治的晚期食管胃癌随机、开放的III期临床研究[capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer(EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial, EXPAND]中^[16], 来自25个国家、164个中心的904例患者入组, 对照组为顺铂80 mg/m² d1, 卡培他滨1000 mg/m² d1-14, 3 wk为1周期, 实验组在此基础上加用西妥昔单抗(首次剂量400 mg/m², 以后250 mg/m², 1次/wk), 主要研究终点为无进展生存期. 结果显示: 西妥昔单抗组和对照组无进展生存期分别为4.4 mo和5.6 mo($P = 0.32$), 3-4级不良反应发生率分别为83%和77%, 主要为腹泻、低钾血症、低镁血症、皮疹和手足综合征, 血液系统不良反应对照组较高, 皮疹则西妥昔单抗组较高. 与西妥昔单抗在结直肠癌、头颈部癌中的结果相反, 西妥昔单抗用于胃癌的治疗未取得阳性结果, 推断可能与顺铂联合卡培他滨作为化疗方案有关. 因此, 寻找西妥昔单抗用于胃癌治疗时的最佳配伍方案可能是下一步研究方向.

帕尼单抗与西妥昔单抗不同, 是一种完全人源化的作用于EGFR的单克隆抗体, 在奥沙利铂(oxaliplatin)、氟尿嘧啶(flourouracil)、亚叶酸钙(leucovorin)方案(FOLFOX方案)治疗失败的结直肠癌中已显示了良好疗效, 而用于胃癌治疗的研究较少. 表柔比星、奥沙利铂、卡培他滨(EOX)

加或不加帕尼单抗在初治的晚期食管胃腺癌的随机开放的多中心实验[A Randomised Open-labelled Multicentre Trial of the Efficacy of Epirubicin, Oxaliplatin and Capecitabine (EOX) With or Without Panitumumab in Previously Untreated Advanced Oesophago-gastric Cancer, REAL-3]中^[17], 共553例患者入组, 对照组使用EOX方案(表柔比星50 mg/m² d1, 奥沙利铂130 mg/m² d1, 卡培他滨1250 mg/m² d1-21), 实验组为mEOX+P(表柔比星50 mg/m² d1, 奥沙利铂100 mg/m² d1, 卡培他滨1000 mg/m² d1-21, 帕尼单抗9 mg/m² d1), 主要研究终点为总生存期. 结果显示: mEOX+P和EOX总生存期分别为8.8 mo和11.3 mo($P = 0.013$), mEOX+P组腹泻、皮疹、黏膜炎和低镁血症的3-4级不良反应发生率较对照高, 但血液系统副反应较低. 但REAL-3未取得预期结果, 帕尼单抗用于胃癌治疗尚未批准. 然而, 研究者认为, mEOX+P组未能获益可能与EOX方案腹泻发生率高, 实验组中奥沙利铂和卡培他滨减量致药量不足、帕尼单抗与EOX方案中一种或多种药物间拮抗作用以及未经分子检测有关.

1.3 抗EGFR胞内区的小分子的酪氨酸激酶抑制剂 吉非替尼是一种口服的小分子的酪氨酸激酶抑制剂, 在EGFR突变的非小细胞肺癌中取得较好效果^[18,19], 于2003-05被FDA批准用于晚期非小细胞肺癌的治疗. 然而, 吉非替尼用于胃癌治疗的报道较少, 疗效差, 可能涉及多种机制, 如报道显示吉非替尼治疗后pEGFR(EGFR的磷酸化形式)水平明显下降, 但明显的增值抑制作用却见于pAkt低水平的肿瘤细胞, 推测PI3K-Akt信号通路可能与吉非替尼抵抗更具相关性^[20]. 此外, 食管胃交界处的腺癌很少出现EGFR的突变, 尤其是吉非替尼相关性突变, 如L858R或delE746-A750, 可能是目前吉非替尼不推荐用于胃癌的原因之一^[21]. 但也有研究显示, 在EGFR高表达的胃癌中, 吉非替尼可起到放射增敏作用, 能够提高胃癌放射治疗效果^[22].

厄洛替尼也是一种口服的小分子的酪氨酸激酶抑制剂, 主要用于非小细胞肺癌的治疗. 在一项厄洛替尼用于胃癌的研究SWOG0127中^[23], 共70例不可切除的或转移的患者入组(其中食管胃交界处腺癌患者44例, 胃癌组26例), 两组患者均口服厄洛替尼150 mg/d. 结果显示: 食管胃交界和胃腺癌中位生存时间分别为6.7 mo和3.5 mo, 胃癌组均未观察到客观有效率, 而食管胃交界处1例完全缓解和3例部分缓解, 提示厄洛

■ 相关报道

几年来, 发表了大量关于胃癌靶向治疗的文章, 提出了许多新观点和新思路, 如王李杰等撰写的《胃癌靶向治疗的研究进展》一文中, 提出由于肿瘤的异质性, 靶向药物的选择尽可能针对占主导作用的信号通路的观点.

■创新盘点

本文按照靶向药物作用的机制进行分类阐述,并列出了靶向药物针对的具体信号通路和分子,进一步强调了靶向药物的研发基于对肿瘤发生发展的分子机制的认识的深化。

替尼对食管胃交界癌可能有一定效应,而对胃腺癌初步估计无效。

1.4 HER-2和EGFR的双靶点酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼是一种口服的可逆的小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过与HER-2和EGFR酪氨酸激酶区的ATP结合,阻断其磷酸化和下游信号转导,目前已用于曲妥珠单抗治疗后进展的乳腺癌的治疗。在HER-2扩增的胃癌细胞系NCI-N87和OE19中,拉帕替尼为剂量依赖性的抗增殖作用,可以下调EGFR、HER-2、AKT和ERK信号通路,同时使细胞停滞于G₀/G₁期并促进细胞凋亡^[24]。根据2013年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)的报道, III期临床LOGIC研究显示,与单纯化疗相比,拉帕替尼联合卡培他滨、奥沙利铂并未给HER-2阳性不可切除的局部晚期或转移性胃癌、食管胃交界处腺癌患者带来总生存期获益,但亚组分析显示亚洲患者和<60岁的患者可能获益,HER-2高表达和IL-8低表达的人群肿瘤缓解率和总生存期获益。因此,拉帕替尼用于特殊亚组和特定生物标记人群的胃癌治疗值得进一步研究。

与拉帕替尼不同, CI-1033和EKB569属于不可逆性的酪氨酸激酶抑制剂,在胃癌中作用处于 II 期临床研究阶段。此外, AEE788和 EXEL7647/EXEL0999作为EGFR/erbB2/血管表皮生长因子受体(vascular epidermal growth factor receptor, VEGFR)三重靶点的酪氨酸激酶抑制剂,尚处于 I 期临床研究阶段。

2 针对血管生成和肿瘤侵袭转移

众所周知,肿瘤是一种血管依赖性的疾病,当肿瘤体积生长至2 mm³时,肿瘤细胞处于缺氧状态,能分泌多种因子包括VEGF、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)、转化生长因子 α (transforming growth factor- α , TGF- α)等,促进血管生成,使肿瘤得以继续生长和发生浸润、转移,因此,抑制肿瘤新生血管成为肿瘤治疗的主要靶点之一。

VEGF是目前发现的诱导肿瘤血管形成的最重要的细胞因子,在多种肿瘤中高表达,通过与其受体结合,促进上皮细胞的存活、分化、迁移和增加血管通透性。VEGF家族包括VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C和VEGF-D,其受体VEGFR包括VEGFR-1、VEGFR-2和VEGFR-3。

2.1 抗VEGF的单克隆抗体 贝伐珠单抗是一种

人源化的抗VEGF的单克隆抗体,目前已应用于结直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和胶质母细胞瘤等多种肿瘤治疗中。为了评估其在晚期胃癌一线治疗中的价值,研究者们进行了随机、双盲、安慰剂对照的III期临床实验-AVAGAST研究^[25],共774例患者入组,化疗方案为顺铂80 mg/m² d1和卡培他滨1000 mg/m² d1-14,每3周为1周期,实验组和对照组分别给予贝伐珠单抗(7.5 mg/m²)和安慰剂,主要研究终点为总生存期。结果显示:实验组和对照组总生存期分别为12.1 mo和10.1 mo($P = 0.10$),不过贝伐珠单抗组的中位无进展生存期(6.7 mo vs 5.3 mo, $P = 0.0037$)和客观反应率(46.0% vs 37.4%, $P = 0.0315$)均优于安慰剂组。亚组分析结果显示了区域差异的不同疗效,美洲人群获益最大,欧洲次之,亚洲获益有限。在一系列 II 期研究取得较好疗效的前提下,这一大规模的III期临床研究尽管主要观察终点未取得阳性结果,但确实改善了次要研究终点,且亚组间的差异,提示病例选择、临床实践、群体遗传学或肿瘤生物学方面的地区差异可能对贝伐珠单抗的疗效有一定影响,因此仍值得进一步研究。在AVAGAST试验后,有学者研究了可能对贝伐珠单抗效果有预测价值的血管生成标记物,发现VEGF-A的高表达可能提高贝伐珠单抗治疗的总生存期,而神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP-1)的表达水平则与贝伐珠单抗治疗的疗效呈负相关^[26]。

2.2 抗VEGFR酪氨酸激酶抑制剂 VEGFR酪氨酸激酶抑制剂,包括作用于VEGFR的药物如PTK787和同时作用于VEGFR和其他酪氨酸激酶抑制剂的药物如SU6668、AZD2171、阿西替尼、索拉菲尼和舒尼替尼等。目前临床中应用的主要药物是索拉菲尼和舒尼替尼。

索拉菲尼是一种口服的多靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过抑制VEGFR、血小板衍生因子 β (platelet-derived growth factor- β , PDGF- β)、干细胞因子受体(stem cell factor receptor, SCFR)、Fms样酪氨酸激酶3(fms like tyrosine kinase receptor 3, FLT-3)等受体的酪氨酸激酶活性和阻断有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路抑制肿瘤细胞的增殖。目前已被美国FDA批准用于晚期肾癌的一线治疗和手术无法切除的肝癌。索拉菲尼联合多西他赛和顺铂用于转移或晚期胃或食管胃交界处腺癌的 II 期临床ECOG5203研究取得了较好的效果^[27],共入组44例患者,给

予索拉菲尼(400 mg, 口服, 2次/d, 连续21 d)、多西他赛(75 mg/m²静脉注射d1, 21 d 1次)和顺铂(75 mg/m²静脉注射d1, 21 d 1次)。结果显示: 44例中18例显示为部分缓解(partial remission, PR = 41%), 中位无进展生存期为5.8 mo, 中位总生存期为13.6 mo。索拉菲尼用于胃癌的治疗很值得进一步行大规模III期临床研究。

同索拉菲尼一样, 舒尼替尼也是一种多靶点的酪氨酸激酶抑制剂, 作用于VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、PDGFR、KIT、FLT、CSF-1R和RET等多个靶点。在肾癌中III期临床研究显示, 舒尼替尼较干扰素 α 明显提高肾癌患者的无进展生存期^[28], 因此, 2006-01被美国FDA批准用于转移性肾癌的治疗。舒尼替尼单药治疗胃癌的开放、多中心的II期临床研究^[29], 客观缓解率为3.9%, 中位无进展生存时间1.28 mo, 总生存时间为5.81 mo, 预期一年存活率为23.7%, VEGF-C阳性组较阴性组明显降低了中位无进展生存时间(1.23 mo vs 2.86 mo, $P = 0.0119$)。在联合化疗的随机、开放的II期临床研究中^[30], 氟尿嘧啶和铂类治疗失败的107例胃癌患者入组, 分为多西他赛单药组(60 mg/m², 1次/3 wk)和联合舒尼替尼组(37.5 mg/d)。尽管舒尼替尼组明显提高了客观反映率(41.1% vs 14.3%, $P = 0.002$), 但主要观察终点肿瘤进展时间并未显示出差异(3.9 mo vs 2.6 mo, $P = 0.206$)。因此, 舒尼替尼联合化疗用于胃癌的治疗还需更进一步研究。

2.3 抗MMP的抑制剂 MMPs是由一系列蛋白溶解酶家族组成, 参与细胞外基质和基底膜的降解和破坏以及肿瘤血管的生成, 促进肿瘤转移。不同肿瘤中MMPs的表达不同, 胃癌细胞中MMP-2、MMP-9、MMP-14及MMP-21的高表达与胃癌进展和较差的预后相关^[31-34]。Marimastat是一种口服的MMP的抑制剂, 在一项III期临床研究中^[35], 369例不可切除的胃或食管胃交界处腺癌患者入组, 部分患者既往接受过以氟尿嘧啶为基础的化疗, 随机分为Marimastat组和安慰剂对照组, 结果显示: Marimastat组和对照组中位生存时间分别为160 d和138 d, 2年生存率分别为9%和3%($P = 0.024$)。值得关注的是, 在既往接受过化疗的亚组中, Marimastat显示了更大优势, 中位生存时间分别为253 d和175 d, 2年生存率分别为18%和5%($P = 0.006$), 这些患者获益可能与他们对化疗有一定反应相关。因此, Marimastat可能是一种有效的治疗胃癌的药物, 但其确切作用需要更多的临床研究证实。

3 针对细胞周期

3.1 细胞周期调节剂 肿瘤是一种细胞周期调控机制障碍性疾病^[36], 参与细胞周期调控的分子主要有3类, 即细胞周期蛋白, 周期蛋白依赖性的激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和周期蛋白依赖性的激酶抑制剂(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)。CDK与细胞周期蛋白结合, 促使细胞跨越细胞周期各时相转换的限制点, CDK也能与CKI结合, 抑制细胞周期, 甚至诱导凋亡。因此, 靶向CDK的抑制剂可使细胞停滞于周期的某一时相。Flavopiridol是第一个应用于临床试验的CDK的抑制剂, 在Flavopiridol单药用于胃癌治疗II期临床研究中, 因较低的有效率和严重不良反应, 未能获得预期疗效^[37], 但一些Flavopiridol联合化疗的方案取得了一定效果^[38,39]。因此, 寻找Flavopiridol的最佳配伍方案可能是Flavopiridol用于治疗胃癌新的研究方向。

3.2 促使细胞凋亡 肿瘤细胞常表现为增殖能力增强, 分化障碍和凋亡受阻, 促进细胞凋亡是肿瘤治疗领域研究的热点之一。肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体TRAIL可选择性的诱导多种肿瘤细胞的凋亡, 但胃癌细胞对TRAIL诱导的凋亡通常显示出抵抗性, 多种化疗药物可以增加胃癌细胞对TRAIL的敏感性^[40,41], 因此TRAIL联合化疗用于胃癌治疗有进一步研究价值。此外, 蛋白酶体抑制剂硼替佐米可抑制核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路, 诱导细胞凋亡, 目前主要用于多发性骨髓瘤的治疗, 然而硼替佐米单药用于转移性胃腺癌的研究中并未达到期望疗效, 在蛋白酶体抑制剂的进一步研究中需考虑与其他致癌途径的靶向抑制剂相结合^[42]。

4 胃癌治疗的其他靶点

4.1 c-MET通路的抑制剂 c-MET是一种膜受体酪氨酸激酶, 通过与HGF结合, 引起细胞增殖、侵袭和转移。II期临床研究中^[43], c-MET抑制剂rilotumumab联合化疗在c-MET高表达的晚期胃癌患者显示了生存获益。目前, rilotumumab联合表柔比星、顺铂和卡培他滨用于MET阳性的胃癌或食管胃连接部患者的III期试验RILOMET-1正在进行中。

4.2 以mTOR为靶点的治疗 依维莫司是新合成的雷帕霉素的大环内酯类衍生物, 在既往接受过化疗的进展期胃癌患者的II期临床研究显示

■应用要点

尽管除了ToGA外的大规模研究相继失败, 却提示只有根据特定的分子标志物筛选最优势人群才有望取得临床研究成功。此外, 针对细胞周期的靶向药物和其他的一些靶向药物显示了一定疗效, 可以开展后期大规模临床研究。

■同行评价

选题有应用意义, 论点明确, 重点突出, 文献引用适当, 可全文发表。

了一定疗效^[44]。在多中心、双盲的III期临床研究GRANITE-1中^[45], 在656例患者分别接受依维莫司10 mg/d加最佳支持治疗和安慰剂加最佳支持治疗相比, 结果显示: 两组总生存时间无统计学差异(5.39 mo vs 4.34 mo, $P = 0.1244$), 依维莫司组无进展生存期延长(1.7 mo vs 1.4 mo, $P = 0.0001$), 最常见3、4级不良反应为贫血、食欲减退和乏力, 安全性与依维莫司在其他肿瘤中结果相一致。因此, 目前认为在一、二线化疗后进展的晚期胃癌, 相较于支持治疗, 依维莫司并不能改善总生存时间, 但在无进展生存期上的优势仍值得进一步研究。

4.3 靶向PD-1的免疫治疗 细胞程序性死亡(programmed cell death, PD)-1受体作为一种免疫抑制受体在T细胞表面高表达, 通过与其配体PD-L1的结合, 使活化的T细胞凋亡, 介导了肿瘤的免疫逃逸, 有研究显示^[46]: 胃癌患者血清的T细胞表面PD-1表达高于正常人群, 胃癌组织的T细胞中PD-1表达高于正常胃组织和外周血的T细胞, 因此阻断PD-1与PD-L1的相互作用有望提高胃癌治疗的有效性。在PD-L1单抗的I期临床研究中报道^[47], 207例肿瘤患者(黑色素瘤55例、大肠癌18例、非小细胞肺癌75例、肾癌17例、卵巢癌17例、胰腺癌14例、胃癌7例、乳腺癌4例)给予抗PD-L1抗体治疗, 每2周1次。在可评估疗效的患者中6%-17%有效(52例黑色素瘤中9例, 17例肾癌中2例, 49例非小细胞肺癌中5例, 17例卵巢癌中1例), 显示了抗PD-L1抗体在肿瘤治疗中的有效性。但胃癌无1例患者有效, 可能是胃癌入组病例较少, 因此后期大规模研究正在进行, 希望取得较好结果。

此外, 热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)的高表达与胃癌的进展以及较差的预后有关^[48], 有报道显示^[49], HSP90抑制剂AUY922联合曲妥珠单抗在曲妥珠单抗抵抗的胃癌移植模型中显示了明显的抗肿瘤活性。胰岛素样生长因子受体-1的单克隆抗体Figitumumab^[50], 糖蛋白LAT1^[51]等在胃癌靶向治疗中都处于临床试验阶段, 其结果值得期待。

5 结论

尽管近年来胃癌靶向治疗的临床研究日益增多, 然而相较于靶向药物在肠癌、肺癌、乳腺癌中的成功实践, 胃癌的靶向治疗仍处于起步阶段。靶向治疗药物在胃癌中的研究大多未取得成功, 可能涉及多种原因, 如胃癌的发生发展涉及多

种信号通路组成的网络, 针对单一靶点的药物在代偿机制形成后很快失效, 且单一药物难以针对异质性明显的胃癌的各亚克隆。ToGA研究成功开启了胃癌个体化诊疗的新纪元, 曲妥珠单抗成为第一个也是目前为止唯一一个被美国FDA批准用于HER-2阳性胃癌的靶向药物。针对胃癌患者的EXPAND、REAL-3、AVAGAST等研究均在期望中失败, 揭示只有根据特定的分子标志物筛选最优势人群才有望取得临床研究成功, 如TOGA研究, 因此寻找分子标志物仍是制约靶向药物发展的关键因素, 也是未来转化医学研究的重点。胃癌发生发展和侵袭转移的不同阶段可能涉及不同分子机制, 早期手术标本检测能否指导整个疗程治疗, 原发灶和转移灶是否涉及相同分子机制, 尚需进一步探讨。我们期望在今后的胃癌靶向药物研究中, 能取得理想结果, 进一步提高胃癌患者的总生存期和生活质量。

6 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Yang YM, Zhang ZW, Liu QM, Sun YF, Yu JR, Xu WX. Overexpression of CD151 predicts prognosis in patients with resected gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e58990 [PMID: 23533596 DOI: 10.1371/journal.pone.0058990]
- 3 Kim JG. Molecular targeted therapy for advanced gastric cancer. *Korean J Intern Med* 2013; 28: 149-155 [PMID: 23525404 DOI: 10.3904/kjim.2013.28.2.149]
- 4 Zhou F, Li N, Jiang W, Hua Z, Xia L, Wei Q, Wang L. Prognosis significance of HER-2/neu overexpression/amplification in Chinese patients with curatively resected gastric cancer after the ToGA clinical trial. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 274 [PMID: 23249720 DOI: 10.1186/1477-7819-10-274]
- 5 Boers JE, Meeuwissen H, Methorst N. HER2 status in gastro-oesophageal adenocarcinomas assessed by two rabbit monoclonal antibodies (SP3 and 4B5) and two in situ hybridization methods (FISH and SISH). *Histopathology* 2011; 58: 383-394 [PMID: 21323962 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03760.x]
- 6 Kim SY, Kim HP, Kim YJ, Oh do Y, Im SA, Lee D, Jong HS, Kim TY, Bang YJ. Trastuzumab inhibits the growth of human gastric cancer cell lines with HER2 amplification synergistically with cisplatin. *Int J Oncol* 2008; 32: 89-95 [PMID: 18097546]
- 7 Gong SJ, Jin CJ, Rha SY, Chung HC. Growth inhibitory effects of trastuzumab and chemotherapeutic drugs in gastric cancer cell lines. *Cancer Lett* 2004; 214: 215-224 [PMID: 15363548 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.04.029]
- 8 Li XL, Yi SQ, Xu JM, Zhang Y, Yingying-Feng W, Song ST. The sequence-dependent cytotoxic effect of trastuzumab in combination with 5-Fluorouracil or cisplatin on gastric cancer cell lines. *Cancer Invest*

- 2010; 28: 1038-1047 [PMID: 20590442 DOI: 10.3109/07357907.2010.483512]
- 9 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 10 Peddi PF, Hurvitz SA. Trastuzumab emtansine: the first targeted chemotherapy for treatment of breast cancer. *Future Oncol* 2013; 9: 319-326 [PMID: 23469968 DOI: 10.2217/fon.13.7]
- 11 Hurvitz SA, Dirix L, Kocsis J, Bianchi GV, Lu J, Vinholes J, Guardino E, Song C, Tong B, Ng V, Chu YW, Perez EA. Phase II randomized study of trastuzumab emtansine versus trastuzumab plus docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1157-1163 [PMID: 23382472 DOI: 10.1200/JCO.2012.44.9694]
- 12 Sims AH, Zweemer AJ, Nagumo Y, Faratian D, Muir M, Dodds M, Um I, Kay C, Hasmann M, Harrison DJ, Langdon SP. Defining the molecular response to trastuzumab, pertuzumab and combination therapy in ovarian cancer. *Br J Cancer* 2012; 106: 1779-1789 [PMID: 22549178]
- 13 Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yorozu K, Furugaki K, Kurasawa M, Ohta M, Fujimoto-Ouchi K. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5060-5070 [PMID: 21700765 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2927]
- 14 Kim KC, Koh YW, Chang HM, Kim TH, Yook JH, Kim BS, Jang SJ, Park YS. Evaluation of HER2 protein expression in gastric carcinomas: comparative analysis of 1,414 cases of whole-tissue sections and 595 cases of tissue microarrays. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 2833-2840 [PMID: 21468783 DOI: 10.1245/s10434-011-1695-2]
- 15 Oh HS, Eom DW, Kang GH, Ahn YC, Lee SJ, Kim JH, Jang HJ, Kim EJ, Oh KH, Ahn HJ. Prognostic implications of EGFR and HER-2 alteration assessed by immunohistochemistry and silver in situ hybridization in gastric cancer patients following curative resection. *Gastric Cancer* 2013 Aug 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23955257 DOI: 10.1007/s10120-013-0288-0]
- 16 Lordick F, Kang YK, Chung HC, Salman P, Oh SC, Bodoky G, Kurteva G, Volovat C, Moiseyenko VM, Gorbunova V, Park JO, Sawaki A, Celik I, Götte H, Melezínková H, Moehler M. Capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer (EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 490-499 [PMID: 23594786 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70102-5]
- 17 Waddell T, Chau I, Cunningham D, Gonzalez D, Okines AF, Okines C, Wotherspoon A, Saffery C, Middleton G, Wadsley J, Ferry D, Mansoor W, Crosby T, Coxon F, Smith D, Waters J, Iveson T, Falk S, Slater S, Peckitt C, Barbachano Y. Epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without panitumumab for patients with previously untreated advanced oesophagogastric cancer (REAL3): a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 481-489 [PMID: 23594787 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70096-2]
- 18 Tateishi K, Ichiyama T, Hirai K, Agatsuma T, Koyama S, Hachiya T, Morozumi N, Shiina T, Koizumi T. Clinical outcomes in elderly patients administered gefitinib as first-line treatment in epidermal growth factor receptor-mutated non-small-cell lung cancer: retrospective analysis in a Nagano Lung Cancer Research Group study. *Med Oncol* 2013; 30: 450 [PMID: 23315220 DOI: 10.1007/s12032-012-0450-2]
- 19 Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6829-6837 [PMID: 15998907 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.0793]
- 20 Becker JC, Muller-Tidow C, Serve H, Domschke W, Pohle T. Role of receptor tyrosine kinases in gastric cancer: new targets for a selective therapy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3297-3305 [PMID: 16733844]
- 21 Wang WP, Wang KN, Gao Q, Chen LQ. Lack of EGFR mutations benefiting gefitinib treatment in adenocarcinoma of esophagogastric junction. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 14 [PMID: 22252115 DOI: 10.1186/1477-7819-10-14]
- 22 Cao WG, Ma T, Li JF, Li H, Ji YB, Chen XH, Liu BY, Jin YN. [Effect of gefitinib on radiosensitivity of gastric cancer cell lines]. *Ai Zheng* 2007; 26: 1330-1335 [PMID: 18076795]
- 23 Dragovich T, McCoy S, Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Benedetti JK, Baker AF, Hackett CB, Urba SG, Zaner KS, Blanke CD, Abbruzzese JL. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4922-4927 [PMID: 17050876 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.1316]
- 24 Wainberg ZA, Anghel A, Desai AJ, Ayala R, Luo T, Safran B, Fejzo MS, Hecht JR, Slamon DJ, Finn RS. Lapatinib, a dual EGFR and HER2 kinase inhibitor, selectively inhibits HER2-amplified human gastric cancer cells and is synergistic with trastuzumab in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1509-1519 [PMID: 20179222 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1112]
- 25 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976 [PMID: 21844504 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.2236]
- 26 Van Cutsem E, de Haas S, Kang YK, Ohtsu A, Tebbutt NC, Ming Xu J, Peng Yong W, Langer B, Delmar P, Scherer SJ, Shah MA. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2119-2127 [PMID: 22565005 DOI: 10.1200/JCO.2011.39.9824]
- 27 Sun W, Powell M, O'Dwyer PJ, Catalano P, Ansari

- RH, Benson AB. Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2947-2951 [PMID: 20458043 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.7988]
- 28 Reddy K. Phase III study of sunitinib malate (SU11248) versus interferon-alpha as first-line treatment in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2006; 5: 23-25 [PMID: 16859575]
- 29 Moehler M, Mueller A, Hartmann JT, Ebert MP, Al-Batran SE, Reimer P, Weihrauch M, Lordick F, Trarbach T, Biesterfeld S, Kabisch M, Wachtlin D, Galle PR. An open-label, multicentre biomarker-oriented AIO phase II trial of sunitinib for patients with chemo-refractory advanced gastric cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1511-1520 [PMID: 21561763 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.04.006]
- 30 Yi JH, Lee J, Lee J, Park SH, Park JO, Yim DS, Park YS, Lim HY, Kang WK. Randomised phase II trial of docetaxel and sunitinib in patients with metastatic gastric cancer who were previously treated with fluoropyrimidine and platinum. *Br J Cancer* 2012; 106: 1469-1474 [PMID: 22460270 DOI: 10.1038/bjc.2012.100]
- 31 Partyka R, Gonciarz M, Jałowiecki P, Kokocińska D, Byrczek T. VEGF and metalloproteinase 2 (MMP 2) expression in gastric cancer tissue. *Med Sci Monit* 2012; 18: BR130-BR134 [PMID: 22460086 DOI: 10.12659/MSM.882614]
- 32 Wu T, Li Y, Lu J, Qiao Q, Bao G, Wang N, He X, Du X. Increased MMP-21 expression is associated with poor overall survival of patients with gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 323 [PMID: 23275114 DOI: 10.1007/s12032-012-0323-8]
- 33 He L, Chu D, Li X, Zheng J, Liu S, Li J, Zhao Q, Ji G. Matrix metalloproteinase-14 is a negative prognostic marker for patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1264-1270 [PMID: 23314917 DOI: 10.1007/s10620-012-2513-9]
- 34 Zhang QW, Liu L, Chen R, Wei YQ, Li P, Shi HS, Zhao YW. Matrix metalloproteinase-9 as a prognostic factor in gastric cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2903-2908 [PMID: 22938481 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2903]
- 35 Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, Scholefield J, Tierney G, Stuart RC, Hawkins RE, McCulloch P, Maughan T, Brown PD, Baillet M, Fielding JW. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002; 86: 1864-1870 [PMID: 12085177 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600310]
- 36 Park MT, Lee SJ. Cell cycle and cancer. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 60-65 [PMID: 12542976 DOI: 10.5483/BMBRep.2003.36.1.060]
- 37 Schwartz GK, Ilson D, Saltz L, O'Reilly E, Tong W, Maslak P, Werner J, Perkins P, Stoltz M, Kelsen D. Phase II study of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol administered to patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1985-1992 [PMID: 11283131]
- 38 Motwani M, Rizzo C, Sirotinak F, She Y, Schwartz GK. Flavopiridol enhances the effect of docetaxel in vitro and in vivo in human gastric cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 549-555 [PMID: 12813134]
- 39 Motwani M, Delohery TM, Schwartz GK. Sequential dependent enhancement of caspase activation and apoptosis by flavopiridol on paclitaxel-treated human gastric and breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1876-1883 [PMID: 10430095]
- 40 Xu L, Qu XJ, Liu YP, Liu J, Zhang Y, Hou KZ, Jiang YH. [Cisplatin enhances TRAIL-induced apoptosis in gastric cancer cells through clustering death receptor 4 into lipid rafts]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2011; 33: 484-488 [PMID: 22093622]
- 41 Xu L, Qu X, Luo Y, Zhang Y, Liu J, Qu J, Zhang L, Liu Y. Epirubicin enhances TRAIL-induced apoptosis in gastric cancer cells by promoting death receptor clustering in lipid rafts. *Mol Med Rep* 2011; 4: 407-411 [PMID: 21468584 DOI: 10.3892/mmr.2011.439]
- 42 Shah MA, Power DG, Kindler HL, Holen KD, Kemeny MM, Ilson DH, Tang L, Capanu M, Wright JJ, Kelsen DP. A multicenter, phase II study of bortezomib (PS-341) in patients with unresectable or metastatic gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1475-1481 [PMID: 20574790 DOI: 10.1007/s10637-010-9474-7]
- 43 Oliner KS, Tang R, Anderson A, Lan Y, Iveson T, Donehower RC, Loh E. Evaluation of MET pathway biomarkers in a phase II study of rilotumumab (R, AMG 102) or placebo (P) in combination with epirubicin, cisplatin, and capecitabine (ECX) in patients (pts) with locally advanced or metastatic gastric (G) or esophagogastric junction (EGJ) cancer. *ASCO* 2012; 30 [Meeting Abstracts]
- 44 Doi T, Muro K, Boku N, Yamada Y, Nishina T, Takiuchi H, Komatsu Y, Hamamoto Y, Ohno N, Fujita Y, Robson M, Ohtsu A. Multicenter phase II study of everolimus in patients with previously treated metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1904-1910 [PMID: 20231677 DOI: 10.1200/JCO.2009.26.2923]
- 45 Ohtsu A, Ajani JA, Bai YX, Bang YJ, Chung HC, Pan HM, Salmoud T, Shen L, Yeh KH, Chin K, Muro K, Kim YH, Ferry D, Tebbutt NC, Al-Batran SE, Smith H, Costantini C, Rizvi S, Lebwohl D, Van Cutsem E. Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study. *J Clin Oncol* 2013; 31: 3935-3943 [PMID: 24043745 DOI: 10.1200/JCO.2012.48.3552]
- 46 Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, Osaki T, Ikeguchi M. Increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 517-522 [PMID: 23129549 DOI: 10.1002/jso.23281]
- 47 Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, Drake CG, Camacho LH, Kauh J, Odunsi K, Pitot HC, Hamid O, Bhatia S, Martins R, Eaton K, Chen S, Salay TM, Alaparthi S, Grosso JF, Korman AJ, Parker SM, Agrawal S, Goldberg SM, Pardoll DM, Gupta A, Wigginton JM. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2455-2465 [PMID: 22658128 DOI: 10.1056/NEJMoa1200694]
- 48 Wang J, Cui S, Zhang X, Wu Y, Tang H. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e62876 [PMID: 23638161 DOI: 10.1371/journal.pone.0062876]
- 49 Wainberg ZA, Anghel A, Rogers AM, Desai AJ, Kalous O, Conklin D, Ayala R, O'Brien NA, Quadt C, Akimov M, Slamon DJ, Finn RS. Inhibition of

- HSP90 with AUY922 induces synergy in HER2-amplified trastuzumab-resistant breast and gastric cancer. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 509-519 [PMID: 23395886 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0507]
- 50 Kim JG, Kang MJ, Yoon YK, Kim HP, Park J, Song SH, Han SW, Park JW, Kang GH, Kang KW, Oh do Y, Im SA, Bang YJ, Yi EC, Kim TY. Heterodimerization of glycosylated insulin-like growth factor-1 receptors and insulin receptors in cancer cells sensitive to anti-IGF1R antibody. *PLoS One* 2012; 7: e33322 [PMID: 22438913 DOI: 10.1371/journal.pone.0033322]
- 51 Ichinoe M, Mikami T, Yoshida T, Igawa I, Tsuruta T, Nakada N, Anzai N, Suzuki Y, Endou H, Okayasu I. High expression of L-type amino-acid transporter 1 (LAT1) in gastric carcinomas: comparison with non-cancerous lesions. *Pathol Int* 2011; 61: 281-289 [PMID: 21501294 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02650.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

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

血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用

周振华, 陈国栋, 杨林

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差特点。目前临床上缺乏对HCC早期诊断和治疗的有效标志物。MiRNA是真核生物中一类非编码小分子单链RNA, 广泛参与肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等, 是近年肿瘤研究的热点领域。而血清miRNA作为一种新兴的肿瘤标志物, 在HCC临床应用中的价值逐渐受到重视。

周振华, 陈国栋, 杨林, 南华大学附属第一医院普通外科 湖南省衡阳市 421001

周振华, 主要从事肝癌的临床与基础研究。

作者贡献分布: 本文综述由周振华完成; 由陈国栋与杨林审校。

通讯作者: 杨林, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市船山路69号, 南华大学附属第一医院普通外科。

yanglinsurgeon@163.com

电话: 0734-8578566

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-01-06

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-28

Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Lin Yang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, 69 Chuansan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yanglinsurgeon@163.com

Received: 2013-12-05 Revised: 2014-01-06

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-28

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors, with features of high malignancy, high mortality and poor prognosis. Most patients with HCC are diagnosed at late stages. One main reason is the lack of highly sensitive and specific molecular markers. MicroRNAs (miRNA) are a kind of small non-coding RNAs involved in posttranscriptional regulation in eukaryotes. They participate in many developmental and physiological processes, including growth, cell differentiation, proliferation and apoptosis. Since abnormal expression of miRNAs is closely related to HCC, serum miRNAs have appreciable value in early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in HCC.

■同行评议者

郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Serum miRNA; Hepatocellular carcinoma; Early diagnosis; Efficacy; Prognostic evaluation

Zhou ZH, Chen GD, Yang L. Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.782>

摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差等特点。HCC确诊时多数已处于晚期, 究其原因关键是缺乏高敏感性及特异性的早期诊断分子标志物。miRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 其对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等生命活动用重要的调节作用。而血清miRNA的异常表达与HCC密切相关, 其作为新兴的肿瘤分子标志物对于HCC的临床诊断、疗效监测及预后评估具有重要的应用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血清miRNA; 肝细胞癌; 早期诊断; 疗效监测; 预后评估

核心提示: 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述。MiRNA是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡具有重要的调节作用。研究证实miRNA在HCC患者血清中的异常表达, 提示其可作为一种新兴的肿瘤标志物应用于HCC早期诊断、疗效监测及预后评估。

周振华, 陈国栋, 杨林. 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6):

782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.782>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)位居世界恶性肿瘤第3位, 中国为全球肝癌发病率最高的国家, 占全球总发病率的一半^[1]. HCC患者的5年生存率很低(约7%), 并且术后转移和复发比例较高^[2-4]. 对于早期发现并接受肝肿瘤切除术的患者, 患者的5年生存率可提高到69%^[5,6]. 因此HCC在可切除的阶段被早期发现, 是提高HCC患者生存率的最好选择. 所以有必要积极寻找更早、更有效的与HCC相关的肿瘤标志物. Lee等^[7]于1993年利用遗传分析的方法在线虫中发现一个具有22个核苷酸的小分子非编码RNA, 命名为lin-4, 这种单链RNA通过碱基配对的方式结合到靶mRNA lin-14的3'末端非翻译区, 从而抑制lin-14的翻译, 但并不影响其转录. 2000年Reinhart等^[8]又发现了另一个类似的具有转录后调节功能的小分子RNA, 命名为let-7, 存在于不同的生物中, 统一将这一类非编码的小分子RNA命名为microRNA(miRNA). 近年来, miRNA逐渐成为肿瘤研究的热点, 相比于传统肿瘤标志物, miRNA表达异常出现的更早, 是一种更加快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物^[9-11]. Murakami等^[3]首次发现HCC血清中存在miRNA异常表达, 随后大量研究表明miRNA的表达异常与HCC的发生发展相关^[12-14]. 目前较多研究表明血清中的miRNA在HCC早期异常表达, 使得早期诊断HCC成为可能. 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述.

1 miRNA的合成及生物学功能

MiRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 在RNase III Drosase酶的作用下miRNA初级转录物(pri-miRNA)被剪切成长约65-70 nt、具有茎环结构的前体miRNA(pre-miRNA)^[15]. 然后pre-miRNA由另一种RNase III Dicer酶剪切成为20-25 nt的成熟miRNA(mature miRNA)^[16,17]. 成熟的miRNA与靶miRNA部分互补, 尤其是与3'UTR的碱基配对, 引起靶miRNA的降解或翻译抑制, 阻止蛋白质翻译, 从而在转录后水平调控靶基因的表达^[18]. 随后的研究表明, 每个miRNA可能调节数百个靶基因, 参与生命活动中众多的信

号转导途径, 在细胞个体发育、肿瘤的发生发展及血管生成等一系列过程中发挥作用^[19-24].

2 血清miRNA的研究现状

2.1 血清miRNA的来源 血清miRNA的来源目前仍未完全阐明, Zen等^[25]认为血清miRNA有3种主要来源途径: (1)如同激素和细胞因子一样, 细胞以游离的形式将miRNA分泌到细胞外; (2)miRNA以出胞的形式选择性的排出细胞外, 形成微粒; (3)miRNA以微泡的形式从细胞胞浆中脱落排出细胞. Valadi等^[26]研究发现, 成熟的miRNA通过形成外切酶体, 介导的细胞间miRNA的交换, 进入血液的外切酶体可经内吞作用, 释放出miRNA发挥生物学功能. Shen等^[27]和Ji等^[28]发现一些血清miRNA来源于组织. 当组织受到损伤的时候, 释放出miRNA进入血液中. Ranghino等^[29]研究发现血清miRNA可能来源于肿瘤, 实验证实将人类的前列腺肿瘤移植到小鼠的体内后, 在小鼠的血液中可检测到人类的miRNA.

2.2 血清miRNA的稳定性及检测方法 由于血清中存在大量的外切酶, miRNA加入血清中后会很快降解^[30]. 但是大量研究表明, 血清miRNA在不同的温度、不同pH、多次冻融后含量无明显变化^[31-34]. 因此, 血清中存在稳定miRNA. 这就为血清miRNA作为生物标志物进行检测提供了可能. 目前国内外检测血清miRNA的手段主要包括: (1)克隆测序检测法: 对于发现新的miRNA分子一般采用此方法^[35,36]; (2)RNA印迹杂交检测法: 主要包括Northern杂交和原位杂交^[37]; (3)芯片技术检测法^[38]: 目前基因芯片检测方法的重现性和准确性较差, 一般多用于初筛, 现在已经发展到第二代基因芯片技术, 即Solexa测序, 获得的结果需要采用RT-PCR进行验证^[31,39]. RT-PCR检测方法主要包括基于茎-环的RT-PCR方法(stem-loop RT-PCR)、基于polyA加尾的RT-PCR方法^[36,37]和实时定量或非半定量RT-PCR, 此法操作简便、快速、高效、敏感性高和特异性强, 是现在测定血清miRNA的常用方法.

3 HCC的早期诊断

血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)一直被作为HCC最常用的肿瘤标志物广泛应用于临床. 对于早期HCC, 血清AFP的敏感性: 39%-65%, 特异性: 76%-94%. 但有三分之一的早期HCC患者(肿瘤<3 cm)在血清AFP筛查中被漏诊^[40]. 而

■研究前沿

血清miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点. 其作为一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗是一个非常有用的工具.

■相关报道

相关研究表明循环中存在一部分miRNA与Ago2结合形成非囊泡型复合体,以Ago2-miRNA核糖体形式存在而具有较高的稳定性,提示miRNA/Ago2络合物可能是血浆miRNA稳定的一个机制。

B超在小肝癌诊断方面也存在明显的缺陷。其他肿瘤标志物及CT等影像检查进行筛查,由于其诊断特异性及敏感性不高,费用过于昂贵等原因,未能在HCC的早期诊断中广泛应用^[41]。因此迫切需要寻找新的标志物应用于HCC的早期诊断,而近年来较多研究表明,血清miRNA有可能在HCC的诊断中扮演这一重要角色。

4 血清miRNA与HCC的诊断

4.1 血清miRNA的单独诊断 Tomimaru等^[42]通过定量RT-PCR测定126例HCC患者,30例慢性肝炎患者和50例健康志愿者的血清miRNA-21水平,发现HCC患者血清中miRNA-21水平明显高于慢性肝炎患者和健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分HCC患者与慢性肝炎患者(对慢性肝炎AUC-ROC 0.773;敏感性61.1%,特异性83.3%);HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.953;敏感性87.3%,特异性92.0%),且两组值均优于AFP。Zhou等^[43]通过定量RT-PCR测定934例患者血清miRNA,发现miRNA(miR-122、miR-21、miR-223、miR-26a、miR-27a、miR-801)均可用于区分HCC患者、健康人群、慢性乙型肝炎患者以及肝硬化患者。Li等^[44]通过定量RT-PCR检测携带乙型肝炎病毒的HCC患者($n = 86$),慢性肝病患者(肝炎或肝硬化患者)($n = 30$),健康志愿者($n = 45$)的血清miRNA-18a的表达水平,发现血清miRNA-18a在携带乙型肝炎病毒的HCC患者中的表达水平明显高于慢性肝病患者与健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分携带乙型肝炎病毒的HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.881;敏感性86.1%,特异性75.0%)。携带乙型肝炎病毒的HCC患者与慢性肝病患者(对慢性肝病患者AUC-ROC 0.775,敏感性77.2%,特异性70.0%)。Qu等^[45]发现在HCC患者血清中miR-16表达显著降低,提示miR-16可作为HCC的早期诊断指标。Li等^[46]发现单独应用miR-375诊断HCC,特异性达到96%,敏感度达100%。越来越多的研究表明血清miRNA可用于HCC的诊断,且单独诊断的效能优于AFP。

4.2 血清miRNA的联合诊断 血清miR-15b和miR-130b在早期HCC患者检出率为97.8%,而相同条件下血清AFP检出率仅为48.9%^[47]。Li等^[46]发现在早期HCC患者中应用miR-25、miR-375、let-7f进行联合诊断时的特异性96%,

敏感性100%;而血清AFP的特异性76%-94%,敏感性39%-65%。因此,较多研究提示多个血清miRNA的联合诊断优于血清AFP。Qu等^[45]在血清miRNA与血清AFP、AFP-L3和血清DCP比较研究中发现:在HCC患者血清中miRNA-16和miRNA-196a表达明显低于正常人和慢性肝病患者表达。Borel等^[48]研究发现,血清miRNA-16与传统肿瘤标志物血清AFP、AFP-L3和血清DCP相比,血清miRNA-16对HCC的诊断更敏感,并指出miR-16、AFP、AFP-L3和DCP的联合诊断时为最佳选择,其特异性78.5%,敏感性92.4%。另外,Luo等^[49]发现联合运用血清miR-122a与AFP诊断HCC优于AFP的单独诊断。因此,血清miRNA与其他血清肿瘤标志物联合诊断时可大大提高诊断价值,其在临床应用的前景更广阔。

5 血清miRNA与HCC的疗效监测

最近的研究发现,血清中的某些miRNA的表达与HCC患者的疗效有潜在的相关性。Tomimaru等^[42]通过定量RT-PCR测定10例HCC患者行根治性切除术后和手术前血清中的miRNA-21的表达水平,发现术后血清miRNA-21的表达水平明显降低,说明miRNA-21可能成为HCC患者疗效监测的新的生物学标志物。Liu等^[47]对15个选定的HCC患者术前和术后血清样本中miRNA的测定发现,血清中miR-15b表达的平均水平从177.6下降至64.1,血清中miR-130b表达的平均水平从124.8下降至96.2,miRNA-15b和miR-130b明显降低。因此,提示血清中miRNA-15b和miR-130b可以监测HCC患者手术的疗效。

6 血清miRNA与HCC的预后评估

Zheng等^[50]通过定量RT-PCR技术发现:在HCC患者术后血清miR-17-5p的表达较术前显著下调,在复发患者中血清miR-17-5p的表达量较未复发患者明显升高。而且,血清中miR-17-5p的表达与肿瘤的转移状况和TNM分期有着明显相关性。更重要的是,HCC患者血清中miR-17-5p的高表达与患者生存率的缩短成正相关。单变量和多变量Cox回归分析表明,血清中的miR-17-5p的表达对患者的生存率是一个独立危险因素。因此,血清中miR-17-5p可以作为一种新型HCC预后指标。Li等^[51]通过定量RT-PCR技术对46例HCC患者和20例健康人血清中miR-221的表达与HCC患者的临床病理特征和预后相关性进行了评估,结果提示:血清中miR-221的高表达与

肿瘤大小、肝硬化程度和肿瘤分期成正相关。另外, Kaplan-Meier生存曲线分析显示: 血清中miR-221高表达组的生存率(27.6%), 明显低于血清中miR-221低表达组的生存率(62.3%, $P<0.05$)。因此, HCC血清中miR-221的上调, 能够为HCC患者的预后提供评估。Shigoka等^[52]发现HCC患者血浆中miR-92a表达低于正常对照组, 但是HCC患者手术后血浆miR-92a升高, 提示其可能作为HCC新的预后分子标志物。

7 结论

血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点。相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物。因此, 血清miRNA对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗效果是一个非常有用的工具。但是血清miRNA在HCC的临床应用中仍然存在局限性。首先, miRNA调控HCC的精确机制仍然不明确, 以及他们的作用靶点是什么仍需进一步研究。另外, 由于不同种族血清miRNA表达谱变异较大, 对于已经验证的不同种族的血清miRNA需要进行分类。最后, 个体间血清miRNA在HCC的不同时期的表达谱也不用一样, 探寻不同时期HCC患者血清miRNA表达谱的变化规律并阐明作用机制, 是将miRNA检测应用于HCC个体化诊断的关键问题。随着对血清miRNA作用机制研究的深入, 也将会使人们加深对血清miRNA与HCC之间生理生化关系的认识, 进而明确血清miRNA在HCC发生发展中的具体作用。所以可以相信血清miRNA将会在未来的HCC临床诊断、疗效检测、预后评估中拥有更美好的应用前景。

8 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855]
- Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 4989-5005 [PMID: 20639898 DOI: 10.1038/onc.2010.236]
- Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25: 2537-2545 [PMID: 16331254 DOI: 10.1038/sj.onc.1209283]
- Budhu A, Jia HL, Forgues M, Liu CG, Goldstein D, Lam A, Zanetti KA, Ye QH, Qin LX, Croce CM, Tang ZY, Wang XW. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 897-907 [PMID: 18176954 DOI: 10.1002/hep.22160]
- Yuen MF, Cheng CC, Laufer JJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330-335 [PMID: 10655254]
- Fukuda S, Itamoto T, Amano H, Kohashi T, Ohdan H, Tashiro H, Asahara T. Clinicopathologic features of hepatocellular carcinoma patients with compensated cirrhosis surviving more than 10 years after curative hepatectomy. *World J Surg* 2007; 31: 345-352 [PMID: 17219274 DOI: 10.1007/s00268-006-0513-7]
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]
- Hampton T. MicroRNAs linked to pancreatic cancer. *JAMA* 2007; 297: 937 [PMID: 17341695]
- Zhang L, Coukos G. MicroRNAs: a new insight into cancer genome. *Cell Cycle* 2006; 5: 2216-2219 [PMID: 17012848 DOI: 10.4161/cc.5.19.3319]
- O'Driscoll L. The emerging world of microRNAs. *Anticancer Res* 2006; 26: 4271-4278 [PMID: 17201144]
- Yao J, Liang L, Huang S, Ding J, Tan N, Zhao Y, Yan M, Ge C, Zhang Z, Chen T, Wan D, Yao M, Li J, Gu J, He X. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 846-856 [PMID: 20054866 DOI: 10.1002/hep.23443]
- Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH, Zhuang SM. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 836-845 [PMID: 20041405 DOI: 10.1002/hep.23380]
- Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, Lin CD, Liao YL, Wang JL, Chau YP, Hsu MT, Hsiao M, Huang HD, Tsou AP. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1571-1582 [PMID: 19296470 DOI: 10.1002/hep.22806]
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419 [PMID: 14508493 DOI: 10.1038/nature01957]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17: 3011-3016 [PMID: 14681208 DOI: 10.1101/gad.1158803]
- Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603023]
- Bethke A, Fielenbach N, Wang Z, Mangelsdorf DJ,

■创新盘点

本文总结了近年来血清miRNA在HCC临床应用中的新进展。对血清miRNA在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估等做了客观全面的分析, 相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 并展望其在HCC中良好应用前景。

■应用要点

发现一种在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估中高敏感性及特异性的血清miRNA指标,对提高HCC早期诊断价值和判断预后后有重要的应用价值。

- Antebi A. Nuclear hormone receptor regulation of microRNAs controls developmental progression. *Science* 2009; 324: 95-98 [PMID: 19342589 DOI: 10.1126/science.1164899]
- 20 Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009; 460: 529-533 [PMID: 19626115 DOI: 10.1038/nature08199]
- 21 Pfeffer S, Zavolan M, Grässer FA, Chien M, Russo JJ, Ju J, John B, Enright AJ, Marks D, Sander C, Tuschl T. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 2004; 304: 734-736 [PMID: 15118162 DOI: 10.1126/science.1096781]
- 22 Liu X, Liu L, Xu Q, Wu P, Zuo X, Ji A. MicroRNA as a novel drug target for cancer therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12: 573-580 [PMID: 22428844 DOI: 10.1517/14712598]
- 23 Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5848-5856 [PMID: 19884536 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.0317]
- 24 Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 219-230 [PMID: 18270516 DOI: 10.1038/nrm2347]
- 25 Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med Res Rev* 2012; 32: 326-348 [PMID: 22383180 DOI: 10.1002/med.20215]
- 26 Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 654-659 [PMID: 17486113 DOI: 10.1038/ncb1596]
- 27 Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, Guarnera M, Liao J, Chou A, Lu CL, Jiang Z, Fang H, Katz RL, Jiang F. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest* 2011; 91: 579-587 [PMID: 21116241 DOI: 10.1038/labinvest.2010.194]
- 28 Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem* 2009; 55: 1944-1949 [PMID: 19696117 DOI: 10.1373/clinchem.2009.125310]
- 29 Ranghino A, Cantaluppi V, Grange C, Vitillo L, Fop F, Biancone L, Deregibus MC, Tetta C, Segoloni GP, Camussi G. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles improve neovascularization in a murine model of hindlimb ischemia. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25: 75-85 [PMID: 22507320]
- 30 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- 31 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- 32 Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholak H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148 [PMID: 18773077 DOI: 10.1371/journal.pone.0003148]
- 33 Shih KK, Levine DA. Exosomal microRNAs step into the biomarker arena. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 1-2 [PMID: 18589207 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.05.020]
- 34 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]
- 35 Hafner M, Landgraf P, Ludwig J, Rice A, Ojo T, Lin C, Holoch D, Lim C, Tuschl T. Identification of microRNAs and other small regulatory RNAs using cDNA library sequencing. *Methods* 2008; 44: 3-12 [PMID: 18158127 DOI: 10.1016/j.ymeth.2007.09.009]
- 36 Fu H, Tie Y, Xu C, Zhang Z, Zhu J, Shi Y, Jiang H, Sun Z, Zheng X. Identification of human fetal liver miRNAs by a novel method. *FEBS Lett* 2005; 579: 3849-3854 [PMID: 15978578 DOI: 10.1016/j.febslet.2005.05.064]
- 37 Pall GS, Hamilton AJ. Improved northern blot method for enhanced detection of small RNA. *Nat Protoc* 2008; 3: 1077-1084 [PMID: 18536652 DOI: 10.1038/nprot.2008.67]
- 38 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Seignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942]
- 39 Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]
- 40 Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 273-278 [PMID: 9425947]
- 41 吴孟超. 原发性肝癌的诊断及治疗进展. 中国医学科学院学报 2008; 30: 363-365.
- 42 Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Tomokuni A, Takemasa I, Umeshita K, Kanto T, Doki Y, Mori M. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 167-175 [PMID: 21749846 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.026]
- 43 Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- 44 Li L, Guo Z, Wang J, Mao Y, Gao Q. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2910-2916 [PMID: 22865399 DOI: 10.1007/s10620-012-2317-y]

- 45 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 46 Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 9798-9807 [PMID: 21098710 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1001]
- 47 Liu AM, Yao TJ, Wang W, Wong KF, Lee NP, Fan ST, Poon RT, Gao C, Luk JM. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *BMJ Open* 2012; 2: e000825 [PMID: 22403344 DOI: 10.1136/bmjopen-2012-000825]
- 48 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]
- 49 Luo J, Chen M, Huang H, Yuan T, Zhang M, Zhang K, Deng S. Circulating microRNA-122a as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Oncotargets Ther* 2013; 6: 577-583 [PMID: 23723713 DOI: 10.2147/OTT.S44215]
- 50 Zheng J, Dong P, Gao S, Wang N, Yu F. High expression of serum miR-17-5p associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 549-552 [PMID: 23108086]
- 51 Li J, Wang Y, Yu W, Chen J, Luo J. Expression of serum miR-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406: 70-73 [PMID: 21295551 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.111]
- 52 Shigoka M, Tsuchida A, Matsudo T, Nagakawa Y, Saito H, Suzuki Y, Aoki T, Murakami Y, Toyoda H, Kumada T, Bartenschlager R, Kato N, Ikeda M, Takashina T, Tanaka M, Suzuki R, Oikawa K, Takanashi M, Kuroda M. Deregulation of miR-92a expression is implicated in hepatocellular carcinoma development. *Pathol Int* 2010; 60: 351-357 [PMID: 20518884 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2010.02526.x]

同行评价

本文就目前血清miRNA作为标志物在HCC临床应用方面作了一综述,展示了miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的潜能,具有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制

刘彬彬, 孔 静, 吴硕东, 王 玉

■背景资料

胆小管内胆汁分泌的输出泵主要是胆汁酸盐输出泵, 其对维持胆汁酸盐的肝肠循环等生理功能具有重要作用。这种蛋白表达异常是临床上多种胆汁淤积性疾病的根本原因。同时, 胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)是*Lith 1*最可能的候选基因, 是可能诱发胆石病重要因素。目前对BSEP的表达的调节机制已成为一项重要的课题。

刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科 辽宁省沈阳市 110000

刘彬彬, 硕士, 主要从事胆石成因的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81100313

辽宁省博士启动基金资助项目, No. 201111105

作者贡献分布: 本文由刘彬彬与王玉完成; 孔静与吴硕东审校。

通讯作者: 孔静, 副教授, 110000, 辽宁省沈阳市和平区三好街, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科。

kongjing1998@163.com

收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-28

Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation

Bin-Bin Liu, Jing Kong, Shuo-Dong Wu, Yu Wang

Bin-Bin Liu, Jing Kong, Shuo-Dong Wu, Yu Wang, Department of Biliary Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81100313; Dr Foundation-Funded Project in Liaoning Province, No. 20111105

Correspondence to: Jing Kong, Associate Professor, Department of Biliary Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. kongjing1998@163.com

Received: 2013-10-11 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-28

Abstract

Bile salt export pump (BSEP), a member of ATP binding cassette (ABC), is responsible for transporting bile salt and is located on cholangiole lateral membrane. In humans, BSEP defects can lead to different types of cholestatic diseases, including hereditary or acquired liver diseases. In addition, BSEP is the most likely candidate gene for *Lith1* stone. The bile salt plays an important role in many physiological and pathophysiological processes, and the scientific community has attached great importance to the research on the regulatory mechanism of the expression of BSEP. This paper summarizes the research related to transcriptional regulation of BSEP, and expression or functional changes of BSEP on cholangiole lateral membrane caused by in-

tracellular transport changes, including intracellular endoplasmic reticulum and cell membrane ubiquitination-protease mediated protein degradation, short-term phosphorylation of BSEP, glycosylation, ubiquitination, and the regulatory effect of cholangiole lateral membrane-associated proteins.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile salt export pump; Farnesoid X receptor; Caveolin-1; HAX-1; Intracellular regulation

Liu BB, Kong J, Wu SD, Wang Y. Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 788-794 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/788.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.788>

摘要

胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)是ATP结合盒超家族蛋白(ATP binding cassette, ABC)的一员, 负责转运胆汁酸盐, 并定位于肝细胞胆小管侧膜。在人类, BSEP缺陷可导致多种不同的胆汁淤积性疾病, 包括遗传性肝病或获得性肝病。同时, BSEP也是*Lith1*致石基因的最可能的候选基因。由于胆汁酸盐在许多生理及病理生理过程中均有重要作用, 科学界对BSEP表达的调节机制的研究非常重视。本文对BSEP的转录调节及细胞内运输改变所致BSEP在胆小管侧膜的表达功能改变, 包括细胞内内质网以及细胞膜泛素化-蛋白酶介导的蛋白降解, BSEP的短期磷酸化、糖基化、泛素化及胆小管侧膜相关蛋白对BSEP的调节等相关研究进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆汁酸盐输出泵; 法尼酯衍生物X受体; 小窝蛋白; HAX-1; 细胞内调控

核心提示: 胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中, 其从高尔基体向胆小管侧膜之

■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外科

间存在一个转运过程,但相关的调节因素及机制仍有待于我们一步研究,本文章结合既往的研究,对可能参与该调控机制的相关因素(糖基化、磷酸化、泛素化、小窝蛋白及HAX-1)进行综述,阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制,为进一步研究提供方向。

刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉. 胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 788-794
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/788.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.788>

0 引言

肝脏最重要的功能是产生及分泌胆汁,胆汁是肠道消化和吸收脂类必不可少的重要分泌物,是循环清除和分泌毒素、致癌物、药物、内源性化合物及代谢产物的重要途径^[1].负责胆小管内胆汁分泌的输出泵主要是胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP),他属于ATP结合盒超家族蛋白(ATP binding cassette, ABC),是组成人类基因中最大的转运蛋白家族,其对维持胆汁酸盐的肝肠循环等生理功能具有重要作用^[2].这种蛋白表达异常是临床上多种胆汁淤积性疾病的根本原因^[3].王召华等在大鼠缺血/再灌注性胆汁淤积的实验中证实,BSEP表达降低直接影响了胆汁酸的转运与分泌,改变胆汁流,导致胆汁淤积性肝病的发生^[4,5].同时,在1995年,Khanuja等报道了第1个小鼠致石基因*Lith1*,定位于小鼠2号染色体,遗传标记D2Mit44, LOD(Log odds score)值为4.6.在该基因区域和胆石病有关的可能候选基因包括Megalin(Gp330)和BSEP,由于Gp330在肝细胞不表达,无法直接参与肝脏脂质代谢调节,因此BSEP是*Lith1*最可能的候选基因^[6,7].目前BSEP的表达的调节已成为一项重要的课题.本文通过对BSEP在细胞内质网及细胞膜的泛素化-蛋白酶介导的蛋白降解,短期磷酸化、糖基化及胆小管侧膜相关蛋白对其运输调节等方面研究进行总结,进而阐述了BSEP转录及可能参与细胞内调节的分子机制,为进一步揭示相关疾病病因,改善临床治疗方法提供依据.

1 BSEP的发现、结构及功能

1995年Childs及其同事用多耐药基因的一个探针序列从猪的cDNA库中克隆了部分基因,为糖蛋白姐妹蛋白(sister P-glycoprotein, SPGP),其同源蛋白也称为BSEP^[6].BSEP具有底物特异

性,体外转染实验证明,BSEP具有转运胆汁酸盐的功能.用小鼠或大鼠BSEP基因转染到SF9昆虫细胞后^[6],SF9细胞介导牛磺酸转运较未转染细胞升高,且与鼠胆小管侧膜ATP依赖性的跨膜转运具有相似性^[8,9].韩天权等^[7]在研究PFIC2患者时,定位并克隆人类BSEP的基因序列,其mRNA在肝细胞胆小管侧膜特异性表达.BSEP基因,也称*ABCB11*基因,位于人类第2条染色体长臂上2q24-31,其编码的蛋白叫ABCB11蛋白,也称BSEP^[6].BSEP是ABC转运蛋白超家族B族的成员之一,BSEP包含1321个氨基酸,分子量是160 kDa^[10-12].拓扑学显示其是串联复式结构,分子的一半含有6个预测的跨膜区域(transmembrane domain, TMD),一个大的胞质核苷酸结合域(nucleotide binding domain, NBD)^[13],按TMD-NBD-TMD-NBD的形式排列.第一个细胞外环是N-糖基化环^[14],有利于BSEP的稳定、运输及膜表达.连结域包括75个氨基酸,连接分为两部分存在的同源性启动蛋白(肌球蛋白II)以及细胞骨架相关蛋白(HAX-1),他们在BSEP分泌及胞吞途径中起作用^[14,15].BSEP介导一价结合胆汁酸分泌,顺序为牛磺鹅脱氧胆酸>牛磺胆酸>牛磺熊脱氧胆酸>甘氨酸胆酸^[6].结合型胆汁酸盐不仅仅作为BSEP转运的底物,并且可以激活其ATP活性.ATP活性区域的底物修饰对于ABC转运泵具有特异性.另外,为了调节BSEP的内在ATP活性,胆汁酸盐即可作为核受体的配体诱导BSEP mRNA的表达,也可作为胆汁酸受体的信号分子介导BSEP在肝细胞定位的动态调节^[16-18].

2 BSEP的转录调节

BSEP基因表达调节是由多因素参与,其中包括核受体、维生素A及转录因子NF-E2相关因子2(NF-E2-related factor 2)等因素,但主要是通过核受体调节,既往研究表明在人类及啮齿类动物中核受体为法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR),是核受体超家族成员之一,为配体依赖的转录因子.核受体需要与相应配体结合后才能活化或抑制靶基因的表达.近年来发现他是内源性胆汁酸的感应器,生理浓度的鹅脱氧胆酸、石胆酸、脱氧胆酸均能激活FXR,其中鹅脱氧胆酸为最有力的激活体,故又称为胆汁酸受体^[19-26].FXR的生理功能是通过靶基因的调控来实现的,其功能为:(1)在胆汁酸的激活下,阻遏编码胆固醇7 α 羟化酶(cholesterol 7 α hydroxylase, CYP7A1)的基因转录,而CYP7A1是

■ 研发前沿

BSEP在细胞内及膜表达调控机制是由多种因素参与,初步研究表明,糖基化、磷酸化及泛素化等蛋白可能参与BSEP翻译后在细胞内调控及转运,并与小窝蛋白及HAX-1共同参与其在胆小管侧膜表达的调节.

■相关报道

Kipp等学者的相关研究提出了, BSEP在肝细胞内表达后存在一个储存及转运的过程, 但相关的调节因素及机制仍有待于我们进一步研究, 本文结合既往的研究, 对可能参与该调控机制的相关因素进行综述, 阐述相关疾病的在细胞及膜水平可能出现病理调节机制, 提供研究方向, 为相关疾病治疗提供新的靶点.

合成胆汁酸的限速酶, 结果使胆汁酸生成减少; (2)激活编码回肠胆汁酸结合蛋白(ideal bile acid binding protein, I-BABP)的基因, 胆汁酸结合蛋白在回肠结合胆酸, 从而抑制胆汁酸在回肠的重吸收; (3)促进有机阴离子转运多肽8(organic anion transporting polypeptide, *OATP8*)基因的表达, 增加非结合型胆盐和有机阴离子在肝窦基侧膜的摄入^[27-33]. 克隆人的*BSEP*基因发现, 其启动子区含有反转重复顺序IR-1(FXR反应元件), 它具有FXR的结合位点. 许多研究证实在胆酸的激活下, 通过FXR/RXR异二聚体与*BSEP*启动子区的IR-1结合来调节基因的转录^[34-36]. 用虫荧光素酶受体基因分析发现, FXR/RXR、胆盐都以浓度依赖的方式调节*BSEP*基因启动子. 这也同时说明胆汁酸即是FXR的受体, 也可以通过其自身负反馈调节来调控*BSEP*的转录. 不论是应用内源性FXR激动剂还是外源性FXR激动剂, 均可以诱导细胞系及动物模型中*BSEP*的mRNA及蛋白表达. 而在FXR^{-/-}鼠中, *BSEP*的基础表达水平显著下降, 并且不能被胆汁酸诱导^[37]. 随着相关研究不断深入, 核受体对*BSEP*调节有望成为治疗胆汁淤积、胆囊结石及高胆固醇血症等疾病靶点, 为相关疾病治疗提供了新的方向.

3 BSEP在细胞内调控分子机制

随着BSEP在细胞内及膜表达调控机制研究不断深入, 证明其调控机制是由多种因素参与, 但具体机制仍有待于进一步研究, 本文则对最有可能参与调控因素进行综述. 在脉冲追踪实验显示, BSEP直接从高尔基体, 向胆小管侧膜移动, 这个过程需要数小时. 在这段时间内, BSEP存在于高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中. 当需要时, 胞质内BSEP池中的BSEP可以很快的向胆小管侧膜运输, 以增加转运能力(例如: 在进餐期间对于胆道分泌胆汁酸盐的需要增加等). 肝细胞内BSEP储存库很大, 据估计是胆小管侧膜6倍^[38]. 通过这个储藏库与胆小管侧膜顶端的循环, 可以维持肝脏BSEP的代谢半衰期为5 d. 早期关于鼠的肝细胞的免疫电镜术研究也发现BSEP除了定位于胆小管侧膜上, 同时在近顶点的囊泡中亦有表达, 将BSEP用黄色的荧光蛋白标记并转染到WIFB9细胞中, 可以观察到其在胆小管侧膜与Rab11蛋白阳性内含体之间循环^[39,40]. 初步研究表明, 在快速的循环运输过程中, BSEP可能通过糖基化、磷酸化及泛素化等蛋白翻译后的修饰作用避免被降解, 并与小窝蛋白及HAX-1

共同参与其在细胞内转运及在胆小管侧膜表达的调节.

3.1 糖基化的作用 蛋白质糖基化修饰是最重要的蛋白质翻译后修饰之一, 蛋白质功能的实现多与糖基化修饰密切相关. 糖基化对于蛋白质的折叠、运输、定位起着重要作用, 并参与受体激活、信号转导等诸多重要的生物进程^[41]. 在鼠的BSEP中, 第一个细胞外的环是N-糖基化环^[14], 位于4个天冬氨酸残基处. Mochizuki等^[14]研究显示, 鼠的BSEP需要他的其中两个N-连接的葡聚糖来维持其蛋白的稳定性、细胞内运输以及功能活性. 在人类的BSEP中同样存在相似的天冬氨酸残基, 尽管他们的具体功能还不清楚, 但可以预测, 人的BSEP突变导致糖基化缺陷将产生变异的蛋白, 这种变异的蛋白将自限在内质网中, 并被直接转运进蛋白酶体中降解, 而不是在胆小管侧膜上发挥作用^[42-44].

3.2 磷酸化的作用 蛋白质磷酸化是最常见、最重要的一种蛋白质翻译后修饰方式, 他参与和调控生物体内的许多生命活动. 蛋白质氨基酸侧链加入带有强负电的磷酸基团, 发生酯化作用, 会改变蛋白质的构型、活性及与其他分子相互作用的能力. 通过蛋白质的磷酸化与去磷酸化, 可以调控信号转导、基因表达、细胞周期等诸多细胞过程^[45,46]. 既往实验表明, 牛黄脱氧胆酸处理鼠的肝细胞及HepG2细胞后, 可活化丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs), 促进BSEP从高尔基体到胆小管侧膜的运输^[47]. 另外, 在雌二醇17 β -D-葡萄糖苷酸(estradiol 17 β -D-glucuronide, E217G)诱导的胆汁淤积模型中发现^[48], 肝细胞胆小管侧膜BSEP表达减少, BSEP重新分布在胞内近顶点的囊泡中, [3H]牛磺胆酸分泌显著降低, 同时伴随着PKC α 易位到胆小管侧膜, PKC α 抑制剂GÖ6976能消除这种作用. 说明小鼠的BSEP可能在PKC α 作用下发生磷酸化, 从而影响BSEP内在的ATP酶活性. 但PKC激动剂在细胞内的作用靶点还不清楚, 具体调控机制仍有待于进一步研究及证明^[49,50].

3.3 泛素化的作用 泛素-蛋白酶体途径是调节蛋白质降解与功能的重要系统, 参与来自真核细胞的内质网、细胞表面的受体、通道、以及转运泵的降解^[51,52]. Hayashi等^[53]研究显示, 短链泛素修饰后的BSEP在MDCK2细胞膜上停留时间缩短. 此外, 他们还发现胆小管侧膜BSEP免疫沉淀与短链泛素化有关. 这些结果表明, 泛素化参

与BSEP膜表达过程中的相关质量控制, 并介导折叠错误或短缩的BSEP蛋白的降解^[54-56]. 王等研究首次发现, 特异的E3泛素连接酶参与BSEP的降解, E3泛素连接酶过表达导致BSEP发生突变并高度泛素化, 被蛋白酶很快降解, 导致其半衰期与野生型的蛋白相比明显缩短^[44], 这项研究显示, 通过抑制关键的E3泛素连接酶来稳定BSEP蛋白, 可能是一种新的治疗途径.

3.4 细胞骨架相关蛋白 BSEP在胆小管侧膜特定的微环境中表达, 其在内含体与胆小管侧膜间定向运输被高度调节. 尽管控制BSEP回收及靶向作用的分子元件还不清楚, 但网格蛋白介导胞吞的机械装置可能参与其中. 这些网格蛋白相关的元件之一为HAX-1(HS1-associated protein X-1, HS1相关蛋白X-1), *HAX-1*基因位于1q21.3, 是一种由279个氨基酸组成的蛋白质, 分子量35 kDa^[57]. 肝细胞中HAX-1主要分布于网格蛋白被膜小泡和内质网中, 仅微量出现于高尔基体及溶酶体中. Ortiz等^[15]研究发现 BSEP可与HAX-1结合, 并在酵母-2-杂交试验中鉴定HAX-1为BSEP的潜在配体. Hax-1对BSEP胞吞的调节可能是通过与肌动蛋白(cortactin)结合相互作用来完成的. 同样的研究显示, MDCK2细胞中Hax-1蛋白减少将导致BSEP在胞膜上的表达增加两倍. 另外, 去除其他关键网格蛋白, 可以通过增强显性抑制结构使顶端膜BSEP表达呈现稳定状态. 这些研究显示, 网格蛋白介导胞吞作用可能参与BSEP的细胞内摄取以及顶端膜的循环中^[15].

3.5 小窝蛋白 小窝蛋白1(caveolin-1, Cav-1)是细胞膜内陷形成的小窝(caveolae)的重要结构蛋白. Cav-1几乎存在于所有细胞类型中, 但在脂肪细胞、内皮细胞等Caveolae丰富的细胞中有较高表达. Cav-1主要存在于细胞膜, 也存在于线粒体和脂滴等细胞器、细胞质及细胞外基质等. 从功能上看, Cav-1不仅在胞吞、细胞转运、细胞信号转导中起着重要作用, 还在细胞黏附、细胞内胆固醇运输、脂质代谢中发挥作用^[58,59]. Cav-1在正常肝脏组织中很少, 在肝脏疾病状态下表达有所改变, 提示Cav-1的表达及功能变化与肝脏疾病的发生发展有一定的联系^[60,61]. 最近的研究显示在鼠的肝脏胆小管侧膜中BSEP存在富含CAV-1的微域内, 但是Cav-1及Caveolae在BSEP运输及信号传导方面的作用还不十分清楚. 但相关研究发现, Cav-1有助于稳定膜蛋白, 避免胆汁酸盐对膜蛋白的侵蚀. 同时, BSEP的转

运功能依赖于小管膜的胆固醇水平, 因此Cav-1可能通过改变细胞膜的稳定性及脂质环境影响BSEP的功能^[62,63]. Moren等在Cav-1对肝细胞胆小管侧膜BSEP转运功能影响的实验中发现, 将重组人Cav-1的腺病毒转染大鼠后, 大鼠肝细胞胆小管侧膜Cav-1蛋白表达增加, BSEP转运牛磺胆酸的速度明显增快, 胆汁酸分泌及其驱动的胆汁流显著增加. Cav-1缺乏可能使小管膜稳定性下降及周围脂质环境的改变, 导致BSEP作用下降, 进而造成胆汁淤积, 诱发相关疾病^[62]. 以上5种调节因素的具体调控机制有待于进一步研究, 但其对BSEP翻译表达后细胞内运输及胆小管侧膜表达调节, 可为我们阐述相关疾病的在细胞及膜水平可能出现病理机制, 提供研究方向, 为相关疾病治疗提供新的靶点.

4 结论

从1995年开始发现BSEP是肝细胞胆小管侧膜胆汁酸盐输出泵以来, 其参与胆汁淤积性肝病及胆结石形成过程中的关键作用已经有了很多研究及发现, 逐渐打开了与其相关疾病的病理机制, 为了临床治疗及改善疾病的愈后提供帮助, 但仍需进一步研究和阐明BSEP在胆小管侧膜的表达及调节的生理机制及其在胆汁淤积疾病中的相关作用. 通过进行BSEP在自然环境中的细胞内运输对比研究, 越来越多的证据表明转运蛋白与胆小管侧膜结构之间是相互影响, 可以相互改变其的活性. 我们也理解了BSEP在转录后, 移动到细胞膜或从细胞膜离开行程中是需要元件的参与, 其元件参与的调节分子机制, 已逐渐清楚, 其运输机制的改变, 导致胆小管侧膜表面的转运泵减少, 是胆汁淤积疾病的共性. 但与其相关的分子机制还不是十分清楚, 还仍需要我们进一步研究和探讨.

5 参考文献

- 1 王火平, 舒明. BSEP蛋白表达及调控与胆汁淤积的关系. 医学综述 2012; 18: 967-969
- 2 Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res* 2001; 11: 1156-1166 [PMID: 11435397]
- 3 Hofmann AF, Hagey LR. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 2461-2483 [PMID: 18488143 DOI: 10.1007/s00018-008-7568-6]
- 4 王召华, 钱叶本. 大鼠肝脏缺血再灌注损伤后胆汁酸转运体BSEP与MRP2的表达及意义. 肝胆外科杂志 2011; 19: 136-140
- 5 王安红, 刘路, 周昆. 胆汁淤积与胆汁酸转运蛋白关系的研究进展. 医学综述 2013; 19: 16-18
- 6 冯俊, 夏先明, 李波. ABCB11基因在肝胆疾病中的研

■创新盘点

BSEP储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中, 其从高尔基体向胆小管侧膜之间存在一个转运过程, 在该过程中, 可能通过糖基化, 磷酸化及泛素化等蛋白翻译后的修饰作用避免被降解, 并与小窝蛋白及HAX-1共同参与其在细胞内转运及在胆小管侧膜表达的调节.

■应用要点

- BSEP储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中,其从高尔基体向胆小管侧膜之间存在一个转运过程,但相关的调节因素及机制仍有待于我们一步研究,本文章结合既往的研究,对可能参与该调控机制的相关因素(糖基化、磷酸化、泛素化、小窝蛋白及HAX-1)进行综述,阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制,为进一步研究提供方向.
- 7 韩天权, 姜翀弋, 蒋兆彦, 张圣道. 对胆固醇结石病LITH基因的探索. *中国现代普通外科进展* 2007; 10: 101-103
 - 8 Hagenbuch B, Adler ID, Schmid TE. Molecular cloning and functional characterization of the mouse organic-anion-transporting polypeptide 1 (Oatp1) and mapping of the gene to chromosome X. *Biochem J* 2000; 345 Pt 1: 115-120 [PMID: 10600646 DOI: 10.1042/0264-6021]
 - 9 Alonso M, Reyes G, Galera MJ, Allende L. [Hemoperitoneum caused by spontaneous rupture of hepatocarcinoma. Apropos of 8 cases]. *J Chir (Paris)* 1991; 128: 130-132 [PMID: 1647401]
 - 10 Stieger B, Meier Y, Meier PJ. The bile salt export pump. *Pflugers Arch* 2007; 453: 611-620 [PMID: 17051391 DOI: 10.1007/s00424-006-0152-8]
 - 11 Oude Elferink RP, Paulusma CC. Function and pathophysiological importance of ABCB4 (MDR3 P-glycoprotein). *Pflugers Arch* 2007; 453: 601-610 [PMID: 16622704 DOI: 10.1007/s00424-006-0062-9]
 - 12 van Kuijk MA, Kool M, Merks GF, Geurts van Kessel A, Bindels RJ, Deen PM, van Os CH. Assignment of the canalicular multispecific organic anion transporter gene (CMOAT) to human chromosome 10q24 and mouse chromosome 19D2 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 77: 285-287 [PMID: 9284939 DOI: 10.1159/000134599]
 - 13 Chan W, Calderon G, Swift AL, Moseley J, Li S, Hosoya H, Arias IM, Ortiz DF. Myosin II regulatory light chain is required for trafficking of bile salt export protein to the apical membrane in Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 23741-23747 [PMID: 15826951 DOI: 10.1074/jbc.M502767200]
 - 14 Mochizuki K, Kagawa T, Numari A, Harris MJ, Itoh J, Watanabe N, Mine T, Arias IM. Two N-linked glycans are required to maintain the transport activity of the bile salt export pump (ABCB11) in MDCK II cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G818-G828 [PMID: 17082223 DOI: 10.1152/ajpgi.00415.2006.]
 - 15 Ortiz DF, Moseley J, Calderon G, Swift AL, Li S, Arias IM. Identification of HAX-1 as a protein that binds bile salt export protein and regulates its abundance in the apical membrane of Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 32761-32770 [PMID: 15159385 DOI: 10.1074/jbc.M404337200]
 - 16 Noé J, Stieger B, Meier PJ. Functional expression of the canalicular bile salt export pump of human liver. *Gastroenterology* 2002; 123: 1659-1666 [PMID: 12404240 DOI: 10.1053/gast.2002.36587]
 - 17 Byrne JA, Strautnieks SS, Mieli-Vergani G, Higgins CF, Linton KJ, Thompson RJ. The human bile salt export pump: characterization of substrate specificity and identification of inhibitors. *Gastroenterology* 2002; 123: 1649-1658 [PMID: 12404239 DOI: 10.1053/gast.2002.36591]
 - 18 Green RM, Hoda F, Ward KL. Molecular cloning and characterization of the murine bile salt export pump. *Gene* 2000; 241: 117-123 [PMID: 10607905 DOI: 10.1016/S0378-1119(99)00460-6]
 - 19 Crawley ML. Farnesoid X receptor modulators: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2010; 20: 1047-1057 [PMID: 20569093 DOI: 10.1517/13543776.2010.496777]
 - 20 Kuipers F, Stroeve JH, Caron S, Staels B. Bile acids, farnesoid X receptor, atherosclerosis and metabolic control. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 289-297 [PMID: 17495603 DOI: 10.1097/MOL.0b013e3281338d08]
 - 21 Martin IV, Schmitt J, Minkenberg A, Mertens JC, Stieger B, Mülhaupt B, Geier A. Bile acid retention and activation of endogenous hepatic farnesoid-X-receptor in the pathogenesis of fatty liver disease in ob/ob-mice. *Biol Chem* 2010; 391: 1441-1449 [PMID: 20868235 DOI: 10.1515/bc.2010.141]
 - 22 Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev* 2009; 89: 147-191 [PMID: 19126757 DOI: 10.1152/physrev.00010.2008]
 - 23 Zheng ZH, Lv GP, Si SY, Dong YS, Zhao BH, Zhang H, He JG. A cell-based high-throughput screening assay for Farnesoid X receptor agonists. *Biomed Environ Sci* 2007; 20: 465-469 [PMID: 18348404]
 - 24 Kovacs P, Kress R, Rocha J, Kurtz U, Miquel JF, Nervi F, Méndez-Sánchez N, Uribe M, Bock HH, Schirin-Sokhan R, Stumvoll M, Mössner J, Lammert F, Wittenburg H. Variation of the gene encoding the nuclear bile salt receptor FXR and gallstone susceptibility in mice and humans. *J Hepatol* 2008; 48: 116-124 [PMID: 17931734 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.07.027]
 - 25 Murakami T, Walczak R, Caron S, Duhem C, Vidal V, Dartail R, Staels B. The farnesoid X receptor induces fetuin-B gene expression in human hepatocytes. *Biochem J* 2007; 407: 461-469 [PMID: 17655523 DOI: 10.1042/BJ20070658]
 - 26 Chen F, Ellis E, Strom SC, Shneider BL. ATPase Class I Type 8B Member 1 and protein kinase C zeta induce the expression of the canalicular bile salt export pump in human hepatocytes. *Pediatr Res* 2010; 67: 183-187 [PMID: 19809379 DOI: 10.1203/PDR.0b013e3181c2df16]
 - 27 Wang YD, Chen WD, Huang W. FXR, a target for different diseases. *Histol Histopathol* 2008; 23: 621-627 [PMID: 18283647]
 - 28 Fiorucci S, Rizzo G, Donini A, Distrutti E, Santucci L. Targeting farnesoid X receptor for liver and metabolic disorders. *Trends Mol Med* 2007; 13: 298-309 [PMID: 17588816 DOI: 10.1016/j.molmed.2007.06.001]
 - 29 Lou G, Li Y, Chen B, Chen M, Chen J, Liao R, Zhang Y, Wang Y, Zhou D. Functional analysis on the 5'-flanking region of human FXR gene in HepG2 cells. *Gene* 2007; 396: 358-368 [PMID: 17507182 DOI: 10.1016/j.gene.2007.04.011]
 - 30 Claudel T, Staels B, Kuipers F. The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2020-2030 [PMID: 16037564 DOI: 10.1161/01.ATV.0000178994.21828.a7]
 - 31 Gonzales E, Gerhardt MF, Fabre M, Setchell KD, Davit-Spraul A, Vincent I, Heubi JE, Bernard O, Jacquemin E. Oral cholic acid for hereditary defects of primary bile acid synthesis: a safe and effective long-term therapy. *Gastroenterology* 2009; 137: 1310-1320. e1-e3 [PMID: 19622360 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.043]
 - 32 Fischler B, Bodin K, Stjernman H, Olin M, Hansson M, Sjövall J, Björkhem I. Cholestatic liver disease in adults may be due to an inherited defect in bile acid biosynthesis. *J Intern Med* 2007; 262: 254-262 [PMID: 17645593 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2007.01814.x]
 - 33 Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S. Antiatherosclerotic effect of farnesoid X receptor. *Am*

- J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H272-H281 [PMID: 19028791 DOI: 10.1152/ajpheart.01075.2008]
- 34 Ananthanarayanan M, Balasubramanian N, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Suchy FJ. Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 28857-28865 [PMID: 11387316 DOI: 10.1074/jbc.M011610200]
 - 35 Kast HR, Goodwin B, Tarr PT, Jones SA, Anisfeld AM, Stoltz CM, Tontonoz P, Kliewer S, Willson TM, Edwards PA. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor. *J Biol Chem* 2002; 277: 2908-2915 [PMID: 11706036 DOI: 10.1074/jbc.M109326200]
 - 36 Huang L, Zhao A, Lew JL, Zhang T, Hrywna Y, Thompson JR, de Pedro N, Royo I, Blevins RA, Peláez F, Wright SD, Cui J. Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3. *J Biol Chem* 2003; 278: 51085-51090 [PMID: 14527955 DOI: 10.1074/jbc.M308321200]
 - 37 Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* 2000; 102: 731-744 [PMID: 11030617]
 - 37 Kipp H, Arias IM. Newly synthesized canalicular ABC transporters are directly targeted from the Golgi to the hepatocyte apical domain in rat liver. *J Biol Chem* 2000; 275: 15917-15925 [PMID: 10748167 DOI: 10.1074/jbc.M909875199]
 - 39 Kipp H, Pichetshote N, Arias IM. Transporters on demand: intrahepatic pools of canalicular ATP binding cassette transporters in rat liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7218-7224 [PMID: 11113123 DOI: 10.1074/jbc.M007794200]
 - 40 Wakabayashi Y, Lippincott-Schwartz J, Arias IM. Intracellular trafficking of bile salt export pump (ABCB11) in polarized hepatic cells: constitutive cycling between the canalicular membrane and rab11-positive endosomes. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 3485-3496 [PMID: 15121884 DOI: 10.1091/mbc.E03-10-0737]
 - 41 Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell* 2006; 126: 855-867 [PMID: 16959566 DOI: 10.1016/j.cell.2006.08.019]
 - 42 Paulson JC. Glycoproteins: what are the sugar chains for? *Trends Biochem Sci* 1989; 14: 272-276 [PMID: 2672447 DOI: 10.1016/0968-0004(89)90062-5]
 - 43 Varki A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology* 1993; 3: 97-130 [PMID: 8490246 DOI: 10.1093/glycob/3.2.97]
 - 44 Wang L, Dong H, Soroka CJ, Wei N, Boyer JL, Hochstrasser M. Degradation of the bile salt export pump at endoplasmic reticulum in progressive familial intrahepatic cholestasis type II. *Hepatology* 2008; 48: 1558-1569 [PMID: 18798335 DOI: 10.1002/hep.22499]
 - 45 Hunter T. Signaling--2000 and beyond. *Cell* 2000; 100: 113-127 [PMID: 10647936 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81688-8]
 - 46 Kim JH, Lee J, Oh B, Kimm K, Koh I. Prediction of phosphorylation sites using SVMs. *Bioinformatics* 2004; 20: 3179-3184 [PMID: 15231530 DOI: 10.1093/bioinformatics/bth382]
 - 47 Kubitz R, Sütfels G, Köhlkamp T, Kölling R, Häussinger D. Trafficking of the bile salt export pump from the Golgi to the canalicular membrane is regulated by the p38 MAP kinase. *Gastroenterology* 2004; 126: 541-553 [PMID: 14762791 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.003]
 - 48 Crocenzi FA, Sánchez Pozzi EJ, Ruiz ML, Zucchetti AE, Roma MG, Mottino AD, Vore M. Ca(2+)-dependent protein kinase C isoforms are critical to estradiol 17beta-D-glucuronide-induced cholestasis in the rat. *Hepatology* 2008; 48: 1885-1895 [PMID: 18972403 DOI: 10.1002/hep.22532]
 - 49 Sachs CW, Chambers TC, Fine RL. Differential phosphorylation of sites in the linker region of P-glycoprotein by protein kinase C isozymes alpha, betaI, betaII, gamma, delta, epsilon, eta, and zeta. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 1587-1592 [PMID: 10535749]
 - 50 Ahmed M, Borsch CM, Taylor SS, Vázquez-Laslop N, Neyfakh AA. A protein that activates expression of a multidrug efflux transporter upon binding the transporter substrates. *J Biol Chem* 1994; 269: 28506-28513 [PMID: 7961792]
 - 51 Melino G. Discovery of the ubiquitin proteasome system and its involvement in apoptosis. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1155-1157 [PMID: 16094390 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401740]
 - 52 Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1807-1819 [PMID: 16738015 DOI: 10.1681/ASN.2006010083]
 - 53 Hayashi H, Sugiyama Y. Short-chain ubiquitination is associated with the degradation rate of a cell-surface-resident bile salt export pump (BSEP/ABCB11). *Mol Pharmacol* 2009; 75: 143-150 [PMID: 18829893 DOI: 10.1124/mol.108.049288]
 - 54 Ward CL, Omura S, Kopito RR. Degradation of CFTR by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell* 1995; 83: 121-127 [PMID: 7553863]
 - 55 Hicke L, Dunn R. Regulation of membrane protein transport by ubiquitin and ubiquitin-binding proteins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; 19: 141-172 [PMID: 14570567 DOI: 10.1146/annurev.cell-bio.19.110701.154617]
 - 56 Dupré S, Urban-Grimal D, Haguénauer-Tsapis R. Ubiquitin and endocytic internalization in yeast and animal cells. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1695: 89-111 [PMID: 15571811 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2004.09.024]
 - 57 翟志芳, 郝飞, 刘志君. 小鼠HAX-1基因重组腺病毒载体的构建表达和鉴定. *免疫学杂志* 2006; 22: 694-697
 - 58 Dolganiuc A. Role of lipid rafts in liver health and disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2520-2535 [PMID: 21633657 DOI: 10.3748/wjg.v17.i20.2520]
 - 59 Fernández MA, Albor C, Ingelmo-Torres M, Nixon SJ, Ferguson C, Kurzchalia T, Tebar F, Enrich C, Parton RG, Pol A. Caveolin-1 is essential for liver regeneration. *Science* 2006; 313: 1628-1632 [PMID: 16973879 DOI: 10.1126/science.1130773]
 - 60 Lam P, Soroka CJ, Boyer JL. The bile salt export pump: clinical and experimental aspects of genetic and acquired cholestatic liver disease. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 125-133 [PMID: 20422495 DOI: 10.1055/s-0030-1253222]
 - 61 Tse EY, Ko FC, Tung EK, Chan LK, Lee TK, Ngan ES, Man K, Wong AS, Ng IO, Yam JW. Caveolin-1 overexpression is associated with hepatocellular carcinoma tumourigenesis and metastasis. *J Pathol*

同行评价

本文结合既往的研究, 对可能参与BSEP在细胞内及膜表达调控机制的相关因素(糖基化, 磷酸化, 泛素化, 小窝蛋白及HAX-1)进行综述, 阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制, 为进一步的研究提供方向。

- 2012; 226: 645-653 [PMID: 22072235 DOI: 10.1002/path.3957]
- 62 Moreno M, Molina H, Amigo L, Zanlungo S, Arrese M, Rigotti A, Miquel JF. Hepatic overexpression of caveolins increases bile salt secretion in mice. *Hepatology* 2003; 38: 1477-1488 [PMID: 14647059]
- 63 Paulusma CC, de Waart DR, Kunne C, Mok KS, Elferink RP. Activity of the bile salt export pump (ABCB11) is critically dependent on canalicular membrane cholesterol content. *J Biol Chem* 2009; 284: 9947-9954 [PMID: 19228692 DOI: 10.1074/jbc.M808667200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

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

结肠电刺激的研究进展

郭晓娟, 姚树坤

郭晓娟, 姚树坤, 中日友好医院消化内科 北京市 100029
郭晓娟, 主要从事胃肠功能与动力障碍性疾病的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81070299
作者贡献分布: 本文综述由郭晓娟完成; 姚树坤审校。
通讯作者: 姚树坤, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花
东街2号, 中日友好医院消化内科. yao_sk@163.com
电话: 010-84205288
收稿日期: 2013-09-24 修回日期: 2013-12-26
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Advances in research of colonic electrical stimulation

Xiao-Juan Guo, Shu-Kun Yao

Xiao-Juan Guo, Shu-Kun Yao, Department of Gastroen-
terology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029,
China

Supported by: the National Natural Science Foundation of
China, No. 81070299

Correspondence to: Shu-Kun Yao, Professor, Department
of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, 2
Yinghua East Road, Chaoyang District, Beijing 100029,
China. yao_sk@163.com

Received: 2013-09-24 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

In recent years great attention has been paid to the study of colonic electrical stimulation. Colonic electrical stimulation is expected to become a valuable option for treatment of gastrointestinal dysfunction. This article reviews the classification, mechanisms and clinical applications of colonic electrical stimulation.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colonic electrical stimulation; Gastrointestinal dysfunction; Mechanisms

Guo XJ, Yao SK. Advances in research of colonic electrical stimulation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 795-800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/795.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.795>

摘要

近年来结肠电刺激的研究引起了广泛关注, 其

在胃肠功能紊乱性疾病方面的应用前景十分可观. 本文就结肠电刺激的分类和作用机制以及临床应用的研究成果进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠电刺激; 胃肠功能紊乱; 机制

核心提示: 近年来结肠电刺激的研究引起了广泛关注, 其在胃肠功能紊乱性疾病方面的应用前景十分可观. 本文就结肠电刺激的分类和作用机制以及临床应用的研究成果进行综述.

郭晓娟, 姚树坤. 结肠电刺激的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 795-800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/795.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.795>

0 引言

近年来, 关于电刺激治疗消化系功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 已有学者在消化系的不同部位尝试了多种电刺激方法, 取得了许多可喜成果, 应用前景非常可观^[1-5]. 其基本原理是在胃肠道埋置电极, 应用导线与体外或埋置在体内的脉冲发生器连接, 通过发送脉冲信号, 调节胃肠道功能. 与传统手术相比, 该方法具有不改变胃肠道正常解剖结构, 手术风险小, 术后并发症少等优点^[6-8]. 目前大多数研究集中在胃电刺激^[9,10]. 如正向性胃电刺激可以加速胃排空, 治疗胃轻瘫^[11]; 逆行性胃电刺激可以延缓胃排空, 增加胃容受性及顺应性, 应用于肥胖的治疗^[12]. 近年来, 结肠电刺激也逐渐引起学者的关注^[13]. 本文就结肠电刺激的研究做一综述.

1 结肠电活动

结肠电活动主要由慢波和快波组成. 慢波又称起搏电位(pacesetter potentials, PPs). 快波又称动作电位(action potentials, APs). 研究认为胃肠道慢波来源于Cajal间质细胞(interstitial cell of Cajal, ICC)^[14]. ICCs是介于肠神经系统和平滑肌

■背景资料

关于电刺激治疗胃肠功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 本文就近年来结肠电刺激的研究做一综述.

■同行评议者

曾柱, 教授, 贵阳医学院基础医学院生物技术教研室

■研究前沿

结肠电刺激对肠运动功能的影响及其机制是目前研究的热点。多以急性实验为主,长期应用有待继续研究。

细胞之间的一类特殊的间质细胞,广泛分布在胃肠道的肌层和神经丛。在平滑肌层, ICCs可以产生自发性起搏活动,起搏和调节结肠慢波,进而影响平滑肌的收缩运动^[15],故又被称为胃肠道的起搏细胞。ICCs产生PPs,通过电信号传播至平滑肌细胞,通过电机械耦联方式参与结肠的多种运动形式。同时ICC对肠神经信号传递到平滑肌起到重要的中介作用,被称为是神经系统调控胃肠肌活动的中介, Shafik等^[16,17]将黏膜记录电极放置在回肠末端、盲肠、升结肠、横结肠、降结肠、乙状结肠部位,记录包括频率、电流、电压在内的PPs及APs电活动,通过观察波形变化来推测结肠可能存在的起搏部位。结果表明,结肠至少存在4个起搏点,并推测其部位分别在回肠盲肠交界处、盲肠结肠交界处、横结肠中点、降结肠乙状结肠交界处。随后,该课题组进一步在健康人及结肠无力患者中,选取上述4个起搏点位置各放置1对黏膜电极及2-3对记录电极,采取刺激参数为波幅5 mA、波宽200 ms、比自发PPs高15%的频率进行刺激。结果发现,健康对照组的远侧记录电极记录到自发PPs的频率、波幅及速度在刺激后均较刺激前增加。结肠无力组在接受电刺激之后,也可以诱发出PPs^[18]。由此可见,外源性电流可以影响起搏点的自发性电活动,进而影响胃肠道的功能。还有学者提出^[19]肠腔内容物的推进运动很大程度上依赖于近端结肠的运动功能。Aellen等^[20]实验也得出相似的结论。在结肠的不同部位,对电刺激反应较理想的是盲肠电刺激。同时,结肠电活动还受神经系统和体液因素的调节。

2 结肠电刺激方法

根据使用电极的数目不同,结肠电刺激分为(1)单导刺激:即应用一对电极进行刺激;大鼠单导结肠电刺激可以诱发结肠移行性复合运动(colonic migrating motor complexes, CMMCs), CMMCs会以刺激部位为中心,向两边扩散^[21]。实验显示^[22],一对电极刺激结肠壁只能导致局部的结肠收缩,该收缩运动不能向邻近结肠传播。但也有实验证明单导刺激可以加快结肠运动,加速结肠排空^[23,24];(2)多导刺激:应用两对或多对电极进行刺激。多导刺激可以导致结肠传输加快^[25-27],但由于需要在肠壁放置多对电极,对结肠损伤较大。

根据电极植入位置的不同分为:(1)浆膜电极^[25,26]:通过手术将电极埋置在结肠浆膜面,一

般达到肌层,但不穿透黏膜层;(2)黏膜电极^[16,18]:电极植于结肠黏膜表面,可以借助内镜或插管放置,无需手术,损伤较小,但电极与黏膜难以长期接触,不适于长期应用。

根据电刺激的参数不同,可以分为3类:(1)长波宽电刺激^[23-25]:脉冲宽度以ms为单位,一般采用10 ms以上的波宽,10-600 ms不等,如参数为波宽200 ms,频率50 Hz,电流10 mA;(2)短波宽电刺激^[26,27]:脉冲宽度1 ms以下的刺激,也有学者把5 ms以下的波宽也归为短波刺激,如参数为波宽1 ms,电流15 mA,频率120 Hz;(3)串脉冲电刺激^[24,28]:由重复的短脉冲串组成,频率在5-100 Hz之间的高频短脉冲间断发放(数秒开/数秒关),如波宽4 ms,电流10 mA,频率40 Hz,2 s开、3 s关。

3 结肠电刺激对肠运动功能的影响

3.1 长波宽电刺激 在一个纳入24例结肠无力患者及8例健康人对照的实验中,应用放置在直肠与乙状结肠交界处的一对黏膜电极刺激肠腔,发现应用波宽200 ms、波幅5 mA,高于直肠PPs 15%频率的参数刺激后,可以增加健康人PPs的波幅、频率及速度。同时发现电刺激同样可以诱发直肠无力患者的直肠产生PPs^[29]。Sanmiguel等^[25]通过地芬诺酯/阿托品和阿洛司琼在9只犬建立结肠慢传输模型,在远端结肠放置四对浆膜电极,给予波宽10 ms,电压8-10 V,频率50 Hz的参数进行刺激,结果发现,电刺激可以导致持续的结肠收缩,加速肠腔内容物的排空。在9例肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的结肠与乙状结肠交界处的黏膜放置一对电极,给予波宽150 ms、波幅6 mA、高于PPs 25%的频率的电刺激,每日刺激2-3次,6 mo后发现,7例患者腹痛、腹胀症状消失,排便正常^[23]。但也有实验报道^[24]在大鼠距盲肠结肠交界处1 cm的结肠埋置一对浆膜电极,行长波宽长时程脉冲电刺激,给予波宽200 ms,波幅10 mA,频率20 cpm的刺激参数,与非刺激组相比,在结肠传输时间上的差异无统计学意义。

3.2 短波宽电刺激 有学者报道^[26]在猪降结肠植入9个浆膜电极后,固定刺激频率和刺激时间,在波宽不变的情况下,随波幅的增加(9-15 mA),可以观察到肠腔内压力及肠壁的顺应性也增加。但是,30 mA的波幅与15 mA波幅引起的肠内压相似,并没有使肠腔内压进一步增大。同样,在波幅不变的情况下,随波宽的增加(0.03-3 ms),

可见收缩的潜伏期缩短, 收缩加快, 肠腔内压力增加. 通过连续刺激相邻结肠段, 可以使近端结肠团块以1 mm/s的传播速度向远端传输. 实验得出, 推进肠腔内容物运动的理想电刺激参数组合为15 mA, 3 ms, 10 Hz. Vaucher等^[27]在12只猪盲肠放置浆膜电极, 给予为期6 d波宽1 ms, 频率120 Hz, 电压10 V的慢性刺激, 通过不透X线钽条检测结肠平均传输, 结果发现, 与对照组相比, 刺激组可以明显缩短钽条排出时间.

3.3 串脉冲电刺激 Amaris等^[28]等在距犬肛门口15 cm处的降结肠依次放置4对浆膜电极, 给予波宽10 ms, 电压20 V, 频率50 Hz矩形串脉冲刺激, 可以观察到连续串脉冲电刺激显著促进了麻醉状态下犬的结肠内容物的传输运动. 同样麻醉状态下^[30], 3对起搏电极植入6只猪盲肠浆膜层, 给予波宽1 ms, 电压10 V, 波幅7-15 mA, 频率120 Hz串脉冲进行盲肠收缩实验. 结果发现电刺激后盲肠壁缩短30%, 同时检测肠腔内压力增加75%. 得出电刺激可以诱导盲肠的收缩和肠内容物的运动. 李文波等^[24]在大鼠距盲肠结肠交界处1 cm的结肠浆膜层埋置一对电极, 使用参数为波宽4 ms、频率40 Hz、波幅10 mA、2 s开、3 s关的串脉冲刺激90 min, 观察对大鼠结肠传输的影响, 结果发现结肠串脉冲电刺激可以促进大鼠结肠传输. Sallam等^[31]在犬升结肠埋置一对浆膜电极, 给予参数为波宽6 ms、频率40 Hz、波幅6 mA、2 s开、3 s关的串脉冲刺激6 h, 也得出相似的结论.

4 结肠电刺激机制探讨

结肠电刺激影响结肠运动功能的机制尚未完全阐明. 目前研究主要集中在对肠神经系统的影响方面^[32-36]. 肠神经系统发放信号给环肌和纵肌, 环肌和纵肌协调的收缩和舒张是肠运动的基础. 肠神经系统含有胆碱能神经纤维, 电刺激可活化胆碱能神经纤维, 导致肠神经释放神经递质乙酰胆碱(acetylcholine, Ach), Ach可激活平滑肌上的M胆碱受体或节细胞上的N胆碱受体, 引起胃肠肌兴奋. 有学者报道^[25]通过地芬诺酯/阿托品和阿洛司琼建立慢传输模型后, 在静脉注射阿托品之前和之后分别进行结肠电刺激, 结果发现电刺激导致结肠的收缩可以被阿托品阻断. 无论0.03 ms波宽, 还是0.3 ms波宽电刺激, 阿托品均可以完全拮抗电刺激导致的收缩效应, 可见波宽0.03-0.3 ms的电刺激导致的肌肉收缩是由胆碱能神经兴奋引起的. 此外阿托品还可

以部分拮抗波宽3 ms、30 ms的收缩效应^[37]. 也有研究显示^[29], 波宽10 ms以下的脉冲导致的肌肉收缩都是由胆碱能神经的兴奋引起的. 还有研究表明^[25]肠肌细胞的兴奋需要波宽>10 ms以上的脉冲, 而兴奋神经需要的波宽<1 ms. 相对于频率3 Hz电刺激, 频率为0.3 Hz的电刺激对Ach释放的影响较大. 随着刺激频率从1-10 Hz的增加, 乙酰胆碱的释放反而减少. 研究显示, 刺激频率的增加可能导致抑制性神经的兴奋, 进而抑制乙酰胆碱的释放和肌肉的收缩.

除了胆碱能神经支配胃肠道平滑肌, 胃肠道的运动活动还受抑制性神经释放的NO介导的传输信号调节^[38,39]. 研究表明^[40], 利用阿托品和NO合酶抑制剂N-硝基-L-精氨酸对电刺激进行干预, 结果发现, 短波串脉冲结肠电刺激促进结肠传输的作用主要通过氮能神经通路而非胆碱能神经通路介导. 除了胆碱能神经及氮能神经, 其他的神经递质如 γ -氨基丁酸、舒血管肽, 含P物质的肽能神经也参与结肠的运动^[41,42]. 电刺激时这些因素是否共同参与以及如何相互作用导致结肠运动, 仍需进一步深入研究.

5 结肠电刺激临床应用

结肠电刺激可以产生肠慢波, 诱导结肠收缩, 加强结肠推进, 促进结肠传输, 可用于胃肠道功能障碍性疾病如慢传输型便秘、结肠无力及假性肠梗阻等的治疗^[18-20,43]. 研究表明结肠电刺激在IBS中可以纠正紊乱的肠节律, 使结肠慢波活动趋于正常化, 缓解腹痛、腹胀等症状, 应用于IBS的治疗^[23]. Sallam等^[44]研究表明, 结肠电刺激还可以延缓固体胃排空, 减缓小肠收缩, 减少小肠吸收, 可应用于肥胖的治疗.

6 结肠电刺激安全性

早期报道显示应用波幅20-50 mA, 波宽10-50 ms电脉冲刺激肠壁可能导致电极局部组织过热或电损伤^[45]. 还有学者报道应用短波高频(120 Hz、1 ms)电刺激后, 组织学检查发现电极附近组织呈现轻微慢性炎性改变, 组织损伤较小^[27]. 尽管Sanmiguel等^[25]证明, 电极的局部组织与正常组织比较未见明显异常. 仍需进一步观察结肠电刺激长期安全性, 为将来临床上永久植入提供更多依据.

7 结论

结肠电刺激为胃肠功能障碍性疾病的治疗提供

■ 相关报道

关于电刺激治疗胃肠功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 学者在消化系的不同部位尝试了多种电刺激方法, 取得了许多可喜成果.

■创新盘点

目前关于胃肠电刺激的研究主要集中在胃电刺激,而结肠电刺激在近年来才逐渐引起人们的关注,本文就近年来结肠电刺激的研究做一综述。

了一条有价值的新思路。治疗胃肠功能障碍,除了药物和手术,还可以选择电刺激。就目前研究而言,尽管大量动物实验已经证明结肠电刺激可以调节结肠运动,但机制尚不明确。对机制的深入研究有助于刺激方法的改进,目前除了神经电刺激器以外,大多数研究选择的参数消耗能量较大,只能由体外刺激器供电,给长期植入带来一定困难。而植入式神经电刺激器波宽较短,通常在1 ms左右,虽然短波宽可以兴奋胆碱能神经及氮能神经,加速结肠传输,但并不适用于所有结肠传输障碍性疾病,研究表明,慢传输便秘存在肠神经系统的损伤或机能障碍^[46]。这种情况下,就必须选择针对肌细胞的较宽波宽的刺激参数辅助加速结肠传输。另外,随着对胃电刺激研究的深入,越来越多的实验证明由于内脏敏感性存在差异,个体对胃电刺激的反应不同。个体化参数在刺激过程中起到重要作用^[47-49]。因此单纯针对于神经系统的刺激器并不是理想的植入装置。这就需要我们寻找新的刺激模式^[50],不仅降低能量消耗,保证刺激效果,同时还能减小对电极植入局部组织的损伤。随着研究的深入,低能耗的参数可以由电池供电,使永久植入成为可能。另外可以看到,目前的研究还是动物实验为主,临床实验较少。同时大多数研究以急性刺激和短期刺激为主,如果长期刺激,会不会导致结肠肌肉疲劳以及导致机体对刺激参数敏感性下降,仍需进一步研究。

8 参考文献

- Sun Y, Chen JD. Intestinal electric stimulation accelerates whole gut transit and promotes fat excrement in conscious rats. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33: 817-823 [PMID: 19546870 DOI: 10.1038/ijo.2009.123]
- Lin Z, Sarosiek I, McCallum RW. Gastrointestinal electrical stimulation for treatment of gastrointestinal disorders: gastroparesis, obesity, fecal incontinence, and constipation. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 713-734, x-xi [PMID: 17950445 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.07.007]
- Yin J, Chen JD. Implantable gastric electrical stimulation: ready for prime time? *Gastroenterology* 2008; 134: 665-667 [PMID: 18325383 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.068]
- Xu X, Lei Y, Chen JD. Duodenum electrical stimulation delays gastric emptying, reduces food intake and accelerates small bowel transit in pigs. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 442-448 [PMID: 20948518 DOI: 10.1038/oby.2010.247]
- Li S, Maude-Griffin R, Sun Y, Starkebaum W, Chen JD. Food intake and body weight responses to intermittent vs. continuous gastric electrical stimulation in diet-induced obese rats. *Obes Surg* 2013; 23: 71-79 [PMID: 23001597 DOI: 10.1007/s11695-012-0773-2]
- Shikora SA. Implantable Gastric Stimulation - the surgical procedure: combining safety with simplicity. *Obes Surg* 2004; 14 Suppl 1: S9-13 [PMID: 15479584 DOI: 10.1381/0960892041978999]
- D'Argent J. Gastric electrical stimulation as therapy of morbid obesity: preliminary results from the French study. *Obes Surg* 2002; 12 Suppl 1: 21S-25S [PMID: 11969104 DOI: 10.1381/096089202762552638]
- Zhang J, Chen JD. Systematic review: applications and future of gastric electrical stimulation. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 991-1002 [PMID: 16984493 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03087.x]
- Soffer EE. Gastric electrical stimulation for gastroparesis. *J Neurogastroenterol Motil* 2012; 18: 131-137 [PMID: 22523722 DOI: 10.5056/jnm.2012.18.2.131]
- Mizrahi M, Ben Ya'acov A, Ilan Y. Gastric stimulation for weight loss. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2309-2319 [PMID: 22654422 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2309]
- Bortolotti M. Gastric electrical stimulation for gastroparesis: a goal greatly pursued, but not yet attained. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 273-282 [PMID: 21253385 DOI: 10.3748/wjg.v17.i3.273]
- Mintchev MP. Gastric electrical stimulation for the treatment of obesity: from entrainment to bezoars-a functional review. *ISRN Gastroenterol* 2013; 2013: 434706 [PMID: 23476793 DOI: 10.1155/2013/434706]
- Sevcencu C. Electrical stimulation - an evolving concept in the treatment of colonic motor dysfunctions. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 960-970 [PMID: 17040406 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00832.x]
- Tong WD, Liu BH, Zhang LY, Zhang SB, Lei Y. Decreased interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 467-473 [PMID: 15045515 DOI: 10.1007/s00384-003-0577-x]
- Wedel T, Spiegler J, Soellner S, Roblick UJ, Schiedeck TH, Bruch HP, Krammer HJ. Enteric nerves and interstitial cells of Cajal are altered in patients with slow-transit constipation and megacolon. *Gastroenterology* 2002; 123: 1459-1467 [PMID: 12404220 DOI: 10.1053/gast.2002.36600]
- Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA. Electrophysiologic identification of the location of the colonic pace-makers. A human study. *Front Biosci* 2002; 7: b1-b5 [PMID: 11815299]
- Shafik A, Shafik AA, El-Sibai O, Ahmed I. Colonic pacing: a therapeutic option for the treatment of constipation due to total colonic inertia. *Arch Surg* 2004; 139: 775-779 [PMID: 15249412 DOI: 10.1001/archsurg.139.7.775]
- Shafik A, Shafik AA, el-Sibai O, Ahmed I. Colonic pacing in patients with constipation due to colonic inertia. *Med Sci Monit* 2003; 9: CR191-CR196 [PMID: 12761456]
- Dinning PG, Szczesniak MM, Cook IJ. Proximal colonic propagating pressure waves sequences and their relationship with movements of content in the proximal human colon. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 512-520 [PMID: 18194155 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.01060.x]
- Aellen S, Wiesel PH, Gardaz JP, Schlageter V, Bertschi M, Virag N, Givel JC. Electrical stimulation induces propagated colonic contractions in an experimental model. *Br J Surg* 2009; 96: 214-220 [PMID: 19160367 DOI: 10.1002/bjs.6455]
- Spencer NJ, Bywater RA. Enteric nerve stimula-

- tion evokes a premature colonic migrating motor complex in mouse. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 657-665 [PMID: 12464088 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2002.00367.x]
- 22 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T. Colon emptying induced by sequential electrical stimulation in rats. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 2005; 13: 516-523 [PMID: 16425834 DOI: 10.1109/TNSRE.2005.859358]
 - 23 Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA, Ahmed I. Colonic pacing in the treatment of patients with irritable bowel syndrome: technique and results. *Front Biosci* 2003; 8: b1-b5 [PMID: 12456363 DOI: 10.2741/989]
 - 24 李文波, 刘诗, 钱伟, 侯晓华. 串脉冲和长脉冲结肠电刺激对大鼠结肠传输的影响. *中华医学杂志* 2006; 86: 3370-3372
 - 25 Sanmiguel CP, Casillas S, Senagore A, Mintchev MP, Soffer EE. Neural gastrointestinal electrical stimulation enhances colonic motility in a chronic canine model of delayed colonic transit. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 647-653 [PMID: 16918729 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00783.x]
 - 26 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Gregersen H, Sinkjaer T. Propulsive activity induced by sequential electrical stimulation in the descending colon of the pig. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 376-387 [PMID: 15916625 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2004.00637.x]
 - 27 Vaucher J, Cerantola J, Gie O, Letovanec I, Virag N, Demartines N, Gardaz JP, Givel JC. Electrical colonic stimulation reduces mean transit time in a porcine model. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 88-92, e31 [PMID: 19594689 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01359.x]
 - 28 Amaris MA, Rashev PZ, Mintchev MP, Bowes KL. Microprocessor controlled movement of solid colonic content using sequential neural electrical stimulation. *Gut* 2002; 50: 475-479 [PMID: 11889065 DOI: 10.1136/gut.50.4.475]
 - 29 Shafik A, El-Sibai O. Rectal pacing: pacing parameters required for rectal evacuation of normal and constipated subjects. *J Surg Res* 2000; 88: 181-185 [PMID: 10644486 DOI: 10.1006/jsre.1999.5741]
 - 30 Bertschi M, Schlageter V, Vesin JM, Aellen S, Peloponissios N, D'Ambrogio A, Wiesel PH, Givel JC, Kucera P, Virag N. Direct electrical stimulation using a battery-operated device for induction and modulation of colonic contractions in pigs. *Ann Biomed Eng* 2010; 38: 2398-2405 [PMID: 20300849 DOI: 10.1007/s10439-010-9985-6]
 - 31 Sallam HS, Chen JD. Colonic electrical stimulation: potential use for treatment of delayed colonic transit. *Colorectal Dis* 2013; 15: e244-e249 [PMID: 23350958 DOI: 10.1111/codi.12138]
 - 32 Liu S, Xu J, Chen JD. Roles of putative neurotransmitters in the regulation of gastric and intestinal slow waves in conscious dogs. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1044-1050 [PMID: 17608850 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04916.x]
 - 33 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Gregersen H, Sinkjaer T. Electrical stimulation to induce propulsive contractions in the porcine descending colon. *Artif Organs* 2005; 29: 246-249 [PMID: 15725227 DOI: 10.1111/j.1525-1594.2005.29045.x]
 - 34 Song GQ, Lei Y, Xu X, Chen JD. Gastric electrical stimulation with long pulses in humans and animals: can data obtained in animals be replicated in humans? *Neuromodulation* 2010; 13: 87-92 [PMID: 21992779 DOI: 10.1111/j.1525-1403.2009.00241.x]
 - 35 Yin J, Chen JD. Mechanisms and potential applications of intestinal electrical stimulation. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1208-1220 [PMID: 19629689 DOI: 10.1007/s10620-009-0884-3]
 - 36 Liu S, Lei Y, Chen JD. Inhibitory effects and mechanisms of colonic electric stimulation on gastric and rectal tone in conscious dogs. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1749-1754 [PMID: 16758129 DOI: 10.1007/s10350-006-0586-2]
 - 37 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T. Muscular vs. Neural Activation in Propulsion Induced by Electrical Stimulation in the Descending Colon of Rats. *Neuromodulation* 2005; 8: 131-140 [PMID: 22151442 DOI: 10.1111/j.1525-1403.2005.00229.x]
 - 38 Liu S, Chen JD. Colonic electrical stimulation regulates colonic transit via the nitrergic pathway in rats. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 502-505 [PMID: 16614959 DOI: 10.1007/s10620-006-3162-7]
 - 39 Chiba T, Bharucha AE, Thomforde GM, Kost LJ, Phillips SF. Model of rapid gastrointestinal transit in dogs: effects of muscarinic antagonists and a nitric oxide synthase inhibitor. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 535-541 [PMID: 12358682 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2002.00357.x]
 - 40 李文波, 刘诗, 侯晓华, Chen JD. 串脉冲结肠电刺激对大鼠结肠传输的影响及其机制. *中华医学杂志* 2007; 87: 3155-3157
 - 41 Bayer S, Jellali A, Crenner F, Aunis D, Angel F. Functional evidence for a role of GABA receptors in modulating nerve activities of circular smooth muscle from rat colon in vitro. *Life Sci* 2003; 72: 1481-1493 [PMID: 12535716 DOI: 10.1016/S0024-3205(02)02413-X]
 - 42 Grider JR. Neurotransmitters mediating the intestinal peristaltic reflex in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 460-467 [PMID: 12966154 DOI: 10.1124/jpet.103.053512]
 - 43 Martellucci J, Valeri A. Colonic electrical stimulation for the treatment of slow-transit constipation: a preliminary pilot study. *Surg Endosc* 2013 Sep 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24048815 DOI: 10.1007/s00464-013-3192-0]
 - 44 Sallam HS, Chen JD. Colon electrical stimulation: potential use for treatment of obesity. *Obesity* (Silver Spring) 2011; 19: 1761-1767 [PMID: 21660079 DOI: 10.1038/oby.2011.146]
 - 45 Hughes SF, Scott SM, Pilot MA, Williams NS. Electrically stimulated colonic reservoir for total anorectal reconstruction. *Br J Surg* 1995; 82: 1321-1326 [PMID: 7489153 DOI: 10.1002/bjs.1800821009]
 - 46 赵敬胜, 童卫东. 慢传输性便秘的病理生理研究进展. *中华胃肠外科杂志* 2012; 15: 758-760
 - 47 Yao S, Ke M, Wang Z, Xu D, Zhang Y, Chen JD. Visceral sensitivity to gastric stimulation and its correlation with alterations in gastric emptying and accommodation in humans. *Obes Surg* 2005; 15: 247-253 [PMID: 15802069 DOI: 10.1381/0960892053268363]
 - 48 Yao S, Ke M, Wang Z, Xu D, Zhang Y, Chen JD. Retrograde gastric pacing reduces food intake and delays gastric emptying in humans: a potential therapy for obesity? *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1569-1575 [PMID: 16133953 DOI: 10.1007/s10620-005-2899-8]
 - 49 Yao SK, Ke MY, Wang ZF, Xu DB, Zhang YL. Visceral response to acute retrograde gastric electrical stimulation in healthy human. *World J Gastroenterol*

同行评价

本文对结肠电刺激的研究进展做了系统回顾, 该文引用文献正确, 反映了该领域的最新进展。

- 2005; 11: 4541-4546 [PMID: 16052685]
50 Zhang J, Tang M, Chen JD. Gastric electrical stimulation for obesity: the need for a new de-

vice using wider pulses. *Obesity* (Silver Spring) 2009; 17: 474-480 [PMID: 19057530 DOI: 10.1038/oby.2008.543]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展

邱野, 付祥胜, 彭燕

邱野, 付祥胜, 彭燕, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

邱野, 硕士研究生, 主要从事结肠锯齿状腺瘤的研究.

作者贡献分布: 本文综述由邱野完成; 付祥胜与彭燕审核.

通讯作者: 彭燕, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 1806857826@qq.com
电话: 0380-3165331

收稿日期: 2013-11-29 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma

Ye Qiu, Xiang-Sheng Fu, Yan Peng

Ye Qiu, Xiang-Sheng Fu, Yan Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yan Peng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1806857826@qq.com

Received: 2013-11-29 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

Sessile serrated adenoma (SSA) is a special type of serrated adenoma, and recent studies have found that SSA has a malignant potential, progresses quickly and is closely related to right-sided colorectal cancer. SSA is usually located in the proximal colon, which is flat and sessile, and for this reason, SSA is difficult to find by conventional endoscopy and has a high rate of missed diagnosis. There is currently an urgent need to develop new endoscopic technologies to raise the diagnosis rate. In this paper, we will review recent progress in the diagnosis of sessile serrated adenoma using new endoscopic technologies.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Serrated adenoma; Sessile serrated adenoma; Colorectal cancer; Magnifying chromoendoscopy; Narrow band imaging; Endocytoscopy; Confocal laser endomicroscopy

Qiu Y, Fu XS, Peng Y. Endoscopic diagnosis of sessile

serrated adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 801-806 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.801>

摘要

无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型,近年来研究发现SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结直肠癌的发生密切相关. SSA通常位于近端结肠,扁平无蒂,普通内镜下较难发现,漏诊率高. 因此,临床上迫切需要开展新的内镜检查技术,以提高SSA的诊断率. 本文就近年来内镜新技术对SSA诊断的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 锯齿状息肉; 无蒂锯齿状腺瘤; 结直肠癌; 放大色素内镜; 窄带内镜; 细胞内镜; 共聚焦内镜

核心提示: 结直肠无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型. 近年来研究认为SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结直肠癌的发生密切相关,目前SSA的诊断率较低. 本文综述新的内镜检查技术对SSA的诊断进展.

邱野, 付祥胜, 彭燕. 结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 801-806 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.801>

0 引言

结直肠锯齿状息肉包括增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)和传统锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA),上皮呈锯齿状结构是其共同特征^[1]. 近年来发现的SSA是结直肠锯齿状病变中的特殊类型,研究发现,SSA具有恶变潜能、进展快,与右半结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生密切相关^[2-4]. SSA的早期检出和正确处理是阻止其进展及癌变的重要途径,但SSA

■背景资料

结直肠无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型. 近年来研究认为SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结直肠癌的发生密切相关,有关SSA的研究逐渐受到重视.

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

■ 研发前沿

根据SSA的内镜下特点,探讨新内镜技术对SSA的诊断进展,提高SSA诊疗效率。

通常位于近端结肠,扁平无蒂,普通内镜下较难发现,漏诊率高。因此,临床上迫切需要开展新的内镜检查技术,以提高SSA的诊断率。目前学术界对SSA尚缺乏统一的诊断标准和流程,SSA内镜下的早期诊断尚处于探索阶段^[5-7]。

1 SSA早期正确诊断有十分重要的临床意义

结肠镜筛查可有效减少结直肠癌的发生率和死亡率。近年来,越来越多的研究发现这种筛查的有效性在左右半结肠中并非对等^[8-13]。结肠镜筛查后的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)大多数位于右半结肠,并且具有微卫星高不稳定性和高甲基化表型的特征,这些特征与锯齿状病变中的SSA非常类似^[8,9,14-16]。SSA通常位于近端结肠,外形隐蔽,普通内镜下很难发现,因此有研究认为发生在结肠镜筛查后的CRC可能系由漏检和未处理的SSA发展而来^[17,18]。大量的研究证实,SSA在右半结肠癌的发展过程中扮演着重要角色,其癌变率比普通腺瘤更高。早期正确诊断SSA,可以有效地降低其癌变率,提高患者的后期生存率,有十分重要的临床意义^[1,18,19]。

2 SSA内镜下特征和病理学特征

SSA通常位于右半结肠,体积较大,直径通常>10 mm,检出率低,约占锯齿状病变的15%-20%,在吸烟者和有结肠癌家族史的人群中更为常见^[19-30]。TSA在内镜下表现极为特别,为双层松树样或者珊瑚样的外形,因而很容易鉴别^[24,31]。与TSA不同,SSA内镜下表现为扁平无蒂,柔软光滑,表面苍白,通常表面覆有黏液与HP极为相似,故极易被误诊为HP^[24]。由于SSA的形态结构和分布特点,使得目前SSA的诊断率十分低,不同内镜医师对SSA的诊断差异性很大^[32-34]。因为SSA的诊断较为困难,推断SSA实际的发病率可能比统计的更高。SSA有特异的组织学特点:包括锯齿状结构的隐窝;隐窝基底部扩张、分支;侧向生长,与TSA不同,SSA很少具有细胞和组织学异型性^[20,22,35]。

3 新的内镜技术蓬勃发展给SSA内镜下早期诊断带来希望

传统的对病变组织的精确诊断主要取决于内镜下病变形态表现,以及病理活检。但是用普通内镜对结直肠黏膜表面进行观察,可能使取材的部位不准确,经常需要反复多次取材,取材错误等情况很常见,活检取材过程中可能出现出

血,穿孔等并发症,并且病理活检的一般需要2-3 d,活检结果回报后需再次准备肠道行肠镜检查或治疗^[36]。一方面增加风险延误病情,另一方面给患者造成经济上和精神上的负担。使得内镜医师更加渴望在内镜检查过程中进行实时的病变分型以及病理检查,从而提高内镜检查的效率,减少病员痛苦^[37]。从而发展出新兴的内镜成像技术包括高分辨率的白光显微镜(high-resolution white-light endoscopy, HR-WLE),放大色素内镜技术(magnifying chromoendoscopy)、自体荧光成像技术(auto fluorescence imaging, AFI)、窄频影像技术(narrow band imaging, NBI)、细胞内镜(endocytoscopy)和共聚焦内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)技术等,这些内镜新技术的发展给普通内镜下检出困难的SSA的早期正确诊断带来了新的希望。

3.1 高分辨率的放大显微镜以及色素内镜辅助对SSA的诊断 放大色素内镜技术是先通过普通内镜观察,根据具体情况在息肉表面喷洒特殊染料对胃肠道黏膜进行染色,增强病变与周围结构对比,再用放大内镜进行观察,这种技术可清晰的观察病变腺管开口的形状,来初步对病变进行组织学分型,这种技术目前已在国内外得到广泛应用。根据Kudo等^[38]的pit分型标准, pit I型(圆形腺管开口)病变和pit II型(星芒状或乳头状腺管开口)病变被归类于非瘤性病变,即正常的腺体或增生性息肉;而pit III型、pit IV型及pit V型被归类为瘤性病变,因SSA和HP都是以上分类中的pit II型,而很难被区分。日本学者Kimura等^[31]发现了一种新的pit分型(type II-O),这种新类型的腺管开口比普通的pit II更宽更圆,并通常被普通的pit II所围绕,他们发现,大部份pit II-O型病变来自右半结肠,直径多大于1 mm,且其病理诊断为SSA, pit II-O型对SSA诊断的特异性高达97.3%,并且推断这种腺管开口扩大的现象与SSA过量分泌黏蛋白有关。但另一项研究发现, pit II-O对SSA的诊断敏感性为83.7%,特异性是85.7%^[39]。利用pit II-O分型对SSA的诊断有较高的特异性无疑是学术界的重大突破,对锯齿状结构的亚型的分类有重要的临床意义,但是大约1/3的SSA不具有此结构, pit分型对SSA的诊断只能作为辅助手段。并且染色内窥镜和高分辨率内窥镜在染料的喷洒量和放大内镜视野控制方面有较大难度,临床上很难得到普及。

3.2 NBI技术对SSA的诊断价值 NBI能够更清晰地显示消化系黏膜表面的细微结构, 能达到与染色内镜类似的显示效果, 对黏膜的微血管形态显示, 更是具备独特的优势. 更重要的是, NBI内镜能够在传统内镜成像和NBI系统之间根据病情需要随意迅速地切换, 并且不用喷洒色素染料. NBI的血管强化功能可增强黏膜表面毛细血管(褐色)和腺窝开口(透明白色)的色调差异, 比普通内镜更容易观察到病变黏膜表面的细微结构(例如腺管开口等). 研究发现NBI对大肠息肉以及大肠的扁平非息肉性病灶的诊断率比普通内镜更高^[40-43]. 姜泊等^[44]研究发现NBI对发现特异性黏膜异常征象(98.6%)要高于常规内镜(90.5%), 特别是对一些平坦型病变的发现和鉴别都优于普通白光内镜.

Nakao等^[45]研究发现, 在NBI下, 80%的SSA具有圆形或类圆形扩大的腺管开口结构(II-dilatation pit, pit II-d), 94%的SSA表面存在一层淡红色的黏液层(红色帽标志), NBI对SSA的组织学类型的判断有更高的精确性. Hazewinkel等^[46]发现SSA区别于HP有两个特征: 即边界不显著和云雾状的外形, 而在NBI下除前两个特征外还表现为不规则的形状和类似黑斑的腺管开口, 后两个特征只在NBI下可见. 通过对SSA的以上特征进行评分, 以组织学诊断为判断标准, 发现NBI对SSA的诊断的敏感性、特异性和总精确度分别是89%、96%和93%, 而普通的HR-WLE分别是75%、79%和77%. 可见, NBI对SSA具有重要的诊断意义.

3.3 细胞内镜(endocytoscopy)技术成为最有挑战性的内镜新技术 细胞内镜是在超高倍的放大内镜的基础上发展而来的. 其先采用染色剂对病变部位进行检测, 而后以头端安装有可吸引黏膜的透明帽紧贴病变黏膜, 来观察细胞的细微结构. 应用较广泛的细胞内镜是由Olympus公司生产的, 直径为3.2 mm, 其物镜的放大倍数为450倍(观察范围300 μm \times 300 μm)和1125倍(观察范围120 μm \times 120 μm)^[47]. Mori等^[37]报道细胞内镜和常规活检对结肠瘤性病变的诊断的精确率分别是94.1%和96%. 细胞内镜对结肠瘤性和非瘤性病变的诊断率和病理学检测几乎相同^[37,48,49]. 可见细胞内镜可视化细胞形态和细胞核的程度已接近病理学诊断, 可实现最精确的病理学前评估. Kutsukawa等^[50]发现, SSA的腺管在细胞内镜下表现为卵圆形($P<0.001$), 其敏感性为83.3%, 特异性为97.8%; 而HP的腺管形状

在细胞内镜下表现为类似星芒形($P<0.001$), 其敏感性为77.8%, 特异性为93.5%. 在细胞内镜下, SSA可通过管腔形状与HP相鉴别. 而TSA在细胞内镜下表现为具有绒毛状($P<0.001$)或锯齿状的($P=0.002$)管腔结构(敏感性为100%, 特异性为87.2%), 并且表现为梭形细胞核(敏感性为100%, 特异性为100%). 上述研究可见, 细胞内镜对锯齿状病变亚型的鉴别诊断精确性很高. 但是目前细胞内镜在结直肠锯齿状病变的研究甚少, 具有很大的临床价值和广阔的前景.

3.4 CLE对SSA的诊断价值 CLE是将一微型共聚焦激光扫描显微镜整合于传统电子内窥镜头以获得比普通内镜放大1000倍的内镜图像, 此技术优点是在内镜检查时, 不需做活检可直接观察细胞及亚细胞结构, 对黏膜病变做出即时诊断, 可达到“光活检”或“光学切片”目的^[20,51]. CLE对CRC有极高的诊断价值, 利用CLE在内镜下对特定抗原进行荧光标记, 来诊断CRC有更高的精确性^[52-54]. 有研究通过对不同内镜医师用CLE对结肠病变分类进行研究, 发现其诊断的精确度最高可达95.6%^[55,56]. 理论上CLE对SSA的诊断有更高的价值和广阔的研究前景, 但遗憾的是, CLE对SSA的诊断研究目前还没有文献报道.

4 结论

放大色素内镜能在传统内镜的基础上更加清晰的观察病变的微小特征, 并可精确的判断病变的PIT分型的种类; NBI则以一种操作简单的方法观察病变的显微特征; 细胞内镜和共聚焦内镜的出现使结肠病变的诊断与最终的病理学检测更加接近. 这些新兴的内镜下诊断技术对结肠息肉样病变特别是的传统内镜下很难区分的SSA的诊断和进一步的治疗有着十分重要的临床意义. 但是, 新兴的内镜技术都有各自的缺点和局限性, 染色内窥镜和高分辨率内窥镜在染料的喷洒量和放大内镜视野控制方面有很大难度, 这些技术在包括欧美在内的大多数地区都不常用^[24,57,58]. 很多研究发现, 只有在传统内镜发现可疑病变情况下才切换至NBI模式, 单用NBI技术并不能提高息肉的总体检出率^[59,60]. 而共聚焦内镜和细胞内镜, 尚处在初步研究阶段, 其诊断价值有待大量的临床研究证实. 所以, 越来越多的研究提出, 要联合多种内镜技术实现对息肉的精确诊断, 例如配合放大色素内镜和NBI成像技术, 联合色素内镜、CLE和NBI成像技术^[61,62]. 虽然新兴的内镜技术要实现临床普及还有一定

■ 相关报道

近年来研究发现, SSA具有恶变潜能, 且进展快, 与右半结直肠癌的发生密切相关, SSA的早期检出和正确处理是阻止其进展及癌变的重要途径, 但SSA在普通内镜下较难发现. 因此, 临床上迫切需要开展新的内镜检查技术以提高对SSA的诊断率.

■创新盘点

目前放大色素内镜技术(magnifying chromoendoscopy)、自体荧光成像技术(auto fluorescence imaging, AFI)、窄频影像技术(narrow band imaging, NBI)、细胞内镜(endocytoscopy)和共聚焦内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)技术等新内镜技术蓬勃发展,对结肠直肠各类病变的诊断率有很大的提高,但对SSA诊断价值的报道很少,本文对比描述各种新内镜技术对SSA的诊断的优缺点,有较强的临床适用性。

的距离,特别是在我国以及广大的发展中国家。但是相信随着科技的发展和技术的更新,各种内镜技术的成熟、分子水平的成像实现,SSA的早期诊断率也会得到极大提高,对患者的及时诊断和治疗成为可能。同时高度重视SSA的早期检出和正确诊断,熟悉并掌握SSA的内镜下特征,避免误诊漏诊,是防止其癌变的重要环节。

5 参考文献

- 1 Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 1-10 [PMID: 20869746 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.002]
- 2 De Jesus-Monge WE, Gonzalez-Keelan C, Cruz-Correa M. Serrated adenomas. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 420-427 [PMID: 19765371 DOI: 10.1007/s11894-009-0063-x]
- 3 Groff RJ, Nash R, Ahnen DJ. Significance of serrated polyps of the colon. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 490-498 [PMID: 18799125 DOI: 10.1007/s11894-008-0090-z]
- 4 Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013; 62: 367-386 [PMID: 23339363 DOI: 10.1111/his.12055]
- 5 Boparai KS, van den Broek FJ, van Eeden S, Fockens P, Dekker E. Hyperplastic polyposis syndrome: a pilot study for the differentiation of polyps by using high-resolution endoscopy, autofluorescence imaging, and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 947-955 [PMID: 19595313 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1172]
- 6 Kashida H, Ikehara N, Hamatani S, Kudo SE, Kudo M. Endoscopic characteristics of colorectal serrated lesions. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1163-1167 [PMID: 21937375 DOI: 10.5754/hge10093]
- 7 Yamada A, Notohara K, Aoyama I, Miyoshi M, Miyamoto S, Fujii S, Yamamoto H. Endoscopic features of sessile serrated adenoma and other serrated colorectal polyps. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 45-51 [PMID: 21510285]
- 8 Singh H, Nugent Z, Demers AA, Kliever EV, Mahmud SM, Bernstein CN. The reduction in colorectal cancer mortality after colonoscopy varies by site of the cancer. *Gastroenterology* 2010; 139: 1128-1137 [PMID: 20600026]
- 9 Brenner H, Chang-Claude J, Seiler CM, Rickert A, Hoffmeister M. Protection from colorectal cancer after colonoscopy: a population-based, case-control study. *Ann Intern Med* 2011; 154: 22-30 [PMID: 21200035]
- 10 Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, Stegmaier C, Altenhofen L, Haug U. Protection from right- and left-sided colorectal neoplasms after colonoscopy: population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 89-95 [PMID: 20042716 DOI: 10.1093/jnci/djp436]
- 11 Singh H, Nugent Z, Mahmud SM, Demers AA, Bernstein CN. Predictors of colorectal cancer after negative colonoscopy: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 663-673; quiz 674 [PMID: 19904239 DOI: 10.1038/ajg.2009.650]
- 12 Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, Northover JM, Parkin DM, Wardle J,

Duffy SW, Cuzick J. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 1624-1633 [PMID: 20430429]

- 13 Baxter NN, Warren JL, Barrett MJ, Stukel TA, Doria-Rose VP. Association between colonoscopy and colorectal cancer mortality in a US cohort according to site of cancer and colonoscopist specialty. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2664-2669 [PMID: 22689809 DOI: 10.1200/JCO.2011.40.4772]
- 14 Sawhney MS, Farrar WD, Gudiseva S, Nelson DB, Lederle FA, Rector TS, Bond JH. Microsatellite instability in interval colon cancers. *Gastroenterology* 2006; 131: 1700-1705 [PMID: 17087932 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.10.022]
- 15 Arain MA, Sawhney M, Sheikh S, Anway R, Thyagarajan B, Bond JH, Shaikat A. CIMP status of interval colon cancers: another piece to the puzzle. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1189-1195 [PMID: 20010923 DOI: 10.1038/ajg.2009.699]
- 16 Vaughn CP, Wilson AR, Samowitz WS. Quantitative evaluation of CpG island methylation in hyperplastic polyps. *Mod Pathol* 2010; 23: 151-156 [PMID: 19855373 DOI: 10.1038/modpathol.2009.150]
- 17 Lieberman D. Progress and challenges in colorectal cancer screening and surveillance. *Gastroenterology* 2010; 138: 2115-2126 [PMID: 20167216 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.02.006]
- 18 Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Phipps AI, Passarelli MN, Grady WM, Upton MP, Zhu LC, Potter JD. Colorectal endoscopy, advanced adenomas, and sessile serrated polyps: implications for proximal colon cancer. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1213-1219 [PMID: 22688851 DOI: 10.1038/ajg.2012.167]
- 19 Huang CS, Farraye FA, Yang S, O'Brien MJ. The clinical significance of serrated polyps. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 229-240; quiz 241 [PMID: 21045813 DOI: 10.1038/ajg.2010.429]
- 20 Higuchi T, Sugihara K, Jass JR. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology* 2005; 47: 32-40 [PMID: 15982321 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2005.02180.x]
- 21 Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 65-81 [PMID: 12502929 DOI: 10.1097/0000478-200301000-00008]
- 22 Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, Goldblum JR, Guillem JG, Kahi CJ, Kalady MF, O'Brien MJ, Odze RD, Ogino S, Parry S, Snover DC, Torlakovic EE, Wise PE, Young J, Church J. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1315-1329; quiz 1314, 1330 [PMID: 22710576 DOI: 10.1038/ajg.2012.161]
- 23 Gurudu SR, Heigh RI, De Petris G, Heigh EG, Leighton JA, Pasha SF, Malagon IB, Das A. Sessile serrated adenomas: demographic, endoscopic and pathological characteristics. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3402-3405 [PMID: 20632442 DOI: 10.3748/wjg.v16.i27.3402]
- 24 Hasegawa S, Mitsuyama K, Kawano H, Arita K, Maeyama Y, Akagi Y, Watanabe Y, Okabe Y, Tsuruta O, Sata M. Endoscopic discrimination of sessile serrated adenomas from other serrated lesions. *Oncol Lett* 2011; 2: 785-789 [PMID: 22866127]

- 25 Rustagi T, Rangasamy P, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu GY, Birk JW, Protiva P, Anderson JC. Sessile serrated adenomas in the proximal colon are likely to be flat, large and occur in smokers. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5271-5277 [PMID: 23983429 DOI: org/10.3748/wjg.v19.i32.5271]
- 26 Burnett-Hartman AN, Passarelli MN, Adams SV, Upton MP, Zhu LC, Potter JD, Newcomb PA. Differences in epidemiologic risk factors for colorectal adenomas and serrated polyps by lesion severity and anatomical site. *Am J Epidemiol* 2013; 177: 625-637 [PMID: 23459948 DOI: 10.1093/aje/kws282]
- 27 Hassan C, Pickhardt PJ, Marmo R, Choi JR. Impact of lifestyle factors on colorectal polyp detection in the screening setting. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1328-1333 [PMID: 20706078 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181e10daa]
- 28 Schreiner MA, Weiss DG, Lieberman DA. Proximal and large hyperplastic and nondysplastic serrated polyps detected by colonoscopy are associated with neoplasia. *Gastroenterology* 2010; 139: 1497-1502 [PMID: 20633561 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.074]
- 29 Anderson JC, Rangasamy P, Rustagi T, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu G, Birk JW, Protiva P. Risk factors for sessile serrated adenomas. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 694-699 [PMID: 21325950 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318207f3cf]
- 30 Kahi CJ, Li X, Eckert GJ, Rex DK. High colonoscopic prevalence of proximal colon serrated polyps in average-risk men and women. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 515-520 [PMID: 22018551 DOI: 10.1016/j.gie.2011.08.021]
- 31 Kimura T, Yamamoto E, Yamano HO, Suzuki H, Kamimae S, Nojima M, Sawada T, Ashida M, Yoshikawa K, Takagi R, Kato R, Harada T, Suzuki R, Maruyama R, Kai M, Imai K, Shinomura Y, Sugai T, Toyota M. A novel pit pattern identifies the precursor of colorectal cancer derived from sessile serrated adenoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 460-469 [PMID: 22233696 DOI: 10.1038/ajg.2011.457]
- 32 Kahi CJ, Hewett DG, Norton DL, Eckert GJ, Rex DK. Prevalence and variable detection of proximal colon serrated polyps during screening colonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 42-46 [PMID: 20888435 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.09.013]
- 33 Liang J, Kalady MF, Appau K, Church J. Serrated polyp detection rate during screening colonoscopy. *Colorectal Dis* 2012; 14: 1323-1327 [PMID: 22390284 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03017.x]
- 34 de Wijkerslooth TR, Stoep EM, Bossuyt PM, Tytgat KM, Dees J, Mathus-Vliegen EM, Kuipers EJ, Fockens P, van Leerdam ME, Dekker E. Differences in proximal serrated polyp detection among endoscopists are associated with variability in withdrawal time. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 617-623 [PMID: 23321338 DOI: 10.1016/j.gie.2012.10.018]
- 35 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766]
- 36 Minami H, Inoue H, Yokoyama A, Ikeda H, Satodate H, Hamatani S, Haji A, Kudo S. Recent advancement of observing living cells in the esophagus using CM double staining: endocytoscopic atypia classification. *Dis Esophagus* 2012; 25: 235-241 [PMID: 21895852 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01241.x]
- 37 Mori Y, Kudo S, Ikehara N, Wakamura K, Wada Y, Kutsukawa M, Misawa M, Kudo T, Kobayashi Y, Miyachi H, Yamamura F, Ohtsuka K, Inoue H, Hamatani S. Comprehensive diagnostic ability of endocytoscopy compared with biopsy for colorectal neoplasms: a prospective randomized noninferiority trial. *Endoscopy* 2013; 45: 98-105 [PMID: 23307149 DOI: 10.1055/s-0032-1325932]
- 38 Kudo S, Tamura S, Nakajima T, Yamano H, Kusaka H, Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 8-14 [PMID: 8836710]
- 39 Ishigooka S, Nomoto M, Obinata N, Oishi Y, Sato Y, Nakatsu S, Suzuki M, Ikeda Y, Maehata T, Kimura T, Watanabe Y, Nakajima T, Yamano HO, Yasuda H, Itoh F. Evaluation of magnifying colonoscopy in the diagnosis of serrated polyps. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4308-4316 [PMID: 22969193 DOI: 10.3748/wjg.v18.i32.4308]
- 40 Uraoka T, Saito Y, Matsuda T, Sano Y, Ikehara H, Mashimo Y, Kikuchi T, Saito D, Saito H. Detectability of colorectal neoplastic lesions using a narrow-band imaging system: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1810-1815 [PMID: 19032454 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05635.x]
- 41 Ladabaum U, Fioritto A, Mitani A, Desai M, Kim JP, Rex DK, Imperiale T, Gunaratnam N. Real-time optical biopsy of colon polyps with narrow band imaging in community practice does not yet meet key thresholds for clinical decisions. *Gastroenterology* 2013; 144: 81-91 [PMID: 23041328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.09.054]
- 42 Rex DK. Narrow-band imaging without optical magnification for histologic analysis of colorectal polyps. *Gastroenterology* 2009; 136: 1174-1181 [PMID: 19187781 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.009]
- 43 Inoue T, Murano M, Murano N, Kuramoto T, Kawakami K, Abe Y, Morita E, Toshina K, Hoshiro H, Egashira Y, Umegaki E, Higuchi K. Comparative study of conventional colonoscopy and pan-colonic narrow-band imaging system in the detection of neoplastic colonic polyps: a randomized, controlled trial. *J Gastroenterol* 2008; 43: 45-50 [PMID: 18297435 DOI: 10.1007/s00535-007-2125-x]
- 44 姜泊, 潘新颜, 张亚历, 刘思德. 内镜窄带成像与染色技术诊断大肠肿瘤的对比研究. *中华消化内镜杂志* 2006; 23: 416-420
- 45 Nakao Y, Saito S, Ohya T, Aihara H, Arihiro S, Kato T, Ikegami M, Tajiri H. Endoscopic features of colorectal serrated lesions using image-enhanced endoscopy with pathological analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 981-988 [PMID: 23820237 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283614b2b]
- 46 Hazewinkel Y, López-Cerón M, East JE, Rastogi A, Pellisé M, Nakajima T, van Eeden S, Tytgat KM, Fockens P, Dekker E. Endoscopic features of sessile serrated adenomas: validation by international experts using high-resolution white-light endoscopy and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 916-924 [PMID: 23433877 DOI: 10.1016/j.gie.2012.12.018]
- 47 Chak A. Endoscopy to endocytoscopy to endopathology: are we ready? *Endoscopy* 2007; 39: 540-541 [PMID: 17554651]
- 48 Rotondano G, Bianco MA, Salerno R, Meucci C, Prisco A, Garofano ML, Sansone S, Cipolletta L.

■应用要点

在大量的文献资料基础上, 探讨新内镜技术对SSA的诊断进展, 对比各种新的内镜技术的优缺点, 有助于提高临床医生对于SSA的认识, 可能会为SSA的临床研究及治疗提供新的认识。

■同行评价

本文对SSA提供了比较充足的有意义的信息,基本包括了内镜领域的新技术在诊断SSA的应用,有新颖性,具有一定的临床指导意义。

- Endocytoscopic classification of preneoplastic lesions in the colorectum. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1111-1116 [PMID: 20532533 DOI: 10.1007/s00384-010-0969-7]
- 49 Kudo SE, Wakamura K, Ikehara N, Mori Y, Inoue H, Hamatani S. Diagnosis of colorectal lesions with a novel endocytoscopic classification - a pilot study. *Endoscopy* 2011; 43: 869-875 [PMID: 21837586 DOI: 10.1055/s-0030-1256663]
- 50 Kutsukawa M, Kudo SE, Ikehara N, Ogawa Y, Wakamura K, Mori Y, Ichimasa K, Misawa M, Kudo T, Wada Y, Hayashi T, Miyachi H, Inoue H, Hamatani S. Efficiency of endocytoscopy in differentiating types of serrated polyps. *Gastrointest Endosc* 2013 Oct 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24119508 DOI: 10.1016/j.gie.2013.08.029]
- 51 Inoue H, Kudo SE, Shiokawa A. Technology insight: Laser-scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observation of the gastrointestinal tract. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 31-37 [PMID: 16265098]
- 52 Liu C, Li CQ, Zuo XL, Ji R, Xie XJ, Yang YS, Li YQ. Confocal laser endomicroscopy for the diagnosis of colorectal cancer in vivo. *J Dig Dis* 2013; 14: 259-265 [PMID: 23336610 DOI: 10.1111/1751-2980.12039]
- 53 Cârțână T, Săftoiu A, Gruionu LG, Gheonea DI, Pirici D, Georgescu CV, Ciocâlțu A, Gruionu G. Confocal laser endomicroscopy for the morphometric evaluation of microvessels in human colorectal cancer using targeted anti-CD31 antibodies. *PLoS One* 2012; 7: e52815 [PMID: 23285192 DOI: 10.1371/journal.pone.0052815]
- 54 Liu J, Zuo X, Li C, Yu T, Gu X, Zhou C, Li Z, Goetz M, Kiesslich R, Li Y. In vivo molecular imaging of epidermal growth factor receptor in patients with colorectal neoplasia using confocal laser endomicroscopy. *Cancer Lett* 2013; 330: 200-207 [PMID: 23220286 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.044]
- 55 Kuiper T, Kiesslich R, Ponsioen C, Fockens P, Dekker E. The learning curve, accuracy, and interobserver agreement of endoscope-based confocal laser endomicroscopy for the differentiation of colorectal lesions. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 1211-1217 [PMID: 22459661 DOI: 10.1016/j.gie.2012.01.040]
- 56 Xie XJ, Li CQ, Zuo XL, Yu T, Gu XM, Li Z, Ji R, Wang Q, Li YQ. Differentiation of colonic polyps by confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy* 2011; 43: 87-93 [PMID: 21038291 DOI: 10.1055/s-0030-1255919]
- 57 Henry ZH, Yeaton P, Shami VM, Kahaleh M, Patrie JT, Cox DG, Peura DA, Emura F, Wang AY. Meshed capillary vessels found on narrow-band imaging without optical magnification effectively identifies colorectal neoplasia: a North American validation of the Japanese experience. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 118-126 [PMID: 20381799 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.048]
- 58 Tischendorf JJ, Wasmuth HE, Koch A, Hecker H, Trautwein C, Winograd R. Value of magnifying chromoendoscopy and narrow band imaging (NBI) in classifying colorectal polyps: a prospective controlled study. *Endoscopy* 2007; 39: 1092-1096 [PMID: 18072061]
- 59 Ikematsu H, Saito Y, Tanaka S, Uraoka T, Sano Y, Horimatsu T, Matsuda T, Oka S, Higashi R, Ishikawa H, Kaneko K. The impact of narrow band imaging for colon polyp detection: a multicenter randomized controlled trial by tandem colonoscopy. *J Gastroenterol* 2012; 47: 1099-1107 [PMID: 22441532 DOI: 10.1007/s00535-012-0575-2]
- 60 Pasha SF, Leighton JA, Das A, Harrison ME, Gurudu SR, Ramirez FC, Fleischer DE, Sharma VK. Comparison of the yield and miss rate of narrow band imaging and white light endoscopy in patients undergoing screening or surveillance colonoscopy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 363-70; quiz 371 [PMID: 22186978 DOI: 10.1038/ajg.2011.436]
- 61 Iwatate M, Ikumoto T, Hattori S, Sano W, Sano Y, Fujimori T. NBI and NBI Combined with Magnifying Colonoscopy. *Diagn Ther Endosc* 2012; 2012: 173269 [PMID: 23304065 DOI: 10.1155/2012/173269]
- 62 Ussui VM, Wallace MB. Confocal endomicroscopy of colorectal polyps. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 545679 [PMID: 22319524 DOI: 10.1155/2012/545679]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用

刘贤伟, 周丁华

刘贤伟, 九江市第一人民医院普通外科 江西省九江市 332000
周丁华, 中国人民解放军第二炮兵总医院肝胆外科B病区 北京市 100088

刘贤伟, 住院医师, 硕士, 主要从事普通外科肿瘤的研究.

作者贡献分布: 本文由刘贤伟综述; 周丁华审校.

通讯作者: 周丁华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100088, 北京市西城区新街口外大街16号, 第二炮兵总医院肝胆外科B病区. zhoudh@sina.com

电话: 010-66343003

收稿日期: 2013-10-27 修回日期: 2013-12-31

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases

Xian-Wei Liu, Ding-Hua Zhou

Xian-Wei Liu, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Jiujiang City, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Ding-Hua Zhou, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Artillery General Hospital Beijing, Beijing 100088, China

Correspondence to: Ding-Hua Zhou, Professor, Chief Physician, Doctoral Tutor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Artillery General Hospital Beijing, 16 Xijiekouwai Road, Xicheng District, Beijing 100088, China. zhoudh@sina.com

Received: 2013-10-27 Revised: 2013-12-31

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

The liver is the most common and important site of metastases for colorectal cancer, and liver metastasis is one of the important factors leading to treatment failure in colorectal cancer. The traditional methods for treating liver metastases of colorectal cancer (CRLM) are not satisfactory and are often associated with a poor prognosis. High intensity focused ultrasound (HIFU) as a new technique for local ablation of solid tumors not only has advantages of less trauma, fewer complications, faster recovery and definite tumor necrosis, but also can preserve and enhance the host anti-tumor immunity. In recent years, HIFU ablation has been increasingly used for the therapy of tumors in clinical settings. This paper gives an overview of mechanisms of action and

application status of HIFU in the treatment of colorectal cancer liver metastases, and explores current challenges and future perspectives.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: High intensity focused ultrasound; Colorectal cancer; Liver metastases; Comprehensive treatment

Liu XW, Zhou DH. Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 807-812 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/807.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.807>

摘要

肝脏是结直肠癌最常见也最重要的转移部位, 而肝转移是结直肠癌治疗失败最重要的因素之一. 传统方式治疗结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)效果不理想, 预后欠佳. 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近年来发展迅速的实体肿瘤局部消融新技术, 其不仅具有创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切等优点, 还能保存和提高宿主抗肿瘤免疫能力. 近年来, HIFU局部消融技术在临床肿瘤治疗中的应用逐步深入, 本文拟就其治疗结直肠癌肝转移的机制、现状作一简要综述, 并探讨目前存在的问题, 展望临床应用前景.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 高强度超声聚焦; 结直肠癌; 肝转移; 综合治疗

核心提示: 结直肠癌肝转移的治疗难点在于反复复发, 而高强度聚焦超声治疗的特点之一就是具有可重复性, 同时其创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切, 还能保存和提高宿主的抗肿瘤免疫能力, 若将来能找到良好的联合治疗方法, 将对控制结直肠癌肝转移的进展和预防复发具有重大临床研究意义.

■背景资料

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 肝脏是结直肠癌最常见也最重要的转移部位, 非手术的多学科综合治疗已成为结直肠癌肝转移患者的主要治疗方法. 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是实体肿瘤局部消融新技术, 不仅具有创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切等优点, 还能保存和提高宿主的抗肿瘤免疫能力. 总结和分析HIFU在治疗结直肠癌肝转移的疗效及目前存在的问题具有重大的临床意义.

■同行评议者

何向辉, 教授, 天津医科大学总医院普通外科

■ 研发前沿

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)联合其他方法治疗结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)是近年研究的热点。今后的研究需要在大样本、多中心的研究基础上,尽可能多的得出HIFU与其他疗法之间共同作用的机制,同时总结分析共同作用时最好的联合方式及疗效的影响因素。

刘贤伟, 周丁华. 高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 807-812 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/807.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.807>

0 引言

结直肠癌为常见的消化系恶性肿瘤之一, 早期虽无明显临床症状, 但就诊时已发生转移的患者达15%-30%^[1]。肝脏作为结直肠癌最常见也最重要的转移部位^[2], 50%-60%的结直肠癌患者最后将发生肝转移^[3,4]。传统理论认为肝切除术是结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者唯一可获得长期生存的治疗方法^[5]。然而, 在结直肠癌肝转移的患者中, 80%-85%的患者因为肿瘤大小、位置及肝内多发转移等诸多原因, 无法行肝切除术^[6]; 即使能行手术切除治疗的患者, 复发率也接近65%^[7]; 而对于反复行肝切除术的患者, 手术成功率也越来越低^[7,8]。因而, 非手术的多学科综合治疗成为CRLM的主要治疗方法^[9]。

目前, 对于CRLM的综合治疗主要包括全身治疗和局部治疗, 全身治疗又包括静脉化疗、免疫治疗和中药治疗等, 局部治疗包括手术切除、肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、经皮无水乙醇注射(percutaneous ethanol injection, PEI)、高温、冷冻及射频消融等, 这些局部治疗方法多存在一定的局限性^[10-12]。高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近年来快速发展的肿瘤局部消融治疗的新兴技术, 经过十多年的发展, 这种非侵入式局部消融疗法, 因其安全可靠, 疗效显著, 已广泛应用于临床。

1 HIFU局部消融的原理

作为近年来迅速发展的非侵入性体外肿瘤局部消融治疗技术, HIFU是医学与物理学结合的学科^[13]。其局部消融肿瘤的原理是通过超声波对组织具有穿透性和能量的可聚焦性, 将体外发出的超声波在体内传播的能量聚焦至体内肿瘤病灶(临床治疗靶区), 在焦点处产生瞬间高温, 使肿瘤病灶发生不可逆性凝固性坏死, 而对焦点周围组织无明显损伤^[14]。目前对其作用机制的研究仍然在不断深入, 主要认为是通过热效应^[15]、空化效应^[16]、机械效应、声化学效应^[16]等使肿瘤局部细胞膜结构受损, 导致肿瘤细胞发生不可逆损伤, 细胞发生溶解坏死, 达到治疗局部肿瘤的目的。

同时HIFU还可以通过破坏2 mL以下的肿瘤局部滋养小血管^[17,18], 使肿瘤组织发生继发性缺血性坏死, 诱导部分细胞凋亡; 此外, HIFU也可以通过免疫效应^[19,20]、对放、化疗的增敏效应^[21], 增强机体免疫功能及扩大放、化疗对肿瘤杀伤能力, 抑制肿瘤的进展。而最新研发的HIFU治疗仪, 不仅可以利用计算机控制使超声波的聚焦点沿着瘤块的三维立体结构完全覆盖并杀灭肿瘤细胞; 还具有非侵入性、无创伤性、治疗过程中能量分布均匀且能完全破坏靶区内的肿瘤组织、避免靶区周围正常组织免受损害、治疗精度较高、并发症发生率低等优点^[22]。诚然, 作为新型的局部肿瘤治疗手段, HIFU还有许多问题需更深一步研究探讨。

2 HIFU治疗结直肠癌肝转移的现状

我国结直肠癌发病率呈逐年上升趋势, 已位于恶性肿瘤第3位; 其中约1/4患者在确诊结直肠癌时已发生肝转移, 同时, 约60%的终末期患者死于肝转移^[23,24]。因此, 肝转移被认为是结直肠癌治疗失败的最主要原因^[25]。2011年全球美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南把肝切除作为结直肠癌肝转移的首选治疗手段, 但目前大部分学者对于CRLM主张的可切除适应证, 仅20%左右的CRLM患者符合标准^[25]。虽然部分患者通过新辅助化疗、分子靶向等治疗后可重新获得手术机会, 但是, 更多不能手术切除的晚期患者, 需要针对肝转移瘤进行局部的姑息性治疗以换取生存期、改善生存质量及控制局部肿瘤。我国学者先于西方国家将HIFU技术用于治疗无法行手术切除的CRLM患者, 并取得了一定的疗效成果。

2.1 HIFU技术的发展历程 HIFU在治疗方面的探索由来已久, 早在20世纪40年代Kennedy等^[26]就阐述了HIFU具有破坏局部组织的效应, 但因当时技术受限, 未能深入研究。而随着工程技术及超声热疗技术的发展, 20世纪80年代, 欧洲进行了大量的高水平基础研究, 超声热疗(pyrotherapy)和聚焦超声外科(focused ultrasound surgery)应运而生, 并形成了研发热潮^[27,28]。我国于1997年由重庆医科大学医学超声研究所研发生产的第一台HIFU治疗仪开始应用于临床肿瘤研究; 2年后, 我国率先批准此类设备的商品生产及临床应用; 2006年, 国家药监局正式实施《高强度聚焦超声(HIFU)治疗系统》的行业标准(YY0592-2005), 标志着我国的HIFU应用进入

规范化时代^[29,30]。之后, HIFU开始广泛应用于临床, 尤其是在治疗胰腺癌^[31]和子宫肌瘤^[32]方面取得可喜的成果。

2.2 HIFU治疗CRLM的适应证与禁忌证 HIFU局部消融CRLM的适应证较广泛, 又具有可重复性特征, 理论上只要能建立良好的超声波通道, 所有的肝脏肿瘤都可以进行HIFU局部消融治疗。而对于CRLM, 手术切除被认为是唯一可以达到根治的治疗方法, 因此, 丧失手术机会的CRLM是HIFU治疗的唯一适应证。复习文献及总结笔者所在医院使用HIFU治疗CRLM的临床经验、教训, 以下情况一般不建议行HIFU治疗: (1)患者身体情况差, 无法耐受或坚持完成HIFU治疗; (2)患者存在肝功能衰竭、凝血功能异常等严重并发症和合并症; (3)患者HIFU治疗区域皮肤存在感染、破溃、严重疤痕形成等情况; (4)患者术前超声定位发现超声通道受阻, 经辅助处理后亦不能使机载超声清楚显示肿瘤病灶; (5)患者门静脉系统血栓或存在严重的血管壁损伤; (6)患者肿瘤病灶弥漫性浸润或与周围组织粘连紧密, 致肿瘤病灶无法测量。

2.3 HIFU治疗CRLM的临床进展 理论上, HIFU可对任意大小和形状的肝脏肿瘤进行局部消融治疗, 且因HIFU治疗可重复性的特点, 越来越多的临床医师利用HIFU治疗无法行手术切除的CRLM。主要包括单用HIFU治疗、HIFU联合放化疗2种应用方式。

2.3.1 单用HIFU治疗: 朱辉等^[33]于2004年首先报道了18例CRLM患者经HIFU治疗后的疗效结果。除2例失访, 余16例患者12、18 mo的生存率为83.3%和66.7%, 中位生存期为16 mo; 而接受治疗的25个病灶中, 17个病灶肿瘤体积缩小范围在50%以上, 8个病灶肿瘤体积保持稳定, 仅1个病灶在治疗后9 mo经影像学检查证实局部复发, 且经HIFU再次治疗后, 随访7 mo未再发现肿瘤活动迹象; 同时, 在本次治疗中, 除8例患者出现治疗区皮肤浅Ⅱ°烧伤, 无其他严重不良反应及并发症。近年来, 随着HIFU技术的日趋成熟, 关于HIFU治疗CRLM的报道亦逐渐增多^[34,35], 虽然总体生存率较前并无大幅度提高, 但不良反应及并发症明显减少。

此外, 研究表明, 在经过HIFU治疗后, 机体对肿瘤细胞的特异性免疫功能会得到加强。而HIFU诱发机体抗免疫能力提高的机制有以下几种可能: (1)通过空化效应实现诱发体内抗肿瘤

免疫反应^[36,37]; (2)经HIFU治疗后, 凝固坏死的肿瘤细胞分解产物刺激机体免疫系统; 同时因肿瘤细胞组织的破坏, 隐蔽的肿瘤抗原决定簇得以充分暴露, 增加肿瘤细胞抗原性, 进而激发机体免疫系统^[38]; (3)HIFU的热效应可诱发肿瘤细胞合成热休克蛋白(heat shock protein, HSP)^[39], HSP可激发针对同源肿瘤细胞的特异性细胞毒性T淋巴细胞^[40], 以刺激机体的免疫反应; (4)HIFU治疗造成大部分肿瘤细胞产生不可逆性的凝固性坏死, 削弱了肿瘤对机体免疫系统的抑制能力; 同时也解除了肿瘤细胞对机体免疫系统的封闭作用, 进而提高机体的抗肿瘤免疫能力^[37]; (5)HIFU局部消融治疗后, 白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-2、肿瘤坏死因子等生物活性物质在坏死肿瘤周围聚集, 调节机体抗肿瘤免疫系统^[41]。

2.3.2 HIFU联合放化疗: 虽然单用HIFU治疗CRLM的疗效及安全性在临床上已得到证实, 且可以通过HIFU治疗提高机体抗肿瘤免疫功能, 但患者总体生存率提高不明显。为进一步提高HIFU治疗CRLM的疗效, 临床医师逐渐开展了HIFU联合其他方法治疗CRLM的临床研究, 其中HIFU联合放化疗得到临床医师的亲睐。2008年, 刘铁军等^[42]报道了HIFU联合腹腔化疗治疗肝转移癌的回溯性临床研究, 48例失去手术机会的CRLM患者, 25例患者接受HIFU联合腹腔化疗治疗, 23例患者接受单纯腹腔化疗, 结果显示HIFU联合腹腔化疗更有利于肝转移癌患者的治疗。2011年, 黄松钦等^[21]使用HIFU联合放化疗治疗48例CRLM患者, 通过与45例单纯采用放化疗治疗的患者对比, 得出HIFU联合放化疗组近期有效率明显优于单纯放化疗组; 同时利用此法, 在不影响疗效的前提下, 还可适当减少化疗药物剂量, 以降低不良反应。目前认为, HIFU联合放化疗能取得较好的临床疗效主要包括两方面因素: 一方面HIFU的热效应改变药物动力学, 闭锁肿瘤微血管, 药物清除延迟, 从而起到对化疗的增敏作用^[43]; 另一方面化疗药物能杀死HIFU治疗靶区外的肿瘤细胞, 同时, 因为HIFU治疗后, 肿瘤的稳定遭到破坏, 化疗药物亦更容易进入到肿瘤细胞产生疗效及抑制肿瘤细胞的损伤修复^[21]。

此外, Wu等^[44]在研究TACE联合HIFU治疗肝癌时发现, 联合治疗组的患者中位生存期长于单用TACE治疗组, 是否对CRLM的治疗有

■相关报道

罗葳等的研究中明确指出HIFU因其自身优势, 将是今后肝癌综合治疗的重要组成部分。HIFU对提高肝癌整体治疗水平、改善肝癌患者生存质量具有积极的临床意义。同时, HIFU可刺激机体免疫系统, 对人体免疫反应产生一定的促进作用。

■创新盘点

HIFU治疗结直肠癌肝转移的报道较多,但目前报道多以HIFU单一治疗报道为主,本文综述报道了HIFU及联合其他方法在治疗结直肠癌肝转移方面的研究进展。总结分析了HIFU技术目前存在的不足,也展望了将来HIFU在结直肠癌肝转移方面联合治疗的新方法。

借鉴意义还需进一步研究。我们医院近期还开展了HIFU联合射频消融治疗CRLM的临床研究,但因病例数少、随访期短,尚未得出明确结论。

2.4 HIFU治疗的安全性 众多研究^[45-48]证明,HIFU治疗CRLM是有效、安全、可靠的,尚未有严重不良反应(如胃肠道穿孔、胆瘘、胰腺损伤、大血管损伤)的报道,高血压、发热、肝功能损害等全身并发症亦相对少见。HIFU作为高度依赖影像学引导的体外无创性实体肿瘤局部治疗技术,随着影像学技术的快速发展,尤其是将MRI技术和HIFU治疗仪结合之后,弥补了超声引导下无法监测能量累积情况的缺点,此法不仅能判断肿瘤局部是否发生凝固性坏死,还能实时监控凝固性坏死的范围,日本学者Okada等^[49]于2006年利用此法成功治疗1例肝肿瘤患者。HIFU治疗CRLM常见的主要并发症包括皮肤损伤、胆管扩张、胸膜反应性积液等,这些并发症可能与治疗时无法监测组织内温度有关。

3 HIFU治疗CRLM的不足

HIFU局部消融作为一种姑息性的减瘤治疗方法,虽然其安全性及疗效在临床研究方面已基本得到广大临床医师的认可,但在临床应用中仍存在许多技术难题急需克服。一方面因无法监控组织内温度,皮肤损伤等上述并发症无法避免,而最新报道的超声反演法无创超声测温手段^[50]尚在实验研究阶段,是否能利用此法解决此问题还需进一步研究证实;另一方面因肋骨遮挡,很多患者因无法获得良好的超声波通道而不能接受HIFU治疗,虽然采取肋骨部分切除可以解决这一问题,但临床研究已证实,肋骨切除术不能有效提高HIFU治疗中晚期肝癌的疗效^[51],因此在HIFU治疗CRLM时亦不主张采用此法;此外,超声定位成像技术和跟踪技术^[52]、HIFU治疗时的计量学等方面研究也有待进一步深入。同时,HIFU局部消融治疗虽已证实不仅能有效缓解症状、改善患者生存治疗、延长生存时间,亦能增强放、化疗效应和患者自身免疫力,但目前的临床研究都存在样本量较小、缺乏随机对照及长期随访等诸多问题,故HIFU在CRLM综合治疗中的作用与地位还需要多中心、大样本的临床随机对照研究来进一步明确。另外,HIFU联合射频消融治疗CRLM是否可取得更好的疗效,尚需更多、更深入的临床实验研究证实;HIFU局部消融技术能否成为CRLM

患者术前新辅助治疗,使患者重新获得手术机会也值得探索;还有,肿瘤的免疫治疗是近年的研究热点,HIFU联合免疫治疗方法是否能有效控制CRLM的病情进展,甚至减少CRLM的发生,也有重要的临床研究价值。

4 结论

HIFU治疗CRLM具有应用范围广,对周围器官及正常组织损伤小,无辐射,患者创伤小、痛苦轻、恢复快等优点,值得临床推广。相信随着HIFU自身设备的不断完善、技术的进一步改进及其对人体组织作用机制的更深层次研究,其在治疗CRLM方面的前景将会更加广阔^[53]。

5 参考文献

- 董志伟,谷铁之. 临床肿瘤学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 941-969
- Yan BC, Hart JA. Recent developments in liver pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 1078-1086 [PMID: 19642734 DOI: 10.1043/1543-2165-133.7.1078]
- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684]
- Pawlik TM, Choti MA. Surgical therapy for colorectal metastases to the liver. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1057-1077 [PMID: 17530336 DOI: 10.1007/s11605-006-0061-3]
- 潘泽亚, 吴伯文, 吴孟超. 大肠癌肝转移的诊断与治疗进展. *中国实用外科杂志* 2000; 20: 183
- 叶颖江, 王杉. 结直肠癌肝转移外科手术新理念. *中华普通外科手术学杂志* 2010; 4: 3-5
- Wu XF, Song HY, Yoon JM, Yu YT, Chen YF. Synthesis of core-shell Au@TiO₂ nanoparticles with truncated wedge-shaped morphology and their photocatalytic properties. *Langmuir* 2009; 25: 6438-6447 [PMID: 19341284 DOI: 10.1586/egh.09.8]
- Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Fong Y, Kornprat P, Gonen M, Kemeny N, Brennan MF, Blumgart LH, D'Angelica M. Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4575-4580 [PMID: 17925551 DOI: 10.1200/JCO.2007.11.0833]
- 廖皓宇, 何劲松, 唐锦, 魏寿江. 结直肠癌肝转移临床治疗现状. *中华普通外科杂志* 2012; 6: 43-48
- Nelson RL, Freels S. A systematic review of hepatic artery chemotherapy after hepatic resection of colorectal cancer metastatic to the liver. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 739-745 [PMID: 15037930 DOI: 10.1007/s10350-003-0113-7]
- 曹锋, 王悦华, 李非. 结直肠癌肝转移射频消融治疗的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2009; 14: 93-95
- Nicholl MB, Bilchik AJ. Thermal ablation of hepatic malignancy: useful but still not optimal. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 318-323 [PMID: 18055158 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.07.203]
- Dubinsky TJ, Cuevas C, Dighe MK, Kolokythas O, Hwang JH. High-intensity focused ultrasound: current potential and oncologic applications. *AJR Am J*

- Roentgenol* 2008; 190: 191-199 [PMID: 18094311 DOI: 10.2214/AJR.07.2671]
- 14 Leslie TA, Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound principles, current uses, and potential for the future. *Ultrasound Q* 2006; 22: 263-272 [PMID: 17146334 DOI: 10.1097/01.ruq.0000237259.25885.72]
 - 15 苏海兵, 邹建中, 王智彪. 高强度聚焦超声肿瘤治疗技术原理. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 271-272
 - 16 刘丽燕, 王理伟. 高强度聚焦超声治疗胰腺癌研究现状. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 370-374
 - 17 霍彦明, 陈亚珠. 高强度聚焦超声技术的原理及机理研究. *中华物理医学与康复杂志* 2000; 22: 172-174
 - 18 关利铭, 王智彪, 伍烽, 白晋, 杜永洪, 文爽, 曹友德. 高强度聚焦超声对人乳腺癌细胞及其滋养血管损伤的病理观察. *中国临床医学杂志* 2006; 13: 675-677
 - 19 夏纪筑, 丁炎, 赖春冬, 伍烽. 高强度聚焦超声治疗H22肝癌后荷鼠淋巴细胞杀伤活性的变化. *中国超声医学杂志* 2010; 26: 297-299
 - 20 黄耀, 张卫星, 彭淮都, 魏杨辉, 陈小珍. 高强度聚焦超声对恶性肿瘤患者细胞免疫功能的影响. *中国热带医学杂志* 2010; 10: 488-489
 - 21 黄松钦, 梅昌武, 陈舜英, 江小莹. 高强度聚焦超声联合化疗治疗大肠癌肝转移. *中国肿瘤临床与康复杂志* 2011; 18: 71-73
 - 22 胡斌, 吕伟, 王虎明, 赵玮, 周丁华. 高强度聚焦超声在胰腺癌治疗中的临床应用. *肝胆胰外科杂志* 2013; 25: 263-265
 - 23 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
 - 24 Khatr VP, Petrelli NJ, Belghiti J. Extending the frontiers of surgical therapy for hepatic colorectal metastases: is there a limit? *J Clin Oncol* 2005; 23: 8490-8499 [PMID: 16230676 DOI: 10.1200/JCO.2004.00.6155]
 - 25 王锡山. 结直肠癌肝转移手术时机的选择. *中华普通外科杂志* 2009; 3: 42-45
 - 26 Kennedy JE, Ter Haar GR, Cranston D. High intensity focused ultrasound: surgery of the future? *Br J Radiol* 2003; 76: 590-599 [PMID: 14500272 DOI: 10.1259/bjr/17150274]
 - 27 Wu F, Chen WZ, Bai J, Zou JZ, Wang ZL, Zhu H, Wang ZB. Tumor vessel destruction resulting from high-intensity focused ultrasound in patients with solid malignancies. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 535-542 [PMID: 12049967 DOI: 10.1016/S0301-5629(01)00515-4]
 - 28 Yagel S. High-intensity focused ultrasound: a revolution in non-invasive ultrasound treatment? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 216-217 [PMID: 15027006 DOI: 10.1002/uog.1017]
 - 29 牛凤岐, 朱承纲, 程洋. 高强度聚焦超声(HIFU)标准化的迄今历程与展望. *中国医疗器械信息杂志* 2006; 12: 6-10
 - 30 Tempany CM, Stewart EA, McDannold N, Quade BJ, Jolesz FA, Hynynen K. MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study. *Radiology* 2003; 226: 897-905 [PMID: 12616023 DOI: 10.1016/j.acra.2005.05.018]
 - 31 熊六林. 高强度聚焦超声的临床应用. *物理杂志* 2007; 36: 715-719
 - 32 Stewart EA, Rabinovici J, Tempany CM, Inbar Y, Regan L, Gostout B, Hesley G, Kim HS, Hengst S, Gedroyc WM. Clinical outcomes of focused ultrasound surgery for the treatment of uterine fibroids. *Fertil Steril* 2006; 85: 22-29 [PMID: 16412721]
 - 33 朱辉, 陈文直, 伍烽, 黎克全, 邹建中, 王智彪. 18例大肠癌肝转移高强度聚焦超声治疗的临床观察. *中国肿瘤临床杂志* 2004; 31: 15-18
 - 34 李洪波, 郑东庆, 胡元清, 丁大明, 张桂媛, 党建波. 高强度聚焦超声治疗结肠癌术后肝转移. *中国基层医药杂志* 2010; 17: 2608-2609
 - 35 孙艳, 伍强, 林启平, 张伟星, 钟喻. 高强度聚焦超声治疗21例结直肠癌肝转移. *肿瘤学杂志* 2010; 16: 104-105
 - 36 罗威, 周丁华. 高强度聚焦超声在肝癌临床治疗中的应用现状及发展. *中华肝胆外科杂志* 2012; 18: 72-75
 - 37 Hu Z, Yang XY, Liu Y, Sankin GN, Pua EC, Morse MA, Lysterly HK, Clay TM, Zhong P. Investigation of HIFU-induced anti-tumor immunity in a murine tumor model. *J Transl Med* 2007; 5: 34 [PMID: 17625013 DOI: 10.1186/1479-5876-5-34]
 - 38 Schueller G, Stift A, Friedl J, Dubsky P, Bachleitner-Hofmann T, Benkoe T, Jakesz R, Gnant M. Hyperthermia improves cellular immune response to human hepatocellular carcinoma subsequent to co-culture with tumor lysate pulsed dendritic cells. *Int J Oncol* 2003; 22: 1397-1402 [PMID: 12739010]
 - 39 Kruse DE, Mackanos MA, O'Connell-Rodwell CE, Contag CH, Ferrara KW. Short-duration-focused ultrasound stimulation of Hsp70 expression in vivo. *Phys Med Biol* 2008; 53: 3641-3660 [PMID: 18562783 DOI: 10.1088/0031-9155/53/13/017]
 - 40 Chan T, Chen Z, Hao S, Xu S, Yuan J, Saxena A, Qureshi M, Zheng C, Xiang J. Enhanced T-cell immunity induced by dendritic cells with phagocytosis of heat shock protein 70 gene-transfected tumor cells in early phase of apoptosis. *Cancer Gene Ther* 2007; 14: 409-420 [PMID: 17235354 DOI: 10.1038/sj.cgt.7701025]
 - 41 王文见, 欧阳茂, 罗亿治, 伍烽, 孔繁斌, 王智彪. 高强度聚焦超声对荷W256肝癌局部组织中T淋巴细胞亚群的影响. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 536-539
 - 42 刘铁军, 金效民. 高强度聚焦超声联合腹腔化疗治疗肝转移癌的疗效观察. *中国医疗前沿杂志* 2008; 3: 36-38
 - 43 Zhao H, Yang G, Wang D, Yu X, Zhang Y, Zhu J, Ji Y, Zhong B, Zhao W, Yang Z, Aziz F. Concurrent gemcitabine and high-intensity focused ultrasound therapy in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Anticancer Drugs* 2010; 21: 447-452 [PMID: 20075714 DOI: 10.1097/CAD.0b013e32833641a7]
 - 44 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667 [PMID: 15858105]
 - 45 Goldberg SN, Gazelle GS, Compton CC, Mueller PR, Tanabe KK. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: radiologic-pathologic correlation. *Cancer* 2000; 88: 2452-2463 [PMID: 10861420 DOI: 10.1002/1097-0142(20000601)88:]
 - 46 ter Haar G. High intensity ultrasound. *Semin Laparosc Surg* 2001; 8: 77-89 [PMID: 11337740]
 - 47 Li Q, Du J, Yu M, He G, Luo W, Li H, Zhou X. Transmission electron microscopy of VX2 liver tumors after high-intensity focused ultrasound ablation enhanced with SonoVue. *Adv Ther* 2009; 26: 117-125 [PMID: 19096769 DOI: 10.1007/s12325-008-0126-7]
 - 48 Xu ZL, Zhu XQ, Lu P, Zhou Q, Zhang J, Wu F. Activation of tumor-infiltrating antigen presenting cells

■应用要点

除单用HIFU和HIFU联合化疗两种方法治疗CRLM外, HIFU联合其他方法治疗CRLM的临床报道和应用较少, 本文综述的HIFU联合TACE、射频消融及免疫治疗等方法有望成为HIFU在CRLM治疗方面的新研究方向. 同时, 本文综述的HIFU目前存在的不足, 若得到有效解决, HIFU不仅在CRLM的治疗方面, 在整个肿瘤治疗方面的应用前景也必将更加广阔.

■同行评价

本文不仅综述HIFU在结直肠癌肝转移治疗中的应用现状,还回顾了HIFU的发展历程,展望了其在CRLM治疗方面的应用前景,总结全面,条理清楚,评价客观。

- by high intensity focused ultrasound ablation of human breast cancer. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 50-57 [PMID: 18950932 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.08.005]
- 49 Okada A, Murakami T, Mikami K, Onishi H, Tanigawa N, Marukawa T, Nakamura H. A case of hepatocellular carcinoma treated by MR-guided focused ultrasound ablation with respiratory gating. *Magn Reson Med Sci* 2006; 5: 167-171 [PMID: 17139143 DOI: 10.2463/mrms.5.167]
- 50 熊六林, 钱祖文, 于晋生. 超声反演法无创测温实验研究. *中国超声医学杂志* 2008; 24: 17-19
- 51 金成兵, 朱辉, 王智彪, 张炼, 黎克全, 周昆, 杨炜, 彭松, 冉立峰. 肋骨切除术在HIFU联合TACE治疗中晚期肝癌中的临床价值. *重庆医科大学学报* 2009; 34: 475-478
- 52 Fischer K, Gedroyc W, Jolesz FA. Focused ultrasound as a local therapy for liver cancer. *Cancer J* 2010; 16: 118-124 [PMID: 20404608 DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181db7c32]
- 53 King R, Rieke V, Pauly K B. The Feasibility of HIFU liver ablation through the ribcage and cartilage in a rodent mode. *AIP Conference Proceedings* 2009; 1113: 149-153 [DOI: 10.1063/1.1313402]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



RNAi沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响

李 佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博

李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021

李佳, 在读博士, 主要从事肝癌发病机制和预防的研究。

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1298003-2-5

广西新世纪十百千人才工程专项基金资助项目, No. 2007214

广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题基金资助项目, No. Z2012052

作者贡献分布: 裸鼠成瘤模型、Real-time PCR和免疫组织化学等主要实验由李佳完成, 莫伟嘉与李海荣协助完成; 细胞培养、慢病毒转染由陆会平完成; 数据分析和文章撰写由李佳完成; 课题指导、文章修改和审阅由冯振博完成。

通讯作者: 冯振博, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院病理科。

guanghu1963@126.com

电话: 0771-5356534

收稿日期: 2013-11-24 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-28

RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model

Jia Li, Hui-Ping Lu, Wei-Jia Mo, Hai-Rong Li, Zhen-Bo Feng

Jia Li, Hui-Ping Lu, Wei-Jia Mo, Hai-Rong Li, Zhen-Bo Feng, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Science Research and Technology Development Project, No. 1298003-2-5; Special Grants From "New Century Ten-Hundred-Thousand Talent Engineering" of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2007214; Self-Financing Scientific Research Fund of Guangxi Health Department, No. Z2012052

Correspondence to: Zhen-Bo Feng, Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. guanghu1963@126.com

Received: 2013-11-24 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To observe the influence of specificity protein 3 (Sp3) silencing on invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model, and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: A shRNA-Sp3 or non-relevant

shRNA was transfected into HepG2 cells using a lentiviral vector. Non-transfected HepG2 cells were used as controls. The three groups of cells were injected into nude mice. Tumor formation rate was determined, and the pathological morphology of cells in three groups was observed. The mRNA and protein expression of Sp3, β -catenin, E-cadherin and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) was detected by real-time PCR and immunohistochemistry.

RESULTS: The tumor formation rate was lower in the shRNA-Sp3 group than in the non-relevant group and control group (60% vs 100%, 100%). The ability of invasion was weaker in the shRNA-Sp3 group. The expression of Sp3, β -catenin and MMP-9 mRNAs in the shRNA-Sp3 group was significantly lower than that in the non-relevant group and control group ($F = 29.692, 21.894, 109.414$; $P = 0.001, 0.002, < 0.001$). The expression of E-cadherin mRNA was significantly higher in the shRNA-Sp3 group than in the other two groups ($F = 66.983, P < 0.001$). The expression levels of Sp3 (30 ± 5.69), β -catenin (28 ± 5.13) and MMP-9 proteins (97 ± 10.41) were significantly lower than those in the non-relevant group and control group ($P = 0.000$ for all). The expression of E-cadherin protein (132 ± 4.36) was significantly higher in the shRNA-Sp3 group than in the other two groups ($P = 0.000$).

CONCLUSION: Sp3 may influence the invasion of HepG2 cells *in vivo* by up-regulating the expression of β -catenin and MMP-9 and down-regulating the expression of E-cadherin.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Specificity protein 3; Nude mice; β -catenin; E-cadherin; Matrix metalloproteinase 9

Li J, Lu HP, Mo WJ, Li HR, Feng ZB. RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model. *Shijie Huaren*

■背景资料

转录因子Sp3在多种人肿瘤细胞株及组织中高表达, 调控肿瘤细胞生长、侵袭等生物学行为。β-catenin是Wnt/β-catenin信号通路中的关键作用分子, 与肿瘤细胞增殖及浸润有关。β-catenin的启动子含有丰富的GC盒, 此结构能被Sp家族识别并结合。可见β-catenin为Sp3调控的下游基因, 提示Sp3基因在体内参与肝细胞癌侵袭能力的调控, 其机制可能与Wnt/β-catenin信号通路有关。

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

■ 研发前沿

Wnt/ β -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展, β -catenin是该信号通路中的关键作用分子, 与肿瘤侵袭及转移有关. 近年来不断有新的 β -catenin调节因子被发现, 提示 β -catenin的调控机制极为复杂. 因此, 深入探讨Sp3调控Wnt/ β -catenin信号通路, 对揭示其在肝细胞癌恶性生物学行为调控具有重大意义.

Xiaohua Zazhi 2014; 22(6): 813-818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.813>

摘要

目的: 构建裸鼠人肝癌种植瘤模型, 观察沉默特异性蛋白3(specificity protein 3, Sp3)对裸鼠人肝癌种植瘤侵袭能力的影响, 并探讨其机制.

方法: 将Sp3 shRNA转染人肝癌HepG2细胞, 并设无关序列阴性组及空白组为对照, 建立3组裸鼠人肝癌种植瘤模型. 观察裸鼠肿瘤的成瘤率, 瘤体进行HE染色观察其病理学改变, 采用Real-time PCR及免疫组织化学检测瘤组织中Sp3、 β -连接素(β -catenin)、E-钙黏附蛋白(E-cadherin)及基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)mRNA和蛋白的表达情况.

结果: 实验组的成瘤率明显低于其他两组(60% vs 100%, 100%); HE观察实验组肿瘤细胞侵袭能力明显降低. 荧光定量PCR检测结果显示, 种植瘤中实验组的Sp3、 β -catenin及MMP-9 mRNA相对表达量明显低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义($F = 29.692$, $P = 0.001$; $F = 21.894$, $P = 0.002$; $F = 109.414$, $P < 0.001$); 实验组瘤体中E-cadherin mRNA的相对表达量高于其他两组($F = 66.983$, $P < 0.001$). 免疫组织化学结果显示, 实验组Sp3蛋白表达为 30 ± 5.69 、 β -catenin蛋白表达为 28 ± 5.13 、MMP-9蛋白表达为 97 ± 10.41 均低于空白组及阴性组; E-cadherin蛋白表达为 132 ± 4.36 明显高于其他两组, 差异有统计学意义($P = 0.000$).

结论: Sp3可通过上调 β -catenin及其下游基因MMP-9表达, 同时下调E-cadherin的表达, 增强人肝癌细胞的侵袭能力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 沉默特异性蛋白3; 裸鼠; β -连接素; E-钙黏附蛋白; 基质金属蛋白酶9

核心提示: 本研究结果表明, 沉默特异性蛋白3(specificity protein 3)可通过上调Wnt/ β -连接素(β -catenin)信号中 β -catenin及其下游基因基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9)表达, 同时下调E-钙黏附蛋白(E-cadherin)的表达, 增强肝癌细胞侵袭性, 共同促进肿瘤的演进.

李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博. RNA沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 813-818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.813>

0 引言

特异性蛋白3(specificity protein 3, Sp3)作为特异蛋白家族成员之一, 属于特殊转录因子, Sp3和其他Sp特殊蛋白家族成员一样, 在胚胎形成及出生后发育时期广泛表达并起关键作用, 但在成熟齿类动物模型及人类正常组织中, Sp3表达较低或不表达, 例如裸鼠的肝组织中Sp3几乎不表达^[1]. 而在多种人肿瘤细胞株及组织中高表达^[2-7], 从而调控肿瘤细胞的生长、侵袭等生物学行为. 我们前期试验证实了Sp3在人肝癌细胞HepG2中高表达, 并且沉默Sp3基因表达可引起人肝癌细胞HepG2的生长速度减慢、细胞周期阻滞^[8]. 这些结果提示我们Sp3基因与肝细胞癌发生发展有关. 侵袭是恶性肿瘤具有的特征性生物学行为. Wnt/ β -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展, 促进肿瘤细胞增殖及侵袭. 本研究利用已构建的三株细胞株分别建立裸鼠人肝癌种植瘤模型, 观察沉默Sp3基因表达对肝癌细胞侵袭能力的影响, 初步探讨Sp3对Wnt/ β -catenin信号通路的调控对移植瘤肝癌细胞侵袭能力的影响, 并探讨其可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2肝癌细胞购自中国科学院上海生物细胞研究所. Balb/c裸鼠购自广西医科大学动物实验中心, 生产许可证号SCXK桂2009-000, 鼠龄6 wk, 雌雄兼用, 饲养于广西医科大学动物实验中心SPF级饲养房. cDNA逆转录试剂盒购自Fermentas公司, FastStart Universal SYBR Green Master (ROX)购自Roche公司. Sp3多克隆一抗(浓缩液)购自美国Santa Cruze公司, β -catenin、E-cadherin及基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)单克隆抗体工作液购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 鼠兔通用型二抗购自上海长岛生物技术有限公司, DAB显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞转染及裸鼠人肝细胞癌成瘤模型的构建: 细胞株实验组(Lv-shRNA-Sp3)、阴性组(Lv-shRNA-NC)由本课题组构建^[8]. 将30只裸鼠随机分为3组: 实验组、阴性组和空白组, 每组10只.

表 1 Real-time PCR引物序列及产物长度

基因名称	上游引物	下游引物	产物长度(bp)
<i>Sp3</i>	5'-GCTTGACCTGTCCCAACTGTA-3'	5'-CTCCAGAATGCCAACGCAGA-3'	148
<i>β-catenin</i>	5'-GAGTGCTGAAGGTGCTATCTGTC-3'	5'-CTGAACAAGAGTCCCAAGGAGA-3'	197
<i>E-cadherin</i>	5'-CCAGCGTGGGAGGCTGTATA-3'	5'-TCCAAGCCCTTTGCTGTTTT-3'	110
<i>MMP-9</i>	5'-CGTGTCTGGAGATTCGACTTGA-3'	5'-TTGGAAGCTCACACGCCAGA-3'	165
<i>β-actin</i>	5'-GCACCACACCTTCTACAATGAGC-3'	5'-GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'	166

参照相关文献[9]中的裸鼠皮下种植瘤模型建立方法, 将转染后48 h的实验组、阴性组及处于对数期生长的HepG2 3组细胞, 常规消化, 细胞悬液以 1×10^7 细胞/0.2 mL剂量分别接种于相应组的裸鼠右前肢腋下, 皮下接种。每隔3 d观察皮下成瘤情况, 裸鼠接种细胞后第28天处死。解剖观察瘤体生长情况。瘤体组织分为2份: 一份用4%中性甲醛固定, 制作蜡块后切片进行HE染色及免疫组织化学染色。另一份标本立即放置液氮中, 随后转移至-80 °C超低温冰箱保存, 用来提取RNA。

1.2.2 Real-time PCR检测基因表达: 应用Primer 5.0软件设计引物并由Invitrogen公司合成, 引物序列如表1。使用TRIzol分别提取3组种植瘤的总RNA, 检测RNA完整度后, 逆转录为cDNA, 参照逆转录试剂盒说明书进行, Real-time PCR方法采用ROX公司试剂盒说明书进行, 以 β -actin为内参, 使用ABI公司的PCR仪对PCR产物进行定量检测, 由计算机分析给出Ct及RQ值。

1.2.3 免疫组织化学检测 β -catenin、E-cadherin及MMP-9: 石蜡切片脱蜡后, 进行Sp3及E-cadherin检测的切片浸入pH 8.0 EDTA, 进行 β -catenin及MMP-9检测的切片浸入柠檬酸缓冲液, 均用高压锅修复1 min 30 s, 3% H_2O_2 于室温孵育10 min以消除内源性过氧化物酶活性; 分别滴加Sp3(稀释1:150)、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9一抗, 37 °C温箱孵育1.5 h; PBS冲洗后滴加二抗, 继续37 °C孵育30 min; PBS冲洗后DAB显色, 苏木素复染, 脱水透明, 中性树胶封片。实验均设立阳性对照及阴性对照。结果判断: 判断结果综合染色深度结合阳性细胞百分比统计计分。Sp3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9阳性染色呈棕褐色颗粒, Sp3阳性定位于细胞核, β -catenin定位于细胞膜、细胞浆及细胞核, E-cadherin阳性定位于细胞膜, MMP-9阳性定位于细胞浆。400倍高倍镜下随机选取10个不连续视野进行观察, 每个视野计算200个细胞中阳性细胞数, 取其均值。

统计学处理 应用SPSS16.0软件进行统计分析, 计量资料用mean \pm SD表示, 组间比较用单因素方差分析, 组间多重比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裸鼠成瘤情况 在给药期间, 共有4只裸鼠死亡, 其中空白组3只, 阴性组1只, 死亡原因可能与皮下瘤体生长较快导致恶病质有关。各组裸鼠接种肿瘤细胞悬液28 d后处死, 解剖结果显示: 空白组7只裸鼠均成瘤, 成瘤率100%; 阴性组9只均成瘤, 成瘤率100%; 实验组10只裸鼠中成瘤6只, 成瘤率只有60%。

2.2 三组裸鼠种植瘤的病理学变化 3组瘤体大体形态均呈结节状或分叶状, 切面灰白、实性质中, 中央可见坏死。实验组瘤体包膜均完整, 与周围组织无黏连, 瘤体易剥离; 空白组和阴性组瘤体包膜与周围组织粘连。HE染色结果可见3组种植瘤瘤体镜下均为中等分化肝细胞癌, 癌巢内癌细胞呈梁状排列, 中间可见坏死, 癌细胞胞浆呈嗜酸性, 细胞核圆形, 核浆比例增大, 可见瘤巨细胞。空白组和阴性组可见癌细胞突破包膜, 侵犯周围肌组织(图1); 实验组瘤体包膜完整, 未见癌细胞侵犯周围组织。

2.3 Real-time PCR检测裸鼠种植瘤Sp3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9 mRNA表达量 荧光定量PCR检测结果显示, 种植瘤中实验组的Sp3、 β -catenin及MMP-9 mRNA相对表达量明显低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义($F = 29.692, P = 0.001; F = 21.894, P = 0.002; F = 109.414, P < 0.001$), 空白组和阴性组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验组瘤体中E-cadherin mRNA的相对表达量高于其他两组, 差异有统计学意义($F = 66.983, P < 0.001$), 空白组和阴性组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)(图2)。

2.4 免疫组织化学检测裸鼠种植瘤中Sp3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白的表达情

■ 相关报道

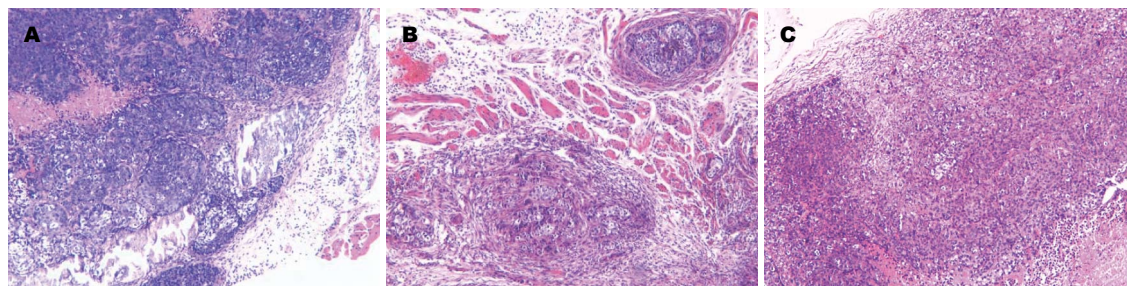
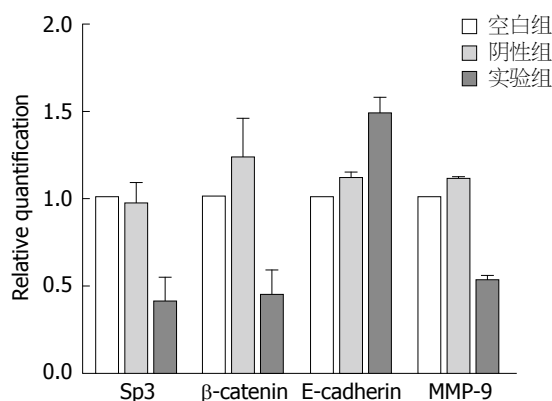
Pathi等对阿司匹林在结肠癌治疗的研究中表明 β -catenin是Sp3家族的下游靶基因。本课题组前期实验结果发现Sp3在人肝癌细胞HepG2中高表达, 并且沉默Sp3基因表达可引起人肝癌细胞HepG2的生长速度减慢、细胞周期阻滞; 肝癌细胞癌组织中Sp3蛋白高表达, Sp3高表达与肿瘤恶性程度呈正相关; 这些结果提示我们Sp3基因与肝细胞癌的生长及浸润转移有关。

■创新亮点

本实验构建了基于HepG2细胞的裸鼠人肝癌种植瘤模型,观察沉默Sp3基因表达对肝癌细胞侵袭能力的影响,初步探讨Sp3对Wnt/ β -catenin信号通路的调控对移植瘤肝癌细胞侵袭能力的影响,并探讨其可能机制。

表 2 各组移植瘤中Sp3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白的表达情况 ($n = 10$, mean \pm SD)

	实验组	阴性组	空白组	F值	P值
Sp3	30 \pm 5.69	188 \pm 5.57	196 \pm 1.53	1194	0.000
β -catenin	28 \pm 5.13	135 \pm 5.14	141 \pm 4.00	525.16	0.000
E-cadherin	132 \pm 4.36	41 \pm 8.39	32 \pm 4.73	244.95	0.000
MMP-9	97 \pm 10.41	166 \pm 12.30	156 \pm 4.73	43.262	0.000

图 1 3组瘤体癌组织的浸润情况(H&E $\times 100$)。A: 空白组癌细胞突破包膜; B: 阴性组癌细胞浸润周边肌组织; C: 实验组瘤体包膜完整。图 2 Real-time PCR检测3组种植瘤中Sp-3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9 mRNA表达量。MMP-9: 基质金属蛋白酶9。

况 结果显示, 实验组Sp3蛋白表达为 30 ± 5.69 、 β -catenin蛋白表达为 28 ± 5.13 、MMP-9蛋白表达为 97 ± 10.41 均低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义($P = 0.000$), 空白组和阴性组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。而实验组E-cadherin蛋白表达为 132 ± 4.36 明显高于其他两组, 差异有统计学意义($P = 0.000$), 空白组和阴性组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2, 图3)。

3 讨论

Sp家族属于特殊转录因子, 目前发现有Sp1-9等9个成员^[10-12], 均为具有相似结构及转录特性的DNA结合蛋白, 该家族成员在C端均存在3个串联的Cys2His2型锌指结构域, 此结构域使该Sp家族成员以不同亲和力识别GC/GT盒, 激活很

多哺乳动物细胞的启动子, 决定启动子的特异性和转录效率从而参与多种基因的调控。目前发现许多癌症和疾病都存在Sp1和Sp3异常调节, 在大多数肿瘤中呈高表达, 并在肿瘤形成过程中起重要作用, 维持或促进细胞增殖及侵袭, 包括膀胱癌^[2]、乳腺癌^[4]、前列腺癌^[13]等。本课题组前期实验结果^[14]也发现肝细胞癌组织中Sp3蛋白高表达, Sp3高表达与肿瘤恶性程度呈正相关, 表明Sp3与肝细胞癌的发生发展有关。Wnt/ β -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展, 而 β -catenin是该信号通路中的关键作用分子^[15-17], 不仅在钙黏蛋白介导的细胞黏附、细胞骨架分化中起重要作用, 而且在Wnt/ β -catenin信号通道的关键环节调控cyclin D1、c-myc及MMPs等基因的表达, 从而促进肿瘤细胞增殖及浸润。

近年来不断有新的 β -catenin调节因子被发现, 提示 β -catenin的调控机制极为复杂。 β -catenin启动子含有丰富的GC盒, 此结构能被Sp家族识别并结合。在2012年Pathi等^[18]对阿司匹林在结肠癌治疗的研究中发现, 在结肠癌细胞SW480中利用小RNA干扰技术沉默Sp3导致 β -catenin的表达减少, 表明 β -catenin是Sp家族的下游靶基因。本实验利用RNA干扰技术构建下调Sp3表达的裸鼠人肝癌种植瘤模型, 结果发现瘤体Sp3和 β -catenin mRNA及蛋白低表达, 两者表达均呈正相关, 提示Sp3直接或间接的调控 β -catenin的表达, 这与Pathi的研究是一致的。裸鼠种植瘤大体

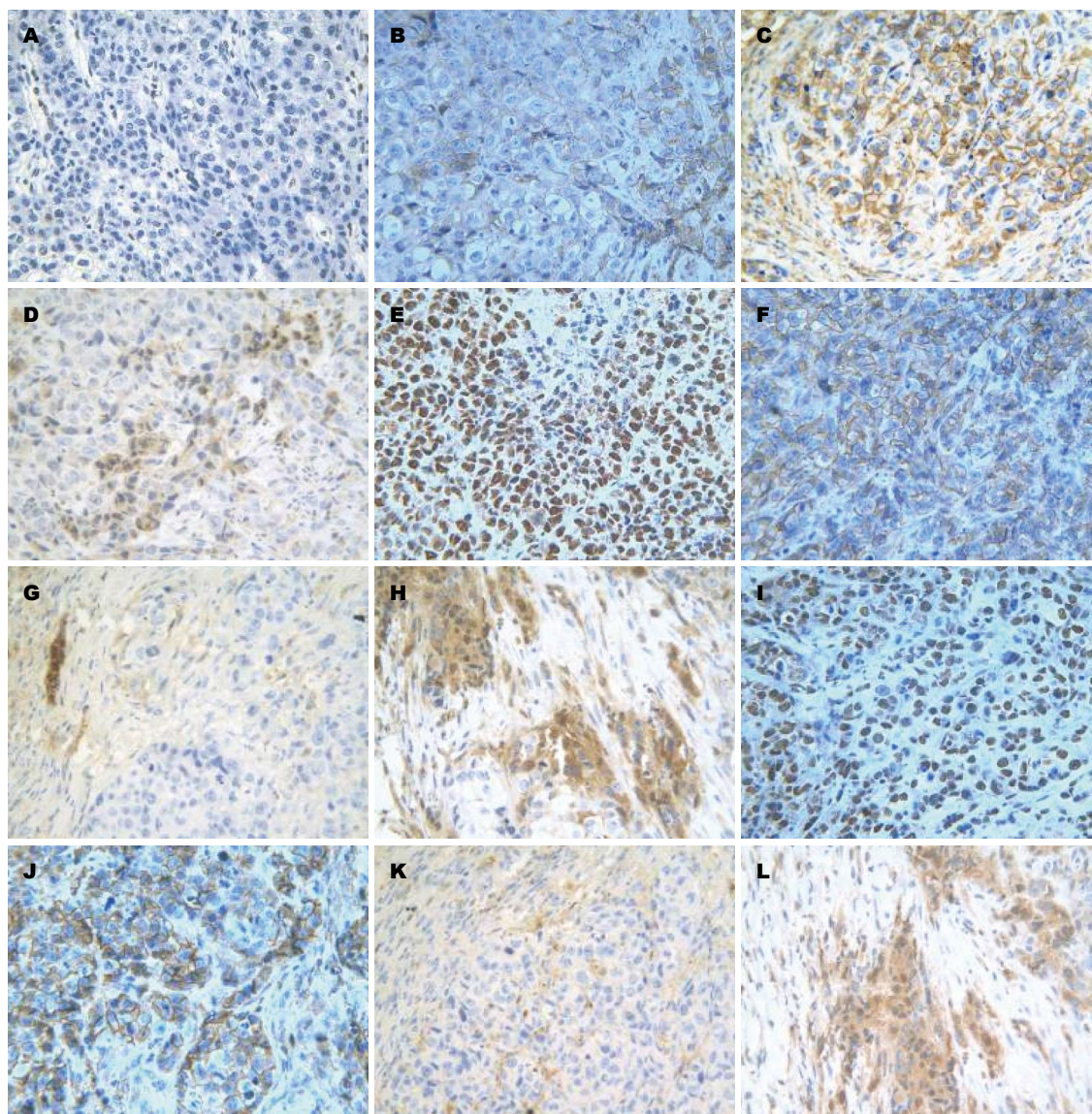


图 3 免疫组织化学检测3组种植瘤中Sp3、 β -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白表达($\times 400$)。A-D: 实验组; E-H: 空白组; I-L: 阴性组; A, E, I: Sp3; B, F, J: β -catenin; C, G, K: E-cadherin; D, H, L: MMP-9。MMP-9: 基质金属蛋白酶9。

■应用要点
Sp3可通过上调Wnt/ β -catenin信号中 β -catenin及其下游基因MMP-9表达,同时下调E-cadherin的表达,增强肝癌细胞侵袭性,共同促进肿瘤的演进。本文将为肝癌侵袭及转移的分子机制研究提供线索,同时为肝癌晚期治疗提供新思路。

和镜下观察结果显示,实验组中癌细胞侵袭能力减弱,瘤体周围未见明显浸润。为了了解Sp3是否通过调控 β -catenin及其下游基因的表达,参与肝细胞癌细胞浸润及侵袭,本实验对3组种植瘤体中E-cadherin及MMP-9的表达进行检测,Real-time PCR和免疫组织化学结果显示:实验组中 β -catenin和MMP-9 mRNA及蛋白表达显著降低,E-cadherin表达增加。本部分实验结果提示我们:沉默Sp3基因减弱了人肝癌细胞HepG2的侵袭能力,Sp3基因在体内参与肝细胞癌侵袭能力的调控,其机制可能与抑制Wnt/ β -catenin信号通路有关。

随着肿瘤的进展,肿瘤细胞内Sp3合成增多并促进 β -catenin转录,细胞膜上的 β -catenin逐

渐转位到细胞质并转移进入细胞核与转录因子TCF/LEF-1结合,激活下游肿瘤相关基因的表达,诱导肝细胞癌的演进:包括激活上皮-间充质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)调控基因Slug^[19],后者可抑制E-cadherin的转录,进而减少E-cadherin/ β -catenin复合体形成,减弱细胞间的黏附;同时Wnt/ β -catenin信号通路可通过调节环氧化物酶-2(cyclooxygenase type 2, COX-2)提高MMPs的表达^[20];共同导致肿瘤的浸润及转移。

以上研究结果表明,Sp3可通过上调Wnt/ β -catenin信号中 β -catenin及其下游基因MMP-9表达,同时下调E-cadherin的表达,增强肝癌细胞侵袭性,共同促进肿瘤的演进。因此,深入探讨Sp3调控Wnt/ β -catenin信号通路,对揭示其在肝

同行评价

本文通过裸鼠人肝癌种植瘤模型证明沉默*Sp3*基因在体内可减弱人肝癌细胞HepG2的迁移及侵袭能力,并初步探讨其机制,对探索肝癌发病机制具有实际意义。

细胞癌恶性生物学行为调控具有重大意义,两者之间的具体作用机制,还有待我们的进一步研究。

参考文献

- Chintharlapalli S, Papineni S, Ramaiah SK, Safe S. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors. *Cancer Res* 2007; 67: 2816-2823 [PMID: 17363604 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3735]
- Jutooru I, Chadalapaka G, Sreevalsan S, Lei P, Barhoumi R, Burghardt R, Safe S. Arsenic trioxide downregulates specificity protein (Sp) transcription factors and inhibits bladder cancer cell and tumor growth. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2174-2188 [PMID: 20435036 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.04.027]
- Chintharlapalli S, Papineni S, Lei P, Pathi S, Safe S. Betulinic acid inhibits colon cancer cell and tumor growth and induces proteasome-dependent and -independent downregulation of specificity proteins (Sp) transcription factors. *BMC Cancer* 2011; 11: 371 [PMID: 21864401]
- Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, Safe S. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 11001-11011 [PMID: 18006846 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2416]
- Papineni S, Chintharlapalli S, Abdelrahim M, Lee SO, Burghardt R, Abudayyeh A, Baker C, Herrera L, Safe S. Tolfenamic acid inhibits esophageal cancer through repression of specificity proteins and c-Met. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1193-1201 [PMID: 19406933 DOI: 10.1093/carcin/bgp092]
- Gao Y, Jia Z, Kong X, Li Q, Chang DZ, Wei D, Le X, Suyun H, Huang S, Wang L, Xie K. Combining betulinic acid and mithramycin a effectively suppresses pancreatic cancer by inhibiting proliferation, invasion, and angiogenesis. *Cancer Res* 2011; 71: 5182-5193 [PMID: 21673052 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2016]
- Colon J, Basha MR, Madero-Visbal R, Konduri S, Baker CH, Herrera LJ, Safe S, Sheikh-Hamad D, Abudayyeh A, Alvarado B, Abdelrahim M. Tolfenamic acid decreases c-Met expression through Sp proteins degradation and inhibits lung cancer cells growth and tumor formation in orthotopic mice. *Invest New Drugs* 2011; 29: 41-51 [PMID: 19851711 DOI: 10.1007/s10637-009-9331-8]
- 陆会平, 李佳, 莫伟嘉, 冯振博. RNAi沉默*Sp3*基因对肝癌HepG2细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2595-2600
- 梁治坤, 黄志勇, 陈孝平, 刘聪, 吴在德. 5-杂氮-2'-脱氧胞苷诱导裸鼠HepG2种植瘤细胞T-cadherin的表达及其对种植瘤的抑制作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1741-1745
- Schoy S, Gabant P, Van Reeth T, Hertveldt V, Drèze PL, Van Vooren P, Rivière M, Szpirer J, Szpirer C. Identification of KLF13 and KLF14 (SP6), novel members of the SP/XKLF transcription factor family. *Genomics* 2000; 70: 93-101 [PMID: 11087666 DOI: 10.1006/geno.2000.6362]
- Lu X, Gilbert L, He X, Rubin J, Nanes MS. Transcriptional regulation of the osterix (Osx, Sp7) promoter by tumor necrosis factor identifies disparate effects of mitogen-activated protein kinase and NF kappa B pathways. *J Biol Chem* 2006; 281: 6297-6306 [PMID: 16410254 DOI: 10.1074/jbc.M507804200]
- Kawakami Y, Esteban CR, Matsui T, Rodríguez-León J, Kato S, Izpisua Belmonte JC. Sp8 and Sp9, two closely related buttonhead-like transcription factors, regulate Fgf8 expression and limb outgrowth in vertebrate embryos. *Development* 2004; 131: 4763-4774 [PMID: 15358670 DOI: 10.1242/dev.01331]
- Ganapathy M, Ghosh R, Jianping X, Zhang X, Bedolla R, Schoolfield J, Yeh IT, Troyer DA, Olumi AF, Kumar AP. Involvement of FLIP in 2-methoxyestradiol-induced tumor regression in transgenic adenocarcinoma of mouse prostate model. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1601-1611 [PMID: 19223508]
- 莫伟嘉, 李佳, 陆会平, 冯振博. *Sp3*与VEGF在肝细胞癌中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3101-3106
- Schmalhofer O, Brabletz S, Brabletz T. E-cadherin, beta-catenin, and ZEB1 in malignant progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28: 151-166 [PMID: 19153669 DOI: 10.1007/s10555-008-9179-y]
- Fu Y, Zheng S, An N, Athanasopoulos T, Popplewell L, Liang A, Li K, Hu C, Zhu Y. β -catenin as a potential key target for tumor suppression. *Int J Cancer* 2011; 129: 1541-1551 [PMID: 21455986 DOI: 10.1002/ijc.26102]
- Jeanes A, Gottardi CJ, Yap AS. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? *Oncogene* 2008; 27: 6920-6929 [PMID: 19029934 DOI: 10.1038/onc.2008.343]
- Pathi S, Jutooru I, Chadalapaka G, Nair V, Lee SO, Safe S. Aspirin inhibits colon cancer cell and tumor growth and downregulates specificity protein (Sp) transcription factors. *PLoS One* 2012; 7: e48208 [PMID: 23110215 DOI: 10.1371/journal.pone.0048208]
- Storci G, Bertoni S, De Carolis S, Papi A, Nati M, Ceccarelli C, Pirazzini C, Garagnani P, Ferrarini A, Buson G, Delledonne M, Fiorentino M, Capizzi E, Gruppioni E, Taffurelli M, Santini D, Franceschi C, Bandini G, Bonifazi F, Bonafé M. Slug/ β -catenin-dependent proinflammatory phenotype in hypoxic breast cancer stem cells. *Am J Pathol* 2013; 183: 1688-1697 [PMID: 24036252 DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.07.020]
- Luo Y, Sun Z, Li Y, Liu L, Cai X, Li Z. Caudatin inhibits human hepatoma cell growth and metastasis through modulation of the Wnt/ β -catenin pathway. *Oncol Rep* 2013; 30: 2923-2928 [PMID: 24064800]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC的影响及意义

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光, 赤峰学院医学院组胚教研室 内蒙古自治区赤峰市 024001

全晓红, 副教授, 主要从事基础医学教学的研究。

作者贡献分布: 此课题由全晓红设计; 研究过程有全晓红与唐晓光实施完成, 数据分析由叶冬梅完成; 论文写作由全晓红、叶冬梅及唐晓光共同完成。

通讯作者: 全晓红, 副教授, 024001, 内蒙古自治区赤峰市松山区机场路, 赤峰学院医学院教学办公室。quanxh@163.com

电话: 0476-8300399

收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2013-12-23

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-28

Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats

Xiao-Hong Quan, Dong-Mei Ye, Xiao-Guang Tang

Xiao-Hong Quan, Dong-Mei Ye, Xiao-Guang Tang, Department of Histology and Embryology, Medical School of Chifeng College, Chifeng 024001, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Xiao-Hong Quan, Associate Professor, Department of Histology and Embryology, Medical School of Chifeng College, Jichang Road, Songshan District, Chifeng 024001, Inner Mongolia Autonomous Region, China. quanxh@163.com

Received: 2013-12-07 Revised: 2013-12-23

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To explore whether Liuwei Dihuangwan has a protective effect against non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats and the possible mechanisms involved.

METHODS: Forty-five rats were randomly divided into three groups: a normal control group, a model control group, and a Liuwei Dihuangwan treated group. The normal control group was fed a normal diet, the model control group was fed a high-fat diet, and the Liuwei Dihuangwan treated group was fed a high-fat diet + Liuwei Dihuangwan. Serum levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin (ALB), total protein (TP), globulose

(GLB), as well as hepatic levels of superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA), triglyceride (TG), and total cholesterol (TC) were compared between different groups.

RESULTS: Serum levels of HDL-C ($0.61 \text{ mmol/L} \pm 0.06 \text{ mmol/L}$ vs $1.08 \text{ mmol/L} \pm 0.16 \text{ mmol/L}$) were significantly lower and those of LDL-C and ALT ($0.75 \text{ U/L} \pm 0.23 \text{ U/L}$ vs $0.16 \text{ U/L} \pm 0.05 \text{ U/L}$; $92.16 \text{ U/L} \pm 35.56 \text{ U/L}$ vs $31.61 \text{ U/L} \pm 14.69 \text{ U/L}$) were significantly higher in the model control group than in the normal control group. Serum levels of LDL-C and ALT were significantly lower in the Liuwei Dihuangwan treated group than in the model control group ($0.46 \text{ mmol/L} \pm 0.12 \text{ mmol/L}$ vs $0.75 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$; $41.88 \text{ U/L} \pm 12.27 \text{ U/L}$ vs $92.16 \text{ U/L} \pm 35.56 \text{ U/L}$; $P < 0.05$ for both). Serum levels of ALB ($18.84 \text{ g/L} \pm 1.95 \text{ g/L}$ vs $20.16 \text{ g/L} \pm 0.95 \text{ g/L}$), TP ($43.15 \text{ g/L} \pm 3.98 \text{ g/L}$ vs $42.91 \text{ g/L} \pm 2.62 \text{ g/L}$) and GLB ($24.34 \text{ g/L} \pm 1.65 \text{ g/L}$ vs $22.75 \text{ g/L} \pm 2.19 \text{ g/L}$) had no significant differences between the model control group and the normal control group ($P > 0.05$ for all), and between the Liuwei Dihuangwan treated group and the model control group (ALB: $18.83 \text{ g/L} \pm 3.05 \text{ g/L}$ vs $18.84 \text{ g/L} \pm 1.95 \text{ g/L}$; TP: $41.17 \text{ g/L} \pm 4.84 \text{ g/L}$ vs $43.15 \text{ g/L} \pm 3.98 \text{ g/L}$; GLB: $22.33 \text{ g/L} \pm 2.41 \text{ g/L}$ vs $24.34 \text{ g/L} \pm 1.65 \text{ g/L}$; $P > 0.05$ for all). Hepatic levels of SOD ($196.22 \text{ U/mgprot} \pm 25.08 \text{ U/mgprot}$ vs $361.25 \text{ U/mgprot} \pm 24.17 \text{ U/mgprot}$) were significantly lower and those of MDA ($3.92 \text{ nmol/mgprot} \pm 1.21 \text{ nmol/mgprot}$ vs $1.34 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.32 \text{ nmol/mgprot}$), TG ($3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$ vs $1.62 \text{ mmol/L} \pm 0.44 \text{ mmol/L}$) and TC ($1.77 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$ vs $1.05 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$) were significantly higher in the model control group than in the normal control group ($P < 0.05$ for all). Hepatic levels of SOD ($274.06 \text{ U/mgprot} \pm 52.11 \text{ U/mgprot}$ vs $196.22 \text{ U/mgprot} \pm 25.08 \text{ U/mgprot}$) were significantly higher and those of MDA, TG and TC ($1.77 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.53 \text{ nmol/mgprot}$ vs $3.92 \text{ nmol/mgprot} \pm 1.21 \text{ nmol/mgprot}$, $2.36 \text{ mmol/L} \pm 0.51 \text{ mmol/L}$ vs $3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$, $1.45 \text{ mmol/L} \pm 0.44$

■背景资料

随着近几年人们生活水平的提高以及生活习惯的改变, 非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 临床发病率逐年升高。NAFLD患者易进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 是导致患者死亡的主要原因。六味地黄丸是滋补肾阴的中药方, 具有调节免疫、降血糖、降血脂以及肝脏保护等多种效果。

■同行评议者

邵华, 副主任药师, 东南大学附属中大医院药剂科

■相关报道

临床研究表明, 脂联素、抵抗素、瘦素等脂肪因子均与NAFLD发病有一定联系。

mmol/L vs 1.75 mmol/L \pm 0.65 mmol/L) were significantly lower in the Liuwei Dihuangwan treated group than in the model control group ($P < 0.05$ for all). Pathological changes observed by naked eyes and light microscopy were obvious in the model control group compared with the normal control group, and Liuwei Dihuangwan significantly improved these changes.

CONCLUSION: Liuwei Dihuangwan has positive therapeutic effects against experimental NAFLD in rats possibly by improving the levels of SOD, MDA, TG and TC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liuwei Dihuangwan; Non-alcoholic fatty liver disease; Rat; Liver protection; Mechanisms of action

Quan XH, Ye DM, Tang XG. Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 819-824 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.819>

摘要

目的: 探讨六味地黄丸对非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝脏组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)水平的影响, 并分析其对肝脏组织的保护作用及机制。

方法: 按照数字随机分组法将45只大鼠均分为正常组、模型组和六味地黄丸组3组, 正常组大鼠使用普通基础饲料喂养, 模型组大鼠使用高脂饲料喂养, 六味地黄丸组大鼠使用高脂饲料+六味地黄丸喂养, 比较3组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoproteincholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(altalanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、总蛋白(total protein, TP)、球蛋白(globulose, GLB)水平和肝组织SOD、MDA、TG和总胆固醇(total cholesterol, TC)。

结果: 模型组大鼠血清HDL-C明显低于正常组大鼠(0.61 mmol/L \pm 0.06 mmol/L vs 1.08 mmol/L \pm 0.16 mmol/L), 血清LDL-C、ALT明

显高于正常大鼠(0.75 mmol/L \pm 0.23 mmol/L vs 0.16 mmol/L \pm 0.05 mmol/L、92.16 U/L \pm 35.56 U/L vs 31.61 U/L \pm 14.69 U/L), 差异具有显著性($P < 0.05$); 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平均明显低于模型组(0.46 mmol/L \pm 0.12 mmol/L vs 0.75 mmol/L \pm 0.23 mmol/L、41.88 U/L \pm 12.27 U/L vs 92.16 U/L \pm 35.56 U/L), 差异具有显著性($P < 0.05$); 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较(18.84 g/L \pm 1.95 g/L vs 20.16 g/L \pm 0.95 g/L、43.15 g/L \pm 3.98 g/L vs 42.91 g/L \pm 2.62 g/L、24.34 g/L \pm 1.65 g/L vs 22.75 g/L \pm 2.19 g/L), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较(18.83 g/L \pm 3.05 g/L vs 18.84 g/L \pm 1.95 g/L、41.17 g/L \pm 4.84 g/L vs 43.15 g/L \pm 3.98 g/L、22.33 g/L \pm 2.41 g/L vs 24.34 g/L \pm 1.65 g/L), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 模型组大鼠肝脏组织SOD水平明显低于正常组大鼠, (196.22 U/mgprot \pm 25.08 U/mgprot vs 361.25 U/mgprot \pm 24.17 U/mgprot), MDA、TG和TC水平明显高于正常组大鼠(3.92 nmol/mgprot \pm 1.21 nmol/mgprot vs 1.34 nmol/mgprot \pm 0.32 nmol/mgprot、3.75 mmol/L \pm 0.52 mmol/L vs 1.62 mmol/L \pm 0.44 mmol/L、1.75 mmol/L \pm 0.65 mmol/L vs 1.05 mmol/L \pm 0.28 mmol/L), 差异具有显著性($P < 0.05$); 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组(274.06 U/mgprot \pm 52.11 U/mgprot vs 196.22 U/mgprot \pm 25.08 U/mgprot), MDA、TG和TC水平明显低于模型组(1.77 nmol/mgprot \pm 0.53 nmol/mgprot vs 3.92 nmol/mgprot \pm 1.21 nmol/mgprot、2.36 mmol/L \pm 0.51 mmol/L vs 3.75 mmol/L \pm 0.52 mmol/L、1.45 mmol/L \pm 0.44 mmol/L vs 1.75 mmol/L \pm 0.65 mmol/L), 差异具有显著性($P < 0.05$)。肉眼和光镜检查均可见模型组大鼠较正常组大鼠有明显异常, 六味地黄丸组大鼠较模型组大鼠有明显改善。

结论: 六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的非酒精性脂肪肝大鼠肝功能, 对肝细胞具有保护作用, 可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗非酒精性脂肪肝。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 六味地黄丸; 非酒精性脂肪肝; 大鼠; 肝脏保护; 作用机制

核心提示: 本研究结果显示, 六味地黄丸组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoproteincholesterol, HDL-C)和谷丙转氨酶

(altalanine aminotransferase, ALT)水平均明显低于模型组, 差异具有显著性; 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸在降低非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠血清LDL-C和ALT水平上具有显著疗效, 对改善HDL-C和谷草转氨酶(aspartate transaminase)效果不明显. 六味地黄丸组大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平明显高于模型组, 丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)水平明显低于模型组, 差异具有显著性. 表明六味地黄丸可能通过升高大鼠SOD水平和降低TG、TC、MDA水平实现改善NAFLD作用.

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光. 六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC的影响及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 819-824 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.819>

0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指由除酒精因素外的其他明确因素引发, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的肝损伤^[1]. 随着近几年人们生活水平的提高以及生活习惯的改变, NAFLD临床发病率逐年升高. NAFLD患者易进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 是导致患者死亡的主要原因. 六味地黄丸是滋补肾阴的中药方, 具有调节免疫、降血糖、降血脂以及肝脏保护等多种效果^[2]. 本研究采用六味地黄丸治疗高脂饲料长期喂养的NAFLD大鼠取得了良好的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取45只健康SPF级Wistar ♂大鼠[实验动物合格证号: SCXK(新) 2003-0002]作为本研究研究对象, 所有大鼠均购自南京市模式动物研究所. 大鼠平均体质量为205.41 g±20.06 g, 分为5只/笼, 在22.0 °C±1.0 °C和40%-70%湿度下进行明暗各12 h喂养. 注意保持鼠笼通风和清洁, 每日更换饮水和饲料^[3]. 在使用普通基础饲料喂养适应性喂养1 wk后, 按照数字随机分组法将45只大鼠均分为正常组、模型组和六味地黄丸组3组, 3组大鼠平均体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性. 高脂饲料由我院按照15 g白糖、10 g猪油、5 g蛋黄粉、1 g胆固醇、

0.8 g胆酸钠和68.2 g大鼠普通基础饲料的比例自行加工制作, 使用⁶⁰Co按32 kGy剂量辐照灭菌^[4]. 六味地黄丸: 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 国药准字Z11021283.

1.2 方法

1.2.1 建模及治疗: 正常组大鼠继续使用普通基础饲料喂养, 模型组和六味地黄丸组大鼠使用高脂饲料喂养. 六味地黄丸组在高脂饲料喂养的基础上加用六味地黄丸, 用药剂量为1.2 g/(kg·d), 采取混悬液灌胃方法给药. 3组大鼠均每周称重一次, 连续灌胃4 wk.

1.2.2 观察指标: 3组大鼠均在末次给药且禁食12 h后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉, 剂量为40 mg/kg. 分离大鼠腹主动脉后收集10 mL新鲜血液, 静置1 h后使用3000 r/min离心机离心15 min. 取上清液检测血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、总蛋白(total protein, TP)和球蛋白(globulose, GLB). 处死大鼠后取部分肝组织进行超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)检测^[5].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD的形式表示, 差异性比较使用 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 3组NAFLD大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST和ALT水平比较 模型组大鼠血清HDL-C明显低于正常组大鼠, 血清LDL-C、ALT明显高于正常大鼠, 差异具有显著性($P<0.05$); 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平均明显低于模型组, 差异具有显著性($P<0.05$); 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表1).

2.2 3组NAFLD大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2).

2.3 3组NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG

■应用要点

六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的NAFLD大鼠肝功能, 对肝细胞具有保护作用, 可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗NAFLD. 六味地黄丸可应用于临床治疗NAFLD患者以进一步深入分析其临床疗效及作用机制.

■同行评价

本文选题尚可, 设计合理, 结果可靠, 有一定的参考价值。

表 1 3组非酒精性脂肪肝大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST和ALT水平比较 ($n = 15$, mean \pm SD)

分组	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	AST(U/L)	ALT(U/L)
正常组	1.08 \pm 0.16	0.16 \pm 0.05	107.52 \pm 30.63	31.61 \pm 14.69
模型组	0.61 \pm 0.06 ^a	0.75 \pm 0.23 ^{ac}	119.16 \pm 24.13	92.16 \pm 35.56 ^{ac}
六味地黄丸模型组	0.54 \pm 0.14	0.46 \pm 0.12	104.07 \pm 22.53	41.88 \pm 12.27

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 六味地黄丸组模型组. HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶.

表 2 3组非酒精性脂肪肝大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较 ($n = 15$, mean \pm SD, g/L)

分组	ALB	TP	GLB
正常组	20.16 \pm 0.95	42.91 \pm 2.62	22.75 \pm 2.19
模型组	18.84 \pm 1.95	43.15 \pm 3.98	24.34 \pm 1.65
六味地黄丸模型组	18.83 \pm 3.05	41.17 \pm 4.84	22.33 \pm 2.41

ALB: 白蛋白; TP: 总蛋白; GLB: 球蛋白.

表 3 3组非酒精性脂肪肝大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC水平比较 ($n = 15$, mean \pm SD)

分组	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)
正常组	361.25 \pm 24.17	1.34 \pm 0.32	1.62 \pm 0.44	1.05 \pm 0.28
模型组	196.22 \pm 25.08 ^{ac}	3.92 \pm 1.21 ^{ac}	3.75 \pm 0.52 ^{ac}	1.75 \pm 0.65 ^{ac}
六味地黄丸模型组	274.06 \pm 52.11	1.77 \pm 0.53	2.36 \pm 0.51	1.45 \pm 0.44

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 六味地黄丸组模型组. SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇.

和TC水平比较 模型组大鼠肝脏组织SOD水平明显低于正常组大鼠, MDA、TG和TC水平明显高于正常组大鼠, 差异具有显著性($P < 0.05$); 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组, MDA、TG和TC水平明显低于模型组, 差异具有显著性($P < 0.05$)(表3).

2.4 3组NAFLD大鼠肝组织病理学检查

2.4.1 肉眼观察: 正常组: 肝脏形态、大小、轮廓、颜色、质地均无明显异常且无油腻感, 实质回声均匀; 模型组: 肝脏体积异常增大, 颜色呈奶黄色, 质地明显变硬, 切面有油腻感; 六味地黄丸组: 肝脏体积增大和质地变硬情况好转, 颜色呈淡红色.

2.4.2 光镜观察: 正常组: 肝细胞结构正常, 细胞核位于细胞中央且清晰可见, 肝小叶清晰可见, 无明显炎症、脂肪变性以及坏死细胞(图1A); 模型组: 大部分细胞出现脂肪变性和损伤, 细胞质内部可见大量圆形脂滴, 细胞核移至细胞边缘, 不可见肝小叶(图1B); 六味地黄丸组: 细胞脂肪

变性和损伤明显减轻, 细胞质内部脂肪滴大量减少, 少数可见肝小叶(图1C).

3 讨论

NAFLD的主要特征为脂质代谢紊乱, 肝脏细胞由于发生脂肪样病变引起脂肪在肝内堆积而发病. 临床研究表明, 脂联素、抵抗素、瘦素等脂肪因子均与NAFLD发病有一定联系^[6].

LDL-C为极低密度脂蛋白水解后除去部分脂肪和少量蛋白质后的残余部分, 主要用于运输体内胆固醇至肝脏, 因此可以通过检测LDL-C水平反应肝脏胆固醇水平. HDL-C主要由肝脏生成和分泌, 主要用于将肝脏中的磷脂和胆固醇转运出去^[7]. 因此, 模型组大鼠通过喂养高脂饲料后血清LDL-C逐渐升高, 而HDL-C则逐渐下降, TC逐渐升高, 符合NAFLD患者的发病特征. NAFLD的另一个特征为甘油三酯在肝细胞中大量堆积, 主要是由于大鼠摄入过多脂肪导致机体脂肪酸 β 氧化将脂肪从肝脏中外排和

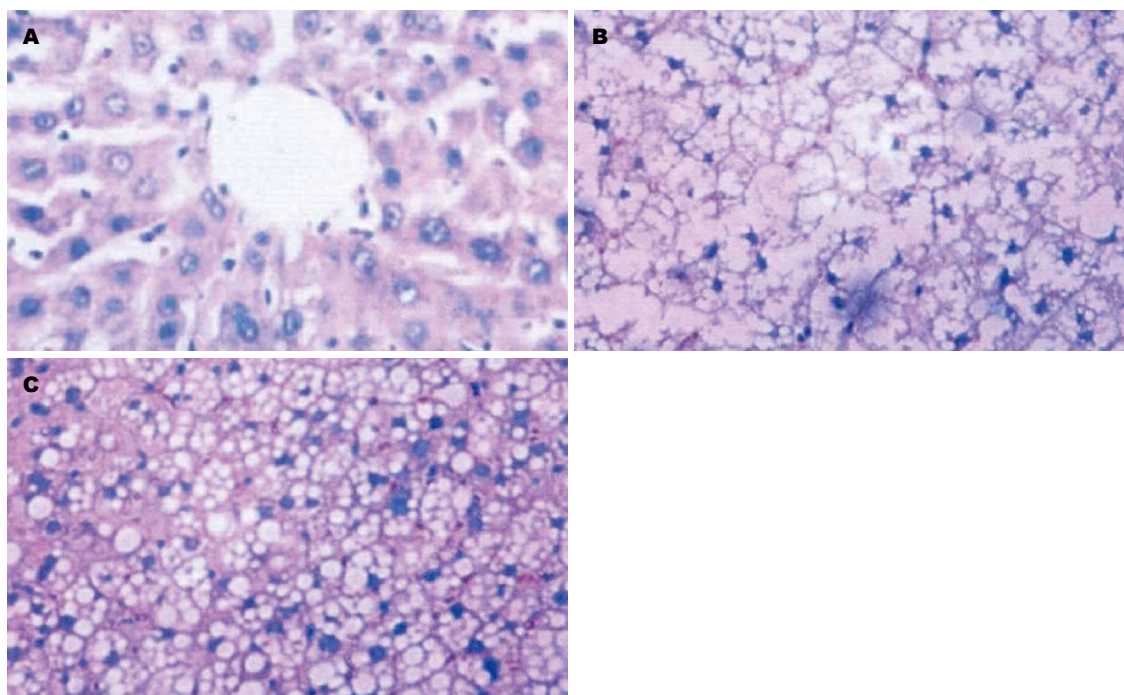


图1 大鼠肝细胞光镜观察($\times 400$). A: 正常组大鼠肝细胞; B: 模型组大鼠肝细胞; C: 六味地黄丸组大鼠肝细胞.

消耗的作用不足以将多余的脂肪排出而造成堆积^[8]. 因此, 模型组大鼠喂养高脂饲料后TG水平明显升高, 符合NAFLD发病特征. ALT和AST主要分布于肝细胞和心肌细胞内, 血清内较少, 肝细胞膜通透性增加或严重受损时ALT和AST被释放至血液中, 血清ALT和AST水平升高^[9]. 因此, 模型组大鼠喂养高脂饲料发生酒精性脂肪肝时肝细胞膜通透性改变, 大量细胞受损或坏死, 导致血清ALT和AST水平升高. MDA是机体酶系统与非酶系统产生自由基并攻击生物膜中多不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化物. 其含量能够反映机体脂质过氧化程度, 也可间接反映肝细胞受损程度. SOD则可消除机体氧自由基, 主要作用是抵抗内、外环境中的超氧离子损伤机体^[10]. SOD水平反映了机体清除氧自由基的能力. 因此, 模型组大鼠通过喂养高脂饲料后肝脏组织MDA水平升高, 而SOD水平下降. 总体来看, 本研究使用高脂饲料进行Wistar雄性大鼠长期喂养, 建立良好的NAFLD模型. 检测大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST、ALT、ALB、TP、GLB水平和肝脏组织SOD、MDA、TG、TC水平能够准确显示NAFLD的发病特征. 另外, 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较, 差异无统计学意义. 表明, NAFLD发病并不影响血清蛋白含量.

六味地黄丸由熟地黄、山药、山茱萸、牡丹皮、泽泻和茯苓按照质量比为8:4:4:3:3:3的比例配伍组成^[11]. 其中熟地黄可补血滋润、益精填髓^[12], 山药健脾益肾、补虚羸, 山茱萸可补肝肾不足, 牡丹皮清热凉血、活血散瘀, 泽泻利水、泄热、渗湿^[13], 茯苓则可利水渗湿、败毒抗癌. 现代药理学研究表明六味地黄丸具有调节免疫、调节钙磷代谢、降血糖血脂、保护肝脏等多种作用^[14]. 本研究结果显示, 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平明显低于模型组, 差异具有显著性; 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸在降低NAFLD大鼠血清LDL-C和ALT水平上具有显著疗效, 对改善HDL-C和AST效果不明显. 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组, MDA、TG和TC水平明显低于模型组, 差异具有显著性. 表明六味地黄丸可能通过升高大鼠SOD水平和降低TG、TC、MDA水平实现改善NAFLD作用^[15]. 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸对NAFLD大鼠血清TP、ALB和GLB无明显影响. 肉眼和光镜检查均可见模型组大鼠较正常组大鼠有明显异常, 六味地黄丸组大鼠较模型组大鼠有明显改善. 表明, 六味地黄丸能够显著

改善大鼠肝细胞弥漫性肝细胞大泡性脂肪变。

总之,六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的NAFLD大鼠肝功能,对肝细胞具有保护作用,可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗NAFLD。六味地黄丸可应用于临床治疗NAFLD患者以进一步深入分析其临床疗效及作用机制。

4 参考文献

- 1 李瑜元. 非酒精性脂肪性肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 109-115
- 2 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
- 3 王倩, 管小琴. 大鼠非酒精性脂肪肝造模方法的改进. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1219-1224
- 4 朱竟赫, 赵金明, 秦文艳, 宋达夫, 包玉龙, 刘禾, 范英兰. 高脂血症实验动物模型研究概述. 实验动物科学 2012; 29: 48-52
- 5 Pazzaglia S, Cifaldi L, Saran A, Nobili V, Fruci D, Alisi A. Hedgehog/hyaluronic acid interaction network in nonalcoholic fatty liver disease, fibrosis, and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 56: 1589 [PMID: 22505342 DOI: 10.1002/hep.25783]
- 6 祁明美, 管小琴, 朱良荣, 杨云鹏. 抵抗素在非酒精性脂肪肝病中对胰岛素抵抗和肝纤维化的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1383-1388
- 7 Arienti V, Aluigi L, Pretolani S, Accogli E, Polimeni L, Domanico A, Violi F. Ultrasonography (US) and non-invasive diagnostic methods for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and early vascular damage. Possible application in a population study on the metabolic syndrome (MS). *Intern Emerg Med* 2012; 7 Suppl 3: S283-S290 [PMID: 23073869 DOI: 10.1007/s11739-012-0824-7]
- 8 郅敏, 陈旻湖, 陈洁, 陈文激, 郎江明. 罗格列酮对高脂饮食诱导非酒精性脂肪肝大鼠胰岛素抵抗及脂联素的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2869-2874
- 9 张弛, 刘瑛, 李华珠, 杨晓春, 周桂莲, 吴文宇, 王敏, 熊璞. 血清谷丙转氨酶在正常范围内对非酒精性脂肪性肝病的预测. 世界华人消化杂志 2011; 19: 841-844
- 10 Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2009; 51: 371-379 [PMID: 19501928 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.019]
- 11 孙学健, 张运红, 张立勇. 六味地黄丸临床应用体会. 中医临床研究 2013; 05: 60-61
- 12 周雪康. 六味地黄丸的药理与临床应用. 中国中医药现代远程教育 2013; 11: 128-129
- 13 沈智理, 杜亮亮. 活血降脂丸治疗非酒精性脂肪肝的疗效分析. 中国中医基础医学杂志 2012; 18: 754-755
- 14 许柳, 张树峰. 六味地黄丸的药理作用及临床应用研究. 河北医学 2013; 19: 616-619
- 15 黄剑涛, 唐琪, 谢涛, 钱永苹, 肖炜婷, 余娜, 赵国荣. 六味地黄丸联合山楂防治大鼠非酒精性脂肪肝的实验研究. 湖南中医杂志 2013; 29: 108-111

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英, 右江民族医学院微生物学与免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000

黄衍强, 副教授, 主要从事消化疾病防治的研究。

广西教育厅科研立项基金资助项目, No. 桂教科研[2010]10号
广西高校优秀人才资助计划基金资助项目, No. 桂教人[2011]40号

广西自然科学基金资助项目, No. 桂财教[2012]53号, 2012GXNSFAA053172

作者贡献分布: 黄衍强与赵丽娟对此文贡献均等, 负责课题的设计、数据分析、论文的撰写及研究资金的提供; 黄小凤与黄干荣负责收集标本和抑菌实验; 韦连登与韦红玉负责耐药基因的检测; 陈源红与唐华英负责耐药菌的培养。

通讯作者: 赵丽娟, 533000, 广西百色市城东路98号, 右江民族医学院微生物学与免疫学教研室. zhaolijuanxk@163.com

收稿日期: 2013-10-27 修回日期: 2013-11-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-28

Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin

Yan-Qiang Huang, Xiao-Feng Huang, Li-Juan Zhao, Gan-Rong Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen, Hua-Ying Tang

Yan-Qiang Huang, Xiao-Feng Huang, Li-Juan Zhao, Gan-Rong Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen and Hua-Ying Tang, Department of Medical Microbiology and Immunology, You Jiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Department of Education research project funded projects, No. Gui teaching and research [2010]10; Talents subsidy scheme funded projects in Guangxi university, No. Gui teach people [2011]40; Guangxi Natural Science Foundation, No. Gui fiscal teach [2012]53, 2012GXNSFAA053172

Correspondence to: Li-Juan Zhao, Department of Medical Microbiology and Immunology, You Jiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhaolijuanxk@163.com

Received: 2013-10-27 Revised: 2013-11-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To evaluate the effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to clarithromycin, and to explore the

methods for effectively inhibiting *H. pylori* antibiotic resistance.

METHODS: The MIC of herbal extracts against clarithromycin resistance of *H. pylori* was detected by double dilution method. Clarithromycin resistant *H. pylori* was cultured in medium containing herbal extracts at a concentration of half MIC and passaged once every 5 d for 6 times. The MIC of clarithromycin against antibiotic resistance of *H. pylori* was assessed before and after stress culture. The DNA of *H. pylori* was extracted to detect drug resistant-related gene mutations.

RESULTS: The MIC of clarithromycin against *H. pylori* was reduced by herbal extracts. The gene mutations of 23s rRNA A2143G and A2144G were detected in clarithromycin-resistant *H. pylori*. No back mutations were discovered after treatment with herbal extracts for 30 d.

CONCLUSION: Herbal extracts have a synergistic effect in inhibiting the clarithromycin resistance of *H. pylori*. The synergistic action is not associated with the back mutations of 23s rRNA gene mutations related to clarithromycin resistance of *H. pylori*.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Herbal extracts; *Helicobacter pylori*; Drug resistance-related gene; Clarithromycin

Huang YQ, Huang XF, Zhao LJ, Huang GR, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY. Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 825-830 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/825.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.825>

摘要

目的: 了解大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)克拉霉素耐

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)耐药菌株的出现是导致治疗胃溃疡、胃炎等疾病失败的主要原因, 克拉霉素作为新一代大环内酯类药物使用, 目前也出现了一定的耐药性。研制新药拮抗耐药性菌株要耗费很多的人力、物力, 而且研制过程很长, 因此必须寻找有效方法解决耐药性问题。

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

■ 研发前沿

大黄素等中药成分在抗菌作用方面有很好的效果,但其作用机制,特别是分子作用机制尚未清楚,是否与耐药基因的回复突变有关未见报道。因此现在很多学者都从基因层面作研究,探讨中药逆转耐药性的分子机制。

药基因的作用,探索可以有效抑制耐药性*H. pylori*的方法。

方法:采用对倍稀释法检测大黄素等对克拉霉素耐药的*H. pylori*最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),在中草药提取物1/2MIC环境下胁迫培养耐药性*H. pylori*,5 d传代1次,续传6次;E-test药敏实验检测胁迫培养前后克拉霉素对耐药性*H. pylori*的MIC提取*H. pylori* DNA, DNA测序法检测耐药基因,对比前后突变。

结果:大黄素等中药提取物能降低克拉霉素对耐药*H. pylori*的MIC,对克拉霉素耐药的*H. pylori*均出现23s rRNA基因的A2143G、A2144G点突变;黄连素等中药提取物作用30 d后未发现基因有回复突变。

结论:大黄素等中药提取物对克拉霉素耐药的*H. pylori*有一定的协同抑制作用,协同作用与*H. pylori* 23s rRNA耐药基因回复突变无关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中药提取物; 幽门螺杆菌; 耐药基因; 克拉霉素

核心提示: 本文采用大黄素等中药提取物胁迫细菌生长的方法和分子生物学技术,观察大黄素等对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)克拉霉素耐药基因的回复突变作用,探讨逆转*H. pylori*耐药性方法。

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英. 大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 825-830 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/825.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.825>

0 引言

随着抗生素在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗中的广泛应用, *H. pylori*耐药株的发生率不断上升,而*H. pylori*耐药菌株的出现是导致治疗失败的主要原因。克拉霉素为新一代大环内酯类药物,对酸稳定,能溶解于低pH的胃液,口服生物利用度好,在胃黏膜中浓度高,不良反应小,单一用药的根除率为42%-54%,是目前已知抗生素中对*H. pylori*作用最强的药物之一。含克拉霉素的三联疗法与不含克拉霉素的三联疗法相比, *H. pylori*根除率可提高10%-20%,因而在抗*H. pylori*方案中将其作

为主要药物。但是目前*H. pylori*对克拉霉素已有一定的耐药率,尤其是初治失败后,克拉霉素的耐药率大幅度上升^[1]。因此,寻找有效的基因修复突变的方法或避免突变的方法,降低*H. pylori*对克拉霉素的耐药率,提高防治的效果,是很多学者正在研究的课题。我国的中草药资源丰富,中药在抗菌作用方面效果显著,这提示我们可以通过中草药来抑制耐药性*H. pylori*生长,但是很多中药的有效成分和作用机制却有待确定。本研究从中药提取物协助*H. pylori*耐药基因发生回复突变的角度探索提高菌株敏感性的方法,从而了解中药提取物的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 耐药性*H. pylori*由右江民族医学院病原学实验室分离、鉴定、保存,均经过AUTO-READER快速细菌自动鉴定仪鉴定。采用*H. pylori*敏感菌株J99由广东省微生物菌种保藏中心提供。98%大黄素(批号: 120908)、98%五味子(批号: 120908)、90%黄芩苷(批号: 120908)、97%黄连素(批号: 120810)购自陕西昂盛生物科技有限公司。克拉霉素E-test纸条购自瑞典AB-BIODISK公司,营养琼脂(批号: 12099)、营养肉汤(批号: 12099)、蛋白胨(批号: 120326)、哥伦比亚琼脂液(批号: 120848)均购自杭州天和微生物有限公司。SPX-150-Z型恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂);低温冰箱(日本SANYO公司);SW-CJ-2FD型超净工作台(苏净集团安泰空气技术有限公司);电子天平(Sartorius公司, BP221S型);721紫外分光光度计(BIO-RAD);ZD-85振荡器培养箱(江苏金坛市环宇科学仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 制备对倍稀释的中药提取物哥伦比亚琼脂平板和肉汤液: 分别把98%大黄素、97%黄连素、98%五味子、90%黄芩苷与哥伦比亚琼脂液和肉汤液对倍稀释,把药物浓度分别调整为1、2、4、8、16、32、64、128、256 $\mu\text{g/mL}$,备用,同时用10 mg/mL泮托拉唑作为阳性对照,用纯培养液作为阴性对照。

1.2.2 检测中药提取物对耐药性*H. pylori*的MIC: 采用标准琼脂平板对倍稀释法检测MIC^[2]。将营养肉汤培养基过夜培养的*H. pylori*稀释至0.5麦氏单位(相当于 1.0×10^8 CFU/mL),用移液器接种约2 μL 菌液到已经制备好的含不同浓度药物的哥伦比亚琼脂平板上,每孔约 10^5 CFU, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20 h后判断结果。以能完全抑制*H. pylori*生

表 1 中药提取物对克拉霉素耐药 *H. pylori* 的 MIC 浓度 (μg/mL)

药物种类	药物浓度								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
大黄素	R	R	R	R	I	I	S	S	S
黄连素	R	R	R	R	I	I	S	S	S
五味子	R	R	R	R	R	R	I	S	S
黄芩苷	R	R	R	R	R	R	R	S	S

R: 耐药; I: 中介敏感; S: 敏感.

表 2 中药提取物对 *H. pylori* 敏感菌株 J99 的 MIC 浓度 (μg/mL)

药物种类	药物浓度								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
大黄素	R	R	R	R	R	S	S	S	S
黄连素	R	R	R	R	R	S	S	S	S
五味子	R	R	R	R	R	R	S	S	S
黄芩苷	R	R	R	R	R	R	S	S	S

J99 菌株为敏感菌株; R: 耐药; I: 中介敏感; S: 敏感.

■ 相关报道

周汎等研究发现黄连等 10 种中药对金黄色葡萄球菌等细菌有比较强的体外抗菌活性; 姜晓峰等研究发现大黄素逆转抗药性的作用与抑制核苷转运、降低糖蛋白的功能和表达相关, 这提示大黄素等有可能逆转 *H. pylori* 的耐药性, 其机制可能与一些基因的表达有密切的关系.

长的药物最低浓度为 MIC. 敏感性判断按照 2012 CLIS 临床微生物标准. *H. pylori* 菌株 J99 作为敏感菌株对照.

1.2.3 中药提取物胁迫耐药性 *H. pylori* 生长: 哥伦比亚平板转耐药性 *H. pylori* 过夜, 分别挑单菌落于 10 mL 哥伦比亚培养基, 摇菌约 18-20 h, 将菌液稀释至 0.5 麦氏单位后取 2 μL 加到含 5 mL 1/2 MIC 中药提取物的哥伦比亚琼脂液体肉汤液中, 37 °C 振荡器培养 5 d 后传代 1 次, 连续传 6 次, 共 30 d.

1.2.4 克拉霉素药敏实验: 用上述方法调整菌液稀释至 0.5 麦氏单位后取 2 μL 均匀涂布于 *H. pylori* 培养基平板上放置 2-3 min, 待平板表面凉干后用无菌镊子贴上克拉霉素 E-test 纸条, 37 °C 培养 5 d. 克拉霉素 E-test 药敏实验结果判断: 读取 MIC, 敏感 ≤ 2.5 μg/mL, 耐药 ≥ 5 μg/mL.

1.2.5 克拉霉素耐药菌株耐药基因检测: (1) *H. pylori* DNA 提取: 试剂盒购自上海捷瑞生物工程有限公司, 按照使用说明提取; (2) PCR 扩增: 根据文献 [2] 提供的含有 A2144G 和 A2143G 位点的基因设计并合成引物: 上游引物 5'-CCA CAG CGA TGT GGT CTCAG-3'; 下游引物: 5'-CTC CAT AAG AGC CAA AGCCC-3'. PCR 循环体系共 50 μL, 其中包括: ddH₂O 29.5 μL; 10×PCR Buffer 6.3 μL; dNTPs 25 mmol/L 5.0 μL; Taq 酶 (5 kU/L) 0.5 μL; 上游引物 (10 μmol/L) 3.7 μL; 下

游引物 (10 μmol/L) 3.7 μL; DNA sample 1.3 μL; 反应条件: 94.0 °C 预变性 4 min, 94.0 °C 变性 40 s, 61.5 °C 退火 1 min, 32 个循环, 72.0 °C 延伸 1 min 72 °C, 末端延伸 7 min. PCR 产物的检测: 扩增反应完毕后取 5 μL PCR 产物与 1 μL 的 6× 溴酚兰载样缓冲液混合, 在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳, 电压 4 V/cm, 80 min, 用 100 bp DNA Ladder 作分子量标准. 电泳缓冲液微 1×TBE (Tris-硼酸 90 mmol/L, EDTA 2 mol/L). 电泳结束后在紫外灯下观察结果, 425 bp 左右有一条带者为含有 A2143G 或 A2144G 点的基因片段; (3) DNA 测序: 选取中药提取物作用前后克拉霉素耐药菌株的 PCR 产物, 由上海捷瑞工程有限公司纯化后测序. 采用 DNATool 6.0 分子生物学软件分析耐药菌株 23s rRNA 基因的核苷酸序列, 并与基因组数据库 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的 *H. pylori* J99 株 (NC-000921) 23s rRNA 基因序列进行比较.

2 结果

2.1 中药提取物对耐药性 *H. pylori* 的 MIC 测定 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药 *H. pylori* 的 MIC 分别是 64、64、128、128 μg/μL (表 1), 对 *H. pylori* 敏感菌株 J99 的 MIC 分别是 32、32、64、64 μg/μL (表 2), 对敏感菌株的抑

■创新盘点

本研究探讨大黄素等中药提取物对克拉霉素耐药的*H. pylori*的抑制作用,并从耐药基因回复突变角度探讨其逆转耐药的机制,发现大黄素等对耐药*H. pylori*有抑制作用,并能提高药物的敏感性,但其机制尚未发现与耐药基因回复突变有关。

表 3 中药提取物对耐药*H. pylori*作用前后克拉霉素的MIC($\mu\text{g/mL}$)

	大黄素	黄连素	五味子	黄芩苷	泮托拉唑	阴性对照
菌株被胁迫前	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
菌株被胁迫后	2.2	2.4	2.6	2.8	2.5	5.0

敏感对照菌株J99MIC < 2.5 $\mu\text{g/mL}$; 敏感 ≤ 2.5 $\mu\text{g/mL}$; 耐药 ≥ 5 $\mu\text{g/mL}$ 。

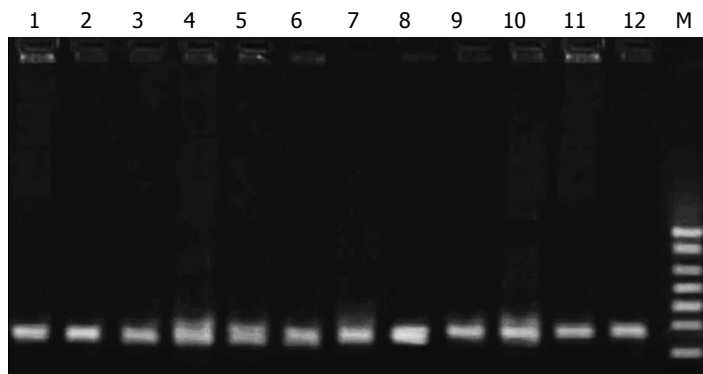


图 1 *H. pylori*的23s rRNA基因PCR产物电泳图。1-5: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长前的菌株; 6-10: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长后的菌株; 11, 12: 阴性对照前后菌株, 经扩增后均在425 bp处出现条带。

```

1      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
2      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
3      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
4      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
5      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
6      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
7      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
8      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
9      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
10     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
11     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
12     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg

```

```

1      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
2      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
3      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
4      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
5      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
6      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
7      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
8      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
9      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
10     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
11     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
12     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg

```

A2143G, A2144G

```

1      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
2      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
3      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
4      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
5      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
6      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
7      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
8      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
9      241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
10     241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
11     241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
12     241      tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac

```


1	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
2	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
3	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
4	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
5	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
6	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
7	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
8	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
9	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
10	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
11	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
12	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatg
1	361	agggcttggctcttatggag
2	361	agggcttggctcttatggag
3	361	agggcttggctcttatggag
4	361	agggcttggctcttatggag
5	361	agggcttggctcttatggag
6	361	agggcttggctcttatggag
7	361	agggcttggctcttatggag
8	361	agggcttggctcttatggag
9	361	agggcttggctcttatggag
10	361	agggcttggctcttatggag
11	361	agggcttggctcttatggag
12	361	agggcttggctcttatggag

图2 中药提取物胁迫生长前后*H. pylori*菌株23s rRNA相关片段的碱基序列。1-5: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长前的菌株; 6-10: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长后的菌株; 11, 12: 阴性对照菌株, 提示V功能区第2144位、第2143位有A-G突变。

■应用要点

探讨有效治疗耐药性*H. pylori*的方法是热点, 本文从我国中草药资源丰富, 有一定的抑菌作用, 并不易产生耐药性的角度寻找能逆转耐药性*H. pylori*的方法, 发现大黄素等能提高耐药性*H. pylori*的敏感性, 为探讨抑制耐药性*H. pylori*的方法提供了重要依据。

菌效果优于对耐药菌株。

2.2 中药提取物胁迫*H. pylori*生长前后克拉霉素MIC 大黄素等中药提取物胁迫生长30 d后, 克拉霉素对耐药性*H. pylori*的MIC明显降低, 特别是大黄素和黄连素作用后MIC降低1倍, 耐药性*H. pylori*已经变成敏感菌株, 效果比阳性对照泮托拉唑略好(表3)。

2.3 中药提取物胁迫耐药*H. pylori*生长前后耐药基因对比

2.3.1 *H. pylori* 23s rRNA耐药基因PCR扩增: 对大黄素等中药提取物作用前后*H. pylori*进行PCR扩增, 扩增出包含23s rRNA基因v功能区的425 bp片段。敏感与耐药菌株基因扩增片段于2.0%琼脂糖凝胶电泳中均显示单一的约425 bp大小的清晰条带, 位置相同(图1)。

2.3.2 DNA测序: 把胁迫生长前后菌株的PCR产物送上海捷瑞工程有限公司纯化后测序, 发现耐药性*H. pylori*菌株均存在23s rRNA基因v功能区第2144位、第2143位有A-G突变; 而中药提取物胁迫生长菌株没有发现回复突变。基因比对如图2。

3 讨论

在对*H. pylori*感染患者治疗过程中, 抗生素的耐药性问题是影响治疗效果的主要原因, 尤

其*H. pylori*对克拉霉素和甲硝唑耐药率的逐年增加, 导致同样的治疗方案随着时间的推移, 其*H. pylori*根除率越来越低, 很难达到理想的根除效果^[3,4]。*H. pylori*的耐药率在不同国家或不同地区有明显差异, 并呈上升趋势^[5,6]。目前, 医学界一直致力于寻找安全有效的抗菌药物。中草药是我国医学宝库中最珍贵财富之一, 现在比较多的中草药抑菌效果已经很明确, 大黄、黄连、黄芩的体外抑菌效果也有报道^[7-11]。本研究实验结果证明了大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药或敏感的*H. pylori*均有较明显的抑制作用, 对敏感菌株的抑菌作用优于耐药菌株。在1/2MIC胁迫克拉霉素耐药*H. pylori*生长后, 能明显提高*H. pylori*对克拉霉素的敏感性, 大黄素和黄连素作用比较明显, 略高于阳性对照的泮托拉唑。因此大黄素和黄连素用来治疗克拉霉素耐药*H. pylori*引起的疾病效果会比较好。

关于*H. pylori*对克拉霉素的耐药机制, 比较一致地观点是*H. pylori* 23s rRNA V区点突变引起克拉霉素与核糖体结合力下降。已经发现的基因突变多为腺苷酸(A)转换为鸟苷酸(G), 已知的突变位点有A2144G、A2143G、A2142G、A2142C、G2115A、G2141A、A2142T和

■同行评价

本文有比较大的实用价值, 为寻找有效药物逆转*H. pylori*耐药提供参考依据。

A2143C^[12-14]。桂西地区人群*H. pylori*的23s rRNA基因A2143G、A2144G点突变与克拉霉素的耐药有明显相关^[15]。另外, 有学者研究发现部分抑菌中药提取物有抗突变作用^[16], 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药和敏感*H. pylori*均有较明显的抑制作用, 但是其作用原理是否与23s rRNA耐药基因回复突变或抗耐药突变有关, 对此尚无见报道。我们在1/2MIC中药提取物浓度下胁迫耐药菌株生长, 提取胁迫前后克拉霉素MIC有变化的*H. pylori*菌株DNA, 扩增耐药基因, 检测基因序列, 对比突变, 在23s rRNA基因未发现A2143G、A2144G回复突变。因此, 研究结果表明大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷在30 d内尚未能胁迫克拉霉素耐药*H. pylori*的耐药基因发生回复突变, 其降低耐药性*H. pylori*的MIC和提高敏感性的原因可能与耐药性*H. pylori*外排泵等基因有关, 但需要进一步探索。

4 参考文献

- 1 Giorgio F, Principi M, De Francesco V, Zullo A, Losurdo G, Di Leo A, Ierardi E. Primary clarithromycin resistance to *Helicobacter pylori*: Is this the main reason for triple therapy failure? *World J Gastrointest Pathophysiol* 2013; 4: 43-46 [PMID: 23946886 DOI: 10.4291/wjgp.v4.i3.43]
- 2 Abdollahi H, Savari M, Zahedi MJ, Moghadam SD, Hayatbakhsh Abasi M. Detection of A2142C, A2142G, and A2143G Mutations in 23s rRNA Gene Conferring Resistance to Clarithromycin among *Helicobacter pylori* Isolates in Kerman, Iran. *Iran J Med Sci* 2011; 36: 104-110 [PMID: 23359224 DOI: 10.1002/dta.162]
- 3 Wang J, Xu L, Shi R, Huang X, Li SW, Huang Z, Zhang G. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Digestion* 2011; 83: 253-260 [PMID: 21282951 DOI: 10.1159/000280318]
- 4 Kang JM, Kim N, Shin CM, Lee HS, Lee DH, Jung HC, Song IS. Predictive factors for improvement of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: a three-year follow-up study in Korea. *Helicobacter* 2012; 17: 86-95 [PMID: 22404438 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00918.x]
- 5 Kim MS, Kim N, Kim SE, Jo HJ, Shin CM, Park YS, Lee DH. Long-term follow up *Helicobacter Pylori* reinfection rate after second-line treatment: bismuth-containing quadruple therapy versus moxifloxacin-based triple therapy. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 138 [PMID: 24050512 DOI: 10.1186/1471-230X-13-104]
- 6 Molina-Infante J, Gisbert JP. [Update on the efficacy of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection and clarithromycin resistance rates in Spain (2007-2012)]. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 375-381 [PMID: 23623461 DOI: 10.1016/j.j.]
- 7 周汛, 李桂明. 10种中药的不同制剂对常见致病菌体外抗菌活性研究. *中华中医药杂志* 2009; 24: 237-239
- 8 彭懿. 加味痛泻要方合黄连素治疗腹泻型肠易激综合征的临床观察. *中医药导报* 2010; 16: 30-32
- 9 孙秋雁, 宫立孟. 高效液相色谱法测定消炎止痒洗剂中黄芩苷的含量. *医药导报* 2012; 31: 512-513
- 10 刘华一, 张滨, 姜立根. 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌63例. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1780-1784
- 11 盛颖明, 邹晓平, 于成功, 吕瑛, 张丽莉. 中药大黄辅助治疗重症急性胰腺炎的系统评价. *世界华人消化杂志* 2010; (7): 730-735
- 12 Ho SL, Tan EL, Sam CK, Goh KL. Clarithromycin resistance and point mutations in the 23S rRNA gene in *Helicobacter pylori* isolates from Malaysia. *J Dig Dis* 2010; 11: 101-105 [PMID: 20402836]
- 13 Lee HJ, Kim JI, Cheung DY, Kim TH, Jun EJ, Oh JH, Chung WC, Kim BW, Kim SS, Park SH, Kim JK. Eradication of *Helicobacter pylori* according to 23S ribosomal RNA point mutations associated with clarithromycin resistance. *J Infect Dis* 2013; 208: 1123-1130 [PMID: 23801607 DOI: 10.1093/infdis/jit287]
- 14 Zhen-Hua Z, De-Qiang H, Yong X, Lin-Lin L, Nong-Hua L. Characterization of 23S rRNA gene mutation in primary and secondary clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains from East China. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 5-9 [PMID: 23794337 DOI: 10.1063/1.4792202]
- 15 黄衍强, 赵丽娟, 黄赞松, 李晓华, 周喜汉, 岑朝. 桂西地区幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药性分析. *中华微生物学与免疫学杂志* 2009; 29: 37-39
- 16 仲浩. 薰衣草精油在细菌回复突变实验中的抗突变作用. *国外医药(植物药分册)* 2006; 5: 217-220

编辑 田滢 电编 鲁亚静



超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用

王锦飞, 王金陵, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌

王锦飞, 王金陵, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

张平, 王锦飞, 武警湖北省总队医院消化内科 湖北省武汉市 430061

王锦飞, 医师, 主要从事消化内科及消化内镜的临床研究。

作者贡献分布: 此课题由程斌设计; 研究过程及论文写作由王锦飞、王金陵及程斌共同完成。

通讯作者: 程斌, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。b.cheng@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83663208 传真: 027-83646605

收稿日期: 2013-12-18 修回日期: 2014-01-04

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-02-28

EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis

Jin-Fei Wang, Jin-Lin Wang, Ping Zhang, Qian Sun, Xiao-Li Wu, Nian-Jun Chen, Wei Hou, Bin Cheng

Jin-Fei Wang, Jin-Lin Wang, Qian Sun, Xiao-Li Wu, Nian-Jun Chen, Wei Hou, Bin Cheng, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China.

Ping Zhang, Jin-Fei Wang, Department of Gastroenterology, Hubei Provincial Crops Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Correspondence to: Bin Cheng, Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. b.cheng@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-12-18 Revised: 2014-01-04

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To summarize the endoscopic ultrasonography (EUS) characteristics of esophageal tuberculosis and evaluate the role of EUS and EUS guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the diagnosis and differential diagnosis of esophageal tuberculosis.

METHODS: The clinical data, EUS and EUS-FNA data for 11 patients with esophageal tuberculosis were collected and analyzed retrospectively.

RESULTS: Eight lesions were found in the middle part of the esophagus and 3 in the upper part.

The lesions demonstrated as protrusion in 7 cases and ulceration in 4 cases. The layers of the esophageal wall were unclear or disappeared in some cases, and in some patients low echo occupying lesions inside or outside the esophageal wall were showed by EUS. The internal echo of the lesions was heterogeneous, and strong echo spots could be observed. In most cases, enlarged mediastinal lymph nodes were observed. EUS-FNA was used to take biopsy specimens in 7 cases: caseous necrosis was found in 2 cases; 3 biopsy specimens suggested tuberculosis; no cancer cells were observed in 2 biopsy specimens.

CONCLUSION: EUS can not only show the morphology and internal echo of the lesions, as well as the relationship between the lesions and esophageal wall, but also allow to observe the lymph nodes outside the esophageal wall. Biopsy specimens can be taken by EUS-FNA. EUS and EUS-FNA have high value in the diagnosis of esophageal tuberculosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal tuberculosis; Endoscopic ultrasonography; Endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration

Wang JF, Wang JL, Zhang P, Sun Q, Wu XL, Chen NJ, Hou W, Cheng B. EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 831-836 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/831.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.831>

摘要

目的: 总结食管结核的超声内镜声像图特征, 评价超声内镜及引导下的细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)在食管结核诊断与鉴别诊断中的作用。

方法: 回顾分析我院11例食管结核患者的临床表现、超声内镜声像图特征与EUS-FNA穿刺结果。

■背景资料

食管结核临床少见, 以往主要依赖临床表现及内镜活检来诊断, 常缺乏特异性, 且表面光滑的病灶, 活检困难。超声内镜可以观察病灶的起源层次、回声特点、壁外淋巴结情况, EUS-FNA可获取深部病灶的组织标本, 为诊断与鉴别诊断提供帮助。

■同行评议者

杨建民, 教授, 浙江省人民医院消化内科

■ 研究前沿

食管结核为良性病,但诊断困难。超声内镜及其引导下的细针穿刺近年来广泛用于消化系管壁及周围占位病灶的诊断,已取得良好效果,应用于食管结核的诊断与鉴别诊断具有重要价值。

结果: 11例诊断为食管结核的患者,8例病灶位于食管中段,3例位于食管上段;7例为隆起型病灶,4例为溃疡型病灶;超声内镜表现为食管壁层次不清或消失,部分为食管壁内低回声占位,部分为壁外低回声占位侵及食管壁,内部回声不均,见强回声光斑,多伴有纵隔淋巴结肿大,且其内见散在钙化斑;7例行EUS-FNA穿刺,2例为干酪样坏死物,2例病理考虑结核,3例未见异型细胞。

结论: 超声内镜可显示病灶形态及其与食管壁的关系、病灶内部回声特征、壁外淋巴结情况,结合EUS-FNA穿刺细胞学与病理学检查,在食管结核的诊断和鉴别中具有重要价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管结核; 内镜超声检查术; 内镜超声引导下细针抽吸活检术

核心提示: 超声内镜发现食管壁内不均质低回声,伴内部高回声钙化,壁外可见肿大淋巴结,边界模糊,内部回声不均,细针穿刺标本呈干酪样坏死物,病理发现炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞、郎罕氏巨细胞,应考虑食管结核。

王锦飞, 王金陵, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌. 超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 831-836 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/831.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.831>

0 引言

食管结核为良性病,临床少见,患者常以进食梗阻感为主诉,全身中毒症状轻,普通胃镜、胸部CT、上消化道造影缺乏特异性^[1],临床上极易误诊为食管肿瘤而行手术治疗^[2],影响患者生活质量。超声内镜可以观察病灶的起源层次、回声特点、壁外淋巴结情况,结合细针穿刺获取深部病灶的组织标本,在食管结核的诊断中发挥重要作用^[3]。本文回顾分析我院2008-2012年收治的11例食管结核患者的临床资料,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2008-2012年我院诊断食管结核且行超声内镜检查或细针穿刺的11例患者,男6例,女5例,年龄27-77岁,平均49.1岁。所有患者均已在本院或外院行普通内镜检查发现食管病灶,为明确诊断继续行超声内镜检查。其中4例行超声微探头扫查并钳取组织活检,7例行内镜超

声引导下细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)。Olympus公司EU-ME1超声主机, UM2R、UM3R微探头; Aloka SSD 5彩色多普勒超声主机, Olympus UCT-240纵轴超声内镜, 穿刺针为Olympus 22 G EUS专用穿刺针。

1.2 方法 收集患者的内镜表现、实验室检查数据、超声内镜表现、病理结果、抗酸染色结果及诊断经过进行回顾分析。本组共有7例患者行内镜超声引导下细针穿刺,由同一位有经验的超声内镜医师操作。术前均排除心肺功能障碍及凝血功能障碍。采用静脉注射异丙酚全身麻醉,扫查食管、纵隔寻找病灶后测量大小,避开血管选择最短路径,应用Olympus公司22 G内镜超声专用穿刺针进行穿刺,以5-10 mL负压穿刺2-4针。将穿刺物涂片行细胞学检查,穿刺组织条用甲醛固定行病理学检查,同时加做抗酸染色。食管结核的确诊根据细针穿刺细胞学、病理、活检结果、患者临床表现、实验室检查结果及抗结核治疗后缓解情况综合分析^[3]。行手术治疗者以手术病理为最终诊断。

2 结果

2.1 临床特点及内镜表现 11例患者主诉吞咽梗阻感4例,胸骨后疼痛3例,吞咽梗阻感并胸骨后疼痛4例。病程15 d-6 mo。5例有其他部位结核(肺结核)病史。1例患者有盗汗、消瘦症状。9例查结核抗体(TB-Ab),阳性6例(其中1例弱阳性)。6例做结核菌素试验(PPD试验),结果4例(+),2例(++),8例查红细胞沉降率,结果3-36 mm/h。9例行胸部CT检查,其中5例发现纵隔淋巴结肿大,3例发现肺部结节影。内镜检查病变发现病灶位于食管上段3例,余8例位于食管中段(72.7%),距门齿30-33 cm。内镜下表现为溃疡型4例,溃疡边界清晰、苔薄、周边黏膜相对正常;隆起型7例,表面大多光滑(图1A)。

2.2 超声内镜检查 4例行超声微探头扫查,7例行线阵或环扫。3例为食管壁层次不清,呈低回声增厚,内部见条索状高回声(图2B);6例为食管壁内低回声占位,病灶边界不清,切面大小为1.2 cm×0.9 cm至2.0 cm×1.0 cm,可贯穿食管管壁或与壁外低回声占位病灶相互融合,病灶内可见点状、条索状高回声光斑(图1B);2例表现为壁外低回声病灶,与食管外膜分界不清。11例中有6例可见食管旁或纵隔淋巴结肿大,有描述大小者共9枚,切面大小为1.0 cm×0.9 cm至3.2 cm×2.0 cm,其中7

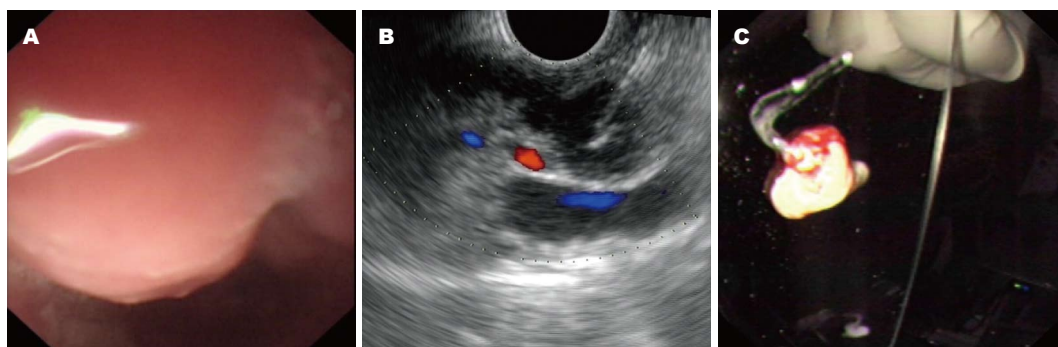


图1 本组第3例患者内镜与EUS-FNA图像。A: 食管距门齿31 cm见柱状隆起, 表面光滑; B: 超声内镜示食管病灶处壁外见3处低回声团块, 内部回声欠均, 侵及食管壁, 于1.4 cm × 1.2 cm病灶处行EUS+FNA; C: 以5 mL负压, 穿刺标本呈干酪样坏死物。EUS-FNA: 超声内镜及引导下的细针穿刺。

■相关报道

杨力等分析近年来临床报道的440例食管结核病例资料, 误诊275例(62.5%, 275/440)。食管结核超声内镜特点为壁内均质或不均质低回声, 内部见高回声钙化, 壁外可见肿大淋巴结, 边界模糊, 部分相互黏连。这些特点有助于鉴别食管癌及其他黏膜下肿瘤。

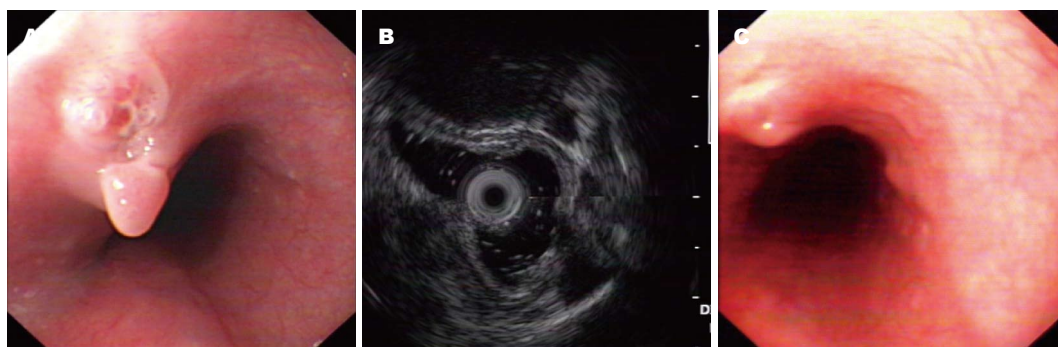


图2 本组第8例患者治疗前后内镜与EUS表现。A: 距门齿约30 cm见裂沟样溃疡; B: 超声微探头探扫见病灶处层次欠清晰, 呈低回声增厚, 内部见条索状高回声; C: 第二次深挖活检报炎性肉芽肿、结核可能, 抗结核治疗3 mo后复查所见: 病灶已明显好转。EUS: 超声内镜。

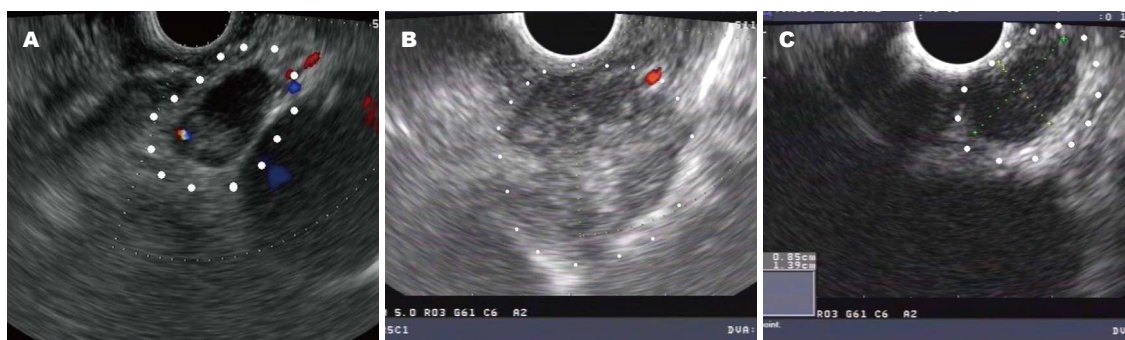


图3 食管结核与肿瘤转移时纵隔淋巴结的EUS声像图特征比较。A: 距门齿24 cm见一隆起, 内镜超声示食管壁内大小约2.0 cm × 1.0 cm低回声(白色圆点标注), 内部见片状高回声; B: 食管距门齿31~33 cm见一隆起, 内镜超声示食管壁外大小约2.1 cm × 1.5 cm低回声病灶(白色圆点标注), 内部回声不均匀, 见少许强回声光斑, 边界欠清晰; C: 作为对比, 选取一例诊断为肺癌纵隔淋巴结转移的病例, 淋巴结呈椭圆形低回声, 内部回声均匀。EUS: 超声内镜。

枚淋巴结内部可见散在强回声光斑(图3A, B)。

2.3 病理、治疗经过及随访 4例溃疡型病灶的病例采用活检钳取材或深挖活检, 7例表面光滑的病灶均行细针穿刺取材。2例细针穿刺标本标本为干酪样坏死物(图1C), 病理示结核可能; 3例病理为炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞, 考虑结核可能, 行抗痨治疗后复查病灶好转(图2C); 5例提示淋巴细胞、浆细胞浸润、慢性溃疡、未见异

型细胞, 结合临床及超声内镜特点初步排除恶性肿瘤, 经患者同意行诊断性抗痨治疗, 短期内复查内镜病灶好转。1例手术治疗, 术后病理见结核性肉芽肿。8例病理标本加做抗酸染色, 均无阳性结果(表1)。本组病例随访10 mo~4年, 均无复发。

3 讨论

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种慢性肉

■创新盘点

本文主要研究食管与纵隔淋巴结结核的超声内镜声像图特点、EUS-FNA及其取得的组织细胞学结果对诊断的价值。总结了食管结核的内镜与超声内镜特征,总结了结合临床与内镜及超声内镜表现在食管结核诊断和鉴别诊断中的应用体会。

表 1 11例食管结核患者的内镜、CT与超声内镜和病理结果

编号	内镜表现	胸部平扫CT	超声内镜特点与初步诊断	活检方式	病理	抗酸染色
1	距门齿30-32 cm, 左下肺结节影、隆起表面光滑	纵膈淋巴结钙化	食管壁内不规则低回声团块, 边界不清, 结核可能	EUS-FNA	(镜下)炎性肉芽组织	阴性
2	距门齿24 cm, 隆起表面光滑	食管壁增厚、纵膈淋巴结增大	食管壁内低回声团块, 壁外见2处低回声	EUS-FNA	炎性肉芽肿, 未见异型细胞	阴性
3	距门齿31 cm, 隆起表面光滑	纵膈淋巴结增大	壁外见3处低回声病灶, 内部回声不均, 结核可能	EUS-FNA	见干酪样坏死、结核可能	阴性
4	距门齿30-32 cm, 未查呈纵行溃疡	未查	呈混合回声增厚, 见管状无回声区, 结核可能	活检钳	见淋巴细胞、浆细胞浸润(表面取材共两次)	阴性
5	距门齿31-33 cm, 右肺结节影、隆起表面光滑	纵膈淋巴结增大	壁内见2处低回声, 内部少许强回声光斑, 结核可能	EUS-FNA	(肉眼: 干酪样坏死物)结核可能	阴性
6	距门齿25 cm, 隆起表面光滑	未查	管壁层次不清, 见低回声团块, 边界欠清, 结核可能	EUS-FNA	上皮样细胞及多核巨细胞, 结核可能	阴性
7	距门齿30 cm, 隆起表面光滑	未见明显异常	壁内见1.8 cm × 2.1 cm低回声, 内部回声不均, 结核可能	EUS-FNA	穿刺标本见少量炎性肉芽组织, 未见异型细胞	未做
8	距门齿30-31 cm, 呈裂沟样溃疡	纵膈淋巴结增大	病变处呈低回声增厚, 外膜显示不清, 壁外见1处低回声	活检钳	(第二次深挖活检)炎性肉芽肿, 结核可能	未做
9	距门齿30 cm, 不规则小溃疡	右上肺结节影	起源于前三层低回声病变, 内见条索状高回声	活检钳	慢性溃疡	阴性
10	距门齿31 cm, 隆起表面光滑	纵膈淋巴结肿大	壁外见不规则低回声, 结核可能	EUS-FNA	见多核巨细胞、中性粒细胞, 结核可能	阴性
11	距门齿27 cm, 裂沟样溃疡	食管壁增厚	管壁层次消失, 呈低回声增厚, 考虑食管占位, 性质待查	活检钳	嗜酸性粒细胞浸润(术后病理结核性肉芽肿)	未做

EUS-FNA: 内镜超声引导下细针穿刺。

芽肿性疾病, 侵犯消化系最常见的部位是回盲部、回肠、空肠、乙状结肠。食管结核少见, 国外大样本尸解报告显示其占有结核患者的0.14%和0.15%^[4]。根据其发病机制可分为原发性、继发型、血型播散型, 以继发型最常见。目前有观点认为食管结核可能继发于纵隔淋巴结结核^[5], 而气管隆突下淋巴组织丰富, 这也是食管结核好发于食管中段的原因。本组有8例病灶位于距门齿30 cm左右(72.7%, 8/11), 且有6例超声内镜发现食管旁或纵隔淋巴结肿大。

食管结核根据内镜表现可分为隆起型和溃疡型, 以隆起型最为常见。其临床表现主要为进食梗阻感及胸骨后疼痛, 偶见上消化道出血、呛咳^[2,6,7], 全身中毒症状轻^[8]。CT、钡餐造影、内镜表现缺乏特异性, 易造成误诊。CT在结核与食管癌鉴别上作用有限, 但CT可发现肺部结核灶、纵膈淋巴结肿大, 为EUS+FNA提供指导。PPD试验、红细胞沉降率对食管结核的诊断也有一定的帮助^[9]。

超声内镜是诊断食管结核很好的技术手段。超声内镜不仅可以清楚的显示食管壁层次结构, 病灶内部回声, 还可对壁外淋巴结情况进行扫查, EUS引导下的细针穿刺可获取细胞与病

理学标本。2006年Aydin等^[10]报道食管结核超声内镜下表现为食管壁内不均质低回声伴中央钙化, 食管壁增厚与壁外肿大淋巴结黏连。2007年韩晓梅等^[11]报道了2例食管结核的超声内镜表现, 近年来国内多篇研究^[3,12-14]报道, 超声内镜下食管结核特征性表现为均质或不均质低回声病灶, 边界模糊, 内部有钙化, 纵膈可见肿大淋巴结与食管壁紧密黏连, 淋巴结内部可见高回声影, 认为超声内镜在该病的诊断及与食管癌及食管黏膜下肿瘤的鉴别中有重要价值。结合本组病例, 我们总结食管结核的超声内镜特点为: 溃疡型病灶常表现为食管壁低回声增厚且层次不清, 其可见点状、条索状高回声; 隆起型病灶超声表现为食管壁内或者壁外低回声团块, 壁内病灶一般边界不清, 伴中央钙化; 壁外者常与外膜紧密黏连; 部分病灶内可见管状低回声区, 为形成窦道的表现。病灶周边及纵膈内常可扫查到肿大淋巴结, 淋巴结形态不规则, 边界欠清晰, 部分淋巴结相互融合, 且其内可见强回声光斑, 为形成干酪样坏死的表现, 此为食管结核的重要特征。这些超声内镜特点有助于食管结核与食管黏膜下肿瘤和食管癌的鉴别诊断: 食管常见的黏膜下肿瘤如间质瘤、平滑肌瘤超声内

镜下表现主要为壁内第二或第四层低回声占位, 边界清晰, 回声均匀且外膜完整; 食管癌超声内镜也可表现为累及全层的不规则低回声增厚, 但内镜下常表现为表面溃疡较大、污秽苔; 而食管结核则为结节样隆起表面火山口样溃疡、苔薄、边缘整洁、周边黏膜相对正常^[12]. 纵隔淋巴结的超声特点也是鉴别诊断的重要依据. 食管结核其纵隔淋巴结表现为形态不规则, 边界模糊, 部分相互融合, 其内可见散在点状高回声钙化斑; 而肿瘤淋巴结转移时, 淋巴结特点为圆形或椭圆形, 呈低回声, 内部回声均匀^[12,15], 且不与外膜黏连(图3C). 回顾本组唯一1例手术探查患者资料, 发现其溃疡特点与食管癌不符, 但由于对食管结核认识不足, 未采取多次活检^[16]及诊断性抗结核治疗的方法^[8,17].

EUS-FNA是指在内镜超声的实时引导下对病变部位进行细针穿刺而获取细胞、组织或体液标本, 行细胞学或病理学等检查. 对表面光滑的食管壁内及壁外病灶行EUS-FNA, 弥补了常规活检的不足, 在食管结核的诊断与鉴别诊断中有重要价值. 过去认为食管中段临近肺门及大血管, 选择细针穿刺须慎重. 2012年国内文献中报道有2例经EUS-FNA确诊食管结核的病例^[3], 但无详细描述. 本组共有7例行EUS-FNA, 2例细针穿刺标本标本为干酪样坏死物, 病理示结核可能; 3例病理为炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞, 考虑结核; 2例细胞学见类上皮细胞、多核巨细胞, 未见明显异型细胞, 结合超声内镜特点及临床均考虑食管结核. 淋巴结结核病理改变分为4期, 第2和第3期结核出现大量干酪样坏死, 超声表现为病灶内部不均质高回声, 此时细针穿刺易取得干酪样坏死物, 对结核诊断价值极大^[18]; 而第1期结核病理为淋巴组织增生、形成结节或肉芽肿, 穿刺组织病理可仅见炎性肉芽肿、类上皮结节、郎罕氏巨细胞, 结合内镜及超声内镜特点也可为结核的诊断提供帮助^[12,19]. 此外, 病理学检查对排除食管癌有重要作用, 有研究表明食管、纵隔占位行EUS-FNA的病例, 食管恶性肿瘤阴性预测值为84.6%^[20]. 本组中有2例病理诊断未见异型细胞, 诊断食管癌证据不足, 经与家属沟通后, 行诊断性抗痨治疗, 短期复查内镜病灶好转从而诊断为食管结核. 根据超声内镜声像图特征及穿刺标本特点, 本组超声内镜结合细针穿刺诊断食管结核的敏感性达81.8%, 对部分疑难病例可多次穿刺活检提高准确性. 另外本组病例采用22 G

穿刺针, 通过多普勒功能避开血管, 选择最短路径, 无1例发生出血、气胸等并发症, 且穿刺距离短, 造成播散的可能性极小, 安全性高.

然而, 本组病例穿刺标本抗酸染色阳性率低, 可能与取材量有限及标本的固定、切片处理程序有关^[12,21]. 所以临床上即使多次抗酸染色阴性也不能否定食管结核. 李秀颖等^[22]研究发现涂片的抗酸染色比HE切片染色阳性率高, 因为涂片染色取材新鲜, 只用950 mL/L乙醇固定. 余小琴等^[23]对体表淋巴结结核行细针穿刺研究发现荧光定量聚合酶链反应较抗酸染色更快更准确, 值得借鉴. 另外, 床旁病理医师的指导对最终病理诊断的准确性有重要影响^[20].

总之, 超声内镜及其引导下的细针穿刺、细胞与病理学检查在食管结核的诊断中有重要价值. 我们建议: (1)对于进食梗阻感或胸骨后疼痛且病程较短者, 普通内镜检查发现为食管中段溃疡型病灶, 溃疡边缘清洁、周边黏膜相对正常, 且既往有结核病史或结核接触史者, 要考虑食管结核可能, 建议进一步行胸部CT及超声内镜检查, 可多次活检或深挖活检; (2)对于内镜下表现为隆起性病变或胸部CT检查发现食管壁内占位、纵隔淋巴结肿大, 超声内镜表现为食管壁内、壁外低回声占位、边界不清、内部见强回声光斑, 伴纵隔淋巴结肿大黏连, 且淋巴结形态不规则、内部见强回声钙化斑者, 建议行EUS-FNA行细胞学与病理学检查, 加做涂片抗酸染色; 穿刺标本呈干酪样坏死物对食管结核的诊断有重要价值; 结合超声内镜声像图特征与细胞和病理学考虑食管结核的诊断与鉴别诊断, 必要时可重复行EUS-FNA; (3)超声内镜拟诊为食管结核的病例, 如病理未发现典型的结核改变, 但亦未见明显的异型细胞, 应与患者及其家属充分沟通, 取得理解后可行诊断性抗痨治疗, 4-6 wk后根据患者自觉症状改善情况复查内镜或超声内镜, 并及时调整治疗策略.

4 参考文献

- 1 蒋迎九, 李朝先, 向小勇, 杨双强, 李强, 汪斌. 食管结核88例术前误诊分析. 广东医学 2001; 22: 1152-1153
- 2 Mokoena T, Shama DM, Ngakane H, Bryer JV. Oesophageal tuberculosis: a review of eleven cases. *Postgrad Med J* 1992; 68: 110-115 [PMID: 1570250 DOI: 10.1136/pgmj.68.796.110]
- 3 郭瑾陶, 孙思予, 刘治军, 王晟, 刘香, 葛楠, 王国鑫. 超声内镜在食管结核诊断中的应用13例. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 111-113
- 4 Peixoto PC, Ministro PS, Sadio AD, Cancela EM, Araújo RN, Machado JL, Castanheira AH, Silva AT, Nunes RD, Carvalho MT, Caldas AF. Esophageal

■应用要点

本文介绍食管结核的超声内镜特征、EUS-FNA及其细胞和病理学在食管结核诊断中的应用, 为食管结核的诊断与鉴别诊断提供了重要方法与策略.

■同行评价

食管结核罕见, 临床诊断困难, 易被误诊误治。超声内镜可显示一些特征性改变(本文参考文献有3篇包括英文1篇系我们发表的), 结合活检和细针穿刺, 对本病的诊断和鉴别诊断有很大的实用价值。

- tuberculosis: an unusual cause of dysphagia. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1173-1176 [PMID: 19152888]
- 5 Puri R, Khaliq A, Kumar M, Sud R, Vasdev N. Esophageal tuberculosis: role of endoscopic ultrasound in diagnosis. *Dis Esophagus* 2012; 25: 102-106 [PMID: 21777339 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01223.x]
- 6 Dow CJ. Oesophageal tuberculosis: four cases. *Gut* 1981; 22: 234-236 [PMID: 7227859]
- 7 Devarbhavi HC, Alvares JF, Radhikadevi M. Esophageal tuberculosis associated with esophago-tracheal or esophagomediastinal fistula: report of 10 cases. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 588-592 [PMID: 12665778 DOI: 10.1067/mge.2003.140]
- 8 杨力, 朱晓佳, 赵赛菊. 食管结核440例临床与内镜分析. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 707-709
- 9 蒋迎九, 罗永艾, 李朝先, 向小勇. 食管结核164例临床分析. *中国防痨杂志* 2002; 24: 197-199
- 10 Aydin A, Tekin F, Ozutemiz O, Musoglu A. Value of endoscopic ultrasonography for diagnosis of esophageal tuberculosis: report of two cases. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1673-1676 [PMID: 16927151 DOI: 10.1007/s10620-005-9028-6]
- 11 韩晓梅, 杨建民, 许林海, 聂良明. 食管结核误诊肿瘤两例. *中华消化外科杂志* 2007; 6: 461, 464
- 12 秦秀敏, 贺舜, 张月明, 薛丽燕, 王贵齐. 食管结核的内镜和超声内镜特点以及鉴别诊断. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 370-373
- 13 韩晓梅, 杨建民, 许林海, 聂良明, 赵仲生. 食管结核内镜超声表现. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 147-149
- 14 周雨迁, 霍继荣, 刘德良, 王学红. 食管结核7例分析. *中华消化内镜杂志* 2009; 26: 42-44
- 15 Fujiwara Y, Osugi H, Takada N, Takemura M, Lee S, Ueno M, Fukuhara K, Tanaka Y, Nishizawa S, Kinoshita H. Esophageal tuberculosis presenting with an appearance similar to that of carcinoma of the esophagus. *J Gastroenterol* 2003; 38: 477-481 [PMID: 12768391 DOI: 10.1007/s00535-002-1088-1]
- 16 Abid S, Jafri W, Hamid S, Khan H, Hussainy A. Endoscopic features of esophageal tuberculosis. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 759-762 [PMID: 12739552 DOI: 10.1067/mge.2003.205]
- 17 Leung VK, Chan WH, Chow TL, Luk IS, Chau TN, Loke TK. Oesophageal tuberculosis mimicking oesophageal carcinoma. *Hong Kong Med J* 2006; 12: 473-476 [PMID: 17148804]
- 18 Han XM, Yang JM, Xu LH, Nie LM, Zhao ZS. Endoscopic ultrasonography in esophageal tuberculosis. *Endoscopy* 2008; 40: 701-702 [PMID: 18680081 DOI: 10.1055/s-2008-1077479]
- 19 赵奕文, 金正吉, 郑颖, 方超, 王伟, 潘秀芳. 颈淋巴结结核的超声表现与分型. *上海医学影像* 2008; 17: 218-220
- 20 王艳, 王金林, 安成泰, 陈念钧, 李荣香, 胡继芬, 段亚琦, 申铭, 朱峰. 内镜超声引导下细针穿刺活检诊断上消化道壁外占位性病变的价值. *中华消化内镜杂志* 2013; 30: 424-428
- 21 Park JH, Kim SU, Sohn JW, Chung IK, Jung MK, Jeon SW, Kim SK. Endoscopic findings and clinical features of esophageal tuberculosis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1269-1272 [PMID: 20568972 DOI: 10.3109/00365521.2010.501524]
- 22 李秀颖, 刘翔. 针吸细胞抗酸染色在结核诊断中的应用. *实用临床杂志* 2005; 3: 96
- 23 余小琴, 方雪松. 细针吸取细胞学联合荧光定量聚合酶链反应在诊断淋巴结结核中的作用. *中华结核和呼吸杂志* 2009; 32: 51-54

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估

马超, 孔德润

马超, 安徽医科大学第一附属医院 安徽省阜阳市 236015
马超, 安徽省阜阳市第二人民医院消化内科 安徽省阜阳市 236015
孔德润, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 230022
马超, 主治医师, 主要从事门脉高压症的研究。
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070337, 81271736
安徽省教育厅自然科学基金重点研究基金资助项目, No. KJ2012Z189
安徽省卫生厅医学科研课题基金资助项目, No. 2010B018
作者贡献分布: 此课题设计由孔德润; 论文检索, 采集数据, 数据分析及论文写作由马超完成。
通讯作者: 孔德润, 教授, 硕士生导师, 230022, 安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科。
kdr168@sohu.com
电话: 0551-62922039
收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-02
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices

Chao Ma, De-Run Kong

Chao Ma, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236015, Anhui Province, China
Chao Ma, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Fuyang City, Fuyang 236015, Anhui Province, China
De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China
Supported by: Educational and Health Department of Anhui Province, Nos. KJ2012Z189 and 2010B018; National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070337 and 81271736
Correspondence to: De-Run Kong, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Shushan District, Hefei 230022, Anhui Province, China. kdr168@sohu.com
Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-02
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of hood-assisted endoscopic esophageal injection sclerotherapy (EIS) in cirrhotic patients with esophageal varices.

METHODS: Seventy-eight cirrhotic patients with esophageal varices treated by EIS were

divided into two groups: 47 patients (group A) were treated by direct injection and 31 by hood-assisted endoscopy (group B). The changes in endoscopic characteristics of esophageal varices, the time required to perform endoscopic treatment, and other complications were compared between the two groups. The patients were followed 1, 6, and 12 mo after treatment.

RESULTS: The hood-assisted EIS method might improve efficacy compared with the direct injection group (group B: 96.8% vs group A: 74.5%, $P < 0.05$). The smaller volume of sclerosant was required to eradicate varices in the hood-assisted EIS group ($80.54 \text{ mL} \pm 18.72 \text{ mL}$ vs $60.54 \text{ mL} \pm 12.74 \text{ mL}$, $P < 0.05$). The sessions of sclerotherapy ($4.78 \text{ times} \pm 1.24 \text{ times}$ vs $2.78 \text{ times} \pm 1.24 \text{ times}$, $P < 0.05$), the time required to perform endoscopic treatment ($8.26 \text{ min} \pm 1.45 \text{ min}$ vs $5.27 \text{ min} \pm 1.63 \text{ min}$, $P < 0.05$) and the incidence of complications were significantly reduced in the hood-assisted group.

CONCLUSION: Our preliminary results indicate that the hood-assisted EIS method may reduce the risk of variceal bleeding during EIS and improve the efficacy of EIS.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal and gastric varices; Bleeding; Esophageal injection sclerotherapy; Hood-assisted

Ma C, Kong DR. Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 837-841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/837.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.837>

摘要

目的: 探讨透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗的临床疗效与安全性。

方法: 78例肝硬化患者采用硬化剂治疗食管静脉曲张, 分成内镜下直接注射治疗组(A组, n

■背景资料

食道静脉曲张破裂出血是肝硬化常见并发症, 患者生活质量、生存率低下。随着内镜技术的发展, 内镜下套扎术、食管静脉曲张硬化术、组织胶注射术在食管胃静脉曲张(esophageal gastric varices, EGV)的急性出血期和再出血预防取得了优越的临床效果, 已经被认为是EGV的首选治疗方案。其中硬化剂治疗已经作为一线的治疗方案广泛应用于防治食管胃静脉曲张破裂出血。

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■研究前沿

硬化剂治疗过程中,既要保证注入曲张静脉内,不发生穿透、划伤曲张静脉,国内外专家运用了多种方法,包括静脉内注射,小剂量黏膜加固法,美兰染色等,但是并发症的发生率仍然较高,如何减少并发症及降低食管狭窄的发生率,减少治疗次数是临床亟待解决的问题。

= 47),透明帽辅助下注射治疗组(B组, $n = 31$)。治疗后1、6、12 mo行胃镜检查,比较食管曲张静脉治疗后改变、内镜治疗所需时间及术后不良反应发生率。

结果:透明帽辅助组的食管曲张静脉治疗有效率高于直接注射治疗组(B组96.8%, A组74.5%, $P < 0.05$),硬化剂使用量减少(A组80.54 mL \pm 18.72 mL, B组60.54 mL \pm 12.74 mL, $P < 0.05$)及治疗次数减少(A组4.78次 \pm 1.24次, B组2.78次 \pm 1.24次, $P < 0.05$),内镜下治疗时间缩短(A组8.26 min \pm 1.45 min, B组5.27 min \pm 1.63 min, $P < 0.05$),治疗周期缩短(A组29.31 d \pm 6.29 d, B组20.20 d \pm 4.79 d, $P < 0.05$),并发症的发生率减少(A组48.9%, B组38.7%)。

结论:初步研究发现透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗能降低术中出血风险、提高疗效。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:食管和胃静脉曲张; 出血; 硬化剂治疗; 透明帽辅助

核心提示:透明帽辅助的食管静脉曲张硬化术(endoscopic injection sclerotherapy),可减少聚桂醇及血液外溢,不影响同时进行的其他静脉及黏膜的治疗,提高了治疗的效率。使用硬化剂总量减少,治疗的时间明显缩短,视野更清楚,出血明显减少,并发症的发生减少。

马超, 孔德润. 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 837-841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/837.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.837>

0 引言

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化最常见的并发症,病死率高,远期疗效不佳。随着内镜技术的发展,食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)、食管静脉曲张硬化术(endoscopic injection sclerotherapy, EIS)、组织胶注射术(gastric variceal obturation, GVO)在食管胃静脉曲张(esophageal gastric varices, EGV)的急性出血期和再出血预防取得了优越的临床效果,已经被认为是EGV的首选治疗方案。其中EIS广泛应用于急性曲张静脉出血及择期的内镜下治疗,我们探索应用透明帽辅助下EIS,比较与常规EIS的临床疗效与安全性,发现可以降低术中出血风险,缩短内镜治疗时间,提高曲张静脉消

失率,减少并发症发生。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择我院2009-10/2012-10住院患者78例,均经临床、生化、影像学及内镜检查确诊肝硬化门脉高压症合并食管静脉曲张(endoscopic variceal, EV),而且既往有多次出血(呕血或/和黑便)。在出血停止或血液动力学、病情稳定时行电子胃镜检查明确诊断食管静脉曲张破裂出血,所有患者有完整的住院病例及随访资料。其中男40例,女38例,年龄21-78岁,平均年龄40.5岁 \pm 4.15岁。肝功能按Child-Pugh分级标准,Child A级33例、Child B级29例、Child C级16例。并分为EIS直接治疗组(A组,治疗中不使用透明帽, $n = 47$ 例)和透明帽辅助治疗组(B组, $n = 31$ 例),两组在年龄、性别、病因、病情方面差异无显著性。其中乙型病毒性肝炎肝硬化52例,酒精性肝硬化12例,胆汁性肝硬化7例,病因不明的7例,行外科脾切除+贲门周围血管离断术后的22例。其中急诊内镜下治疗2例,其余均为择期治疗,具体资料如表1。胃镜为Pentax公司3990E治疗型内镜,注射针为美国cook公司可调式一次性注射针,药物为山西天宇生产的聚桂醇10 mL/支,透明帽为美国cook公司内镜透明帽。

1.2 方法

1.2.1 食管胃底静脉曲张的分级:静脉曲张的记录方法参照以下3个因素进行^[1]: (1)曲张静脉位置(location, L); Lg: 曲张静脉位于胃部; Lgf: 曲张静脉位于胃底; Lgb: 曲张静脉位于胃体; Lga: 曲张静脉位于胃窦; Le, g: 食管曲张静脉与胃曲张静脉完全相通; Le, Lg: 食管曲张静脉与胃曲张静脉各自独立; Le, g, LS: 一支以上胃曲张静脉与食管曲张静脉完全相通,但还有胃孤立曲张静脉存在; (2)曲张静脉直径(diameter, D); (3)危险因素(risk factor, Rf)。按食管静脉曲张形态及出血危险程度分轻、中、重3级。轻度(G1): 食管静脉曲张呈直线形或略有迂曲,无红色征。中度(G2): 食管静脉曲张呈直线形或略有迂曲。有红色征或食管静脉曲张呈蛇形迂曲隆起但无红色征。重度(G3): 食管静脉曲张呈蛇形迂曲隆起,且有红色征或食管静脉曲张呈串珠状、结节状或瘤状(不论是否有红色征)。

1.2.2 治疗:调试注射针出针长度约0.5 cm,注射针内预充聚桂醇。术前充分和患者进行交流,以获得尽可能的配合,胃镜前端安装透明帽(图1A)。清醒状态下,进镜后首先在食管下段曲张

表 1 两组患者的基础资料

项目	分组		P值
	EIS常规治疗组(A组)	透明帽辅助EIS组(B组)	
n	47	31	>0.05
男/女	25/22	17/14	>0.05
出血次数	1-5	1-4	>0.05
Child分级			>0.05
A	16	17	
B	10	19	
C	5	11	
病因			>0.05
乙型肝炎肝硬化	28	24	
酒精性	4	8	
外科手术后	9	13	
病因不明	2	5	

表 2 两组患者治疗后疗效 n(%)

分组	n	显效	有效	无效	有效率
A组	47	15(31.9)	20(42.6)	12(25.5)	35(74.5)
B组	31	14(45.2)	16(51.6)	1(3.2)	30(96.8)
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

静脉隆起最明显处, 选择齿状线上方靶静脉, 采用静脉内注射法, 刺入曲张静脉内, 每点根据曲张静脉直径注射聚桂醇5-7 mL, 观察静脉抬起或呈灰白色改变为满意。退针观察, 如有出血, 立即用透明帽局部压迫止血, 同时进行下一个静脉内的注射, 直至所有静脉内均完成注射, 聚桂醇注射总量不超过30 mL。遂后在贲门周围进行黏膜下注射, 选择3、6、9、12点的位置, 黏膜下注射聚桂醇1-2 mL, 至黏膜抬起, 完成贲门周围黏膜下注射, 以加固黏膜层。每次治疗7-12个点, 治疗完成后吸引胃内积气, 观察食道内无活动性出血后退镜。每周进行治疗一次, 同时观察溃疡、狭窄等并发症的情况, 治疗的终点为食道静脉曲张完全消失或者基本消失^[1]。

1.2.3 术后处理: 术后禁食24 h, 酌情予生长抑素或奥曲肽静脉滴注12 h; 常规使用质子泵抑制剂分次静脉滴注2 d; 同时预防性使用抗生素1-2 d, 24 h后无呕血及黑便者可进温凉流质饮食。

1.2.4 观察指标: 所有患者均观察内镜下治疗时间, 治疗后1、3、6、12 mo胃镜检查观察食管静脉曲张消失情况, 及术后不良反应发生率, 并根据曲张静脉复发情况决定再次行内镜下治疗,

表 3 两组患者治疗参数及并发症情况

治疗参数	A组	B组	P值
n	47	31	
硬化剂总量(mL)	80.54±18.72	60.54±12.74	<0.05
治疗次数	4.78±1.24	2.78±1.24	<0.05
内镜治疗时间(min)	8.26±1.45	5.27±1.63	<0.05
治疗天数(d)	29.31±6.29	20.20±4.79	<0.05
并发症[n(%)]	23(48.9)	12(38.7)	<0.05
发热	9(19.1)	6(19.4)	
胸痛	8(17)	4(12.9)	
食管溃疡	6(12.7)	2(6.4)	
食管狭窄	2(4.2)	0(0.0)	

治疗后12 mo统计数据。

1.2.5 疗效判定标准^[2]: (1)食管静脉曲张的显效为曲张静脉重度变为轻度, 红色征消失, 或曲张静脉完全消失; (2)有效为重度变为中度, 中度变为轻度伴有红色征存在; (3)无效为曲张静脉无改变或不能有效控制出血者, 或者在随访区间再次出血的。

统计学处理 采用SPSS11.5软件包进行数据管理及统计学分析, 计量资料采用mean±SD表示, 计数资料采用率表示。计量资料的组内差异性比较采用方差齐性检验(F检验), 符合正态分布和方差齐性时采用t检验。计数资料的组间数据比较行 χ^2 检验或Fisher确切概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基础资料 两组患者的年龄、病因、肝功能经 χ^2 检验或t检验, 差异无显著性($P>0.05$, 表1)。

2.2 疗效比较 我们按照(曲张静脉完全消失例数+曲张静脉基本消失例数)/总例数×100%计算曲张静脉治疗有效率, 结果显示使用透明帽辅助EIS组曲张静脉治疗有效率高与常规EIS组(96.8% vs 74.5%, $P<0.05$)硬化剂使用量减少(A组80.54 mL±18.72 mL, B组60.54 mL±12.74 mL, $P<0.05$)及治疗次数减少(A组4.78次±1.24次, B组2.78次±1.24次, $P<0.05$), 治疗时间(A组8.26 min±1.45 min, B组5.27 min±1.63 min, $P<0.05$)缩短, 治疗周期缩短(A组29.31 d±6.29 d, B组20.20 d±4.79 d, $P<0.05$)(表2)。

2.3 并发症 观察发热、胸痛、食管溃疡及狭窄的发生率, 直接EIS注射组(A)组共发生23例(48.9%), 透明帽辅助EIS组(B组)12例(38.7%), 透

■ 相关报道

因为硬化剂治疗的特殊性-并发症发生率高, 硬化剂的使用方法经历了较大的改善。程留芳教授应用大剂量硬化剂治疗曲张静脉出血取得良好的止血效果, 急诊止血率为97.0%, 食管静脉曲张消失及基本消失率达84.1%; 李兆申提出了小剂量黏膜加固法, 可减少近期出血及静脉曲张复发。

■创新盘点

我们在清醒状态下进行硬化治疗,减少了误吸的可能。应用透明帽辅助进行静脉曲张硬化治疗时,可以将靶静脉固定于透明帽前端,视野清晰,可同时进行局部压迫及硬化剂注射,减少出血及硬化剂的流失,减少不良反应的发生。

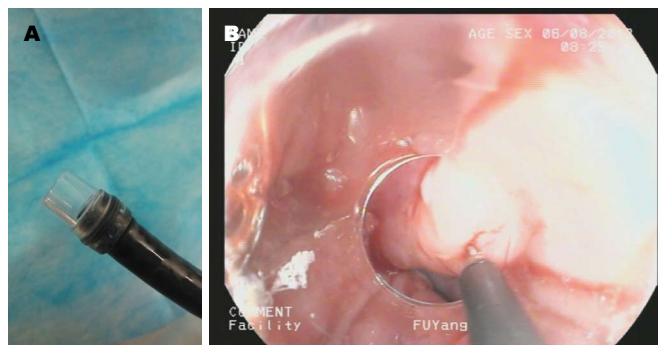


图1 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗。A: 安装透明帽; B: 透明帽治疗中。

明帽辅助EIS组的并发症发生率减少,差异有统计学意义($P<0.05$,表3)。

3 讨论

EIS是防治食管静脉曲张破裂出血的有效方法。EIS后2 wk时食管及其血管出现肉芽组织,3-4 wk发生纤维化,从而导致血管闭塞,达到预防再出血的目的。也是因为聚桂醇的血管破坏及闭塞作用,可使EIS的纤维化向更深的黏膜下层延伸,消除部分深层血管,减少血管再通及再出血的几率^[3,4]。程留芳等^[5-8]提出了大剂量硬化剂可以更好防治食道静脉曲张出血的主张。日本学者Tomikawa等^[9]采用大剂量硬化剂注射方法,急诊止血率达98.9%,静脉曲张完全消失率83.5%,证明大剂量硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张有效。我国学者程留芳等^[10]研究同样发现,这一疗法急诊止血率为97.0%,食管静脉消失及基本消失率达84.1%,和国外的报道效果相近,并发现其能显著提高患者生存率。

有研究^[10-15]提出了序贯治疗及黏膜加固的治疗方法,均取得了良好的治疗效果。但仍因注射硬化剂时无精确靶向性及难以掌握精确的药物注射剂量,对曲张静脉及穿通支血管的闭塞作用仍难以达到理想的效果。

国内部分学者^[16,17]在硬化治疗时采用无痛内镜下进行方式,其目的除了减少患者痛苦外,还可能减少发生穿透食管壁、划伤曲张静脉等可能。我们观察发现,使用透明帽后可以避免以上风险的发生。透明帽已普遍应用于多种内镜下治疗,例如:异物取出,食道胃黏膜切除术等^[18]。我们在普通内镜下进行EIS操作,因为患者恶心反应,同时要完成贲门周围黏膜的加固,治疗所需要的时间还是比较长的,我们进行常规EIS治疗时间为 $8.26 \text{ min} \pm 1.45 \text{ min}$ 。使用透明帽后,可以将靶静脉固定于透明帽前端,视野清晰,穿刺的静脉相对固定,减少了因为恶心而发生的静脉

划伤可能,并且可以清晰地观察注射针的出针及黏膜、血管穿刺情况(图1B)。因为提高了治疗的效率,治疗所需时间缩短为 $5.27 \text{ min} \pm 1.63 \text{ min}$ 。因此,治疗周期也明显缩短(A组 $29.31 \text{ d} \pm 6.29 \text{ d}$, B组 $20.20 \text{ d} \pm 4.79 \text{ d}$, $P<0.05$)。进行治疗中有患者退针的时候会发生注射点的短暂性渗血或喷射样出血,这时部分聚桂醇会随着血液流出,减少了聚桂醇在血管内的存在,局部药物浓度下降,同时食管腔内出现积血,影响治疗时的视野。使用透明帽后,局部压迫可减少聚桂醇外溢,不影响同时进行的其他静脉及黏膜的治疗,提高了治疗的效率。这可能也是曲张静脉消失率高于对照组的原因。因为减少聚桂醇丢失,使用硬化剂总量减少,治疗的时间明显缩短,治疗中视野更清楚,出血明显减少。

硬化剂治疗后血管再通发生慢、复发率低,但并发症多,静脉曲张消失所需治疗次数也多^[19,21]。治疗过程中,硬化剂治疗相关的并发症的发生率约在25%左右,这和我们常规EIS组的并发症发生率一致。过去研究^[22,23]认为硬化剂治疗并发症的发生率较高,其中食管溃疡、狭窄发生较为严重,会影响患者的日常生活。其原因是硬化剂剂量大,容易造成溃疡较为深大,炎症反应累及至肌层,溃疡愈合后产生瘢痕,不可避免地造成食管狭窄的发生。另一方面,也是多次硬化后的炎症反应相互重叠交错,综合形成的结果。尚有部分操作时,穿刺针进入食管肌层,引起肌层的炎症,也会发生狭窄^[24,25]。我们发现,在使用透明帽治疗过程中,因为视野的清晰,可以观察到注射针的出针情况,静脉及黏膜下刺入情况,减少了聚桂醇进入食管肌层或更深层的可能,所以发生并发症也是减少的。

总之,我们初步研究发现透明帽辅助下EIS,可以进一步提高硬化剂治疗的效果、减少术中出血风险、减少硬化剂用量及术后并发症发生

率. 我们将进行更多样本临床观察.

4 参考文献

- Tajiri T, Yoshida H, Obara K, Onji M, Kage M, Kitano S, Kokudo N, Kokubu S, Sakaida I, Sata M, Tajiri H, Tsukada K, Nonami T, Hashizume M, Hirota S, Murashima N, Moriyasu F, Saigenji K, Makuuchi H, Oho K, Yoshida T, Suzuki H, Hasumi A, Okita K, Futagawa S, Idezuki Y. General rules for recording endoscopic findings of esophagogastric varices (2nd edition). *Dig Endosc* 2010; 22: 1-9 [PMID: 20078657]
- 中华医学会消化内镜学分会食管胃静脉曲张学组. 消化道静脉曲张及出血的内镜诊断和治疗规范试行方案(2009年). *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 1-4
- 李盼, 孔德润, 谢惠君, 孙斌, 许建明. 食管曲张静脉套扎和硬化治疗疗效与安全性的前瞻性评估. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3791-3795
- 王广华, 谭万岱, 杜长夫. 内镜下套扎联合硬化剂治疗食管静脉曲张破裂出血的临床疗效及安全性. *山东医药* 2013; 53: 60-62
- Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Tajiri T. New methods for the management of esophageal varices. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1641-1645 [PMID: 17461464]
- 林香春, 蔺武, 程留芳, 吴静. 大剂量硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张疗效观察. *山东医药* 2008; 48: 101-102
- 李坪, 成军, 毛羽, 胡居, 龙蒋煜. 急诊内镜治疗食管贲门胃底静脉曲张活动出血200例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 90-93
- Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey WD. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2086-2102 [PMID: 17727436 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01481.x]
- Tomikawa M, Hashizume M, Okita K, Kitano S, Ohta M, Higashi H, Akahoshi T. Endoscopic injection sclerotherapy in the management of 2105 patients with esophageal varices. *Surgery* 2002; 131: S171-S175 [PMID: 11821806 DOI: 10.1067/msy.2002.119500]
- 范铁艳, 程留芳. 结扎和硬化疗法治疗肝硬化食管静脉曲张出血疗效比较的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1704-1709
- 王进广, 孔德润. 内镜干预及联合普萘洛尔预防食管静脉曲张破裂再出血的疗效对比. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2944-2950
- 柴新, 张英国. 普萘洛尔和经内镜硬化治疗预防肝硬化静脉曲张再出血的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 437-442
- 蔺武, 刘心娟, 姜国俊, 魏南, 芦月霞, 郭晶, 程留芳. EVS、EVS EVL续贯EVS和EVL续贯EVS治疗食管静脉曲张的疗效比较. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1020-1023
- 吴毓麟, 程桂英, 陈隆典, 邹晓平. 内镜下硬化剂治疗食管静脉曲张出血. *江苏医药* 2008; 34: 29-31
- Ishii H, Sonoyama T, Nakashima S, Nagata H, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sakakura C, Otsuji E. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma with severe intratumoral arterioportal shunt. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3211-3214 [PMID: 20593509 DOI: 10.3748/wjg.v16.i25.3211]
- 魏志, 孙志勤, 董伟, 孙奎林, 刘晓峰, 尚瑞莲, 贾爱芹, 李群, 黄华. 无痛内镜在肝硬化食管胃底静脉曲张内镜序贯治疗中的应用探讨. *中华消化杂志* 2012; 32: 411-413
- 霍红, 吴桂恺, 刘国祥, 朱福涛, 徐京丽, 张晓君, 司雁菱. 无痛内镜下序贯治疗食管胃底静脉曲张的疗效与安全性评价. *中华消化病与影像杂志(电子版)* 2012; 2: 308-311
- 张娜娜, 李鹏, 张澍田. 透明帽在消化内镜诊治中的应用. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 298-300
- 岳玉, 汤克云, 邵利萍, 汪升早. 聚桂醇在急诊硬化治疗食管静脉曲张破裂出血中的应用体会. *淮海医药* 2013; 31: 351-353
- 闫文姬, 柴国君, 杨云生, 孙国辉, 王娟, 刘迎娣. 食管静脉曲张硬化治疗后食管发生狭窄的相关因素. *武警医学* 2012; 23: 386-391
- Senju S, Nishida H, Sakamoto M, Ishikawa A, Ishii M, Yoneyama K, Kawauchi A, Mitamura K. Endoscopic color Doppler ultrasonographic evaluation of recurrent esophagogastric varices following endoscopic injection sclerotherapy. *Hepatol Res* 2003; 26: 174-180 [PMID: 12850688 DOI: 10.1016/S1386-6346(03)00090-1]
- Kong DR, Ma C, Wang M, Wang JG, Chen C, Zhang L, Hao JH, Li P, Xu JM. Effects of propranolol or propranolol plus isosorbide-5-mononitrate on variceal pressure in schistosomiasis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4228-4233 [PMID: 23864788 DOI: 10.3748/wjg.v19.i26.4228]
- Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Yoshioka M, Hirakata A, Kawano Y, Mizuguchi Y, Shimizu T, Ueda J, Uchida E. Treatment modalities for bleeding esophagogastric varices. *J Nippon Med Sch* 2012; 79: 19-30 [PMID: 22398787 DOI: 10.1272/jnms.79.19]
- 尚瑞莲, 李兆申, 金震东, 邹多武, 孙自勤, 湛先保, 王东. 小剂量硬化剂加固对食管静脉曲张术后的影响. *实用肝脏病杂志* 2009; 12: 207-209
- 谭智. 肝硬化食管静脉曲张出血及硬化治疗效果的相关因素分析. *河北医药* 2013; (19): 2911

同行评价

本文探讨透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗的疗效及并发症, 认为使用透明帽治疗临床疗效较好, 能降低患者出血风险及提高疗效. 设计结合临床实际, 有一定的参考价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



奥美拉唑的不良反应

王子娟, 张 弋

■背景资料

奥美拉唑(omeprazole)是一种质子泵抑制剂, 易浓集于酸性环境中, 阻断了胃酸分泌的最后步骤, 对各种因素引起的胃酸分泌均有很强的抑制作用。主要用于胃、十二指肠溃疡, 反流性食管炎, 卓艾氏综合征及消化性溃疡急性出血。

王子娟, 天津医科大学 天津市 300070

张弋, 天津第一中心医院药剂科 天津市 300192

王子娟, 主要从事药理学研究。

作者贡献分布: 本论文中课题设计、文献检索、数据分析、论文写作由王子娟完成; 论文复核由张弋完成。

通讯作者: 张弋, 300192, 主任药师, 天津市南开区复康路24号, 天津第一中心医院药学部. jane4033@126.com

收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-02-28

Adverse reactions of omeprazole

Zi-Juan Wang, Yi Zhang

Zi-Juan Wang, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Yi Zhang, Pharmacy Department, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Correspondence to: Zhang Yi, Chief Pharmacist, Tianjin First Center Hospital, 24 Fukang Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. jane4033@126.com

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

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To analyze the general rules and characteristics of adverse drug reactions (ADRs) of omeprazole to provide information for its rational usage in clinic.

METHODS: We searched the Chinese Journal Full-text Database (CNKI) and Wanfang Database from January 2008 to December 2013 with omeprazole and ADR as key words for published articles reporting ADR of omeprazole. Clinical data such as patient age, time of ADR occurrence, and clinical manifestations were analyzed statistically.

RESULTS: A total of 47 cases were collected from 40 reports. Common ADRs were damage to skin and its appendages, nervous system damage and systemic damage. Adverse reactions may be very serious or rare.

CONCLUSION: ADRs of omeprazole may lead to systemic damage, but the prognosis is good. Prevention and monitoring of ADRs of omepra-

zole should be strengthened in clinical practice.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Omeprazole; Adverse reactions

Wang ZJ, Zhang Y. Adverse reactions of omeprazole. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 842-845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/842.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.842>

摘要

目的: 分析奥美拉唑所致不良反应的一般规律和特点, 为临床合理用药提供参考。

方法: 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词, 检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析。

结果: 共检索出40篇文献, 涉及47例病例。不良反应累及系统-器官以皮肤及其附件损害、精神系统损害和全身性损害为主, 可能导致严重的和罕见的药品不良反应发生。

结论: 奥美拉唑不良反应累及系统较多, 不良反应预后良好, 临床应加强对奥美拉唑不良反应的预防和监测。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 奥美拉唑; 不良反应

核心提示: 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词, 检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析。

王子娟, 张弋. 奥美拉唑的不良反应. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 842-845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/842.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.842>

■同行评议者

黄国, 教授, 四川大学华西药学院药剂系; 彭宗根, 副研究员, 中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

表 1 47例奥美拉唑不良反应患者的年龄分布情况

年龄(岁)	n	构成比(%)
≤17	2	4.26
18-40	15	31.91
41-65	16	34.04
>65	14	29.79
合计	47	100.00

表 2 47例奥美拉唑不良反应发生时间

发生时间	n	构成比(%)
≤30 min	8	17.02
>30 min且≤1 d	6	12.77
>1 d且≤15 d	26	55.32
>15 d	6	12.76
不详	1	2.13
合计	47	100.00

0 引言

奥美拉唑(omeprazole)是一种质子泵抑制剂, 易浓集于酸性环境中, 能特异性的作用于胃壁细胞质子泵(H^+-K^+-ATP 酶)所在部位, 并转换为亚磺酰胺的活性形式, 然后通过二巯基与质子泵的巯基呈不可逆性的结合, 生成亚磺酰胺与质子泵的复合物, 从而抑制该酶活性, 使壁细胞内 H^+ 不能转运到胃腔中, 阻断了胃酸分泌的最后步骤, 对各种因素引起的胃酸分泌均有很强的抑制作用。奥美拉唑应用于临床以来, 主要用于胃、十二指肠溃疡, 反流性食管炎, 卓艾氏综合征及消化性溃疡急性出血^[1]。随着该药在临床的广泛应用, 有关其不良反应的报道逐渐增多, 现将国内2008-2013年公开发表的47例有关使用奥美拉唑引起的不良反应分析如下, 旨在提高对奥美拉唑的认识, 促进更合理应用, 发挥其临床治疗作用。

1 材料和方法

1.1 材料 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词, 检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道。剔除重复报告、药物联合应用及资料不全等报告, 最后纳入统计的文献为40篇, 涉及47例病例。

1.2 方法 采用回顾性研究的方法, 分别从患者基本信息、不良反应发生时间和临床表现及预后等方面进行统计分析。药品不良反应因果关系根据国家药品不良反应监测中心的药品不良反应判断标准进行评价。

2 结果

2.1 患者年龄和性别分布 在47例奥美拉唑致不良反应病例中, 男性27例, 占57.4%; 女性20例, 占42.6%。年龄最小的1岁半, 最大的86岁, 中位年龄47岁。各年龄段都有不良反应病例报告(表1)。

2.2 给药途径与剂量 在47例奥美拉唑致不良反

应病例中, 有19例为口服给药, 28例为静脉滴注给药。3例剂量不详, 其余单次给药的最大剂量为80 mg, 最小剂量为20 mg。

2.3 不良反应发生时间分布 文献报道奥美拉唑不良反应发生时间最短的为给药后10 min, 最长的为连续用药1年(表2)。2例为第2次使用后出现不良反应, 1例为连续使用多次后出现, 其余为第1次使用后出现不良反应。

2.4 不良反应累及系统-器官及主要临床表现 通过分析显示, 奥美拉唑所致不良反应累及多个系统-器官, 其中排名前3位的分别为皮肤及其附件损害20例(占18.35%), 精神系统损害17例(占15.60%), 全身性损害15例(占13.76%)。临床主要表现为瘙痒、皮疹、烦躁、谵语、发热、过敏性休克、心悸等(表3)。

2.5 药物不良反应(adverse drug reaction, ADR)的处理及结果 在47例报告中, 对发生的ADR最常用的处理方法是停药。一般的ADR如皮疹等在停药一段时间后, 症状会自行消失。对一些较为严重的ADR, 除了停药之外, 给予肾上腺素和地塞米松等进行对症治疗, 经处理, 47例患者ADR均好转或者痊愈。

3 讨论

3.1 不良反应与患者年龄、性别的关系 不同年龄、性别的个体对药物的吸收、分布、代谢、排泄是不同的。一般来说, 女性比男性更易发生ADR。另外, 未成年人身体处于生长发育阶段, 肝肾功能及一些酶系统尚不成熟, 对药物的敏感性较高, 老年人由于各器官、系统功能逐渐衰弱, 生理机能逐步减退, 对药物代谢与耐受能力降低, 药代动力学也有明显的改变, 因此老年人发生ADR的几率较大^[2]。本文所分析奥美拉唑致不良反应病例以41-65岁人群最多, 可能与消化性溃疡多发于此年龄段人群有关。调查发现奥美拉唑致不良反应男女比例接近1.35:1,

■研发前沿

随着该药在临床的广泛应用, 有关其不良反应的报道逐渐增多, 现将国内2008-2013年公开发表的47例有关使用奥美拉唑引起的不良反应分析如下, 旨在提高对奥美拉唑的认识, 促进更合理应用, 发挥其临床治疗作用。

■相关报道

关于奥美拉唑引起精神错乱的报道较为少见,在《奥美拉唑引起罕见不良反应-可逆性精神错乱1例报道》中,报道的此类不良反应的发生率为1%,临床工作中常容易忽略,如能正确认识药物不良反应,及时调整药物治疗方案,则可避免误诊发生。

表 3 47例奥美拉唑不良反应累及系统-器官及主要临床表现

累及系统-器官	主要临床表现及例次	n	构成比(%)
皮肤及其附件损害	皮疹(5)、多形性红斑(1)、红丘疹(2)、瘙痒(7)、荨麻疹(2)、表皮剥脱(2)、湿疹(1)	20	18.35
精神系统损害	烦躁(4)、谵语(4)、精神错乱(3)、幻觉(3)、攻击性行为(2)、失眠(1)	17	15.60
全身性损害	发热(4)、过敏性休克(3)、寒战(2)、乏力(6)	15	13.76
中枢及外周神经系统损害	头痛(2)、头晕(7)、运动性失语(1)	10	9.17
消化系统损害	腹痛(1)、恶心(2)、呕吐(2)、消化系出血(3)、口干(1)、消化道多发息肉(1)	10	9.17
呼吸系统损害	呼吸困难(2)、胸闷(7)	9	8.26
心血管系统损害	心悸(4)、血压降低(1)、心动过缓(4)	9	8.26
肝脏损害	纤维蛋白原减少(2)、肝酶升高(4)	6	5.50
肌肉骨骼系统损害	关节痛(2)、肌肉痛(2)	4	3.68
血液系统损害	低镁血症(1)、白细胞减少(1)、粒细胞减少(1)	3	2.75
泌尿系统损害	肾功能异常(1)、急性尿潴留(2)	3	2.75
内分泌系统损害	男性乳房女性化(1)、尿酸升高(2)	3	2.75
合计		109	100.00

这并非男性使用奥美拉唑ADR的发生率高,而是奥美拉唑的主要适应症是消化性溃疡,其发病率有着明显的性别差异,其男女比例在4:1左右^[3],由此推测奥美拉唑ADR的发生与性别无关。

3.2 不良反应与给药途径、剂量的关系 在47例奥美拉唑致不良反应病例中,静脉滴注给药占59.57%。严重的不良反应如过敏性休克、多脏器功能损害等都是静脉滴注给药后出现的^[4,5],因此建议尽量采用口服给药的方式以避免或减少不良反应的发生。药品的使用剂量单次给药的最大剂量为80 mg^[6],超出了说明书的推荐剂量,属于不合理使用药品导致的不良事件。

3.3 不良反应发生时间分布 奥美拉唑不良反应发生时间最短的为给药后10 min,给药后30 min内发生的占17.02%,给药15 d以上发生不良反应的占12.76%,说明奥美拉唑引发的不良反应既有速发型不良反应,也可引起迟发型不良反应。有的消化系溃疡患者自行连续服用半年甚至1年后发现不良反应^[7],而其说明书规定“本品抑制胃酸分泌的作用强,时间长,故应用本品时不宜同时再服用其他抗酸剂或抑酸剂。为防止抑酸过度,在一般消化性溃疡等疾病,不建议大剂量长期应用(卓艾氏综合征患者除外)。”属于不合理使用药品导致的不良事件,因此建议患者能严格按照说明书或者医嘱合理使用药品,切忌长期大剂量应用。

3.4 不良反应累及系统-器官及主要临床表现 经过分析发现,奥美拉唑所致不良反应累及系统-器官较多,以皮肤及其附件损害、精神系统损

害和全身性损害为主。也有严重的和罕见的药品不良反应值得关注。

47例病例中有3例出现了过敏性休克,占6.38%^[8,9]。过敏性休克主要发生在静脉给药途径中,一般在给药的30 min内出现,提醒临床用药时要密切观察患者情况,一旦发现异常,要积极采取有效处理措施。

奥美拉唑引起的罕见药品不良反应精神系统的损害报道也较多,主要表现为烦躁、谵语、精神错乱、幻觉和攻击性行为^[10,11],停用药品后症状逐渐消失,都为可逆性的。机制不明,推测可能与该药可以通过血脑屏障有关。其中1例患者既往有精神病史,服用药物后可能诱发了精神异常。提醒临床医务人员要注意与精神疾病及脑血管疾病中额、颞叶病灶引起的精神症状等相鉴别,以免误诊误治。

奥美拉唑还可导致迟发性消化系出血^[12,13]。奥美拉唑在防止急性消化道出血方面起到了很大的作用。但研究也发现,奥美拉唑的使用会使胃窦部G细胞分泌大量胃泌素,从而增加胃壁细胞分泌功能。在应用奥美拉唑同时,壁细胞的分泌功能尚不明显,一旦停止使用,壁细胞的分泌功能会得以充分显现,出现反跳性胃酸分泌增加,使胃内的pH下降,胃黏膜就会再次受到伤害而发生出血现象。因此建议奥美拉唑应采用逐渐减量的停药方法,这样可防止因突然停药引起胃酸的过度分泌而导致消化系再次发生出血。

奥美拉唑还可引起肌肉骨骼系统的损害,主要表现为关节痛和肌肉痛^[14]。长期应用还可以引起低镁血症。近几年,美国、欧盟药品监督管理

部门先后发布了有关质子泵抑制剂类药品的安全性信息, 警示此类药品的骨折、低镁血症等风险以及与氯吡格雷的药物相互作用, 并修订了药品说明书。FDA对多项公开发表的流行病学研究的调查分析显示, 使用质子泵抑制剂可能导致髌骨、腕骨、脊骨骨折风险升高, 并提示升高的风险可能与剂量、用药时间相关, 但风险强度无法确定。FDA要求医生在处方质子泵抑制剂时应考虑低剂量、短疗程的治疗方式。同时美国FDA和欧盟药品管理局(European Medicines Agency, EMA)最近两年发布通告提醒使用质子泵抑制剂3 mo以上会有低镁血症的风险。低镁血症的严重表现主要有疲劳、手足抽搐、谵妄、惊厥、头晕及室性心律失常。因此对于需要长期治疗的患者, 尤其是同期合并使用其他可导致低镁血症的药物时, 应在治疗之前进行血镁检查并在治疗过程中定期检查^[15]。

奥美拉唑是治疗消化性溃疡等胃肠道疾病的有效药品。由于患者可能需要长期用药, 因此医务人员和患者应充分重视此类药品的安全性问题, 详细了解此类药品的不良反应、禁忌症、注意事项和相互作用。在治疗前医生应询问患者的既往病史(如心血管疾病等)和联合用药情况, 将可能存在的安全性风险告知患者, 为患者处方最低有效剂量的药品, 在增加剂量或

调整治疗方案时, 应密切关注患者的不良反应发生情况。

4 参考文献

- 1 国家药典委员会. 临床用药须知. 2010年版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 366
- 2 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学. 第17版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 17
- 3 徐来凤, 张玉平, 郭秀兰. 1386例消化性溃疡的流行病学分析. 中华消化内镜杂志 2000; 17: 184-185
- 4 汤启明, 王文兴. 奥美拉唑致过敏性休克1例. 北方药学 2013; 10: 53
- 5 白燕林. 注射用奥美拉唑引起多脏器功能损害一例. 内蒙古医学杂志 2011; 43: 22
- 6 杨海, 赵海. 奥美拉唑诱发精神异常1例. 中国药物警戒 2012; 9: 639
- 7 张志辉, 王慧英, 王敏. 长期服用奥美拉唑致低镁血症1例. 临床合理用药 2012; 5: 11
- 8 江丽欢. 注射用奥美拉唑钠致过敏性休克1例. 中国药物应用与监测 2010; 7: 187-188
- 9 谢奕如, 陈瑞擎, 黄楚珠. 口服奥美拉唑致过敏性休克1例. 药物流行病学杂志 2008; 17: 270
- 10 邓秀娟, 谭宇军, 蒋慧倩. 奥美拉唑引起罕见药品不良反应-可逆性精神错乱1例报道. 中国医药导报 2010; 7: 133
- 11 贾勤惠, 宁红霞, 李芳. 奥美拉唑致精神异常. 药品不良反应杂志 2009; 11: 427
- 12 李彩云, 万里. 奥美拉唑致迟发消化道出血1例报告. 医学理论与实践 2012; 25: 1574
- 13 金玉. 奥美拉唑致迟发严重消化道出血2例. 临床荟萃 2010; 25: 1097
- 14 王飞, 李毅. 奥美拉唑罕见不良反应2例分析. 西北药学杂志 2009; 24: 234
- 15 国家食品药品监督管理局药品评价中心. 警惕质子泵抑制剂的骨折、低镁血症风险以及与氯吡格雷的相互作用. 药品不良反应信息通报 2013

同行评价

本文统计分析了6年来公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析, 将可能存在的安全性风险告知患者, 并对临床的联合用药有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系

李伟, 隋红, 周建华

■背景资料

神经内分泌肿瘤在临床上一直以来被视作一种罕见的肿瘤, 随着现代医学的进步、检测技术的提高以及对该病的认识逐渐深入, 神经内分泌肿瘤发病率已明显增高。通过对胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特征及其对预后影响的分析, 提高临床医师的诊治水平。

李伟, 隋红, 周建华, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科 黑龙江省哈尔滨市 150040

李伟, 主要从事消化系肿瘤的基础和临床研究。

黑龙江省青年科学基金资助项目, No. QC2012C011

作者贡献分布: 病例查询、临床资料整理、文章起草及数据分析由隋红与李伟完成; 文章修改与审阅由周建华完成。

通讯作者: 周建华, 教授, 主任医师, 150040, 黑龙江省哈尔滨市哈平路, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科。

zhoujianhua5@sohu.com

电话: 0451-86298268

收稿日期: 2013-12-03 修回日期: 2013-12-26

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis

Wei Li, Hong Sui, Jian-Hua Zhou

Wei Li, Hong Sui, Jian-Hua Zhou, Department of Internal Medicine, Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Young Science Foundation of Heilongjiang Province, No. QC2012C011

Correspondence to: Jian-Hua Zhou, Professor, Department of Internal Medicine, Harbin Medical University Cancer Hospital, Haping Road, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China. zhoujianhua5@sohu.com

Received: 2013-12-03 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To analyze the clinicopathologic characteristics of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms (GEP-NEN) and their correlation with prognosis.

METHODS: Clinical data for 43 patients diagnosed pathologically with GEP-NEN in Harbin Medical University Cancer Hospital from April 2007 to April 2013 were retrospectively analyzed. Survival analysis was performed by Kaplan-Meier method. The relationship between clinicopathologic characteristics and prognosis was analyzed using the Log-rank test. Independent risk factors for prognosis were analyzed by multivariate Cox regression analysis.

RESULTS: The mean age was 57.5 years, with a male-to-female ratio of 2.91:1. The most common site was stomach (19 cases, 44.19%). There were 2 cases of functional GEP-NEN (one case of glucagonoma and another case of carcinoid syndrome). Of the 43 patients, 14 received postoperative drug therapy. There were 22 deaths in 43 patients (52.38%) and one case (2.38%) was lost to follow-up. The 1- and 3-year survival rates were 70.2% and 36.9%, with a median overall survival (OS) of 16.0 months. Univariate analysis showed that tumor size (≥ 5 cm), depth of invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and pathological grades of NEC (neuroendocrine carcinoma) and MANEC (mixed adenoneuroendocrine carcinoma) could affect the patient's prognosis ($P < 0.05$ for all). Age, gender, smoking, drinking, family history of cancer, surgical approach and postoperative drug therapy were not significantly associated with prognosis. Multivariate analysis showed that lymph node metastasis, distant metastasis and pathological type were independent risk factors.

CONCLUSION: The stomach is the most common primary site of GEP-NEN, and GEP-NEN lacks specific clinical manifestations. Lymph node metastasis, distant metastasis and pathological type are independent risk factors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm; Clinical pathology; Prognosis

Li W, Sui H, Zhou JH. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 846-852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.846>

摘要

目的: 分析胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)的临床病理特点及其与预后的关系。

■同行评议者

李正荣, 副主任医师, 副教授, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区); 王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

方法: 收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04/2013-04通过病理诊断为GEP-NEN的患者资料, Kaplan-Meier法进行生存分析, Log-rank法比较临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素。

结果: 43例患者的平均年龄为57.5岁, 男女性别比为2.91:1。原发部位中以胃部最多(19例, 44.19%)。2例为功能性的GEP-NEN(1例为胰高血糖素瘤, 1例出现类癌综合征)。有14例术后经过药物治疗。43例患者中死亡22例(52.38%), 失访1例(2.38%)。患者1、3年生存率分别为70.2%、36.9%, 中位总生存期为16.0 mo。单因素分析显示: 肿瘤大小(≥ 5 cm)、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)影响患者的预后($P < 0.05$)。患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性。多因素分析显示: 淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

结论: 胃是GEP-NEN最常见的原发部位, 临床表现无特异性。淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠胰神经内分泌肿瘤; 临床病理; 预后

核心提示: 胃是胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm)最常见的原发部位, 临床表现无特异性。单因素分析显示: 肿瘤大小、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma)影响患者的预后。淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

李伟, 隋红, 周建华. 胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 846-852
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.846>

0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasms, NEN)是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤, 可发生于全身各个部位, 以

胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)最常见^[1]。GEP-NEN一度被认为是罕见病, 但是随着诊断技术的发展和各种生物标志物的发现, 这类疾病越来越多在临床中被诊断出来。美国的一项流行病学研究显示, GEP-NEN的发病率由1973年的1.09/10万增长到2004年的5.25/10万^[2]。Lawrence等^[3]发现GEP-NEN的患病率在消化系统恶性肿瘤中占第二位, 其发病率仅次于大肠癌。在我国, 目前还没有有力的GEP-NEN流行病学资料, 对该病的流行趋势、临床特征及预后防治了解较少, 仅朱预等^[4]在2006年就我国胰腺神经内分泌肿瘤的诊治情况做了概述, 高尤亮等^[5]对福建地区的NEN的临床特点进行了统计。本研究回顾性分析哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04/2013-04收治的43例GEP-NEN患者的临床资料, 探讨分析GEP-NEN的临床病理特点及其与预后的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04至2013-04通过病理诊断为GEP-NEN的患者资料, 共43例, 其中男性32例, 女性11例, 年龄20-77岁, 平均年龄为57.5岁。回顾性分析患者的年龄、性别、临床表现、病理等相关资料。

1.2 方法

1.2.1 分类及分级标准: 采用2010年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)对GEP-NEN分类方法^[6]: 神经内分泌瘤(neuroendocrine tumor, NET)、神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)及增生性和肿瘤前病变(hyperplastic and pre-neoplastic lesions)。采用欧洲神经内分泌肿瘤协会(European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS)根据细胞增生比例(细胞核分裂指数和Ki-67指数)的分级方法^[7]: G1: 核分裂 < 2 个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数 $\leq 2\%$; G2: 核分裂2-20个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数为3%-20%; G3: 核分裂 > 20 个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数 $> 20\%$, 若两者结果不一致, 以高级别为准。

1.2.2 随访: 通过联系电话或地址信息获得随访信息, 随访截止时间为2013-10-31。起点为患者病理报告诊断时间, 终点为患者因肿瘤而死亡的时间, 生存时间为起点到终点或随访截止所经历的

■ 研究前沿

胃肠胰神经内分泌肿瘤近年来发病率提高主要是由于诊断技术的进步, 目前该研究领域的重点和热点问题是对此病有诊断价值的生物标志物和更多、更有效的治疗手段, 我们亟待解决的问题也是具有诊断价值的生物标志物和大规模中心III期临床试验数据探索更多有效的治疗手段。

■相关报道

Yao等报道亚洲人种直肠为最常见的原发部位, 疾病分期、肿瘤原发部位、组织学分级、性别、种族、年龄等对疾病预后有影响。Rinke等报道长效奥曲肽对分化好的胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastro-enteropancreatic neuroendocrine neoplasm)有较好疗效。

表 1 43例GEP-NEN患者的临床病理特点n(%)

临床病理参数	n(%)
性别	
男	32(74.42)
女	11(25.58)
年龄(岁)	
<60	25(58.14)
≥60	18(41.86)
吸烟史	
无	24(55.81)
有	19(44.19)
饮酒史	
无	24(55.81)
有	19(44.19)
肿瘤家族史	
无	36(83.72)
有	7(16.28)
肿瘤大小(cm)	
<5	19(44.19)
≥5	24(55.81)
手术方式	
活检	4(9.30)
手术切除	39(90.70)
T分期	
T1、T2	11(25.58)
T3、T4	29(67.44)
Tx	3(6.98)
淋巴结转移	
无	21(48.84)
有	22(51.16)
远处转移	
无	37(86.05)
有	6(13.95)
病理分类	
NET	13(30.23)
NEC	29(67.44)
MANEC	1(2.33)
病理分级	
G1、G2	13(30.23)
G3	30(69.77)

Tx: 无法评估。

时间。因各种原因而失去联系的视为失访。

统计学处理 采用SPSS17.0软件处理统计数据, Kaplan-Meier法进行生存分析, Log-rank法比较临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料分析

2.1.1 临床表现: 发病部位: 43例患者的发病部位依次为: 胃19例(44.19%)、胰腺14例(32.56%)、直肠3例(6.98%)、食道2例(4.65%)、壶腹部2例(4.65%)、结肠2例(4.65%)、回盲部1例(2.32%), 起源部位中胃为最常见。临床症状: 43例患者中2例(4.65%)患者为功能性的(1例为胰高血糖素瘤, 1例出现类癌综合征), 其余41例(95.35%)为非功能性的, 后者主要表现为非特异性的消化系统症状, 如吞咽困难、腹痛、腹胀、呕血、黄染、腹泻、黑便、消瘦等。1例临床表现为典型的类癌综合征, 主要症状为胸闷、面部潮红。

2.1.2 临床病理特点: 43例GEP-NEN患者中, 男性32例(74.42%)、女性11例(25.58%); <60岁的25例(58.14%), ≥60岁的18例(41.86%); 有吸烟史者19例(44.19%), 无吸烟史者24例(55.81%); 有饮酒史者19例(44.19%), 无饮酒史者24例(55.81%); 有肿瘤家族史7例(16.28%), 无肿瘤家族史36例(83.72%); 肿瘤大小(直径)在0.6-20 cm, 平均为5.5 cm; T分期中, T1、T2为11例, T3、T4为29例, 3例因病例资料不完整无法评估; 伴有淋巴结转移者22例(51.16%); 6例远处转移中全部伴有肝转移, 其中2例同时伴有肺转移; 绝大多数患者通过手术切除(90.70%); 病理类型中以NEC最多见(67.44%)(表1)。

2.1.3 治疗情况: 43例GEP-NEN患者中4例(9.30%)经内镜下活检取得病理, 其中NEC、NET各为2例, 其余39例经手术完全切除原发灶(90.70%), 其中11例(28.21%)为NEC, 27例(69.23%)为NET, 1例(2.56%)为MANEC。43例患者中有14例接受化疗, 其中3例同时接受生长抑素治疗, 化疗药物以细胞毒药物为主(氟尿嘧啶、铂类、依托泊苷等), 生长抑素治疗药物采用奥曲肽。术后化疗患者中有12例为G3患者。

2.2 预后因素分析

2.2.1 总生存情况: 43例患者的中位随访时间为14 mo(2-52 mo), 死亡22例(52.38%), 皆因肿瘤死亡, 1例患者失访。患者1、3年生存率分别为70.2%、36.9%, 中位总生存期为16.0 mo(图1)。

2.2.2 单因素分析: 患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性, 而肿瘤大小(≥5 cm)、T分期、有淋巴结转移、有远处转移和病理类型为

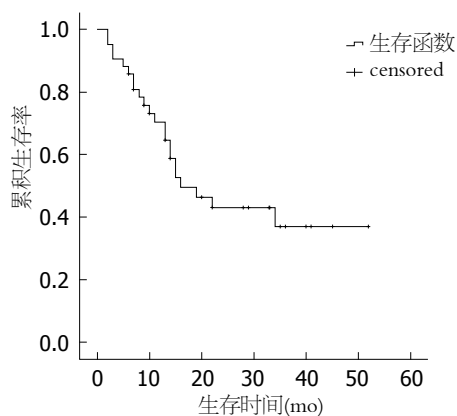


图 1 43例GEP-NEN患者的生存曲线.

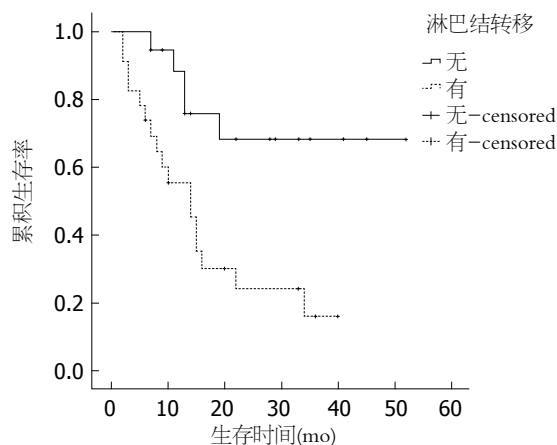


图 4 有无淋巴结转移的患者生存曲线.

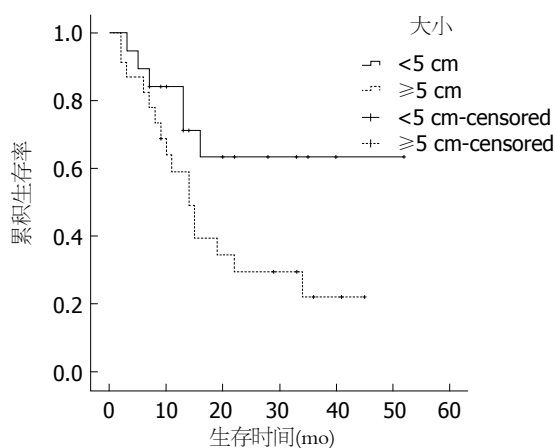


图 2 不同肿瘤大小的患者生存曲线.

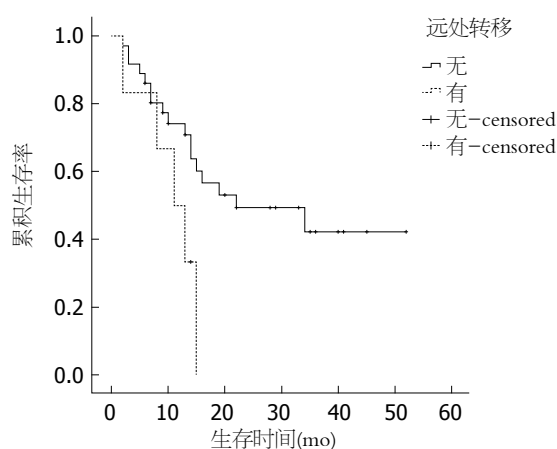


图 5 有无远处转移的患者生存曲线.

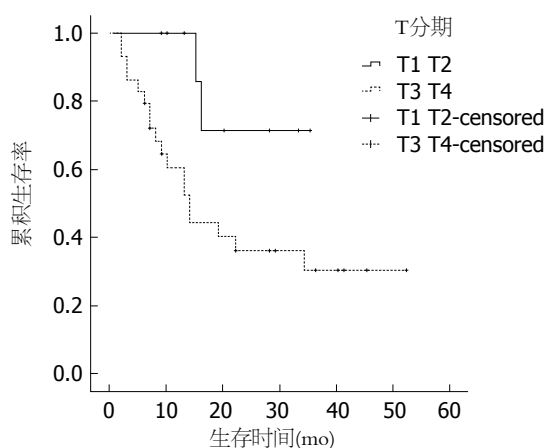


图 3 不同T分期的患者生存曲线.

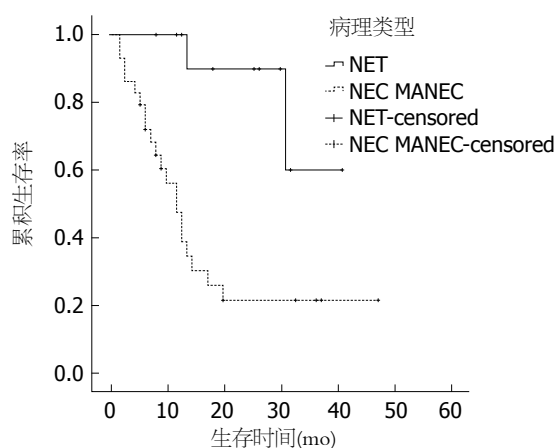


图 6 不同病理类型的患者生存曲线.

■创新盘点

对43例胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)的基本资料,包括吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史等纳入了分析影响患者预后的因素,病例资料较完整,文章结论是胃是GEP-NEN最常见的原发部位,临床表现无特异性.淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后独立危险因素.

NEC、MANEC影响患者的预后($P<0.05$)(图2-6).

2.2.3 多因素Cox回归分析: 将单因素分析中 $P<0.05$ 的变量纳入多因素Cox回归分析,结果显示,淋巴结转移、远处转移及病理类型是影响预后的独立危险因素($P<0.05$,表2).

3 讨论

近年来,世界各国的GEP-NEN发病率都在逐渐增加.美国1973-2004年发病率增加了5倍^[2];意大利1985-2005年发病率从0.7/10万增至1.6/10万(男),0.3/10万增至2.1/10万(女)^[8];澳大利亚的发

■应用要点

病例资料较完整,统计资料真实,尽管病例数较少,但有一定的临床指导意义。该病并没有特殊的临床表现,这提示在临床诊治过程中不可忽略该病。在治疗中,根据病理分级的不同而进行不同的治疗。

表 2 具有独立危险因素的多因素分析

相关因素	P值	危险度	95%置信区间
淋巴结转移	0.028	3.534	1.147-10.889
远处转移	0.029	4.445	1.165-16.958
病理类型	0.036	8.926	1.156-68.925

病率从1980-1989年的1.7/10万增至2000-2006年的3.3/10万^[9]。我国尚没有大型临床资料。高尤亮等^[5]统计福建地区2006-2011年GEP-NEN的发病率为0.20%,这可能与现代医学的进步、检测技术的提高以及对该病的认识逐渐深入有关。在本研究中,哈医大附属肿瘤医院在2007年以前的病例中,GEP-NEN的发病率极低,在2007年以后该病逐渐被发现和认识。

本组研究中的发病部位主要为:胃(44.19%)、胰腺(32.56%),其次为直肠(6.98%)、食道(4.65%)、壶腹部(4.65%)、结肠(4.65%)、回盲部(2.32%)。Oberg^[10]报道欧美地区GEP-NEN最常见的部位为直肠和小肠。出现不同的结果可能与种族及地域的不同以及诊断的病例数较少有关。GEP-NEN根据是否产生激素引起相应的临床症状可分为功能性和非功能性两类,本组研究中仅有2例为功能性的GEP-NEN,其余均没有特异性的临床症状,因此病理检查结合免疫组织化学的方法对该病的诊断尤为重要。典型的类癌综合征并不多见,其发生率不足神经内分泌肿瘤的10%^[11],本研究中仅有1例(2.33%)出现类癌综合征。

美国的SEER(Surveillance Epidemiology and End Results)数据显示,神经内分泌肿瘤的1年生存率为76%-94%,3年生存率为48%-87%^[2],国内文献报道1年和3年生存率分别为69%和34%^[12],本研究的患者1年、3年生存率分别为70.2%、36.9%。单因素分析显示:肿瘤大小(≥ 5 cm)、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为NEC、MANEC影响患者的预后。本研究中肿瘤大小 > 2 cm与 ≤ 2 cm预后的差异无统计学意义,而进一步分析得出肿瘤大小 ≥ 5 cm与 < 5 cm预后的差异有统计学意义,既往文献报道^[13]肿瘤大小 < 1 cm转移发生率为3%,预后较好,1-2 cm者转移发生率为10%-15%, > 2 cm者转移发生率为60%-80%,预后差,这有赖于更多的病例进一步研究。T分期、淋巴结转移、远处转移及病理类型均对预后有影响,这与既往文献报道一致^[14,15]。

患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性,其中年龄、性别、手术方式及术后药物治疗对预后的影响既往文献报道不一致^[8,16]。治疗方面手术仍是主要的治疗手段,即使局部或远处转移,特别是肝转移患者通过手术切除或局部治疗^[17]也可以通过减轻肿瘤负荷来提高患者的生存率和生活质量,但本组研究中完全手术切除和镜下活检患者的生存时间并没有统计学差异。6例远处转移中有2例行减瘤术,由于病例数较少,无法比较两组的生存差异。药物治疗包括化疗及生长抑素治疗,43例患者中有14例术后行化疗,化疗药物以氟尿嘧啶、铂类及依托泊苷为主,其中3例合并使用生长抑素(醋酸奥曲肽)治疗,结果并没有显示出对预后统计学差异。由于GEP-NEN发病率较低,因此缺少大型的III期临床试验对照不同化疗药物的疗效,总体来说GEP-NEN化疗效果欠佳。德国的PROMID研究证实长效奥曲肽对分化好的GEP-NEN有较好疗效^[18],本研究中仅有3例患者行奥曲肽治疗,因病例数太少无法比较生存差异。另外,靶向药物哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂-依维莫司^[19]和酪氨酸酶抑制剂-舒尼替尼^[20]对GEP-NEN也有较好疗效,但本研究中并没有患者使用该类药物治疗。目前我们国家参照2010年欧洲肿瘤内科学会指南^[10]制定了神经内分泌肿瘤的流程:病理分级为1级(G1),Ki-67 $< 2\%$,采用生物治疗或生物治疗联合靶向,包括生长抑素类似物(somatostatin analogues, SMS)、 α -干扰素、SMS+ α -干扰素、SMS+舒尼替尼、SMS+贝伐单抗、SMS+依维莫司;病理分级为2级(G2),Ki-67在3%-20%之间采用化疗为主的综合治疗,包括链脲霉素(streptozotocin, STZ)+氟尿嘧啶/阿霉素、STZ+依维莫司、替莫唑胺+卡培他滨、舒尼替尼+SMS、贝伐单抗+SMS、SMS控制症状;病理分级为3级(G3),Ki-67 $> 20\%$,该类肿瘤对化疗敏感,方案包括顺铂+足叶乙甙(VP-16)、替莫唑胺+卡培他滨+贝伐单抗、SMS控制症状。本研究中病理分级为G3的患者是否化疗与预后无相关性,分析原因可能为:(1)病例数偏少,随访时间不够长;(2)所采用的化疗方案多样以及疗程的影响。多因素分析显示:淋巴结转移、远处转移及病理类型是影响预后的独立危险因素,其死亡风险分别为3.534、4.445、8.926倍,与既往文献报道一

致^[2,21].

目前, 多种新的治疗方法和治疗药物, 如肽受体放射性同位素治疗(peptide receptor radionuclide therapy, PRRT)^[22]、帕瑞肽(SOM230)^[23]、索拉菲尼^[24]以及帕唑帕尼^[25]等药物都在临床试验当中. 尽管在命名、分类、药物治疗等方面有显著进步, 但因其生物学行为异常复杂和多变及高度的异质性仍给我们带来很多亟待解决的问题, 如有预测价值的生物标志物, 大规模中心III期临床试验数据探索更多有效的治疗手段等. 我们有理由相信, 随着对GEP-NEN不断的深入和了解, 对其治疗必将产生里程碑式的飞跃.

4 参考文献

- Oberg K, Castellano D. Current knowledge on diagnosis and staging of neuroendocrine tumors. *Cancer Metastasis Rev* 2011; 30 Suppl 1: 3-7 [PMID: 21311954 DOI: 10.1007/s10555-011-9292-1]
- Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3063-3072 [PMID: 18565894 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.4377]
- Lawrence B, Gustafsson BI, Chan A, Svejda B, Kidd M, Modlin IM. The epidemiology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40: 1-18, vii [PMID: 21349409 DOI: 10.1016/j.ecl.2010.12.005]
- 朱预. 中国胰腺内分泌外科50年胰岛细胞肿瘤的50年. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 433-435
- 高尤亮, 王晨, 曾德华, 万丹, 王婷. 神经内分泌肿瘤714例临床病理分析. *海南医学* 2013; 24: 285-287
- Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press, 2010: 26-27
- Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006; 449: 395-401 [PMID: 16967267 DOI: 10.1007/s00428-006-0250-1]
- Caldarella A, Crocetti E, Paci E. Distribution, incidence, and prognosis in neuroendocrine tumors: a population based study from a cancer registry. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 759-763 [PMID: 21476126 DOI: 10.1007/s12253-011-9382-y]
- Luke C, Price T, Townsend A, Karapetis C, Kotasek D, Singhal N, Tracey E, Roder D. Epidemiology of neuroendocrine cancers in an Australian population. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 931-938 [PMID: 20419344 DOI: 10.1007/s10552-010-9519-4]
- Öberg KE. Gastrointestinal neuroendocrine tumors. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 7: vii72-vii80 [PMID: 20943646 DOI: 10.1093/annonc/mdq290]
- 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见. *中华病理学杂志* 2011; 40: 257-262
- 周俊, 丁克锋. 胃肠胰神经内分泌肿瘤患者预后的多因素分析. 浙江大学, 2012
- Plöckinger U, Rindi G, Arnold R, Eriksson B, Krenning EP, de Herder WW, Goede A, Caplin M, Oberg K, Reubi JC, Nilsson O, Delle Fave G, Ruzsniwski P, Ahlman H, Wiedenmann B. Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroendocrine gastrointestinal tumours. A consensus statement on behalf of the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS). *Neuroendocrinology* 2004; 80: 394-424 [PMID: 15838182 DOI: 10.1159/000085237]
- 叶郁红, 张声, 王行富, 陈余朋, 王鹏程. 90例胃肠道神经内分泌肿瘤病理学重新诊断评估. *华中科技大学学报* 2012; 41: 440-444
- Medrano-Guzmán R, Alvarado-Cabrero I, González-Rodríguez D, López-García SC, Páez-Agraz F. [Surgical prognostic factors of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP NET)]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2012; 50: 243-248 [PMID: 23182252]
- 王谊, 喻璟瑞, 向明飞, 李吉满. 消化系统神经内分泌肿瘤的临床分析. *中国肿瘤临床与康复* 2012; 19: 405-407
- Anthony LB, Strosberg JR, Klimstra DS, Maples WJ, O'Dorisio TM, Warner RR, Wiseman GA, Benson AB, Pommier RF. The NANETS consensus guidelines for the diagnosis and management of gastrointestinal neuroendocrine tumors (nets): well-differentiated nets of the distal colon and rectum. *Pancreas* 2010; 39: 767-774 [PMID: 20664474 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181ec1261]
- Rinke A, Müller HH, Schade-Brittinger C, Klose KJ, Barth P, Wied M, Mayer C, Aminossadati B, Pape UF, Bläker M, Harder J, Arnold C, Gress T, Arnold R. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4656-4663 [PMID: 19704057 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.8510]
- Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoosen S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-523 [PMID: 21306238 DOI: 10.1056/NEJMoa1009290]
- Raymond E, Dahan L, Raoul JL, Bang YJ, Borbath I, Lombard-Bohas C, Valle J, Metrakos P, Smith D, Vinik A, Chen JS, Hörsch D, Hammel P, Wiedenmann B, Van Cutsem E, Patyna S, Lu DR, Blankmeester C, Chao R, Ruzsniwski P. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-513 [PMID: 21306237 DOI: 10.1056/NEJMoa1003825]
- 王霄, 宋争放, 姚文秀, 潘长穿, 向明飞, 王欢. 胃肠胰神经内分泌瘤的临床病理特点及预后的多因素分析. *中华医学杂志* 2013; 93: 1411-1414
- Bergsma H, van Vliet EI, Teunissen JJ, Kam BL, de Herder WW, Peeters RP, Krenning EP, Kwekkeboom DJ. Peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) for GEP-NETs. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 867-881 [PMID: 23582925 DOI: 10.1016/j.bpg.2013.01.004]
- Kvols LK, Oberg KE, O'Dorisio TM, Mohideen P, de

■同行评价

本文分析了临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素. 虽然国内也有类似的报道, 但本文资料收集较完整, 病例数较多, 有一定的临床指导意义.

- Herder WW, Arnold R, Hu K, Zhang Y, Hughes G, Anthony L, Wiedenmann B. Pasireotide (SOM230) shows efficacy and tolerability in the treatment of patients with advanced neuroendocrine tumors refractory or resistant to octreotide LAR: results from a phase II study. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19: 657-666 [PMID: 22807497 DOI: 10.1530/ERC-11-0367]
- 24 Chan JA, Mayer RJ, Jackson N, Malinowski P, Regan E, Kulke MH. Phase I study of sorafenib in combination with everolimus (RAD001) in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71: 1241-1246 [PMID: 23475104 DOI: 10.1007/s00280-013-2118-9]
- 25 Ahn HK, Choi JY, Kim KM, Kim H, Choi SH, Park SH, Park JO, Lim HY, Kang WK, Lee J, Park YS. Phase II study of pazopanib monotherapy in metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Br J Cancer* 2013; 109: 1414-1419 [PMID: 23989950 DOI: 10.1038/bjc.2013.470]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例

许进军, 甘宁

许进军, 甘宁, 湖北省肿瘤医院中西医结合科 湖北省武汉市 430034

许进军, 主治医师, 主要从事晚期肿瘤的临床与基础研究.

作者贡献分布: 此课题由许进军设计; 研究过程由许进军与甘宁共同实施完成; 数据分析由甘宁完成; 本论文写作由许进军与甘宁共同完成.

通讯作者: 许进军, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市卓刀泉南路116号, 湖北省肿瘤医院中西医结合科.

penlink1975@sina.com

电话: 027-87670032

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2013-12-26

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma

Jin-Jun Xu, Ning Gan

Jin-Jun Xu, Ning Gan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Jin-Jun Xu, Attending Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Zhuodaoquan South Road, Wuhan 430034, Hubei Province, China. penlink1975@sina.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To study the efficacy and safety of three different fluoropyrimidine regimens in combination with oxaliplatin for patients with advanced gastric carcinoma (AGC).

METHODS: One hundred and eighty patients with AGC were included in the study and divided into three groups (60 patients in each group) from January 2008 to January 2013. Group A was treated with FOLFOX4 regimen, group B with XELOX regimen, and group C with L-OHP + S-1. Liver and kidney function test and chest and abdominal CT or MRI were performed before and after treatment. The survival data between three groups were compared statistically.

RESULTS: All patients were assessable for tox-

icity and response to treatment. In groups A, B and C, the recovery rate (RR) was 38.3%, 41.7% and 45%, respectively; disease control rate (DCR) was 55%, 68.3% and 66.7%; median time to progression (MTTP) was 5.5, 6.5 and 6.7 months; and mean overall survival (MOS) was 11.0, 13.1 and 14.5 months. Side effects were similar among the three groups, mainly including bone marrow depression, nausea, vomiting, nervous system toxicity and hand-foot syndrome, although the incidence of stomatitis was higher in group C than in groups A and B.

CONCLUSION: Oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens has appreciable curative effects and is well tolerated in AGC patients, with the efficacy of S-1 and capecitabine being better.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Advanced gastric carcinoma; Fluorouracil; Capecitabine; Combined chemotherapy

Xu JJ, Gan N. Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 853-857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.853>

摘要

目的: 评价奥沙利铂联合3种氟尿嘧啶制剂的化疗方案治疗进展期胃癌的有效性和安全性.

方法: 回顾性分析2008-01/2013-01我院治疗进展期胃癌180例, 分3组, 每组60例. A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥. 比较3种不同给药方案前后血常规、肝肾功能、胸腹部CT扫描及胃镜等检查的变化, 分析近期疗效及化疗的不良反应; 采用Kaplan-Meier法、Log-rank检查比较3组患者的生存期及疾病进展时间.

结果: 180例均可评价疗效, A、B、C组的恢复

■背景资料

据世界卫生组织癌控项目的统计数据, 全球每年死于癌症的患者高达700万例, 其中死于胃癌的患者占了70万例. 疑似胃癌患者中的四分之三确诊时已为晚期, 已丧失最佳治疗时机, 同时针对早期胃癌患者术后2年内有一半以上会转移, 且晚期胃癌的治疗效果欠佳, 预后非常差, 5年生存率不到10%.

■同行评议者

王邦茂, 教授, 天津医科大学总医院消化内科

■ 研发前沿

胃癌是一种严重威胁人类生命安全和健康的恶性肿瘤,在亚洲、南美洲及东欧等地区的发病率显得特别高,在我国也居恶性肿瘤发病率及死亡率的前列。我国每年新确诊病例约占全球总数的1/3。针对这样严峻的形式,那么选取合理的化疗方案对胃癌进行积极治疗就显得很重要。

率(recovery rate, RR)分别为38.3%、41.7%、45%;疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为55%、68.3%、66.7%;疾病中位无进展生存期(median time to progression, MTTP)分别为5.5、6.5、6.7 mo;平均总生存时间(median overall survival, MOS)分别为11.0、13.1、14.5 mo。所有患者经药物治疗后出现骨髓抑制、胃肠道反应等不良反应的统计无明显的差异,但是C组口腔黏膜炎发病率高于A和B组。

结论: 奥沙利铂联合3种不同氟尿嘧啶制剂对进展期胃癌进行治疗,均有一定疗效,并且不良反应可以耐受,其中替吉奥和卡培他滨效果较好。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 氟尿嘧啶; 卡培他滨; 联合化疗

核心提示: 本研究中采用3种不同的氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂来治疗进展期胃癌: 其中含卡培他滨与替吉奥(gimeraciland oteracil porassium, S-1)的两组治疗恢复率(recovery rate)分别为41.7%、45%,与5-氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)组比较,效果相当,但有S-1与卡培他滨两组的疾病控制率(disease control rate, DCR)明显增高,分别为66.7%、68.3%,与5-FU组相比差异明显,足以证明卡培他滨和S-1较5-FU制剂效果好且方便。另外TPP以卡培他滨和S-1组疗效较好,比后面口服的氟尿嘧啶制剂效果好,这个结果已经在以往的研究中得到证实。

许进军, 甘宁. L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 853-857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.853>

0 引言

胃癌是一种严重威胁人类生命安全和健康的恶性肿瘤,在亚洲、南美洲及东欧等地区的发病率显得特别高^[1],在我国也居恶性肿瘤发病率及死亡率的前列。我国每年新确诊病例约占全球总数的1/3。针对这样严峻的形式,那么选取合理的化疗方案对胃癌进行积极治疗就显得很重要。5-氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)作为一种常见的化疗药物,临床常用其来治疗胃癌,但由于5-FU的首过代谢显著及亲脂性较低且其治疗剂量与中毒剂量接近,所以容易影响治疗效果且易出现不良反应^[2]。卡培他滨(xeloda, XLD)和替

吉奥(gimeraciland oteracil porassium, S-1)是两种口服氟尿嘧啶类药物,临床前期试验结果显示其有着较好的生物利用度和抗肿瘤活性,近年有文献报道可以用他们来治疗胃癌;另外奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)作为是第3代铂类化疗药物,其与5-FU具有协同作用,适用于对5-FU耐药的患者^[3]。本研究对L-OHP联合3种氟尿嘧啶药物治疗进展期胃癌的安全性及疗效进行观察。

1 材料和方法

1.1 材料 临床资料选取2008-01/2013-01我院收治的未手术进展期胃癌患者180例,标准:(1)观察指标及病理组织学诊断肯定;(2)预计生存时间大于3 mo且ECOG评分≤2分;(3)肝肾功能正常骨髓储备良好,经诊断无其他原发肿瘤。选取的180例患者中:男117例,女63例,年龄27-79岁,平均64.23岁±0.6岁,中位年龄62岁±0.2岁。180例患者按随机数字表法分为3组,每组60例,按病例分型(表1)。在治疗前做常规临床检查,且入组前与患者及家属均签化疗知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 化疗方案A组: L-OHP 130 mg/m²加入5%葡萄糖注射液500 mL,持续静脉滴入2 h, d1; CF 200 mg/m²加入5%葡萄糖注射液500 mL,静脉滴入2 h, d1-2; 5-FU 600 mg/m²持续静脉灌注22 h, d1-2; 5-FU 400 mg/m²静脉推注, d1-2。每2周重复一次。4个周期后评价疗效及不良反应。化疗方案B组: L-OHP 130 mg/m²加入5%葡萄糖注射液500 mL,持续静脉滴入2 h, d1; XLD 1000 mg/m²早晚两次口服, d1-14, 21 d为一个周期。2个周期评价疗效。化疗方案C组: L-OHP同方案B; S-1 40-50 mg/m², 早晚两次口服, d1-14, 餐后服用, 21 d为一个周期, 2个周期评价疗效。支持治疗: 所有患者均行中心静脉置管术; 均给与恩丹西酮等被预防化疗引起的呕吐; 给予粒细胞集落刺激因子, 且根据不良反应适量减量。注: A组患者最多接受12个治疗周期; B和C组患者最多接受8个周期。

1.2.2 疗效评定标准: 按照全国实体瘤药物治疗疗效评定标准进行评估^[4]。主要分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)、进展(progressive disease, PD)。客观指标主要依靠胃镜, 另外CT和MRI作为辅助检查; 对于达到CR或PR的病例, 4 wk后影像学检查以确认。且按照2000国立癌症研究所的常规毒性判定标准不良

表 1 不同治疗组进展期胃癌患者基线资料比较 [$n = 60, n(\%)$]

临床特征	A组	B组	C组	P值
性别				
男	42(70.0)	38(63.3)	37(61.7)	0.61
女	18(30.0)	22(36.7)	23(38.3)	
年龄(岁)				
<65	15(25.0)	21(35.0)	13(21.7)	0.236
≥65	45(75.0)	39(65.0)	47(78.3)	
病例分型				
低分化腺癌	33(55.0)	37(61.7)	32(53.3)	0.815
中分化腺癌	7(11.7)	6(10.0)	8(13.3)	
粘液腺癌	6(10.0)	9(15.0)	8(13.3)	
印戒细胞	14(23.3)	8(13.3)	12(20.0)	
ECOG评分				
0-1	48(80.0)	38(63.3)	40(66.7)	0.107
2	12(20.0)	22(36.7)	20(33.3)	
分期				
III期	44(73.3)	37(61.7)	42(70.0)	0.407
IV期	16(26.7)	23(38.3)	18(30.0)	
转移部位				
淋巴结	32(53.3)	30(50.0)	29(48.3)	0.937
肝	10(16.7)	10(16.7)	11(18.3)	
肺	7(11.7)	10(16.7)	6(10.0)	
腹膜	8(13.3)	6(10.0)	11(18.3)	
其他脏器	3(5.0)	4(6.7)	3(5.0)	

A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥。

反应分度标准评定不良反应。

1.2.3 随访: 所有患者采用门诊复查和电话随访, 自化疗周期结束后每3月随访1次, 随访终点为肿瘤转移或死亡, 共随访1-30 mo。

统计学处理 采用统计软件SPSS17.0对资料数据应用 χ^2 检验或秩和检验进行分析; 另外采用Kaplan-Meier方法进行生存分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 近期疗效 A、B和C组患者的恢复率(recovery rate, RR)(表2)分别为36.7%(22/60)、41.7%(25/60)、45.0%(27/60), 差异无统计学意义($\chi^2 = 3.667, P = 0.732$)。疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为55.0%(33/60)、68.3%(41/60)、66.7%(40/60), 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.727, P = 0.256$)。随访结束后统计得出结论, 148例患者死亡, 22例生存, 失访10例。

2.2 远期疗效 所有患者共900个周期化疗, 平

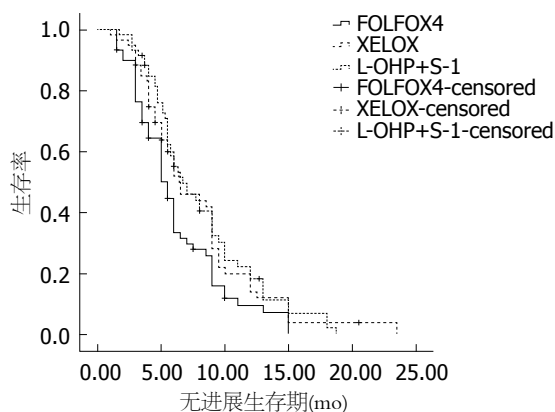


图 1 不同化疗方案组患者疾病进展时间。

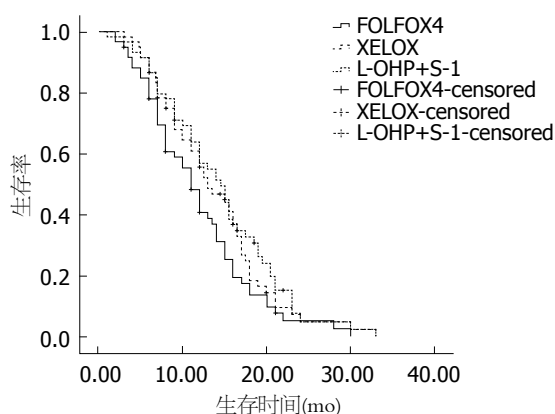


图 2 不同化疗方案组患者生存时间。

均每个患者5个化疗周期。A组的疾病中位无进展生存期(median time to progression, MTTP)分别为5.5 mo(95%CI: 4.5-6.5 mo), B组的为6.5 mo(95%CI: 4.4-8.6 mo), C组的为6.7 mo(95%CI: 4.7-8.7 mo), 且差异有统计学意义($\chi^2 = 6.012, P = 0.049$)(图1); B、C两组差异无统计学($\chi^2 = 0.072, P = 0.789$)(图2)。A、B、C三组的中位生存时间分别为11.0 mo(95%CI: 9.2-12.7 mo)、13.1 mo(95%CI: 9.4-16.6)、14.5 mo(95%CI: 12.1-14.0 mo), 差异无显著统计学意义; 组间比较显示, A和C两组的差异显著($P = 0.034$); 而A、B组之间, B、C组之间差异无统计学意义。

2.3 生存率 A、B、C三组3 mo的生存率(表3)分别为93.3%、98.3%、96.7%, 总生存率为96.1%; 1年的生存率分别为35%、51.7%、51.7%, 总生存率为46.1%; 2年的生存率分别为3.3%、3.3%、5.0%, 总生存率为4.4%。三组的不同时间生存率差异无统计学意义。

2.4 不良反应 多数患者的不良反应大部分为轻度且出现在3个周期化疗后, 其中药物对血

■ 相关报道

有文献报道, 肿瘤组织中的胸腺嘧啶磷酸化酶的活性较其临近的正常组织高3-10倍, 这种靶向性的抗肿瘤作用极大减少了氟尿嘧啶对正常人体细胞的损害。

■同行评价

奥沙利铂联合3种不同氟尿嘧啶制剂对进展期胃癌进行治疗,均有一定疗效,且不良反应可以耐受,其中替吉奥和卡培他滨效果较好,值得临床医师参考。

表 2 不同化疗方案组疗效比较 ($n = 60$)

分组	CR	PR	SD	PD	RR(%)	DCR(%)
A组	2	21	10	27	38.3	55.0
B组	2	23	16	19	41.7	68.3
C组	3	24	13	20	45.0	66.7

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展; RR: 恢复率; DCR: 疾病控制率。A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥。

液系统的影响主要表现为白细胞及血红蛋白降低: 白细胞降低A、B、C 3组发生率分别为88.3%、80%、80%; 血红蛋白降低发生率分别为91.7%、85%、85%; 而血小板降低发生率较低, 分别为65%、43.3%、56.7%; 差异均无统计学意义 $P > 0.05$ 。胃肠道反应以恶心、呕吐常见, 其中恶心发生率分别为66.7%、51.7%、45%; 呕吐发生率分别为51.7%、53.3%、48.3%; 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。另外, 常见的末梢神经毒性及手足综合征, 3组发生率无显著统计学差异; C组口腔溃疡发病率明显高于A和B组。

3 讨论

胃癌主要是指原发于胃组织的恶性肿瘤, 其在全世界范围内是发病率最高的癌症之一, 是我国的第2大常见肿瘤, 每2-3 min就有1例中国人死于胃癌。据世界卫生组织癌控项目的统计数据, 全球每年死于癌症的患者高达700万例, 其中死于胃癌的患者占了70万例。疑似胃癌患者中的四分之三确诊时已为晚期, 已丧失最佳治疗时机, 同时针对早期胃癌患者术后2年内有一半以上会转移^[5], 且晚期胃癌的治疗效果欠佳, 预后非常差, 5年生存率不到10%^[6]。所以胃癌尤其是晚期胃癌的治疗很不理想, 但同时又有很多研究表明, 晚期胃癌是对化疗比较敏感, 因此我们思考可以通过规范化疗及探讨新型化疗方案缓解肿瘤进一步恶化及改善症状, 提高生存质量^[7]。奥沙利铂是第三代铂类药物, 癌细胞的作用位点和顺铂一致, 以DNA为作用靶点, 形成链内和链间交联, 从而抑制DNA的合成及复制。氟尿嘧啶是核糖核酸尿嘧啶的类似物, 作为抗代谢物在体内阻断脱氧核糖核苷酸转化为胸苷酸, 从而干扰DNA的合成^[8,9]。临床研究均证明奥沙利铂及氟尿嘧啶从不同的途径协同杀灭肿瘤细胞且药效互补。卡培他滨和S-1都属于5-FU的

表 3 不同时间生存率比较 $n(\%)$

治疗方案	3 mo生存率	1年生存率	2年生存率
FOLFOX4	56(93.3)	21(35.0)	2(3.3)
XELOX	59(98.3)	31(51.7)	2(3.3)
L-OHP+S-1	58(96.7)	31(51.7)	3(5.0)
合计	173(96.1)	83(46.1)	8(4.4)

前体药物^[10-12]。其中卡培他滨主要经过肝脏和肿瘤组织内的羧酸酯酶等酶类作用转变为5-FU。有文献报道, 肿瘤组织中的胸腺嘧啶磷酸化酶的活性较其临近的正常组织高3-10倍, 这种靶向性的抗肿瘤作用极大减少了氟尿嘧啶对正常人体细胞的损害^[13-15]。另外替加氟、吉美嘧啶(gimeracil, CDHP)、奥替拉西(potassiumoxonate, OXO), 按1:0.4:1组成S-1, 其中CDHP能够有效抑制二氢嘧啶脱氢酶, 阻止5-FU的降解, 延长半衰期, 而OXO可以特异性抑制肠道黏膜细胞内的乳清酸核糖转移酶, 进而通过使5-FU磷酸化产物降低而减少胃肠道不良反应。

本研究中采用3种不同的氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂来治疗进展期胃癌: 其中含卡培他滨与S-1的两组治疗RR分别为41.7%、45%, 与5-FU组比较, 效果相当, 但有S-1与卡培他滨两组的DRC明显增高, 分别为66.7%、68.3%, 与5-FU组相比差异明显, 足以证明卡培他滨和S-1较5-FU制剂效果好且方便。另外TPP以卡培他滨和S-1组疗效较好, 比后面口服的氟尿嘧啶制剂效果好, 这个结果已经在以往的研究中得到证实。但3组的平均总生存时间(median overall survival, MOS)分别为11、13.1及14.5 mo, 统计结果无差异, 总生存比较也无明显差异, 进一步采用组间比较, 统计结果提示S-1组相对其他组而言存在一定的生存优势。然而因为本研究也存在一定的缺陷一样品量小, 那么在扩大样本量后是否还有明显的生存优势, 这有待进一步的研究证实。此外氟尿嘧啶类药物和L-OHP常见的不良反应有静脉炎、白细胞降低、血红蛋白降低、血小板降低、口腔黏膜炎、末梢神经毒性、手足综合征等。参与本研究的患者均行中心静脉置管后避免发生静脉炎; 3组通过比较, 结果提示: 骨髓造血系统反应、胃肠道反应、可逆性周围神经损害以及手足综合征发生率, 差异无统计学意义, 并且可以通过调整化疗剂量次数和针对症状的治疗后让患者达到缓解控制; 但S-1组口腔炎发生率较高, 通过给予黏膜保

护剂和康复新后, 口腔炎有所好转, 患者的相应症状同样可以得到缓解。

总之, 我们发现应用3种不同氟尿嘧啶制剂联合L-OHP对进展期胃癌进行治疗, 均有一定的效果。但卡培他滨和S-1组较5-FU疾病控制率高, 有更好的耐受性, 且给药也较方便, 适宜临床推广。

4 参考文献

- 钟锡明, 黄卫兵, 肖明. 紫杉醇联合化疗方案治疗晚期胃癌的临床疗效. 现代肿瘤医学 2008; 2: 246-248
- 李雅, 王晓梅, 韩士田. 5-氟尿嘧啶衍生物抗癌活性研究. 河北工程大学学报 2008; 25: 92-95
- 樊翠珍, 戴红, 黄冬方, 于丹, 葛洋, 周围围, 范姗姗, 严冬, 刘月明. 不同氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2013; 20: 539-543
- 周际昌. 实用肿瘤内科学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2003
- 谭亚琴. 新药在进展期胃癌化疗应用现状及前景. 疾病监测与控制 2012; 6: 593-596, 592
- 温爱萍. 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶及亚叶酸钙治疗晚期胃癌的疗效研究. 中国医药导报 2013; 10: 87-89
- Doerr ME, Jones JL. The roles of integrins and extracellular matrix proteins in the insulin-like growth factor I-stimulated chemotaxis of human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1996; 271: 2443-2447 [PMID: 8576205 DOI: 10.1074/jbc.271.5.2443]
- Lee JL, Kang YK, Kang HJ, Lee KH, Zang DY, Ryoo BY, Kim JG, Park SR, Kang WK, Shin DB, Ryu MH, Chang HM, Kim TW, Baek JH, Min YJ. A randomised multicentre phase II trial of capecitabine vs S-1 as first-line treatment in elderly patients with metastatic or recurrent unresectable gastric cancer. *Br J Cancer* 2008; 99: 584-590 [PMID: 18665164 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604536]
- Chollet P, Schöffski P, Weigang-Köhler K, Schellens JH, Cure H, Pavlidis N, Grünwald V, De Boer R, Wanders J, Fumoleau P. Phase II trial with S-1 in chemotherapy-naïve patients with gastric cancer. A trial performed by the EORTC Early Clinical Studies Group (ECSG). *Eur J Cancer* 2003; 39: 1264-1270 [PMID: 12763215 DOI: 10.1016/S0959-8049(03)00237-5]
- 樊翠珍, 初玉平, 戴红. 希罗达和替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床疗效观察. 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 725-727
- 谭亚琴. 新药在进展期胃癌化疗应用现状及前景. 疾病监测与控制 2012; 6: 593-596, 592
- 邹孟军, 郁少波, 劳利迪. 奥沙利铂与卡培他滨联合化疗的毒副反应及护理. 现代实用医学 2010; 22: 944-945
- 孔曼, 裴文仲, 杨建东. 替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床疗效观察. 首都医科大学学报 2013; 34: 446-449
- 赵兴峰. 卡培他滨联合奥沙利铂新辅助化疗对进展期胃癌的疗效观察. 中国医药导刊 2013; (9): 1503-1504
- 刘林, 杨新辉, 王海江, 尹东, 王琦三, 雷程, 金博. 多西他赛联合奥沙利铂及替吉奥治疗进展期胃癌的疗效及对围手术期影响. 中国肿瘤临床 2013; 33: 788-791

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



¹³C-噉嚟西啞呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价

江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫

■背景资料

临床医生需要了解患者肝脏储备功能, 多数人都都在使用Child-Pugh评分法评估肝脏储备功能。此方法长期使用后发现此种分级虽然准确度尚可, 但敏感性和特异性欠佳。目前有较多新方法, 其中呼气试验因其具有无创安全、快速动态、敏感性特异性及准确性高而倍受临床工作者推宠。

江振宇, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫, 包头医学院第二附属医院消化内科 内蒙古自治区包头市 014030

苏秉忠, 内蒙古医科大学附属医院消化内科 内蒙古自治区呼和浩特市 010040

苑丹丹, 包头医学院第一附属医院 内蒙古自治区包头市 014010

江振宇, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的介入诊疗工作。

作者贡献分布: 本课题由江振宇与苏秉忠共同设计, 对此课题所做贡献均等; 课题由江振宇负责实施; 统计学分析由苑丹丹负责; 病例资料收集由江振宇、常志恒、张静洁、庞慧芳及汤泊夫负责; 论文撰写由江振宇完成。

通讯作者: 苏秉忠, 主任医师, 010040, 内蒙古自治区呼和浩特市回民区通道北街1号, 内蒙古医科大学附属医院消化内科。marx1981@sohu.com

收稿日期: 2013-12-15 修回日期: 2014-1-10

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-02-28

¹³C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis

Zhen-Yu Jiang, Bing-Zhong Su, Dan-Dan Yuan, Zhi-Heng Chang, Jing-Jie Zhang, Hui-Fang Pang, Bo-Fu Tang

Zhen-Yu Jiang, Zhi-Heng Chang, Jing-Jie Zhang, Hui-Fang Pang, Bo-Fu Tang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014030, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Bing-Zhong Su, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot 014040, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Dan-Dan Yuan, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Bing-Zhong Su, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, 1 Tongdao North Street, Huimin District, Huhhot 014040, Inner Mongolia Autonomous Region, China. marx1981@sohu.com

Received: 2013-12-15 Revised: 2014-1-10

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To evaluate the value of ¹³C-methacetin breath test in diagnosis and treatment of liver cirrhosis and the association between Child-Pugh score and ¹³C-MBT, and to analyze their advantages and disadvantages.

METHODS: Eighty-eight inpatients and 10 healthy volunteers were enrolled. All of them received ¹³C-MBT and Child-Pugh scoring. According to ¹³C-MBT levels, 88 patients with liver cirrhosis were divided into three subgroups: levels I ($n = 21$), II ($n = 36$), and III ($n = 31$). According to Child-Pugh score, the patients were also divided into three subgroups: grade A in 16 cases, grade B in 41 cases and grade C in 31 cases. Liver function changes between before and after treatment were assessed. Sensitivity, specificity and time required to achieve efficacy between two groups were compared.

RESULTS: There was a good consistency ($Kappa = 0.84, P < 0.05$) between ¹³C-MBT levels (levels I, II and III) and Child-Pugh score (grades A, B and C). Sensitivity and specificity of ¹³C-MBT were similar to those of Child-Pugh score (93.8%, 75.6%, 87.1% vs 91.7%, 89.4%, 93.0%). Concerning the time required to achieve efficacy, according to Child-Pugh score, there was no statistic significance among three subgroups of patients ($P > 0.05$), while according to ¹³C-MBT levels, a statistic significance was observed among the three subgroups of patients ($P < 0.05$). The higher the ¹³C-MBT level, the shorter the time required to achieve efficacy.

CONCLUSION: ¹³C-MBT is a simple, safe and reliable technique, representing a complementary method for Child-Pugh scoring.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver functional reserve; Liver cirrhosis; Child-Pugh score; ¹³C-MBT

Jiang ZY, Su BZ, Yuan DD, Chang ZH, Zhang JJ, Pang HF, Tang BF. ¹³C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 858-861 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.858>

■同行评议者

杨家和, 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综合治疗三科

摘要

目的: 评估 ^{13}C -噁噻西啶呼气试验在肝硬化诊疗过程中的价值, 与Child-Pugh分级比较, 了解两种分级方法的关系及优缺点。

方法: 肝硬化88例, 健康志愿者10例。检测所有人的 ^{13}C -MBT、Child-Pugh评分。根据88例肝硬化肝储备功能分级分组(一级21例、二级36例、三级31例), 同时使用Child-Pugh评分法评分及分组(A级16例、B级41例、C级31例)。观察两种分组方法患者治疗后的肝脏功能变化情况, 对比两种分组方法的敏感性、特异性及治疗显效时间, 并进行统计学分析。

结果: ^{13}C -MBT分级与Child-Pugh分级具有良好的一致性(Kappa = 0.84, $P < 0.05$), 其敏感性(93.8%, 75.6%, 87.1%)、特异性(91.7%, 89.4%, 93.0%)均较好。在对于两种分级方法的治疗显效时间上, Child-Pugh A级(8.2 d \pm 4.9 d), B级(12.1 d \pm 5.6 d), C级(15.6 d \pm 4.5 d), 三组数据进行两两比较后, 均无显著性差异。而 ^{13}C -MBT一级(5.4 d \pm 3.2 d), 二级(11.2 d \pm 2.9 d), 三级(17.6 d \pm 1.9 d), 三组数据进行两两比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 即 ^{13}C -MBT值越高, 治疗显效时间越短, 值越低则治疗显效时间越长。

结论: ^{13}C -MBT安全、敏感、量化、准确、应用广泛, 是Child-Pugh分级的一个补充, 某种程度上可替代Child-Pugh分级。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝脏储备功能; 肝硬化; Child-Pugh分级; ^{13}C -MBT

核心提示: 本次研究从不同角度再次论证了 ^{13}C -噁噻西啶呼气试验的优点与价值。Child-Pugh分级与 ^{13}C -MBT分组两种方法的结果比较, 治疗显效时间上有一定的差异性, 在 ^{13}C -MBT分组中, ^{13}C -MBT值越高, 治疗显效时间越短, 而值越低则治疗显效时间越长, 差异性明显。在Child-Pugh分级中, 各组治疗显效时间无显著性差异。

江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫.
 ^{13}C -噁噻西啶呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 858-861 URL:
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.858>

0 引言

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一。

临床医生需要了解患者肝脏储备功能, 指导治疗。肝脏储备功能是指肝脏耐受手术、创伤以及打击的额外潜能。多数人都在使用Child-Pugh评分法评估肝脏储备功能。此方法基本可以反映肝病严重程度并在一定程度上为预后做出预测。但长期使用后发现此种分级虽然准确度尚可, 但敏感性和特异性欠佳^[1-3]。目前有较多新方法, 其中呼气试验因其具有无创安全、快速动态、敏感性特异性及准确性高而倍受临床工作者的推崇。本研究将探讨噁噻西啶呼气实验。

1 材料和方法

1.1 材料 肝硬化住院患者88例(男性54例, 女性34例, 平均年龄54岁)。健康对照组10例(男性6例, 女性4例, 平均年龄49岁)。IRIS呼吸监测机, ^{13}C -噁噻西啶。

1.2 方法

1.2.1 检测肝硬化患者相关指标: 计算Child-Pugh评分, 根据A、B、C 3级分为3组, 根据 ^{13}C -MBT值同样分为一、二、三级。 ^{13}C -MBT值一级(0.25-0.5)、二级(0.15-0.25)、三级(<0.15)分别对应Child-Pugh A、B、C级。 ^{13}C -MBT 0.5-0.8对应病理性肝损害或肝纤维化, MBT 0.8-1.2肝功能正常, MBT > 1.2肝功能诱导。 ^{13}C -噁噻西啶呼气实验步骤: (1)测身高(cm)、体质量(kg); (2)隔夜空腹, 收集0时呼出气100 mL, 将50 mg ^{13}C -噁噻西啶溶于100 mL绿茶水中, 1 min内口服, 并开始计时; (3)收集10、20、30、40、50、60、80、100、120 min呼出气各100 mL; (4)将以上10个气袋按次序与检测孔相连, 在菜单上选择肝功能检测, 底物为 ^{13}C -噁噻西啶, 输入身高体质量年龄, 自动检测并打印结果。经过计算得出 ^{13}C -MBT。

1.2.2 规范化治疗及判断标准: 给予保肝、利尿、补充白蛋白等, 密切观察患者病情, 包括精神状态、腹水、肝功能等, 并记录患者临床治愈、显效时间。临床治愈: 无症状, 肝功能恢复正常, 腹水完全消退, 无并发症; 好转: 症状好转, 肝功能、腹水及并发症较前明显好转; 未愈: 未达到上述标准者。以患者好转的时间作为判断显效时间^[4-6]。

统计学处理 应用SPSS13.0统计学软件, 计量资料以mean \pm SD表示, 组间差异采用 t 检验, 计数资料用一致性检验(Kappa值)及 χ^2 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

88例肝硬化患者, 从治疗的显效时间上, Child-

■ 研发前沿

肝细胞微粒体内混合功能氧化酶系的活性和储备能力直接影响 ^{13}C -噁噻西啶分解代谢产生 $^{13}\text{CO}_2$ 的速度和量, $^{13}\text{CO}_2$ 排出的速度和量可以特异性地反映肝脏储备功能和损害程度。

■相关报道

国内外大量研究表明¹³C-MBT分级与Child-Pugh分级有显著的一致性。其检测范围较之Child-Pugh分级比较广泛,可以应用于肝硬化、脂肪肝、各种急慢性肝炎。

表 1 Child-Pugh分级治疗显效时间 (mean ± SD, d)

Child-Pugh分级	n	显效时间
A级	16	8.2 ± 4.9
B级	41	12.1 ± 5.6
C级	31	15.6 ± 4.5

表 2 ¹³C-MBT分级治疗显效时间 (mean ± SD, d)

¹³ C-MBT分级	n	显效时间
A级	21	5.4 ± 3.2
B级	36	11.2 ± 2.9
C级	31	17.6 ± 1.9

Pugh分级A、B、C级的时间分别为: 8.2 d ± 4.9 d、12.1 d ± 5.6 d、15.6 d ± 4.5 d。¹³C-MBT分级一级、二级、三级显效时间分别为: 5.4 d ± 3.2 d、11.2 d ± 2.9 d、17.6 d ± 1.9 d(表1, 2)。

3 讨论

经典的Child-Pugh分级标准自提出数十年来, 一直受到广泛认同, 对不同程度的肝硬化患者治疗方案提供了实在的临床参考, 具备重要的临床价值。但此方法应用范围一般仅局限于较重的肝病的患者, 如晚期肝硬化^[7], 对于重度肝损伤或肝纤维化及一些早期肝硬化患者, Child-Pugh分级法就缺乏敏感性, 难以将其准确归类分级。Child-Pugh易受医生主观因素影响, 尤其是肝性脑病, 临床医生根据患者病情及经验进行主观判断, 极易受到一些因素的干扰, 如患者因出血、电解质紊乱或其他并发症等情况引起的意识障碍、行为异常; 腹腔积液也易受到多种情况影响, 如患者应用利尿剂消除腹水或者大量补液, 而引起腹水量的波动, 或者患者腹腔的癌性腹水, 即使给予利尿治疗, 也不易消除; 另外三项生化指标, 也易受到其他因素的干扰, 如保肝及损肝药物的使用、肝胆系统的结石肿瘤、血液制品的应用等, 都会不同程度的对检验结果产生影响。这些都是Child-Pugh分级在临床工作中的缺点及不足。

¹³C-噤噤西啶呼气试验是目前较为先进的一种检测肝脏储备功能的方法, 其通过肝脏微粒体发生, 被¹³C标记的噤噤西啶主要在肝细胞微粒体混合功能氧化酶作用下脱甲基生成对乙酰氨基酚和甲醛, 后者继续氧化成¹³CO₂, 通过检测¹³CO₂呼出的MV_{max40}(40 min前代谢速率峰值)、CUM₄₀(40 min代谢速率峰值)、CUM₁₂₀(120 min CO₂累积呼出丰度), 经过计算来反映肝脏储备功能。肝细胞微粒体内混合功能氧化酶系的活性和储备能力直接影响¹³C-噤噤西啶分解代谢产生¹³CO₂的速度和量, ¹³CO₂排出的速度和量可以特异性地反映肝脏储备功能和损害程度^[8,9]。国内外大量研究表明¹³C-MBT分

级与Child-Pugh分级有显著的一致性。其检测范围较之Child-Pugh分级比较广泛, 可以应用于肝硬化、脂肪肝、各种急慢性肝炎, 而且具有量化的优势。肝脏微粒体可受许多内外因素诱导或抑制, 如吸烟、药物等, 可间接影响¹³C-MBT结果^[10], 故使用前应尽量排除类似的干扰。总体来说, 这类方法具有无侵害性、高灵敏性、高特异性、高准确性、可定量以及实时动态检测等优点, 越来越受到临床工作者的欢迎^[11-15]。

本次研究从不同角度再次论证了¹³C-噤噤西啶呼气试验的优点与价值。研究中, 两种分组方法的结果比较, 治疗显效时间上有一定的差异性, 在¹³C-MBT分组中, 不同组别的治疗显效时间不同, 即¹³C-MBT值越高, 治疗显效时间越短, 而值越低则治疗显效时间越长, 差异性明显。在Child-Pugh分级中, 各组治疗显效时间无显著性差异, 此项结果与一些学者的相关临床实验一致^[16]。这可以帮助临床医生准确了解肝硬化病情、判断预后, 为治疗及预防提供有效参考。

研究中15例患者的分级在两种方法中处于不同级别, 其中Child-Pugh分级为B级的患者4例, 在¹³C-MBT分级为3级, 半年内有3例死亡, 原因为消化系出血及肝性脑病, 另外1例病情未见明显好转; Child-Pugh分级为B级的患者6例, 在¹³C-MBT分级为一级, 患者目前均病情稳定, 一般状况良好; 其中Child-Pugh分级为C级的患者4例, 在¹³C-MBT分级为二级, 经治疗后, 病情较快好转, 目前生活状态及各项检查指标均可, 无明显恶化倾向; 其中Child-Pugh分级为A级的患者1例, 在¹³C-MBT分级为二级, 目前情况一般。这两种分组存在的差异, 可能是主观判断和客观事实的冲突, 对这一小部分患者进行临床观察及半年以上的密切随访, 针对其各项生化检查、影像学检查、生存质量调查发现其更加符合¹³C-MBT的分级判断和病情预测。

¹³C-噤噤西啶呼气试验可以更加准确的判断肝硬化患者的病情及其预后, 较之Child-Pugh分级具有明显的优势。本研究认为¹³C-MBT可以作为Child-Pugh分级的一个补充, 使其更加完善,

或者在某种程度上替代Child-Pugh分级, 与很多国内外学者的观点一致。

4 参考文献

- 1 贾绮宾, 梁学亚, 吴改玲. ^{13}C -噁塞西啉呼气试验检测肝脏储备功能. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2646-2650
- 2 Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: S99-S112 [PMID: 16447287]
- 3 de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S104-S112 [PMID: 18304679 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.009]
- 4 王陇德, 宗淑杰, 主编. 临床诊疗指南-消化系统疾病分册. 第一版. 人民卫生出版社, 2005: 83-87
- 5 陈灏珠, 主编. 实用内科学. 第13版. 人民卫生出版社, 2009
- 6 美国肝病学会. 2004年美国肝病学会肝硬化腹水的治疗指南. 中华医学信息导报, 2005
- 7 Herold C, Heinz R, Radespiel-Tröger M, Schneider HT, Schuppan D, Hahn EG. Quantitative testing of liver function in patients with cirrhosis due to chronic hepatitis C to assess disease severity. *Liver* 2001; 21: 26-30 [PMID: 11169069 DOI: 10.1034/j.1600-0676.2001.210104.x]
- 8 Testa E, Malfatti F, Milazzo S, Cordiviola C, Cotellessa T, Marabotto E, Giannini E, Ceppa P, Mamone M, Risso D, Testa R. Hyaluronic acid and aspartate aminotransferase levels normalized by liver function can reflect sinusoidal impairment in chronic liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 439-444 [PMID: 16629647 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01251.x]
- 9 Herold C, Ganslmayer M, Ocker M, Zopf S, Gailer B, Hahn EG, Schuppan D. Inducibility of microsomal liver function may differentiate cirrhotic patients with maintained compared with severely compromised liver reserve. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 445-449 [PMID: 12653894 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.03007.x]
- 10 高茹, 关玉盘, 贾凯. ^{13}C -噁塞西啉呼气试验测量肝脏储备功能的临床研究. 中华腹部疾病杂志 2005; 7: 477-479
- 11 张璟, 张帆, 张猛. ^{13}C -噁塞西啉呼气试验对肝癌患者肝储备功能状况的评估. 临床荟萃 2008; 23: 1048
- 12 张冬梅, 王丙信, 程秀莲. ^{13}C -美沙西汀呼气试验对肝硬化患者肝功能状况的量化评价. 现代中西医结合杂志 2007; 16: 3009
- 13 刘婷, 郭晓林, 朴云峰, 季慧范. 吗啉菁绿排泄试验在肝病治疗领域中的应用. 中国老年学杂志 2010; 30: 3215-3217
- 14 李红霞, 王俊平, 杨颖, 张瑾, 冯秋玲, 刘广莉. ^{13}C -美沙西汀呼气试验检测肝癌肝动脉化疗栓塞术后肝储备功能的研究. 肿瘤研究与临床 2010; 22: 383-387
- 15 王永席, 翟红兵, 苏旅明, 董玮, 王莎莎, 王素侠. ^{13}C -噁塞西啉呼气试验测定肝脏储备功能及其相关指标的临床研究. 中国医刊 2010; 4: 62-64
- 16 钱刚, 吴宝灵, 余海滨, 吴敏, 刘金明, 李欣, 林学. 肝脏储备功能检测在肝硬化诊疗中的临床应用. 实用临床医学 2009; 10: 22-24

■同行评价

^{13}C -噁塞西啉呼气试验是目前较为先进的一种检测肝脏储备功能的方法, 可以更加准确的判断肝硬化患者的病情及其预后, 有一定的优势. 本方法具有无侵害性、高灵敏性、高特异性、高准确性、可定量以及实时动态检测等优点. 本方法可以作为Child-Pugh评分的补充。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响

仇奕然, 张海燕

■背景资料

临床上肝硬化患者并发胆囊结石的发生率比较高, 由于肝硬化疾病本身可以引起纤维化进而压迫、扭曲血管并发门脉高压等情况的发生, 开腹手术切除手术的应用受到很大的影响。

仇奕然, 南方医科大学 江苏省启东市 226200

仇奕然, 张海燕, 江苏省启东市中医院普外科 江苏省启东市 226200

仇奕然, 主要从事腹腔镜下胆囊切除术研究。

作者贡献分布: 仇奕然负责课题的设计、研究过程、试剂的提供、数据分析及论文写作; 张海燕负责研究过程、试剂的提供、数据分析。

通讯作者: 张海燕, 副主任医师, 226200, 江苏省启东市中医院紫薇中路458号, 江苏省启东市中医院普外科。

jinjin9387@126.com

电话: 0513-83251941

收稿日期: 2013-12-03 修回日期: 2013-12-25

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang

Yi-Ran Qiu, Southern Medical University, Qidong 226200, Jiangsu Province, China

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, Qidong 226200, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hai-Yan Zhang, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, Qidong 226200, Jiangsu Province, China. jinjin9387@126.com

Received: 2013-12-03 Revised: 2013-12-25

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To study the effect of laparoscopic surgery on immunity and complications in patients with liver cirrhosis and gallbladder stones.

METHODS: Eighty patients with liver cirrhosis and gallbladder stones were randomly divided into either an observation group or a control group. Patients in the observation group underwent laparoscopic surgery, and patients in the control group underwent open surgery. Arterial blood samples were taken to determine plasma concentrations of adrenaline, norepinephrine and dopamine. Intraoperative blood loss, operative time, flow rate, and length of hospital stay

were recorded. C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and T lymphocyte subsets (CD4, CD8) were determined.

RESULTS: Intraoperative blood loss, operative time, postoperative flow and drainage time, anal exhaust time and hospital stay in the observation group were significantly lower than those in the control group ($165.84 \text{ mL} \pm 50.23 \text{ mL}$ vs $240.33 \text{ mL} \pm 150.56 \text{ mL}$, $91.78 \text{ min} \pm 21.74 \text{ min}$ vs $137.94 \text{ min} \pm 30.55 \text{ min}$, $274.37 \text{ mL} \pm 121.15 \text{ mL}$ vs $418.53 \text{ mL} \pm 132.24 \text{ mL}$, $2.34 \text{ d} \pm 1.46 \text{ d}$ vs $5.72 \text{ d} \pm 1.84 \text{ d}$, $1.33 \text{ d} \pm 0.73 \text{ d}$ vs $2.73 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$, $8.43 \text{ d} \pm 1.24 \text{ d}$ vs $11.54 \text{ d} \pm 3.22 \text{ d}$, $P < 0.05$ for all). The levels of CRP, IL-6 and TNF- α in the observation group were significantly lower than those in the control group ($6.13 \text{ mg/L} \pm 1.64 \text{ mg/L}$ vs $14.24 \text{ mg/L} \pm 2.52 \text{ mg/L}$, $9.44 \text{ pg/mL} \pm 1.65 \text{ pg/mL}$ vs $12.82 \text{ pg/mL} \pm 1.54 \text{ pg/mL}$, $10.42 \text{ pg/mL} \pm 1.64 \text{ pg/mL}$ vs $19.83 \text{ pg/mL} \pm 1.53 \text{ pg/mL}$, $P < 0.05$ for all). Preoperatively, there were no significant differences in the percentages of CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes or CD4/CD8 ratio between the observation group and control group ($42.53\% \pm 4.63\%$ vs $42.42\% \pm 4.64\%$, $29.32\% \pm 2.44\%$ vs $29.13\% \pm 2.64\%$, 1.65 ± 0.26 vs 1.66 ± 0.24 , $P > 0.05$ for all). On postoperative days 1 and 3, the percentages of CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes and CD4/CD8 ratio were significantly higher in the observation group than in the control group (day 1: $33.22\% \pm 2.52\%$ vs $28.24\% \pm 2.74\%$, $19.83\% \pm 2.53\%$ vs $14.24\% \pm 2.52\%$, 1.11 ± 0.23 vs 0.73 ± 0.33 , $P < 0.05$ for all; day 3: $39.42\% \pm 2.64\%$ vs $34.12\% \pm 2.34\%$, $24.44\% \pm 2.65\%$ vs $19.82\% \pm 2.54\%$, 1.43 ± 0.24 vs 1.04 ± 0.22 , $P < 0.05$ for all). The percentages of CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes and CD4/CD8 ratio were significantly higher on postoperative days 1 and 3 in both groups compared with preoperative values ($P < 0.05$ for all). The percentages of patients developing infection and hypoalbuminemia were significantly lower in the observation group than in the control group (7.5% vs 25.0% , 10.0% vs

■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

30.0%, $P < 0.05$). The incidence of blood coagulation dysfunction did not differ significantly between the two groups (20.0% vs 25.0%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Compared with open surgery, laparoscopic surgery is associated with less trauma, more rapid recovery, lower effect on immune function and response, and lower incidence of adverse reactions in patients with liver cirrhosis and gallbladder stones.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Gallbladder stones; Laparoscopy; Immune

Qiu YR, Zhang HY. Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 862-867 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/862.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.862>

摘要

目的: 探讨腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响, 为其研究提供可参考依据。

方法: 共纳入80例入住我院普外科诊断为肝硬化并发胆囊结石患者, 采用随机数字法平均分为观察组与对照组两组, 分别给予腹腔镜微创治疗及开腹手术治疗, 观察患者手术过程中失血量、手术时间、引流量、住院时间等, 比较两组的差异。抽取静脉血术后检测应激反应指标C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukins-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)。于术前, 术后1、3 d检测T淋巴细胞亚群(CD4、CD8)的含量。

结果: 观察组患者术中出血量、手术时间、术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者, 两组间比较差异有统计学意义($165.84 \text{ mL} \pm 50.23 \text{ mL}$ vs $240.33 \text{ mL} \pm 150.56 \text{ mL}$, $91.78 \text{ min} \pm 21.74 \text{ min}$ vs $137.94 \text{ min} \pm 30.55 \text{ min}$, $274.37 \text{ mL} \pm 121.15 \text{ mL}$ vs $418.53 \text{ mL} \pm 132.24 \text{ mL}$, $2.34 \text{ d} \pm 1.46 \text{ d}$ vs $5.72 \text{ d} \pm 1.84 \text{ d}$, $1.33 \text{ d} \pm 0.73 \text{ d}$ vs $2.73 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$, $8.43 \text{ d} \pm 1.24 \text{ d}$ vs $11.54 \text{ d} \pm 3.22 \text{ d}$, 均 $P < 0.05$)。术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- α 水平均明显低于对照组患者, 两组间差异比较有统计学意义($6.13 \text{ mg/L} \pm 1.64 \text{ mg/L}$ vs 14.24

$\text{mg/L} \pm 2.52 \text{ mg/L}$, $9.44 \text{ pg/mL} \pm 1.65 \text{ pg/mL}$ vs $12.82 \text{ pg/mL} \pm 1.54 \text{ pg/mL}$, $10.42 \text{ pg/mL} \pm 1.64 \text{ pg/mL}$ vs $19.83 \text{ pg/mL} \pm 1.53 \text{ pg/mL}$, 均 $P < 0.05$)。术前观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $42.53\% \pm 4.63\%$, $29.32\% \pm 2.44\%$, 1.65 ± 0.26 , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $42.42\% \pm 4.64\%$, $29.13\% \pm 2.64\%$, 1.66 ± 0.24 , 两组比较差异不明显($P > 0.05$)。术后1 d观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $33.22\% \pm 2.52\%$, $19.83\% \pm 2.53\%$, 1.11 ± 0.23 , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $28.24\% \pm 2.74\%$, $14.24\% \pm 2.52\%$, 0.73 ± 0.33 , 两组均有明显下降, 与术前相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后3 d观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $39.42\% \pm 2.64\%$, $24.44\% \pm 2.65\%$, 1.43 ± 0.24 , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $34.12\% \pm 2.34\%$, $19.82\% \pm 2.54\%$, 1.04 ± 0.22 , 两组均有上升, 与术后1 d相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组, 两组差异比较有统计学意义($P < 0.05$)。术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者, 两组间比较差异有统计学意义[3(7.5%) vs 10(25.0%), 4(10.0%) vs 12(30.0%), $P < 0.05$]; 凝血功能障碍比较差异不明显[8(20.0%) vs 10(25.0%), $P > 0.05$]。

结论: 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快, 同时对患者应激反应及免疫功能的影响小, 且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低, 值得临床推广应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝硬化; 胆囊结石; 腹腔镜; 免疫

核心提示: 本研究分析腹腔镜与开腹手术对肝硬化并发胆囊结石患者的疗效发现, 观察组患者术中出血量、手术时间术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者。可见腹腔镜治疗的操作时间比较短、创伤比较小、术后恢复时间及住院时间短。一般而言, 腹腔镜治疗的关键为控制术中 CO_2 气腹压, 当出现 CO_2 气腹压高时, 易压迫患者血管, 尤其对于肝硬化患者, 更容易引起门静脉高压的发生, 进而引起静脉曲张等并发症的发生, 因此手术过程中需要密切注意静脉曲张及脾脏的大小, 避免手术过程中损伤。

仇奕然, 张海燕. 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6):

■研究前沿

由于肝硬化本身已存在机体免疫功能的异常, 当受到腹腔镜或开腹手术治疗, 可进一步通过抑制机体的细胞免疫功能影响患者的免疫功能。随着医学技术的迅猛发展, 腹腔镜应用于肝硬化并发胆囊结石治疗得到广泛应用。

■创新盘点

本研究不仅分析术中及术后并发症的发生情况,并进一步分析了对应激反应及免疫反应影响。对两种术式比较更详细。

862-867 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/862.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.862>

0 引言

临床上肝硬化患者并发胆囊结石的发生率比较高,由于肝硬化疾病本身可以引起纤维化进而压迫、扭曲血管并发门脉高压等情况的发生,开腹手术切除术的应用受到很大的影响^[1]。随着医学技术的迅猛发展,腹腔镜应用于肝硬化并发胆囊结石治疗得到广泛应用。由于肝硬化本身已存在机体免疫功能的异常,当受到腹腔镜或开腹手术治疗,可进一步通过抑制机体的细胞免疫影响患者的免疫功能^[2]。在此背景下,本研究即探讨腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响,为其研究提供可参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 连续收集2009-01/2013-08入住我院普外科诊断为肝硬化并发胆囊结石患者80例,均有不同程度腹胀、腹痛、消化不良等临床表现,且均行腹部超声检查诊断胆囊结石,腹部CT检查诊断肝硬化。年龄38-65岁,平均年龄48.3岁±5.1岁,胆囊结石病程1-5年,肝功能分级Child A级52例,Child B级为28例。采用随机数字法平均分为观察组与对照组两组,两组间性别、病程及Child分级等比较差异不明显($P>0.05$),具有临床可比性。排除标准:心肺功能不全、自身免疫性疾病、凝血功能障碍等。所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗:术前积极完善影像学、生化检查,保证凝血功能及血细胞分析等检测指标在正常范围之内。术中常规监测患者心电图及生命体征变化,麻醉前30 min给予肌肉注射0.5 mg阿托品及0.1 g苯巴比妥钠。观察组患者给予静吸复合全麻,面罩吸氧3 min后,在建立静脉通路的基础上行麻醉诱导,麻醉维持给予维库溴铵及间断吸入异氟醚(呼气末浓度维持在1.0-1.2 MAC),静脉持续泵注瑞芬太尼0.1-0.2 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 。脐部建立穿刺点,建立 CO_2 气腹,并留置10 mm压力,腹腔镜下行胆囊切除手术治疗。对照组患者全麻条件下行开腹手术措施。

1.2.2 观察指标:密切观察患者手术过程中的失血量、手术时间、引流量、引流时间、住

院时间等。抽取静脉血术后检测应激反应指标C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukins-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)。于术前,术后1、3 d检测T淋巴细胞亚群(CD4、CD8)含量。

统计学处理 数据处理采用SPSS17.0软件包进行。采用 $\text{mean}\pm\text{SD}$ 表示正态分布且方差齐的计量资料,行 t 检验;采用百分数表示计数资料,行 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种手术方法术中及术后差异比较 两种手术方法术中及术后差异比较结果显示:观察组患者术中出血量、手术时间术后引流时间、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者,两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$,表1)。

2.2 两种手术方法对机体应激反应的影响 两种手术方法对机体应激反应的影响分析结果显示:术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- α 水平均明显低于对照组患者,两组间差异比较有统计学意义($P<0.05$,表2)。

2.3 两种治疗方法对患者免疫水平的影响 两种治疗方法对患者免疫水平的影响分析结果显示:术前两组患者CD4、CD8、CD4/CD8比较差异不明显($P>0.05$);术后1 d两组CD4、CD8、CD4/CD8均有明显下降,与术前相比差异有统计学意义($P<0.05$);术后3 d两组CD4、CD8、CD4/CD8上升,与术后1 d相比差异有统计学意义($P<0.05$);术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组,两组差异比较有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.4 两组患者并发症发生分析 两组患者并发症发生分析结果显示:术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者,两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$);凝血功能障碍比较差异不明显($P>0.05$)(表4)。

3 讨论

临床上肝硬化由于引起肝脏发生纤维化,进而压迫、扭曲血管易并发门脉高压的发生,甚至可能合并脾大及食管、胃底静脉曲张,因此肝硬化是胆囊结石手术治疗的相对禁忌症,但随着腹腔镜技术的不断进步及设备的不断更新,腹腔镜技术通过改变手术的入路,突破了这一

表 1 两种手术方法术中及术后差异比较 ($n = 40$, mean \pm SD)

分组	观察组	对照组	t 值	P 值
术中出血量(mL)	165.84 \pm 50.23	240.33 \pm 150.56	5.953	0.000
手术时间(min)	91.78 \pm 21.74	137.94 \pm 30.55	5.162	0.000
术后引流量(mL)	274.37 \pm 121.15	418.53 \pm 132.24	2.543	0.011
术后引流时间(d)	2.34 \pm 1.46	5.72 \pm 1.84	3.133	0.003
术后排气时间(d)	1.33 \pm 0.73	2.73 \pm 1.33	3.547	0.000
住院时间(d)	8.43 \pm 1.24	11.54 \pm 3.22	2.123	0.043

■应用要点

腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快, 同时对患者应激反应及免疫功能的影响小, 且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低, 值得临床推广应用。

表 2 两种治疗手术对机体应激反应的影响 ($n = 40$, mean \pm SD)

分组	观察组	对照组	t 值	P 值
CRP(mg/L)	6.13 \pm 1.64	14.24 \pm 2.52	2.523	0.015
IL-6(pg/mL)	9.44 \pm 1.65	12.82 \pm 1.54	2.567	0.009
TNF- α (pg/mL)	10.42 \pm 1.64	19.83 \pm 1.53	3.998	0.000

CRP: C-反应蛋白; IL-6: 白介素-6; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α 。

表 3 两种治疗方法对患者免疫水平的影响($n = 40$, mean \pm SD)

分组	时间	观察组	对照组	t 值	P 值
CD4(%)	术前	42.53 \pm 4.63	42.42 \pm 4.64	0.953	0.411
	术后1 d	33.22 \pm 2.52	28.24 \pm 2.74	3.453	0.002
	术后3 d	39.42 \pm 2.64	34.12 \pm 2.34	2.643	0.008
CD8(%)	术前	29.32 \pm 2.44	29.13 \pm 2.64	0.533	0.339
	术后1 d	19.83 \pm 2.53	14.24 \pm 2.52	3.463	0.000
	术后3 d	24.44 \pm 2.65	19.82 \pm 2.54	3.928	0.000
CD4/CD8	术前	1.65 \pm 0.26	1.66 \pm 0.24	0.463	0.611
	术后1 d	1.11 \pm 0.23	0.73 \pm 0.33	4.162	0.000
	术后3 d	1.43 \pm 0.24	1.04 \pm 0.22	2.819	0.006

表 4 两组患者并发症发生分析 ($n = 40$, $n(\%)$)

分组	感染	低蛋白血症	凝血功能障碍	其他
观察组	3(7.5)	4(10.0)	8(20.0)	1(2.5)
对照组	10(25.0)	12(30.0)	10(25.0)	2(5.0)
χ^2 值	4.501	5.000	0.287	0.346
P 值	0.034	0.025	0.592	0.556

相对禁忌症, 已应用到了临床诊治的过程中^[3,4]。

本研究分析腹腔镜与开腹手术对肝硬化并发胆囊结石患者的疗效发现, 观察组患者术中出血量、手术时间术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者。可见腹腔镜治疗的操作时间比较短、创伤比较小、术后恢复时间及住院时间短。一般而言, 腹

腔镜治疗的关键为控制术中CO₂气腹压, 当出现CO₂气腹压高时, 易压迫患者血管, 尤其对于肝硬化患者, 更容易引起门静脉高压的发生, 进而引起静脉曲张等并发症的发生, 因此手术过程中需要密切注意静脉曲张及脾脏的大小, 避免手术过程中损伤^[5,6]。黄炜^[7]选取34例开腹治疗肝硬化合并胆囊结石患者为对照组, 34例腹腔镜治疗肝硬化合并胆囊结石患者为观察组, 结果发现对照组术中出血量(192.1 mL \pm 42.6 mL)、手术时间(122.6 min \pm 25.4 min)、术后禁食时间(2.7 d \pm 0.9 d)和术后住院时间(9.3 d \pm 1.8 d)均高于观察组(79.9 mL \pm 38.7 mL、63.3 min \pm 21.8 min、1.0 d \pm 0.6 d、4.2 d \pm 1.1 d), 两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

手术创伤是引起机体应激反应系统激活

■同行评价

本文研究结果显示,腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快,同时对患者应激反应及免疫功能的影响小,且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低,值得临床推广应用。

的因素之一,本研究分析两种手术方法对机体应激反应的影响发现,术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- α 水平均明显低于对照组患者。分析原因认为CRP、IL-6、TNF- α 均为炎性细胞激活释放的炎性因子。其中CRP是一种急性时相反应蛋白,可以有效识别宿主体内的炎性反应,并通过吞噬细胞释放炎症因子^[8]。IL-6在炎症反应中起核心调节作用,是炎症免疫反应的重要介质^[9]。TNF- α 能增强中性粒细胞趋化性,协助炎症细胞穿透血管壁和释放炎症递质,从而促进炎症反应^[10,11]。Kim等^[12]对比腹腔镜及传统开腹术后TNF- α 、IL-6、CRP水平,结果发现术后1 d腹腔镜组TNF- α 、IL-6、CRP水平均低于开腹组($P<0.05$),术后3 d TNF- α 、CRP水平低于开腹组($P<0.05$)。

临床上多数肝硬化患者本身已存在机体免疫功能的下降,无论是腹腔镜还是开腹手术作为有创治疗,均可影响患者的免疫功能。本研究分析两种治疗方法对患者免疫水平的影响发现,术前两组患者CD4、CD8、CD4/CD8比较差异不明显;术后1 d两组CD4、CD8、CD4/CD8均有明显下降;术后3 d两组CD4、CD8、CD4/CD8上升,与术后1 d相比差异有统计学意义;术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组。可见开腹手术对患者细胞免疫的影响比较大,抑制作用更强。分析原因认为:(1)腹腔镜组术后进食早,不仅可以更早的恢复肠功能,且可以为免疫反应提供能量,避免禁食时间长引起的能量功能不足^[13];(2)腹腔镜术中气腹及术后12 h脾脏T细胞的表达增加,进而可以增加免疫功能,但具体机制尚不明确^[14]。

本研究进一步分析两组患者并发症发生发现,术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者;凝血功能障碍比较差异不明显。可见腹腔镜治疗可以降低感染的发生。黎朝良等^[15]研究发现,术后感染性并发症发生率腹腔镜组明显低于开腹组,分别为2例(7.4%)与5例(16.7%), $P<0.05$ 。术后低白蛋白血症发生率开腹组明显高于腹腔镜组,分别为7例(23.3%)与3例(11.1%), $P<0.05$ 。术后两组的凝血功能障碍发生率无明显差异,分别为5例(18.5%)与5例(16.7%), $P<0.05$ 。与本研究结果相似。

总之,本研究显示,腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快,同时对患

者应激反应及免疫功能的影响小,且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低,值得临床推广应用。

4 参考文献

- 1 朱信强,丁闯,张明,管小青,陈焰.腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例.世界华人消化杂志 2012; 20: 2496-2499
- 2 Siddiqui MN, Siddiqui ZA. Systematic review and meta-analysis of intraoperative versus preoperative endoscopic sphincterotomy in patients with gallbladder and suspected common bile duct stones (*Br J Surg* 2011; 98: 908-916). *Br J Surg* 2012; 99: 144; author reply 144 [PMID: 22135176 DOI: 10.1002/bjs.7826]
- 3 王兵,丁佑铭,汪斌,袁吉林,袁亚君.胆囊结石合并肝硬化患者行腹腔镜胆囊切除术的临床研究.中华临床医师杂志 2012; 6: 197-198
- 4 Chinnery GE, Krige JE, Bornman PC, Bernon MM, Al-Harethi S, Hofmeyr S, Banderker MA, Burmeister S, Thomson SR. Endoscopic management of bile leaks after laparoscopic cholecystectomy. *S Afr J Surg* 2013; 51: 116-121 [PMID: 24209694 DOI: 10.7196/sajs.1829]
- 5 Stevens JL, Lalotitis A, Gould SW. Hepatocolonic fistula: a rare consequence of retained gallstones after laparoscopic cholecystectomy. *Ann R Coll Surg Engl* 2013; 95: e139-e141 [PMID: 24165331 DOI: 10.1308/003588413X13629960048550]
- 6 张鸣杰,张国雷,魏云海,高偲.腹腔镜手术治疗胃胃切除术后胆囊结石27例临床分析.中华肝胆外科杂志 2012; 18: 634-635
- 7 黄炜,许海林,邹伟荣,季必宏.腹腔镜治疗胆囊结石合并肝硬化36例临床分析.中华危重症医学杂志 2013; 6: 35-36
- 8 Kamarulzaman MN. Comment on: Laparoscopic transperitoneal ureterolithotomy for large ureteric stone. *Urol Ann* 2012; 4: 195-196 [PMID: 23248532 DOI: 10.4103/0974-7796.102679]
- 9 Ray S, Bhattacharya SP. Endoclip migration into the common bile duct with stone formation: a rare complication after laparoscopic cholecystectomy. *JSLs* 2013; 17: 330-332 [PMID: 23925031 DOI: 10.4293/108680813X13654754534350]
- 10 Lee JW, Cho SY, Yeon JS, Jeong MY, Son H, Jeong H, Kim HH, Lee SB. Laparoscopic pyelolithotomy: comparison of surgical outcomes in relation to stone distribution within the kidney. *J Endourol* 2013; 27: 592-597 [PMID: 23234358 DOI: 10.1089/end.2012.0570]
- 11 吴硕东,陈永生,田雨,苏洋.经脐单切口腹腔镜胆囊联合其他脏器切除术的评价.世界华人消化杂志 2010; 18: 3045-3049
- 12 Kim EH, Larson JA, Figenshau M, Figenshau RS. Perioperative complications of robot-assisted partial nephrectomy. *Curr Urol Rep* 2014; 15: 377 [PMID: 24343244 DOI: 10.1007/s11934-013-0377-y]
- 13 覃文,程德志,黄雪卿.肝硬化患者胆囊结石的外科处理.肝胆胰外科杂志 2010; 22: 255-256
- 14 Schätz T, Hruby S, Colleselli D, Janetschek G, Lusuardi L. A severe complication of mid-urethral tapes solved by laparoscopic tape removal and ureterotomostomy. *Can Urol Assoc J* 2013; 7: E598-E600 [PMID: 24069104 DOI: 10.5489/cuaj.393]

- 15 黎朝良, 方兰, 丁佑铭, 董荣坤, 韩明福, 张笃. 胆囊结石合并肝硬化患者腹腔镜与开腹胆囊切除术后细胞

免疫功能变化及术后并发症. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 312-313

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系

孙 静, 褚燕君, 张芳宾, 郑 聪

■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性肝内胆汁淤积性肝病, 病因不明确, 与免疫异常有关。好发于中老年女性患者, 以肝内进行性小胆管破坏, 伴汇管区和汇管周围炎症及纤维化为特点, 最终导致门脉高压、肝硬化, 甚至肝衰竭。该病预后不良, 从出现症状到死亡或行肝移植的平均时间为5-10年。随着近年诊断技术及对本病认识水平的提高, 本病在国内有增多趋势。熊去氧胆酸(ursodeoxycholic, UDCA)是目前唯一能有效改善肝脏生化功能和延缓门静脉高压, 延长生存期或移植前期的治疗, 所以早期诊断、早期治疗对PBC患者十分重要。

■同行评议者

赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院人体机能系

孙静, 褚燕君, 张芳宾, 郑聪, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

孙静, 郑州大学第一附属医院消化内科在读硕士研究生, 主要从事慢性肝病的研究。

作者贡献分布: 本文由褚燕君与孙静设计; 研究过程由孙静、褚燕君及郑聪完成; 写作由孙静完成; 褚燕君与张芳宾参与文章修改及校订。

通讯作者: 褚燕君, 教授、主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

1054900885@qq.com

电话: 0371-66862082

收稿日期: 2013-11-15 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis

Jing Sun, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Cong Zheng

Jing Sun, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Cong Zheng, Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Yan-Jun Chu, Chief Physician, Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. 1054900885@qq.com

Received: 2013-11-15 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To search some laboratory parameters reflecting hepatic pathological changes and to observe lysosomal granule membrane protein (LAMP2) expression in patients with primary biliary cirrhosis (PBC).

METHODS: Forty-five patients with PBC who underwent hepatic pathological examination and tests for liver function, blood coagulation function, autoimmune antibody and immunoglobulin from June 2003 to December 2012 were included. The correlation was assessed between hepatic pathohistology and laboratory findings.

The expression of LAMP2 in hepatic tissue was also studied by immunohistochemical method.

RESULTS: Pathological stage was significantly correlated with the expression of LAMP2 ($P < 0.05$). Pathological stage and expression of LAMP2 were correlated with gamma glutamyltranspeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), direct bilirubin (DBIL) and albumin (ALB). Prothrombin time (PT), fibrinogen (FIB), IgG, IgM, antinuclear antibodies (ANA), anti-mitochondrial antibody (AMA), and anti-mitochondrial antibody M2 (AMA-M2) had no correlation with pathological stage or expression of LAMP2.

CONCLUSION: The abnormal expression of LAMP2 may have a role in the pathogenesis of PBC. Some laboratory parameters are helpful for judging hepatic pathological stage of PBC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Primary biliary cirrhosis; Lysosomal granule membrane protein; Liver biopsy; Pathological staging; Laboratory tests

Sun J, Chu YJ, Zhang FB, Zheng C. Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 868-873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/868.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.868>

摘要

目的: 探讨原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)患者肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2(lysosomal granule membrane protein, LAMP2)表达及血清学指标三者间的关系。

方法: 收集2003-06/2012-12于我院确诊为PBC的45例患者肝穿肝脏病理分期及其同期生化、血凝、免疫球蛋白及自身免疫性抗体滴

度, 免疫组织化学方法观察LAMP2在PBC患者肝组织的表达, 分析三者间的相关性。

结果: 随着PBC患者肝脏组织病变程度的加重, LAMP2在肝组织的表达呈增加趋势($\chi^2 = 20.534, P = 0.002$), 二者相关系数(r)为0.555($P < 0.05$); 血清谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、直接胆红素、白蛋白与肝脏病理分期相关系数 r 分别为0.318、0.305、0.410和-0.295(P 值分别为0.033, 0.041, 0.005和0.049), 与LAMP2相关系数 r 分别为0.578、0.522、0.479和-0.335(P 值分别为0.000, 0.000, 0.001和0.024); 其中直接胆红素在不同病理分期中位值差异具有统计学意义[3.9(2.3-69.4) *vs* 22.8(1.8-191.5) *vs* 18.4(4.1-275.3), $P = 0.013$]; 谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、直接胆红素、白蛋白在不同LAMP2表达强度下中位值差异均具有统计学意义[137.0(21.0-233.0) *vs* 233.5(5.0-657.0) *vs* 411.0(180.0-1351.0), $P = 0.001$], [130.0(42.0-196.0) *vs* 205.5(74.0-801.0) *vs* 320.0(89.0-2114.0), $P = 0.001$], [4.1(1.8-12.6) *vs* 14.3(2.3-186.0) *vs* 33.2(3.4-275.3), $P = 0.006$], [41.3(37.3-45.6) *vs* 36.6(28.5-47.3) *vs* 36.9(27.0-48.2), $P = 0.021$]. 凝血酶原时间、纤维蛋白原、免疫球蛋白IgG、免疫球蛋白IgM、抗核抗体滴度、抗线粒体抗体滴度、抗线粒体抗体M2亚型滴度与肝脏病理分期及LAMP2蛋白间均无显著相关性。

结论: LAMP2在肝组织异常表达可能与PBC发病机制有关; 血清生化指标在一定程度上有助于PBC肝组织病变程度的判断。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 原发性胆汁性肝硬化; 溶酶体膜蛋白-2; 肝穿; 病理分期; 血清学指标

核心提示: 血清生化指标在一定程度上有助于无病理情况下原发性胆汁性肝硬化患者肝组织病变程度的判断, 但不能总是做出准确预测, 肝穿仍然是最重要手段。

孙静, 褚燕君, 张芳宾, 郑聪. 原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 868-873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/868.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.868>

0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性肝病, 其发

病机制未明, 多种免疫因素参与其中. 肝脏穿刺病理活检在PBC的诊断及疾病严重程度的判定中具有重要的价值^[1], 然此项操作为有创检查, 患者耐受性差. 鉴于此, 本研究通过回顾性分析PBC患者肝脏病理分期与血清学指标之间的联系, 期望找到能够预测肝组织病变严重程度的临床指标, 以指导在无病理情况时对病情的判断. 溶酶体膜蛋白-2(lysosomal granule membrane protein, LAMP2)是新近发现的抗中性粒细胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)亚型^[2], 参与多种自身免疫性疾病发生发展过程, 本研究通过分析LAMP2在PBC患者肝脏中表达改变与血清学指标及肝组织病理分期的相关性, 探讨LAMP2表达在PBC中的意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2003-06/2012-12于郑州大学第一附属医院行肝穿活检并确诊为PBC者. 诊断均符合2000年美国肝脏病学会(America Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)PBC指导意见^[3], 排除合并其他自身免疫性肝病、系统自身免疫性疾病、各种急慢性病毒性肝炎、半年内使用可疑肝损伤药物、长期大量饮酒及临床资料不完整者. 通过临床病案记录及病理科档案记录获取患者肝穿活检同期血清谷氨酰转氨酶(gamma glutamyltranspeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)、抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)、抗线粒体抗体M2亚型(anti-mitochondrial antibody M2 typing, AMA-M2)、免疫球蛋白IgG及IgM等血清学指标及肝组织病理蜡块连续切片; 免疫组织化学实验用兔抗人LAMP2抗体(1:100)、CW2035试剂盒、苏木素均为北京康为世纪生物科技有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 血清学指标检测及肝穿组织病理分期: 血清GGT、ALP、DBIL、ALB采用日本Olympus全自动生化分析仪检测; PT、FIB采用罗氏CoaguChek XS血凝分析仪检测; ANA、AMA、AMA-M2采用免疫荧光法测定; 免疫球蛋白采用Immage800特定蛋白分析仪检测. 肝组织切片分别用苏木精-伊红(HE), 网织纤维等常规染色,

■ 研究前沿

原发性胆汁性肝硬化起病隐袭, 没有明显的临床症状, 常仅表现为肝功异常, 乏力, 纳差, 右上腹不适等, 往往被误诊为慢性肝炎(病因不明型). 目前认为本病可能是自身免疫性疾病的一种类型, 患者常有细胞免疫及体液免疫的异常, 还常合并其他自身免疫性疾病. 总结该病相关的生化、肝穿病理特点, 有助于此病的早期发现及诊疗, 可为进一步探讨病因提供线索。

■相关报道

近年来,国内外大量研究关注了LAMP2在自身免疫性疾病发病机制中的可能作用,为揭开LAMP2的神秘面纱积累了大量的实验数据.

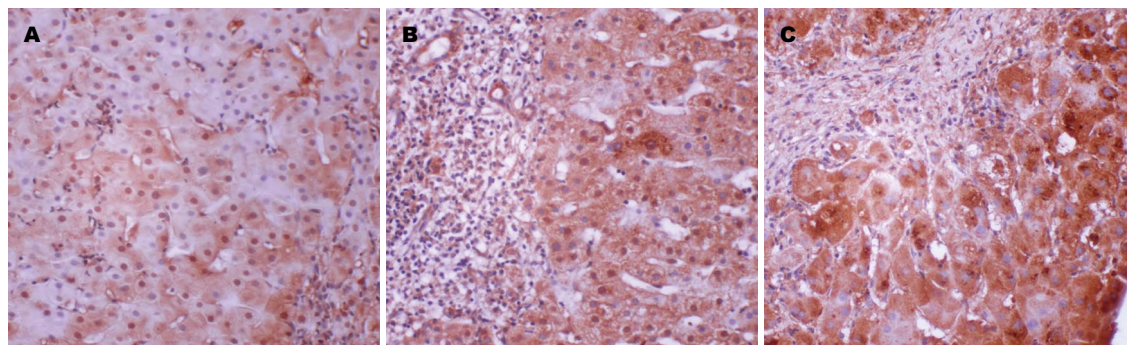


图1 LAMP2在PBC不同病理分期肝穿组织的表达($\times 400$). A: I期PBC肝细胞阳性; B: II期肝细胞阳性; C: III期肝细胞阳性. LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

表1 肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达强度关系(n)

病理分期	LAMP2蛋白表达				合计
	-	+	++	+++	
I	0	5	9	0	14
II	1	2	11	5	19
III+IV ¹	0	1	2	9	12
合计	1	8	22	14	45

¹因III、IV期病例数偏少、且二者间病理改变近似,故将两期合并分析. LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

由我院2名病理科医师独立读片,肝组织病理分期根据Scheuer组织学分期^[4]分4期: I期胆管炎期、II期胆管增生期、III期纤维化期和IV期肝硬化期;因III、IV期病例数偏少,且二者间病理改变近似,故将两期合并分析.

1.2.2 免疫组织化学法检测LAMP2在肝脏组织的表达: 甲醛固定,石蜡包埋肝活检蜡块,连续切片,采用PV-9000免疫组织化学二步法检测LAMP2的表达改变: LAMP2染色阳性信号定位于肝细胞胞浆中,呈棕黄色颗粒,每个标本随机观察5个高倍镜视野,每个视野记录200个肝细胞,阳性细胞百分数<5%为阴性(-),5%-25%为弱阳性(+),>25%-50%为阳性(++),>50%为强阳性(+++).

统计学处理 采用SPSS17.0软件对研究数据进行统计分析.符合正态分布的变量采用mean \pm SD表示,非正态分布变量采用中位数(最低值-最高值)表示;多组定量资料间比较采用方差分析,无法转换的非正态资料采用非参数检验,等级资料间相关性分析采用Spearman秩相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

共45例患者纳入分析,其中女性42例,男性3例,中位年龄53岁(27-77岁).

2.1 PBC肝脏病理分期与LAMP2表达的关系(表1,图1) LAMP2表达强度在PBC不同肝脏病理分期间存在差异(有序多分类资料秩和检验, $\chi^2 = 20.534$, $P = 0.002$),随着肝脏组织病变程度的加重,LAMP2在其肝组织的表达逐渐增强;两者呈正相关,相关系数 $r = 0.555(P<0.05)$.

2.2 PBC肝脏病理分期与肝功能、血凝、免疫球蛋白的关系 血清GGT、ALP、DBIL水平与肝脏病理分期呈正相关, r 分别为0.318、0.305和0.410, P 分别为0.033、0.041和0.005.血清ALB水平与肝脏病理分期呈负相关, $r = -0.295(P = 0.049)$.血清PT、FIB、IgM、IgG与肝脏病理分期无显著相关性, r 分别为0.032、0.193、-0.054和0.203(P 分别为0.836、0.205、0.726和0.182)(表2).

GGT在III+IV期中位值显著高于I期(Kruskal-Wallis检验, $Z = -2.109$, $P = 0.035$)及II期($Z = -2.130$, $P = 0.033$);ALP在III+IV期中位值显著高于I期($Z = -2.006$, $P = 0.045$);DBIL在II期及III+IV期中位值均高于I期(Z 分别为-2.186、-3.035, P 分别为0.029、0.002);IgG在III+IV期平均值高于II期($Z = -2.068$, $P = 0.039$),其中DBIL在不同病理分期中位值差异具有统计学意义($\chi^2 = 8.691$, $P = 0.013$).分别将GTT、ALP、DBIL和IgG与肝脏不同病理分期之间做受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线,用以反映不同生化指标对肝脏病理分期的预测性能,ROC曲线下面积均<0.7, P 均>0.05.

2.3 PBC肝脏病理分期与自身免疫性抗体的关系 PBC患者肝脏病理分期与自身免疫性抗体ANA、AMA、AMA-M2滴度间无显著性相关, r 分别为0.135、-0.066和0.051, P 分别为0.377、0.667和0.742.分析显示,上述三者抗体滴度在不同病理分期间均无统计学差异(P 均>0.05).

表 2 病理分期与GGT、ALP、DBIL、ALB、PT、FIB、IgM、IgG的关系

分期	I	II	III+IV	统计值	P值
<i>n</i>	14	19	12		
GGT(U/L)	206.0(17.0–513.0)	194.0(5.0–842.0)	295.5(125.0–1351.0) ^{ac}	5.822	0.054
ALP(U/L)	153.5(74.0–405.0)	201.0(42.0–801.0)	256.5(89.0–2114.0) ^a	4.207	0.122
DBIL(μmol/L)	3.9(2.3–69.4)	22.8(1.8–191.5) ^a	18.4(4.1–275.3) ^a	8.691	0.013
ALB(g/L)	40.1 ± 3.86	37.67 ± 5.54	36.71 ± 4.09	1.802	0.177
PT(s)	11.96 ± 1.64	11.06 ± 2.02	12.36 ± 2.20	1.821	0.174
FIB(g/L)	3.08 ± 1.22	3.18 ± 0.90	3.48 ± 0.88	0.545	0.584
IgM(g/L)	4.19 ± 2.08	2.95 ± 2.00	4.25 ± 2.51	1.888	0.164
IgG(g/L)	14.23 ± 4.86	13.04 ± 3.88	16.92 ± 5.68 ^c	4.414	0.110

^a $P < 0.05$ vs I期; ^c $P < 0.05$ vs II期. GGT: 谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; DBIL: 直接胆红素; ALB: 白蛋白; PT: 凝血酶原时间; FIB: 纤维蛋白原.

表 3 LAMP2与GGT、ALP、DBIL、ALB、PT、FIB、IgM、IgG关系

LAMP2	-/+ ¹	++	+++	统计值	P值
<i>n</i>	9	22	14		
GGT(U/L)	137.0(21.0–233.0)	233.5(5.0–657.0)	411.0(180.0–1351.0) ^{ac}	14.877	0.001
ALP(U/L)	130.0(42.0–196.0)	205.5(74.0–801.0) ^a	320.0(89.0–2114.0) ^{ac}	13.829	0.001
DBIL(μmol/L)	4.1(1.8–12.6)	14.3(2.3–186.0) ^a	33.2(3.4–275.3) ^a	10.215	0.006
ALB(g/L)	41.3(37.3–45.6)	36.6(28.5–47.3)	36.9(27.0–48.2) ^a	7.774	0.021
PT(s)	11.36 ± 1.42	11.65 ± 2.09	11.97 ± 2.24	0.258	0.774
FIB(g/L)	2.96 ± 1.07	3.15 ± 1.07	3.52 ± 0.82	0.978	0.384
IgM(g/L)	2.6(1.1–10.4)	3.2(1.2–7.9)	2.8(1.4–9.7)	0.202	0.735
IgG(g/L)	12.1(10.0–23.4)	13.3(8.2–31.0)	13.1(8.4–20.2)	0.651	0.722

^a $P < 0.05$ vs -/+组; ^c $P < 0.05$ vs ++组. ¹组病例数偏少, 故将-组与+组合并分析. GGT: 谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; DBIL: 直接胆红素; ALB: 白蛋白; PT: 凝血酶原时间; FIB: 纤维蛋白原; LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

2.4 LAMP2表达强度与肝功能、血凝、免疫球蛋白水平的关系 血清GGT、ALP、DBIL与LAMP2表达强度呈正相关, r 分别为0.578、0.522、0.479, P 分别为0.000、0.000和0.001; ALB水平与LAMP2表达呈负相关($r = -0.335$, $P = 0.024$). PT、FIB、IgM、IgG与LAMP2表达无显著性相关, r 分别为0.071、0.221、-0.052和-0.004, P 分别为0.641、0.145、0.735和0.98, 如表3所示.

GGT、ALP、DBIL、ALB在不同蛋白表达强度下中位值差异具有统计学意义(χ^2 分别为14.877、13.829、10.215、7.774, P 分别为0.001、0.001、0.006、0.021); GGT在LAMP2表达+++组平均值显著高于-/+组($Z = -3.655$, $P = 0.000$)及++组($Z = -2.256$, $P = 0.000$); ALP在不同蛋白表达强度下中位值两两间差异均具有统计学意义($t = -3.308$, $P = 0.021$; $Z = -2.546$, P

$= 0.001$; $Z = -2.044$, $P = 0.041$); DBIL在+++组中位值显著高于-/+组($Z = -3.339$, $P = 0.001$), ALB在-/+组中位值高于++组($t = 2.997$, $P = 0.019$)及+++组($Z = -2.964$, $P = 0.003$).

2.5 LAMP2表达强度与自身免疫性抗体的关系 PBC肝组织LAMP2表达强度与ANA、AMA、AMA-M2滴度间无显著性相关, r 分别为0.182、0.145和0.205, P 分别为0.231、0.391和0.224, 且三抗体滴度在不同蛋白表达强度下亦不存在明显差异(均 $P > 0.05$).

3 讨论

3.1 PBC肝脏病理分期与血清学指标 肝穿病理活检在PBC的诊断及疾病严重程度的判定中具有重要价值, 然此项操作为有创检查, 存在诸多禁忌症及并发症, 患者耐受性差, 因此, 寻找能够预测PBC患者肝脏病理分期的临床指标显得

■创新盘点

国内国外大量文献通过回顾性分析原发性胆汁性肝硬化患者临床表现、生化检查、肝穿病理特点, 总结该病相关诊疗要点, 为临床工作提供依据. 本文在此基础上, 进一步通过实验验证此病患者肝脏特异标志物的表达情况, 深层次探究原发性胆汁性肝硬化的发病机制, 具有一定的前瞻性.

■同行评价

论文以探讨原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白(LAMP2)表达及血清学指标三者间的关系为目标,是一个很好的选题,有较好的学术价值。

十分必要。

血清中GGT、ALP均主要来自肝脏,分布于肝细胞的毛细胆管侧和整个胆管系统,胆汁淤积时刺激肝细胞过度产生GGT及ALP,并通过胆汁酸渗析作用随淤积胆汁返流入血,因此,GGT及ALP能一定程度上反映肝胆系统疾病病变严重程度。马丽娜等^[5]曾报道GGT及ALP在PBC患者不同病理分期间存在显著差异,病理改变严重者GGT及ALP升高明显。我们的研究亦显示,GGT及ALP与肝脏病理分期间存在正相关关系,这与国内及国外Vleggaar等^[6]研究结果一致。血清DBIL的升高能反映胆管减少及肝硬化程度,随着PBC疾病程度进展,此项指标进行性升高,与患者的预后相关^[7]。本研究的结果与上述结论一致。ALB、PT、FIB均在一定程度上反映肝脏合成能力,但本研究显示,ALB与肝脏病理分期间相关系数仅为-0.295,PT及FIB与病理分期间无相关性,考虑(1)本研究样本量小,且为避免出现各种肝穿并发症,45例患者中7例在肝穿检查前输注新鲜冰冻血浆纠正凝血功能并补充ALB;(2)本研究中未能包含临床严重肝功能异常、凝血功能极差不适宜肝穿检查的患者。本研究分别将GGT、ALP和DBIL血清学水平与肝脏不同病理分期之间做ROC曲线,显示上述血清学指标不适合判定肝脏病理分期。

血清AMA或AMA-M2阳性是PBC最特征性免疫学指标,阳性率可达95%,是重要的早期诊断手段,我们的研究中,仅1例患者AMA及AMA-M2均阴性,阳性率达98%(44/45)。但我们的研究亦表明,AMA、AMA-M2滴度及IgM、IgG与PBC肝脏病理分期间均无相关性,王吉耀等^[8]回顾性分析及金燕等^[9]随访研究均显示AMA及AMA-M2阳性与临床病情无关。

3.2 LAMP2与PBC LAMP2基因定位于Xq24-q25,主要表达在胎盘、肝脏、肺脏,蛋白定位于内体膜、溶酶体膜、细胞膜,并穿梭于三种膜成分之间^[10]。LAMP2确切功能尚不清楚,既往普遍认同LAMP2为一种结构蛋白,其特殊结构可防止溶酶体内强酸环境对溶酶体膜的自身溶解^[11];但近年研究发现,LAMP2在自身免疫性疾病的发生中发挥重要调控作用^[12],直接参与了中性粒细胞的黏附、自噬和抗原递呈^[13],被作为一种新的ANCA亚型提出^[1],Kain等^[14]发现LAMP2自身抗体参与微量局灶坏死性肾小球肾炎的发生。

王璐等^[15]研究发现LAMP2在PBC患者肝脏

组织表达强度与其病理分期呈正相关,可能参与肝细胞胆汁异常排泄过程,在PBC发病机制中发挥重要作用。我们的研究也证实,LAMP2与PBC肝脏病理分期间呈正相关,且LAMP2与GGT、ALP、DBIL等反映胆管病变程度的生化指标间也存在正相关关系。因此,我们推测,LAMP2在肝脏组织的表达异常可能参与PBC发病过程。

总之,在无法获得肝脏病理组织学资料时,定期检测肝功能、血凝、自身免疫性抗体、免疫球蛋白等临床指标有助于了解PBC病情程度,但不能对肝脏病理分期进行判定;因此,肝穿仍是PBC的重要诊断手段。LAMP2可能参与PBC发病过程,但具体发病机制问题有待进一步研究探讨。

4 参考文献

- 1 王学祥. 肝穿穿刺活检在肝硬化诊断与治疗方面的意义. 中国实用医学 2011; 6: 108-109
- 2 Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, Kerjaschki D. A novel class of auto-antigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 181: 585-597 [PMID: 7836914 DOI: 10.1084/jem.181.2.585]
- 3 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31: 1005-1013 [PMID: 10733559 DOI: 10.1053/he.2000.5984]
- 4 Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991; 13: 372-374 [PMID: 1808228 DOI: 10.1016/0168-8278(91)90084-O]
- 5 马丽娜, 黄雁翔, 曹振环, 陈新月. 53例原发性胆汁性肝硬化临床和病理分析. 实用肝脏病杂志 2008; 11: 166-168
- 6 Vleggaar FP, Van Ooteghem NA, Van Buuren HR, Van Berge Henegouwen GP. Cholestatic liver diseases: slow progress in understanding and treating slowly progressive disorders. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2000; (232): 86-92 [PMID: 11232499]
- 7 Longo M, Crosignani A, Battezzati PM, Squarcia Giussani C, Invernizzi P, Zuin M, Podda M. Hyperlipidaemic state and cardiovascular risk in primary biliary cirrhosis. *Gut* 2002; 51: 265-269 [PMID: 12117892 DOI: 10.1136/gut.51.2.265]
- 8 王吉耀, 蒋伟, 高虹, 贺伯明, 刘文滨. 原发性胆汁性肝硬化的临床及病理学特征. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 334-337
- 9 郭婧婧, 金燕, 张运丽. 原发性胆汁性肝硬化患者血清相关自身抗体检测及其临床意义. 医学临床研究 2006; 23: 1425-1427
- 10 Sawada R, Jardine KA, Fukuda M. The genes of major lysosomal membrane glycoproteins, lamp-1 and lamp-2. 5'-flanking sequence of lamp-2 gene and comparison of exon organization in two genes. *J Biol Chem* 1993; 268: 9014-9022 [PMID: 8517882]

- 11 Hunziker W, Simmen T, Höning S. Trafficking of lysosomal membrane proteins in polarized kidney cells. *Nephrologie* 1996; 17: 347-350 [PMID: 8987042]
- 12 Schneede A, Schmidt CK, Hölttä-Vuori M, Heeren J, Willenborg M, Blanz J, Domanskyy M, Breiden B, Brodesser S, Landgrebe J, Sandhoff K, Ikonen E, Saftig P, Eskelinen EL. Role for LAMP-2 in endosomal cholesterol transport. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 280-295 [PMID: 19929948 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00973.x]
- 13 Saftig P, Beertsen W, Eskelinen EL. LAMP-2: a control step for phagosome and autophagosome maturation. *Autophagy* 2008; 4: 510-512 [PMID: 18376150]
- 14 Kain R, Exner M, Brandes R, Ziehermayr R, Cunningham D, Alderson CA, Davidovits A, Raab I, Jahn R, Ashour O, Spitzauer S, Sunder-Plassmann G, Fukuda M, Klemm P, Rees AJ, Kerjaschki D. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med* 2008; 14: 1088-1096 [PMID: 18836458 DOI: 10.1038/nm.1874]
- 15 王璐. 原发性胆汁性肝硬化相关抗体1F9的抗原分离及鉴定. 第四军医大学, 2012

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳

■背景资料

糖尿病(diabetes mellitus, DM)胃肠动力障碍与胃肠道自主神经、Cajal间质细胞及平滑肌细胞病变相关, 平滑肌病变在DM胃肠动力障碍中的研究已成为重点, 其中DM结肠平滑肌细胞内钙离子信号通路异常, 导致钙离子浓度异常, 是本病的病理基础之一。

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029

朱滢, 在读硕士, 主要从事胃肠动力性疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270462

江苏省国际合作基金资助项目, No. BZ2011044

作者贡献分布: 该课题由王云、朱滢及林琳共同设计; 研究过程由朱滢、孙晓萌及巩尧瑶操作完成; 研究所用试剂及分析工具由巩尧瑶与朱滢提供; 数据分析由朱滢与王庆娥完成; 论文撰写由朱滢完成; 林琳与王云协助课题设计并修改论文。

通讯作者: 林琳, 教授, 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科. lin9100@aliyun.com
电话: 025-68136920

收稿日期: 2013-12-06 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner

Ying Zhu, Qing-E Wang, Yun Wang, Yao-Yao Gong, Xiao-Meng Sun, Lin Lin

Ying Zhu, Qing-E Wang, Yun Wang, Yao-Yao Gong, Xiao-Meng Sun, Lin Lin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81270462; the International Science and Technology Cooperation Program of Jiangsu Province, No. BZ2011044

Correspondence to: Lin Lin, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lin9100@aliyun.com

Received: 2013-12-06 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of advanced glycation end products (AGEs) on intracellular calcium concentration in isolated colonic smooth muscle cells and the possible mechanisms involved.

METHODS: Colonic smooth muscle cells were

isolated from normal adult rats, and immunofluorescence staining for α -actin was used to identify smooth muscle cells. The responsiveness of colonic smooth muscle cells to AGEs was measured by confocal laser scanning microscopy. Intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) was determined by Fluo3/AM based digital microfluorimetric measurement. Protein kinase C (PKC) activity was detected by PKC activity assay. PKC inhibitor chelerythrine was used to examine the role of PKC in AGEs-mediated inhibition of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in colonic smooth muscle cells.

RESULTS: Colonic smooth muscle cells were successfully isolated from normal rats and identified by immunofluorescence staining. AGEs inhibited $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in a concentration-dependent manner. AGEs at a concentration of 50 or 100 $\mu\text{g/mL}$ significantly inhibited the mean $[\text{Ca}^{2+}]_i$ compared with the control group ($56.7\% \pm 3.6\%$, $78.6\% \pm 5\%$ vs $99.6\% \pm 3.1\%$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). PKC activity increased in SMCs treated with 50 $\mu\text{g/mL}$ or 100 $\mu\text{g/mL}$ of AGEs compared with the control group. Pretreatment with chelerythrine ($1 \mu\text{mol/L}$) reduced AGEs-mediated inhibition of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ($70.7\% \pm 3.7\%$ vs $87.1\% \pm 2.5\%$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: AGEs inhibit $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in colonic smooth muscle cells in a PKC-dependent manner.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Advanced glycation end products; Smooth muscle cell; Protein kinase C; Ca^{2+}

Zhu Y, Wang QE, Wang Y, Gong YY, Sun XM, Lin L. Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 874-879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.874>

■同行评议者

刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所

摘要

目的: 探讨糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)对结肠平滑肌细胞内钙离子浓度的影响及可能机制。

方法: 酶解法分离培养SD大鼠结肠平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC), α -actin免疫荧光鉴定; 激光共聚焦显微镜检测(SMC)钙闪烁; 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活性检测试剂盒检测细胞PKC活性。

结果: 细胞免疫荧光鉴定大鼠结肠SMC。不同浓度AGEs(50、100 $\mu\text{g/mL}$)刺激结肠SMC后, 与对照组比较, 钙离子浓度显著降低($56.7\% \pm 3.6\%$ 、 $78.6\% \pm 5\%$ vs $99.6\% \pm 3.1\%$, $P < 0.05$, $P < 0.01$), 50 $\mu\text{g/mL}$ 为体外最大有效浓度。与对照组相比, AGEs(50、100 $\mu\text{g/mL}$)升高细胞内PKC活性。PKC抑制剂chelerythrine可阻断AGEs介导的钙离子浓度降低($70.7\% \pm 3.7\%$ vs $87.1\% \pm 2.5\%$, $P < 0.05$)。

结论: AGEs可激活PKC通路、从而降低胞内钙离子的浓度, 最终抑制大鼠结肠平滑肌收缩。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 糖基化终末产物; 结肠平滑肌细胞; 蛋白激酶C; 钙离子

核心提示: 本研究提示糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)可激活结肠平滑肌细胞内的蛋白激酶C(protein kinase C, PKC), PKC磷酸化下游底物丝/苏氨酸残基, 调节结肠平滑肌细胞内钙离子浓度, 参与细胞收缩等功能。

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳. 蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 874-879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.874>

0 引言

糖尿病胃肠动力障碍是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的慢性并发症之一, 发生于75%的DM患者^[1,2]。糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)在DM患者血清及各种组织中均显著升高, 他与DM肾病、DM血管病变的研究颇多, 与DM胃肠动力障碍的研究很少^[3,4]。细胞外钙内流和内钙释放是平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)收缩的决定因素; DM结肠

SMC内钙离子信号通路异常, 导致钙离子浓度异常^[5,6]。本文探讨AGEs是否影响结肠SMC内钙离子浓度及可能机制, 为DM胃肠道动力障碍的研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠, 体质量150-200 g, 由南京医科大学实验动物中心提供; DMEM培养基、胎牛血清、青链霉素混悬液、大豆胰蛋白酶抑制剂(Gibco, USA); α -actin抗体(Abgent, USA); AGEs(Merck Millipore, Germany); FITC标记山羊抗大鼠IgG二抗(Bioworld, USA); 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)检测试剂盒(Enzo, USA); PKC抑制剂chelerythrine、II型胶原酶(Sigma, USA); Fluo-3/AM(Invitrogen, USA)。

1.2 方法

1.2.1 结肠SMCs的分离及原代培养: SD大鼠断颈处死, 快速自肛门上2 cm取结肠10 cm左右, 用Hepes-Ringer缓冲液反复冲洗, 去除黏膜和浆膜层、剪碎平滑肌组织、加入消化液(0.1%的II型胶原酶和0.01%的大豆胰蛋白酶抑制剂)消化、离心, 含10%胎牛血清及DMEM培养液重悬细胞、过筛; 锥虫蓝染色确认细胞活力 $>90\%$, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 、95% O_2 和5% CO_2 条件下培养, SMCs长至致密单层时, 传代培养, 采用2代SMCs进行实验。

1.2.2 结肠SMCs的鉴定: 取对数生长期的SMCs, 胰蛋白酶消化、制成单细胞悬液、接种到放有载玻片的培养皿中、 CO_2 培养箱培养1-3 d, 待SMCs长至单层时, 吸去培养液, PBS冲洗、冰丙酮固定、PBS冲洗、BSA封闭30 min后吸去、加 α -actin一抗(1:100), 阴性对照不加一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS冲洗; 加羊抗兔IgG二抗(1:500), 室温避光湿盒中孵育1 h, 冲洗、hoechst33258染核3 min、PBS冲洗、封片、镜下观察特异性荧光。

1.2.3 细胞内钙离子浓度的检测: 用DMSO溶解的Fluo-3/AM为钙荧光探针, SMCs接种于玻底皿中, PBS冲洗后, 加5 $\mu\text{mol/L}$ 的Fluo-3/AM, 置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、95% O_2 和5% CO_2 孵育箱40 min、PBS冲洗; 激光共聚焦显微镜激发光波488 nm, 发射光波为515 nm, 采样间歇为2 s, 记录单个SMC在给予AGEs前后荧光强度变化(荧光强度表示为F/F₀, F₀为初始荧光强度)。

1.2.4 PKC活性检测: 蛋白裂解液提取各组细胞蛋白, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12000 r/min、5 min、取上清, BCA法测定蛋白总量, 加待检样品30 μL 于包被的反应孔中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h, 洗涤、加酶标抗体30 μL ,

■ 研发前沿

糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)在DM患者血清及各种组织中均显著升高, 他与DM肾病、DM血管病变的研究颇多。但AGEs与DM结肠平滑肌病变相关迄今为止尚未报道。

■相关报道

国内外研究报道DM胃肠动力障碍存在胃肠道平滑肌病变,且DM结肠平滑肌细胞内存在钙离子信号通路异常.

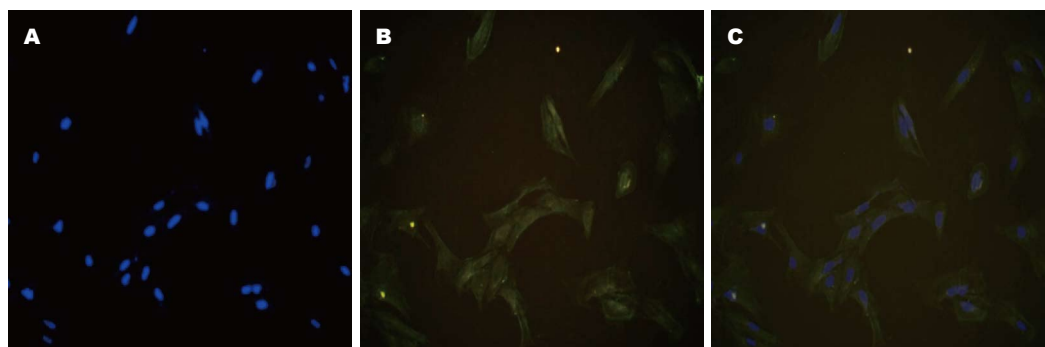


图1 大鼠结肠SMC鉴定(细胞免疫荧光×200). A: Hoechst33258染色细胞核(蓝色); B: α -actin染色(绿色); C: 融合.

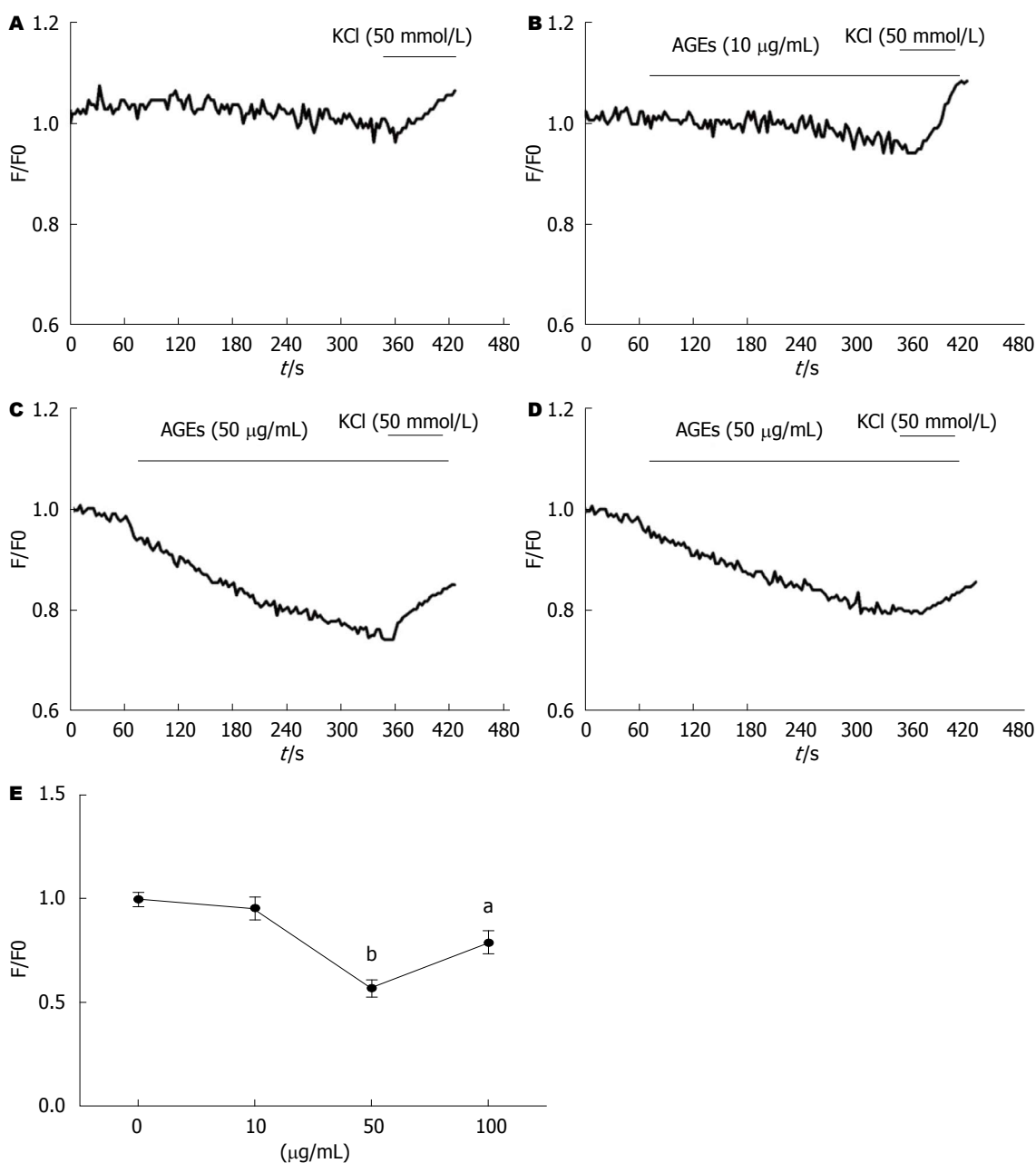


图2 Fluo-3/AM负载大鼠结肠SMC钙离子, 给予不同浓度AGEs荧光强度的变化. A: 对照组; B: 10 μ g/mL AGEs; C: 50 μ g/mL AGEs; D: 100 μ g/mL AGEs; E: 不同浓度AGEs介导结肠SMC荧光强度, 用F/F0表示, F: 实时荧光强度; F0: 基础荧光强度. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

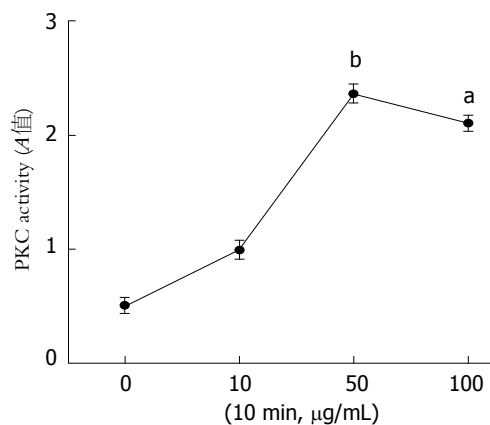


图3 不同浓度AGEs对结肠SMC中PKC活性的影响. AGEs在50 $\mu\text{g/mL}$ 和100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 升高细胞内PKC活性. ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照组.

室温孵育2 h, 洗涤、加显色液30 μL 、显色30-45 min、终止反应, 在450 nm波长读板.

统计学处理 采用SPSS17.0软件包分析, 非参数检验之K-S检验进行数据正态性分析, 各组数据均呈正态分布, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 各组间比较采用单因素方差分析和成组 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 结肠SMCs鉴定(免疫荧光) 细胞核Hoechst染色呈蓝色, 大部分细胞 α -actin荧光反应阳性, 细胞呈梭形(胞质见红色荧光)(图1).

2.2 不同浓度AGEs对结肠SMCs中钙离子浓度的影响 与对照组相比, AGEs在50和100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 降低Fluo-3/AM负载的钙离子荧光强度($56.7\% \pm 3.6\%$ 、 $78.6\% \pm 5\%$ vs $99.6\% \pm 3.1\%$, $P<0.05$, $P<0.01$), 说明AGEs可降低SMCs内钙离子浓度; AGEs在10 $\mu\text{g/mL}$ 时, 与对照组的差异无统计学意义; 实验结束后加入50 mmol/L氯化钾, 钙离子显著升高表示细胞活性良好(图2).

2.3 不同浓度AGEs对结肠SMCs中PKC活性的影响 与对照组相比, AGEs在50 $\mu\text{g/mL}$ 和100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 升高细胞内PKC活性(2.3600 ± 0.0723 、 2.1060 ± 0.0625 vs 0.5123 ± 0.0614 , $P<0.05$, $P<0.01$), 而AGEs在10 $\mu\text{g/mL}$ 时, 与对照组差异无统计学意义(图3).

2.4 PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低 预先给予PKC抑制剂chelerythrine(1 $\mu\text{mol/L}$)可显著升高Fluo-3/AM负载的钙离子荧光强度, 说明细胞内钙离子浓度明显增加; 再加入AGEs后荧光强度下降, 但下降较溶剂

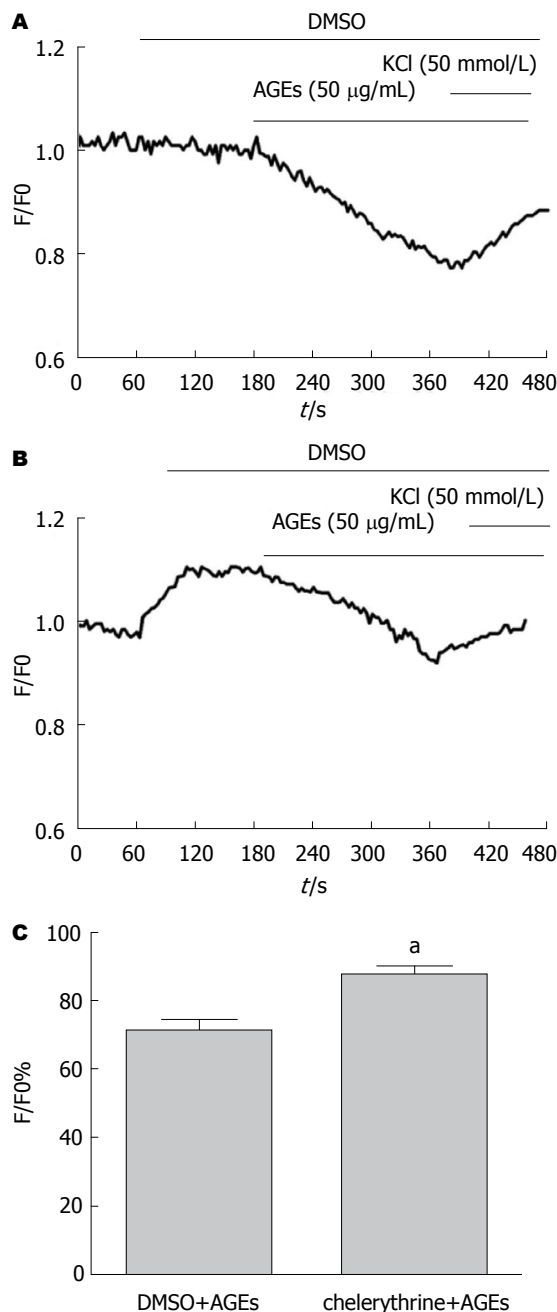


图4 PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低. A: 溶剂对照组; B: PKC抑制剂chelerythrine组; C: PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低, 用F/F0%表示, F: 实时荧光强度, F0: 基础荧光强度. ^a $P<0.05$ vs 溶剂对照组. AGEs: 糖基化终末产物.

对照组(DMSO, 1 μL)明显减少. 提示PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低($70.7\% \pm 3.7\%$ vs $87.1\% \pm 2.5\%$, $P<0.05$)(图4).

3 讨论

本实验证实: AGEs可以影响细胞内钙离子浓度, 其通过活化PKC, 来降低细胞内钙离子浓度; 而PKC抑制剂chelerythrine则可阻断AGEs降低细

■创新盘点

文本首次采用激光共聚焦的方法观测AGEs对结肠平滑肌细胞内钙离子浓度的影响及可能机制, 为DM胃肠道动力障碍研究提供依据.

■应用要点

本研究提示AGEs抑制结肠平滑肌细胞内钙离子浓度,可能是DM胃肠动力障碍的相关机制,为临床治疗DM胃肠动力障碍提供治疗靶点。

胞内钙离子浓度的作用。提示PKC参与了AGEs抑制大鼠结肠SMCs钙信号的作用,减少钙离子释放^[7,8]。

细胞外钙内流和内钙释放是SMCs收缩的决定因素,经典的钙致敏平滑肌收缩机制是:钙离子与钙调蛋白结合,再结合并激活肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK),激活的MLCK磷酸化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC),促进肌动蛋白和肌球蛋白之间的横桥周期、导致平滑肌收缩。而肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)可使肌球蛋白轻链去磷酸化、导致平滑肌松弛^[9,10]。

研究发现PKC有多种亚型,其中 α 、 β 、 γ 等亚型主要分布于胃肠SMC上,PKC可被DAG、 Ca^{2+} 或磷脂激活,参与调节细胞收缩、细胞增殖、代谢和凋亡等多种过程^[11-13]。生理条件下,磷脂酶C(phospholipase C, PLC)激活,水解4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(4,5-phosphatidylinositol biphosphate, PIP2)产生三磷酸肌醇(inositol triphosphate, InsP3)和甘油二酯(diacylglycerides, DAG),InsP3与内质网上InsP3R结合、引起内质网钙离子释放,细胞内钙离子浓度升高;同时PKC活化负反馈调节钙离子的释放^[14-16],PKC这种保护性负反馈机制一方面源于细胞内钙过度释放、导致内质网自身应急信号的激活,另一方面可防止细胞内钙过度释放引起能量浪费和细胞损伤^[17,18];该生理过程决定着多种生物学效应,如钙依赖性酶和通道的激活,细胞收缩等^[19-21]。另有文献报道,其他一些蛋白激酶如PKG、PKA也能负反馈调节细胞内钙离子浓度,发挥相应的生物学功能^[22-24]。

文献报道AGEs在DM患者血清及组织中比正常人明显升高,他可通过氧化应激、糖基化修饰某些蛋白在DM并发症中起重要作用^[25,26]。本实验的新颖点:从DM结肠SMCs病变入手,探讨AGEs是否通过SMCs内钙离子途径、最终影响SMCs收缩的。遗憾的是:AGEs作用受体及信号通路尚不明确(尤其是胃肠平滑肌AGEs的作用受体不明),因此没有特异性受体拮抗剂^[27-29],不能直接证明AGEs降低SMCs内钙离子浓度的信号通路。另外,调节SMCs内钙离子的机制很多,AGEs是否影响细胞外钙离子内流?是作用于胞膜上T型钙通道或者L型钙通道还是抑制内质网上InsP3R3或ryanodine受体释放钙离子^[30]?仍有待研究证实。最后,SMCs内钙离子浓度的检测还

可以结合流式细胞术及膜片钳技术多重证实。

总之,AGEs可以降低结肠SMC内钙离子浓度从而抑制收缩。AGEs激活PKC降低细胞内钙离子浓度,是细胞内钙离子降低的重要因素。DM患者结肠动力障碍与患者血清及组织中AGEs增多相关,AGEs对结肠平滑肌是否有直接抑制作用,以及AGEs降低结肠SMCs内钙离子的其他机制,仍待研究。

4 参考文献

- 1 Chandrasekharan B, Anitha M, Blatt R, Shahnavaz N, Kooby D, Staley C, Mwangi S, Jones DP, Sitaraman SV, Srinivasan S. Colonic motor dysfunction in human diabetes is associated with enteric neuronal loss and increased oxidative stress. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 131-138, e26 [PMID: 20939847 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01611.x]
- 2 Wang YR, Fisher RS, Parkman HP. Gastroparesis-related hospitalizations in the United States: trends, characteristics, and outcomes, 1995-2004. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 313-322 [PMID: 18047541 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01658.x]
- 3 Neves D. Advanced glycation end-products: a common pathway in diabetes and age-related erectile dysfunction. *Free Radic Res* 2013; 47 Suppl 1: 49-69 [PMID: 23822116 DOI: 10.3109/10715762.2013.821701]
- 4 Zhao Z, Liu J, Shi B, He S, Yao X, Willcox MD. Advanced glycation end product (AGE) modified proteins in tears of diabetic patients. *Mol Vis* 2010; 16: 1576-1584 [PMID: 20806041]
- 5 Touw K, Chakraborty S, Zhang W, Obukhov AG, Tune JD, Gunst SJ, Herring BP. Altered calcium signaling in colonic smooth muscle of type 1 diabetic mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G66-G76 [PMID: 21979758 DOI: 10.1152/ajpgi.00183.2011]
- 6 Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, Dillmann WH. Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 2003; 278: 44230-44237 [PMID: 12941958 DOI: 10.1074/jbc.M303810200]
- 7 Yue C, Ku CY, Liu M, Simon MI, Sanborn BM. Molecular mechanism of the inhibition of phospholipase C beta 3 by protein kinase C. *J Biol Chem* 2000; 275: 30220-30225 [PMID: 10893237 DOI: 10.1074/jbc.M004276200]
- 8 Codazzi F, Teruel MN, Meyer T. Control of astrocyte Ca^{2+} oscillations and waves by oscillating translocation and activation of protein kinase C. *Curr Biol* 2001; 11: 1089-1097 [PMID: 11509231 DOI: 10.1016/S0960-9822(01)00326-8]
- 9 Gao N, Huang J, He W, Zhu M, Kamm KE, Stull JT. Signaling through myosin light chain kinase in smooth muscles. *J Biol Chem* 2013; 288: 7596-7605 [PMID: 23362260 DOI: 10.1074/jbc.M112.427112]
- 10 Ihara E, Chappellaz M, Turner SR, MacDonald JA. The contribution of protein kinase C and CPI-17 signaling pathways to hypercontractility in murine experimental colitis. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: e15-e26 [PMID: 22093175 DOI: 10.1111/

- j.1365-2982.2011.01821.x]
- 11 Young SH, Wu SV, Rozengurt E. Ca^{2+} -stimulated Ca^{2+} oscillations produced by the Ca^{2+} -sensing receptor require negative feedback by protein kinase C. *J Biol Chem* 2002; 277: 46871-46876 [PMID: 12356761 DOI: 10.1074/jbc.M207083200]
 - 12 Janiak R, Wilson SM, Montague S, Hume JR. Heterogeneity of calcium stores and elementary release events in canine pulmonary arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C22-C33 [PMID: 11121373]
 - 13 Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 11-21 [PMID: 11413485 DOI: 10.1038/35036035]
 - 14 Hirose K, Kadowaki S, Tanabe M, Takeshima H, Iino M. Spatiotemporal dynamics of inositol 1,4,5-trisphosphate that underlies complex Ca^{2+} mobilization patterns. *Science* 1999; 284: 1527-1530 [PMID: 10348740]
 - 15 Berridge MJ. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *J Physiol* 2008; 586: 5047-5061 [PMID: 18787034 DOI: 10.1113/jphysiol.2008.160440]
 - 16 Lo KJ, Luk HN, Chin TY, Chueh SH. Store depletion-induced calcium influx in rat cerebellar astrocytes. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1383-1392 [PMID: 11906951 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704594]
 - 17 Montero M, Lobatón CD, Gutierrez-Fernández S, Moreno A, Alvarez J. Modulation of histamine-induced Ca^{2+} release by protein kinase C. Effects on cytosolic and mitochondrial $[\text{Ca}^{2+}]$ peaks. *J Biol Chem* 2003; 278: 49972-49979 [PMID: 14523015 DOI: 10.1074/jbc.M308378200]
 - 18 Hajnóczky G, Davies E, Madesh M. Calcium signalling and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 445-454 [PMID: 12729578 DOI: 10.1016/S0006-291X(03)00616-8]
 - 19 Zhu J, Chen L, Xia H, Luo HS. Mechanisms mediating CCK-8S-induced contraction of proximal colon in guinea pigs. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1076-1085 [PMID: 20205277 DOI: 10.3748/wjg.v16.i9.1076]
 - 20 Gong YY, Si XM, Lin L, Lu J. Mechanisms of cholecystokinin-induced calcium mobilization in gastric antral interstitial cells of Cajal. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7184-7193 [PMID: 23326123 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7184]
 - 21 Schöfl C, Börger J, Mader T, Waring M, von zur Mühlen A, Brabant G. Tolbutamide and diazoxide modulate phospholipase C-linked Ca^{2+} signaling and insulin secretion in beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E639-E647 [PMID: 10751197]
 - 22 Murthy KS. cAMP inhibits $\text{IP}(3)$ -dependent Ca^{2+} release by preferential activation of cGMP-primed PKG. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1238-G1245 [PMID: 11668033]
 - 23 Soulsby MD, Wojcikiewicz RJ. The type III inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is phosphorylated by cAMP-dependent protein kinase at three sites. *Biochem J* 2005; 392: 493-497 [PMID: 16107208 DOI: 10.1042/BJ20051325]
 - 24 Straub SV, Giovannucci DR, Bruce JL, Yule DI. A role for phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in defining calcium signals induced by Peptide agonists in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 31949-31956 [PMID: 12065595 DOI: 10.1074/jbc.M204318200]
 - 25 Fujimoto E, Kobayashi T, Fujimoto N, Akiyama M, Tajima S, Nagai R. AGE-modified collagens I and III induce keratinocyte terminal differentiation through AGE receptor CD36: epidermal-dermal interaction in acquired perforating dermatosis. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 405-414 [PMID: 19865095 DOI: 10.1038/jid.2009.269]
 - 26 Wei Q, Ren X, Jiang Y, Jin H, Liu N, Li J. Advanced glycation end products accelerate rat vascular calcification through RAGE/oxidative stress. *BMC Cardiovasc Disord* 2013; 13: 13 [PMID: 23497312 DOI: 10.1186/1471-2261-13-13]
 - 27 Vlassara H, Striker GE. AGE restriction in diabetes mellitus: a paradigm shift. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 526-539 [PMID: 21610689 DOI: 10.1038/nrendo.2011.74]
 - 28 Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. Receptor for AGE (RAGE) and its ligands-cast into leading roles in diabetes and the inflammatory response. *J Mol Med (Berl)* 2009; 87: 235-247 [PMID: 19189073 DOI: 10.1007/s00109-009-0439-2]
 - 29 Fujita T. AGE/RAGE axis in the development of abdominal aortic aneurysm. *Ann Surg* 2010; 252: 203-25; author reply 205 [PMID: 20562684 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181e495e6]
 - 30 Dabertrand F, Nelson MT, Brayden JE. Ryanodine receptors, calcium signaling, and regulation of vascular tone in the cerebral parenchymal microcirculation. *Microcirculation* 2013; 20: 307-316 [PMID: 23216877 DOI: 10.1111/micc.12027]

同行评价

本文有一定的学术价值, 研究论点新颖, 为探索DM胃肠动力障碍、平滑肌病变提供了新思路。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋

■背景资料

大多数结直肠癌是经过腺瘤-腺癌的途径发生的, 因此对结直肠腺瘤的早期诊断及内镜下治疗是减少结直肠癌发生的重要干预措施。结直肠腺瘤多以息肉样形态存在, 因此如何简单、准确地在内镜下识别腺瘤性息肉对决定进一步治疗措施是非常重要的。以往的研究均基于放大内镜完成, 由于受放大结肠镜普及受限未能在临床上广泛推广。

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038

司空银河, 北京大学医学部2011级在读硕士, 主要从事消化内镜方面的研究。

作者贡献分布: 本文由林香春与司空银河设计; 研究过程由司空银河、林香春、吴静、刘揆亮、蔺武、魏南、姜国俊、刘红、台卫平、宿慧及刘芳勋完成; 数据分析由司空银河、刘揆亮及林香春完成; 论文写作由司空银河与林香春完成。

通讯作者: 林香春, 副教授, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁匠路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科。

xiangchunlin@hotmail.com

电话: 010-63926370 传真: 010-63926211

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-1-13

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-02-28

Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps

Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Kui-Liang Liu, Wu Lin, Nan Wei, Guo-Jun Jiang, Hong Liu, Wei-Ping Tai, Hui Su, Fang-Xun Liu

Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Kui-Liang Liu, Wu Lin, Nan Wei, Guo-Jun Jiang, Hong Liu, Wei-Ping Tai, Hui Su, Fang-Xun Liu, Department of Gastroenterology, Capital Medical University Affiliated Beijing Shijitan Hospital, Beijing 100038, China

Correspondence to: Xiang-Chun Lin, Chief Physician, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Capital Medical University Affiliated Beijing Shijitan Hospital, 10 Yangfangdian Teyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. xiangchunlin@hotmail.com

Received: 2013-12-05 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To systemically evaluate the value of narrow-band imaging international colorectal endoscopic (NICE) classification in differentiating neoplastic and non-neoplastic colorectal polypoid lesions.

METHODS: A series of 60 white-light endoscopy (WLE) and narrow-band imaging (NBI) images of colorectal polyps were studied. They were subjected to 10 raters to predict the pathology using NICE classification, and those 10 raters were divided into 2 groups, NBI-experienced group and NBI-beginner group. The histopa-

thology was used as the gold standard to calculate the specificity, sensitivity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of NICE classification in predicting pathology of colorectal polyps, and compare if there were significant differences between the two groups in sensitivity, specificity and accuracy.

RESULTS: The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps were 99.33%, 64.67%, 82.00%, 74.40% and 98.95%, respectively, in the NBI-experienced group, and 91.33%, 66.00%, 78.67%, 73.70% and 90.16%, respectively, in the NBI-beginner group. There was no significant difference between the two groups in sensitivity, specificity and accuracy. The interobserver agreement was good.

CONCLUSION: Use of NICE classification in NBI colonoscopy could effectively distinguish neoplastic and non-neoplastic colorectal polyps, and it could be used by both NBI experienced endoscopists and NBI beginners.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification classification; Colorectal polyps; Narrow-band imaging

Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu KL, Lin W, Wei N, Jiang GJ, Liu H, Tai WP, Su H, Liu FX. Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 880-884
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/880.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.880>

摘要

目的: 系统评价基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE)对结直肠息肉样病变性质的诊断价值。

方法: 10名医师分为NBI有经验组及NBI初学

■同行评议者

张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院

组, 独立读取入选的54例患者的60枚结直肠息肉的常规内镜下及NBI模式下的图片。根据NICE分类预测息肉为肿瘤性或非肿瘤性, 以组织病理学结果为金标准分别计算两组诊断肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值; 比较两组准确率、敏感性、特异性有无差异; 评价观察者间一致性。

结果: NICE分类诊断肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值在有经验组分别为99.33%、64.67%、82.00%、74.40%及98.95%; 在初学者组分别为91.33%、66.00%、78.67%、73.70%及90.16%。两组敏感性、特异性及准确率无显著差异。观察者间一致性良好。

结论: NICE分型在鉴别肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较可靠的诊断价值, 不仅适用于NBI有经验者, 亦适用于NBI初学者。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: NICE分类; 结直肠息肉; NBI

核心提示: 本文采用基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE), 由2组医生(NBI有经验组及NBI初学者组)对60枚结肠息肉样病变进行读片并预测其为肿瘤性或非肿瘤性病变, 计算各组的诊断敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值, 并比较组内、组间一致性。结果显示NICE分类系统在预测息肉的肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较高的敏感性及准确率, 组内及组间一致性良好。提示NICE分类系统简便、易学、准确性高, 具有重要的临床应用价值。

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋. NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 880-884
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/880.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.880>

0 引言

由于我国生活节奏加快、饮食习惯改变等原因, 结直肠癌的发病率逐年上升。大多数结直肠癌是经过腺瘤-腺癌的途径发生的, 因此对结直肠腺瘤的早期诊断及治疗是减少结直肠癌发生的重要干预措施。结直肠腺瘤多以息肉样形态存在, 如何简单、准确地在内镜下预测息肉样病

变的组织学类型是临床亟需解决的问题。NICE分类作为非放大内镜下的分类系统, 在预测息肉的组织学类型方面具有较高的准确率^[1,2], 因其简便易行而逐渐受到重视, 国内尚无系统的研究。本研究旨在系统研究NICE分类鉴别结直肠肿瘤性与非肿瘤性息肉的有效性及其实用性。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-12/2012-11在我院接受结肠镜检查的54例患者, 共60枚息肉, 其中增生性息肉及腺瘤各30枚。由我院消化内科10名医师参与本研究, 根据NICE分类采用盲法对入选的内镜图片进行读片及结果判定。由另外一名医师对判定结果进行记录和分析。

1.2 方法

1.2.1 息肉入选标准: (1)采用奥林巴斯CF-260H结肠镜进行检查, 发现息肉样病变; (2)直肠息肉大小3-20 mm; (3)保存清晰的白光模式及NBI模式的近距离采取的图像; (4)有完整的病理组织学诊断结果。

1.2.2 息肉排除标准: (1)图像质量差, 影响判断结果者; (2)家族性结肠息肉病; (3)遗传性非息肉性结肠癌; (4)结肠息肉样病变做活检; (5)存在多个息肉, 影响内镜形态和病理结果的一对一判定。

1.2.3 评价标准: (1)NICE分类系统: Hewett等^[1,3]提出NICE分类系统, 根据结直肠息肉表面颜色、血管结构及表面结构分3型, 根据分型判定为增生性息肉、腺瘤(包括黏膜内癌和黏膜下浅层浸润癌)或黏膜下深层浸润癌(表1, 图1); (2)NICE分类判定方法: 10名医师按照颜色、血管及表面结构3项内容仔细判读60张图片, 根据NICE分类标准判定为1型或2型, 3条标准中符合2条以上即可判定。1型为非肿瘤性病变, 2型为肿瘤性病变; (3)病理学判定标准: 病变部位取活检1-3块或经内镜下切除标本, 用40 g/L甲醛溶液固定、石蜡包埋、切片后行HE染色。由1位病理医师最终判定。肿瘤性及非肿瘤性息肉按照WHO分类标准判定^[4]。

1.2.4 医师分组: 参加读片的10位医师根据应用NBI经验分为2组: 熟练组: NBI经验在5年以上; 初学者组: NBI经验不足5年^[5]。

统计学处理 用SPSS19.0软件进行统计学分析。计量资料采用mean±SD表示。计算NICE分类诊断结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值。应用独立样本t检验比较两组准确率、敏感

■ 研发前沿

基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE)作为非放大内镜下的分类系统, 在预测息肉的组织学类型方面具有较高的准确率, 其简便、易行, 便于在临床推广应用, 但尚无国内应用的报道。

■ 相关报道

2011年Hewett等提出NBI观察的NICE,建立了1型及2型的判定标准,对<1 cm的结直肠息肉的实时诊断准确率为89%,敏感性为98%,阴性预测值为95%;Hewett等研究提示其在鉴别远端结肠肿瘤性及非肿瘤性病变的准确率、特异性及敏感性分别为97.7%、93.9%、98.4%,在<5 mm的息肉中具有同样的诊断价值。

表 1 NICE分类系统

	1型	2型	3型
颜色	与背景黏膜相近或更亮	相对背景黏膜偏棕色(需确认颜色变化是由血管所致)	相对背景黏膜呈棕色或深棕色,有时伴有片状白色区域
血管结构	病灶表面缺乏血管或可能仅有孤立的丝状血管	增粗的棕色血管围绕白色结构	部分区域血管明显不规则或缺失
表面结构	均匀一致的深色或白点,或没有明显的结构	棕色血管围绕下的卵圆形、管状或分支状白色结构	结构不规则或缺乏结构
最可能的病理类型	增生性息肉	腺瘤(包括黏膜癌及黏膜下浅层浸润癌)	黏膜下深层浸润癌

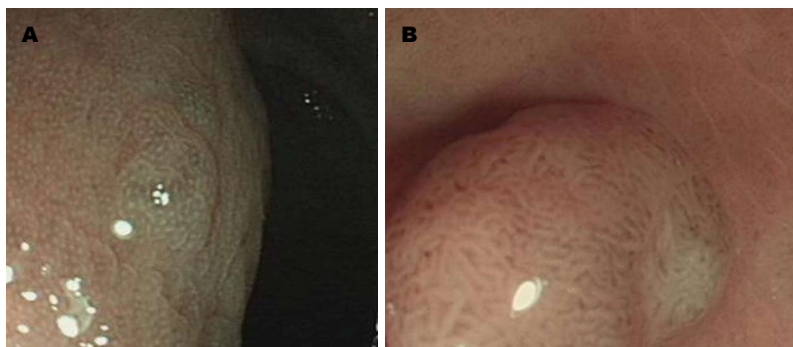


图 1 NICE分类下的典型增生性息肉和典型腺瘤。A: 典型增生性息肉: 颜色与周围黏膜相同, 表面缺乏血管结构, 可见均匀一致的白色点状结构; B: 典型腺瘤: 颜色较周围黏膜更显棕色, 可见增粗的棕色血管围绕的管状结构。

性及特异性的差异。Kappa检验评价观察者间一致性。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 符合入选标准的54例患者、60枚结直肠息肉中, 男性33例, 女性21例, 平均年龄70.67岁±10.04岁, 息肉平均大小8.30 mm±3.52 mm。25枚息肉位于右半结肠, 30枚位于左半结肠, 5枚位于直肠。无蒂型(Is型)息肉40枚, 亚蒂型(Isp型)息肉17枚, 有蒂型(Ip型)息肉3枚。

2.2 病理结果 60枚息肉包括非肿瘤性息肉30枚(增生性息肉及炎性息肉), 肿瘤性息肉30枚(全部为腺瘤)。

2.3 NICE分类对结直肠息肉性质的判定

2.3.1 两组的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值: 如表2所示, NICE分类诊断结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉在有经验组的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值、阴性预测值分别为99.33%、64.67%、82.00%、74.40%及98.95%; 在初学组分别为91.33%、66.00%、78.67%、73.70%及90.16%。

2.3.2 两组敏感性、特异性及准确率的比较: 如表2所示, 有经验组与初学组的准确率、敏感性、特异性经独立样本t检验的P值分别为0.127、0.844、0.240, 无显著差异。

2.3.3 观察者间一致性: 用Kappa检验评估观察者间一致性。Kappa值小于0.40为一致性较差, 在0.41-0.75间为一致性一般, >0.75为一致性良好。如表2所示, 有经验组Kappa值为0.93, 初学组Kappa值为0.76, 总体观察者间的Kappa值为0.83, 各观察者间一致性良好。

3 讨论

近年来结直肠癌发病率在我国已跃居恶性肿瘤的第3-5位, 特别是在大城市增幅更快^[6]。结直肠腺瘤属于结直肠癌的癌前病变, 经内镜下切除可降低结直肠癌的发病率^[7]。因此, 中国结直肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见建议对于结直肠癌的癌前病变行内镜下切除。结直肠腺瘤在内镜下大多以息肉样形态存在, 与增生性息肉相比具有较高的恶变潜能, 内镜下对息肉样病变的性质进行判定是内镜医师必备的能力, 也是目前研究的热点之一。工藤进英等^[8]于1993年提出pit pattern分类法, 在放大染色内镜下将结肠黏膜表面隐窝分为5型, 其中I-II型为增生性息肉, III-IV型为腺瘤, V型为结直肠癌, 成为结直肠病变诊断的经典分类方法而沿用至今, Eisen等^[9]的多中心研究结果显示采用pit pattern分类鉴别肿瘤性与非肿瘤性息肉的敏感性与特异性均为82%, 准确率为68%。Wada

表 2 NICE分类系统鉴别肿瘤性及非肿瘤性息肉

分组	<i>n</i>	敏感性(%) mean ± SD (95%CI)	特异性(%) mean ± SD (95%CI)	准确率(%) mean ± SD (95%CI)	阳性预测值(%) mean ± SD (95%CI)	阴性预测值(%) mean ± SD (95%CI)	一致性检验 Kappa (95%CI)
有经验组	5	99.33 ± 1.49 (98.00–100)	64.67 ± 6.91 (60.67–70.67)	82.00 ± 3.80 (79.67–85.32)	74.40 ± 3.81 (72.13–77.92)	98.95 ± 2.35 (96.84–100)	0.93 (0.88–0.97)
初学组	5	91.33 ± 9.31 (83.33–98.67)	66.00 ± 12.78 (57.34–77.34)	78.67 ± 4.47 (75.00–82.00)	73.70 ± 7.36 (68.90–80.50)	90.16 ± 10.19 (82.06–98.26)	0.76 (0.66–0.86)
总体	10						0.83 (0.79–0.87)
<i>t</i> 检验		<i>P</i> = 0.127	<i>P</i> = 0.844	<i>P</i> = 0.240			

95%CI: 95%置信区间。

等^[10]进行的大型前瞻性研究结果显示pit pattern分类鉴别肿瘤性与非肿瘤性息肉的敏感性与特异性分别为86.8%及96.2%。虽然这一分类方法具有较好的诊断准确率,但是由于染色、放大需要花费较多时间,很难在实际工作中大规模应用,而较多应用于临床科研。2009年佐野宁等^[11]提出毛细血管形态分类(capillary pattern, CP)法(佐野分类),即在放大内镜NBI模式下将黏膜表面的毛细血管网进行详细分类,其中I型为增生性息肉,II型为腺瘤,III型为结肠癌。其后有多篇有关CP分类的研究报道,其诊断准确率在85%-98%之间,对结直肠息肉样病变具有较好的诊断能力^[10,12-16]。CP分类不需要进行色素染色,具有准确率高、简便、省时的优势。但这一方法同样是放大结肠镜下的分类,而放大结肠镜在日本以外的国家普及率低,限制了国际上的广泛应用。因此,在临床工作中亟需一种不依赖放大结肠镜的简便、易行的分类方法。

2011年Hewett等提出NICE分类系统,在pit pattern分类及CP分类的基础上,在高清晰非放大NBI下分别对黏膜颜色、血管结构及表面结构进行判断,最后判定为非肿瘤性或肿瘤性息肉的方法。首先提出NICE分类系统中的1型及2型的判定标准^[1],如表1所示,1型对应增生性息肉,2型对应腺瘤(包括黏膜内癌及黏膜下浅层浸润癌),并报道了该分类系统对<1 cm的结直肠息肉的实时诊断准确率为89%,敏感性为98%,阴性预测值为95%。随后Hayashi等^[3]提出了NICE分类系统中3型的判定标准,如表1所示,3型对应黏膜下深层浸润癌,并报道了在任何1个3型判定标准存在时,诊断黏膜下深层浸润癌的敏感性为94.9%,阴性预测值为95.9%,并形成了完

整的NICE分类系统。NICE分类在非放大NBI下进行,不需要繁杂的染色过程,简便、易行,易于推广。随后的有关NICE分类的临床观察研究表明,其在鉴别远端结肠肿瘤性及非肿瘤性病变的准确率、特异性及敏感性分别为97.7%、93.9%、98.4%。在<5 mm的息肉中具有同样的诊断价值^[2]。然而,现有的几篇文献均为参与制定NICE分类系统的单位的研究,仍需在其他单位进一步探讨在实际临床推广中的效果以及是否简便易学等问题。

本研究将参与医师分为NBI熟练组及初学组,选取60枚息肉的常规模式和NBI模式下的图片并按NICE分类进行息肉的组织病理学预测。结果显示,两组的诊断准确率为80%左右,较上述文献报道偏低。其中两组的敏感性及阴性预测值高,尤其在有经验组两者均在95%以上,与文献报道相似,提示NICE分类系统在诊断非肿瘤性病变有可靠的应用价值,不易导致腺瘤的漏诊而贻误治疗。观察者间一致性方面,有经验组Kappa值0.93,初学组Kappa值0.76,总体Kappa值0.83,提示各观察者间一致性良好。两组诊断敏感性、特异性及准确率无显著差异。因此,NICE分类系统具有较高的诊断准确率,良好的观察者间一致性,不仅适用于有经验组,亦适用于初学组。

本研究结果中诊断的特异性及准确率较国外研究尚有一定差距^[1,2],分析其原因如下:(1)以往有关研究均由提出NICE分类的单位进行,较我们更熟悉NICE分类标准,尤其在非放大结肠镜下表面结构、表面血管的判定在部分病变存在一定的困难;(2)背景黏膜颜色对息肉颜色的判定有干扰,本研究包括了5例结肠黑变病的患

■创新盘点

本文首次在国内报道了NBI观察的NICE在预测结直肠息肉的组织学类型方面的能力,并比较了不同层次内镜医师应用NICE分类系统的能力,有一定的临床意义。

■同行评价

本文探讨了NBI观察的NICE在鉴别结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉方面的诊断价值,证实了其较高的敏感性及准确率,并比较了不同层次内镜医师应用NICE分类系统的能力,证实了NICE分类系统不仅适用于NBI有经验者,亦适用于NBI初学者,有一定的临床应用价值。内容客观,观点新颖,具有一定的科学意义。

者,由于背景黏膜呈棕色,按照NICE分类第1项及第2项容易将增生性息肉误判为腺瘤;(3)某些增生性息肉表面存在炎症时,由于颜色发红、水肿致黏膜表面隐窝结构开大,采用NICE分类判定时会出现比周围颜色深、隐窝结构呈管状结构、表面血管明显等情况,易误判为腺瘤;(4)个别图片清晰度较差,粪水覆盖或没有抵近观察图片,粪水在NBI下呈红色至深红色,影响颜色的判断,尤其初学者更易受到干扰因素的影响从而导致判定失误。因此,我们认为在应用NICE分型的过程中,清晰的图片及抵近观察表面结构是提高诊断准确率的有效方法。

本研究为单中心研究,采用回顾性方法判读内镜图片而非实时诊断,结果易受图片质量的影响,存在选择偏倚,与实际临床诊断有一定差别。需进行多中心、前瞻性以及实时判断的研究进一步证实NICE分类系统的临床应用价值。

NICE分类系统在鉴别结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较高的诊断价值,简便、易行,不仅适用于NBI有经验者,亦适用于NBI初学者,具有较好的临床应用价值。

4 参考文献

- Hewett DG, Kaltenbach T, Sano Y, Tanaka S, Saunders BP, Ponchon T, Soetikno R, Rex DK. Validation of a simple classification system for endoscopic diagnosis of small colorectal polyps using narrow-band imaging. *Gastroenterology* 2012; 143: 599-607. e1 [PMID: 22609383 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.006]
- Hewett DG, Huffman ME, Rex DK. Leaving distal colorectal hyperplastic polyps in place can be achieved with high accuracy by using narrow-band imaging: an observational study. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 374-380 [PMID: 22695207 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.446]
- Hayashi N, Tanaka S, Hewett DG, Kaltenbach TR, Sano Y, Ponchon T, Saunders BP, Rex DK, Soetikno RM. Endoscopic prediction of deep submucosal invasive carcinoma: validation of the narrow-band imaging international colorectal endoscopic (NICE) classification. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 625-632 [PMID: 23910062 DOI: 10.1016/j.gie.2013.04.185]
- Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon (France): IARC Press, 2010: 160-165
- Higashi R, Uraoka T, Kato J, Kuwaki K, Ishikawa S, Saito Y, Matsuda T, Ikematsu H, Sano Y, Suzuki S, Murakami Y, Yamamoto K. Diagnostic accuracy of narrow-band imaging and pit pattern analysis significantly improved for less-experienced endoscopists after an expanded training program. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 127-135 [PMID: 20493482 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.054]
- 赵平, 陈万青. 2010中国肿瘤登记年报. 北京: 军事医学科学出版社, 2011
- Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Waye JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM]
- Kudo S, Hirota S, Nakajima T, Hosobe S, Kusaka H, Kobayashi T, Himori M, Yagyu A. Colorectal tumours and pit pattern. *J Clin Pathol* 1994; 47: 880-885 [PMID: 7962600 DOI: 10.1136/jcp.47.10.880]
- Eisen GM, Kim CY, Fleischer DE, Kozarek RA, Carr-Locke DL, Li TC, Gostout CJ, Heller SJ, Montgomery EA, Al-Kawas FH, Lewis JH, Benjamin SB. High-resolution chromoendoscopy for classifying colonic polyps: a multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 687-694 [PMID: 11979251 DOI: 10.1067/mge.2002.123619]
- Wada Y, Kashida H, Kudo SE, Misawa M, Ikehara N, Hamatani S. Diagnostic accuracy of pit pattern and vascular pattern analyses in colorectal lesions. *Dig Endosc* 2010; 22: 192-199 [PMID: 20642608 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.00983.x]
- Sano Y, Ikematsu H, Fu KI, Emura F, Katagiri A, Horimatsu T, Kaneko K, Soetikno R, Yoshida S. Meshed capillary vessels by use of narrow-band imaging for differential diagnosis of small colorectal polyps. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 278-283 [PMID: 18951131 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.066]
- Rastogi A, Bansal A, Wani S, Callahan P, McGregor DH, Cherian R, Sharma P. Narrow-band imaging colonoscopy—a pilot feasibility study for the detection of polyps and correlation of surface patterns with polyp histologic diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 280-286 [PMID: 18155210 DOI: 10.1016/j.gie.2007.07.036]
- Yoo HY, Lee MS, Ko BM, Kim HK, Ahn HS, Han SH, Bae JY, Min SK, Lee JC, Ryu CB. Correlation of narrow band imaging with magnifying colonoscopy and histology in colorectal tumors. *Clin Endosc* 2011; 44: 44-50 [PMID: 22741112 DOI: 10.5946/ce.2011.1.44]
- 林香春, 吴静, 王沧海, 魏南, 刘红. 高清晰非放大结肠镜窄波成像模式对结肠息肉样病变变性的诊断. *中国内镜杂志* 2010; 16: 1243-1246
- Henry ZH, Yeaton P, Shami VM, Kahaleh M, Patrie JT, Cox DG, Peura DA, Emura F, Wang AY. Meshed capillary vessels found on narrow-band imaging without optical magnification effectively identifies colorectal neoplasia: a North American validation of the Japanese experience. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 118-126 [PMID: 20381799 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.048]
- Rex DK. Narrow-band imaging without optical magnification for histologic analysis of colorectal polyps. *Gastroenterology* 2009; 136: 1174-1181 [PMID: 19187781 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.009]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响

杜童, 韩琳, 牛洪欣

杜童, 韩琳, 牛洪欣, 山东省医学科学院附属医院 山东省济南市 250031

杜童, 硕士, 主管护师, 国家二级心理咨询师, 主要从事临床肿瘤心理学的研究。

作者贡献分布: 此研究经费及设计由牛洪欣提供; 研究过程由杜童与韩琳完成; 数据分析及论文写作由杜童完成; 研究过程及论文写作由牛洪欣提供技术支持和指导。

通讯作者: 牛洪欣, 副主任医师, 250031, 济南市天桥区无影山路38号, 山东省医学科学院附属医院微创外科。

sdblache@126.com

电话: 0531-61368951

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients

Tong Du, Lin Han, Hong-Xin Niu

Tong Du, Lin Han, Hong-Xin Niu, Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250031, Shandong Province, China

Correspondence to: Hong-Xin Niu, Deputy Chief Physician, Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Science, 38 Wuyingshan Road, Jinan 250031, Shandong Province, China. sdblache@126.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients.

METHODS: Ninety patients who were diagnosed with colorectal cancer and had completed clinical treatment were randomly divided into either a control group ($n = 45$) or an intervention group ($n = 45$). The intervention group was given psychological intervention five times, while the control group did not receive any intervention. The core quality of life questionnaire, self-rating anxiety scale (SDS) questionnaire and self-rating depression scale (SAS) questionnaire were administered to patients of both groups before and after intervention.

RESULTS: After intervention, the SDS and SAS scores in the intervention group were significantly

lower than those in the control group, although the social and psychological dimension scores were significantly higher in the intervention group ($P < 0.01$). The physical, function and symptom dimension score between the two groups was not statistically significant ($P > 0.05$). The control group had no significant changes in all aspects of quality of life, anxiety or depression.

CONCLUSION: Psychological intervention can improve quality of life, anxiety and depression and thereby promote recovery in colorectal cancer patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal carcinoma; Psychological intervention; Quality of life; Controlled study

Du T, Han L, Niu HX. Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 885-889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.885>

摘要

目的: 探讨心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响。

方法: 本研究采用病例随访研究, 将已确诊为结直肠癌且已完成临床治疗的90例患者, 随机分为对照组45例, 干预组45例。对干预组患者进行5次心理干预, 对照组患者不进行任何干预, 两组都采用生活质量核心问卷、焦虑自评问卷、抑郁自评问卷对患者进行2次调查, 分别为初测(干预前)、后测(5次心理治疗结束当周)。

结果: 与初测相比, 干预组被试干预后的抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)和焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)评分明显低于对照组, 且其社会、心理维度评分明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$),

■背景资料

研究发现多数肿瘤的发生发展均涉及到焦虑抑郁等心理因素, 肿瘤发生可影响患者的心理状态, 产生消极的心理反应, 使病情进一步加重或恶化。随着医学的发展, 传统的“生物”医学模式已被“生物-心理-社会”医学模式所取代, 改善患者的心理健康, 提高患者的生活质量, 对癌症的康复具有重要意义。

■同行评议者

崔莲花, 副教授, 青岛大学医学院公共卫生系

■研究前沿

研究显示,心理干预通过借鉴心理教育、认知行为、情感支持等心理治疗技术,改善癌症患者的情绪,减少心理痛苦,提高生活质量。在改善癌症患者焦虑情绪上,认知行为治疗、心理教育、放松训练及正念训练都有积极的效果,而在改善抑郁情绪上,认知行为治疗更为有效。

躯体和功能与症状维度评分两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。而对照组在生活质量各方面及焦虑抑郁情绪无明显改变。

结论:心理干预能够改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑抑郁情绪,促进康复。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; 心理干预; 生活质量; 对照研究

核心提示: 心理干预能够显著改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑抑郁情绪,促进康复。结直肠癌患者明显存在焦虑、抑郁情绪,免疫功能低下,长期处于这样的状态下,导致生活质量差,容易影响疾病的预后和转归。心理干预可有效改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑、抑郁情绪。积极、健康的心理状况有助于纠正低下的免疫功能,进而提高患者生活质量,帮助和促进结直肠癌患者康复乃至延长生存期。

杜童, 韩琳, 牛洪欣. 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 885-889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.885>

0 引言

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是消化系统常见的恶性肿瘤之一,据流行病学资料显示,该病的发病率及死亡率均呈逐年上升的趋势^[1]。研究发现多数肿瘤的发生发展均涉及到焦虑抑郁等心理因素^[2]。肿瘤发生以后,可影响患者心理状态,产生消极的心理反应,使病情进一步加重或恶化。随着医学的发展,传统的“生物-医学模式”已被“生物-心理-社会医学”模式所代替,改善患者的心理健康,提高患者的生活质量,对癌症的康复具有重要意义^[3]。在心理干预提高癌症患者生活质量,改善其情绪方面已经有过大量的研究。相关研究的综述及Meta分析显示心理干预能够改善癌症患者的情绪,减少心理痛苦,提高生活质量^[4,5]。心理干预多借鉴心理教育、认知行为、情感支持等心理治疗技术。研究表明不同干预方法的效果不同,在改善癌症患者焦虑情绪上,认知行为治疗、心理教育、放松训练及正念训练都有积极的效果,而在改善抑郁情绪上,认知行为治疗更为有效^[6];但是至今为止哪种干预方法最有效仍无定论, Faller等^[7]的Meta分析显示结构式的心理教育最有效,而Hannah等^[8]的综述指出关于癌症患者的心理

教育干预的众多研究的结果各异,而认知行为干预的有效性更为明确。

本研究以国内外的研究经验为基础,并结合本地特点设计了一套心理干预方案。研究采用小组互动的集体干预形式,结合信息提供、认知行为、冥想放松等多种心理干预方法,目的是将心理干预运用于中国大陆的结直肠癌患者,通过临床实验验证心理干预的效果,并探讨这一方法在改善生活质量及焦虑抑郁情绪中的长期效果。

1 材料和方法

1.1 材料 制定入组标准: (1)经病理确诊的结直肠癌患者; (2)手术或/和放疗、化疗后,已进入康复期,且在本研究进行时,手术或放化疗的次数、病情、肿瘤分期等对患者的生活质量无明显影响; (3)年龄18-70岁,性别不限; (4)小学及以上文化程度; (5)经前期治疗后病情稳定,一般状况良好,卡氏功能状态评分(Karnofsky, KPS)得分 ≥ 60 分; (6)既往和目前无精神障碍、中枢神经系统疾病、脑肿瘤及脑转移瘤,无意识障碍; (7)采用知情同意、自愿原则。纳入研究者均为2010-05/2011-05我院收治的90例结直肠癌患者,平均年龄55岁,其中男56例,女34例。将入组患者随机分成两组,其中干预组45例,对照组45例。干预组和对照组在年龄、性别、心理状态、抑郁自评量表评分、病情分布、治疗的方法等方面呈均衡分布。分别于心理干预前及干预后进行生活质量核心问卷、焦虑自评量表、抑郁自评量表及生物反馈指标检测,各项指标均由专业精神科医师指导进行,采用调查问卷方式测评。

1.2 方法

1.2.1 研究设计及程序: 研究者对符合入组标准的患者进行访谈,了解患者的基本情况,说明研究的目的及意义,并邀请患者参加,签署知情同意书。将干预组的患者进行测量和心理干预;对照组患者只进行测量。干预组的施测程序是: (1)前测: 入组时; (2)后测: 干预结束后当周。对照组的施测程序是: (1)前测: 入组时; (2)后测: 前测5 wk后。其中生活质量核心问卷、焦虑自评量表、抑郁自评量表及生物反馈指标在干预组的两次施测及对照组的两次施测中都需要填写。

1.2.2 生活质量指标: 用梁小波等^[10]编制直肠癌生存质量调查量表对干预后两组患者的生活质量进行评估。该量表包括46个条目,分为躯体、心理、社会、排便功能与症状4个维度。量表为总

加量表, 分类评分, 总分为46-230分, 评分越高, 表示生存质量越高. 该量表的结构效度 $r = 0.9247$, 重测信度 $r = 0.98021$, 具有较好的信、效度.

1.2.3 焦虑情绪指标: 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)由Zung于1971年编制, 用于评价被试的主观焦虑感受. 其评定跨度时间为最近1 wk, 即评定现在或者过去1 wk内的焦虑情况. 包含有20个项目, 按症状出现的频繁程度分为4级评分, 本研究使用该量表标准分进行分析, 分数越高, 表示焦虑水平越高. SAS具有较高的信度与效度, 被广泛用于精神病临床、心理咨询及普通人群心理健康状况的调查.

1.2.4 抑郁情绪指标: 抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)由Zung于1965年编制, 用于衡量抑郁状态的轻重程度及其在治疗中的变化. 问卷由20项条目构成; 每项条目根据最近一周内的感受分1-4级评定, 累积各条目分为总分, 总分越高, 抑郁情绪越严重. 该量表已在我国家和地区的跨文化测试中体现出较好的信度和效度.

1.2.5 心理干预方案: 心理干预对每一患者每周干预一次, 每次100 min, 共进行5 wk. 根据心理教育、认知行为治疗、放松治疗、生物反馈治疗、团体心理学等理论, 本研究针对结直肠癌患者的干预内容如下: (1)结直肠癌患者康复座谈: 该内容的设定是以支持性心理治疗及心理教育为依据的, 结直肠癌患者坐在一起分享患病后的各种经历及康复和抗癌经验. 在康复座谈中的话题主要有以下几点: 结直肠癌的病因-为什么我会得癌; 我的患癌经历; 我对癌症认识-癌症 \neq 死亡; 我的抗癌秘笈-“如何饮食”、“怎样锻炼”、“抗癌产品之我见”、“心理-癌症将抗的基石”、“科学的康复观”, 有造口的患者分享造口的护理常识及注意事项; 排忧解难-扫除“转移复发”的阴影; 解疑答惑; (2)冥想放松训练: 属于行为训练方法的一种, 借助于录音引导意念, 跟随提示想象即可. 冥想音频由研究人员提前制作, 患者在心理干预活动中学习并掌握冥想技术, 并发放冥想音频资料, 督促患者在平时自己练习, 并在干预过程中检查和督导患者练习的情况; (3)信心疗法: 其宗旨是通过憧憬与语言的力量来帮助癌症患者消除抑郁心理, 增强患者战胜疾病的信心, 从而恢复和增强体内自身的免疫功能. 信心疗法也是由研究人员提前制作音频资料, 在心理干预活动之处练习, 并向患者发放音频资料, 要求在第1周每天坚持练习; (4)腹式呼吸训练: 腹式呼吸

是一种有助于放松的呼吸方式, 通过生物反馈系统中的呼吸助手对患者进行腹式呼吸训练, 每次5 min, 让患者的注意力完全集中到自己的呼吸上, 从而达到放松的目的. 在每次的干预后督促患者在平时坚持腹式呼吸的练习; (5)情绪管理: 其包括认识自己的情绪、情绪和健康的不关系、情绪和癌症及如何管理自己的情绪等方面; (6)认知心理治疗: 包括对疾病的认识、治疗过程、饮食、运动、生活方式等各方面的综合康复指导; (7)音乐疗法心理治疗: 是一种运用音乐来改善人类的生理、心理症状及不当行为的治疗方法. 根据患者的不同情况选择不同的音乐来改善情绪, 增强自我信心, 并具有良好的镇静、镇痛作用; (8)精神分析心理治疗: 对患者的无意识心理过程进行分析, 探讨这些无意识因素是如何影响他们目前的关系、行为模式和心理状态的. 通过对患者生活历史的探索, 探讨他们是如何经历既往的人生而发展变化, 帮助患者更好地应对当下的生活; (9)安思定睡眠仪治疗: 使用经颅微电流刺激疗法(安思定所发出的微量电流类似人体自身的生物电, 不会使人体产生不良反应). 通过低强度微量电流刺激人的大脑, 对异常脑电波进行改善, 以及调节大脑神经递质的分泌, 达到治疗的目的.

统计学处理 采用SPSS13.0统计分析软件包进行分析. 实验数据采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示. 计量数据比较采用 t 或 t' 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者干预前后心理健康状况的比较 干预组和对照组干预前的SDS评分明显高于国内常模(41.88 ± 10.57), SAS评分亦明显高于国内常模(37.23 ± 12.84), 差异有统计学意义, $P < 0.01$ ($t = 12.693$ 、 12.589 、 6.568 、 6.723). 干预后, 干预组的SDS和SAS评分明显低于对照组, 差异有统计学意义, 均 $P < 0.01$ ($t = 14.980$ 、 4.705) (表1).

2.2 两组患者干预后生活质量个维度评分比较 干预后, 干预组的社会、心理维度评分明显高于对照组, 差异有统计学意义, 均 $P < 0.01$ ($t = 5.344$ 、 7.874), 而躯体和功能与症状维度评分两组间差异无统计学意义, 均 $P > 0.05$ ($t = 1.748$ 、 0.274) (表2).

2.3 对照组5 wk前后生活质量及情绪状况的变化 对对照组被试初测及5 wk后的测评进行比较, 结果对照组5 wk前后生活质量各方面及情绪状况

■ 相关报道

不同干预方法的效果不同, 迄今为止哪种干预方法最有效仍无定论, Faller等的Meta分析显示结构式的心理教育最有效, 而Hannah等的综述指出, 关于癌症患者心理教育干预, 众多研究的结果各异, 而认知行为干预更为有效.

■创新盘点

本研究结合本地特点设计了一套心理干预方案。研究采用小组互动的集体干预形式,结合信息提供、认知行为、冥想放松等多种方法,将心理干预运用于中国大陆的结直肠癌患者,通过随机对照临床试验观察心理干预的效果,探讨心理干预对结直肠癌患者生活质量及焦虑抑郁情绪的影响。

表 1 两组患者干预前后心理健康状况的比较 ($n = 45$, mean \pm SD, 分)

分组	SDS		SAS	
	干预前	干预后	干预前	干预后
干预组	62.02 \pm 6.25	44.24 \pm 3.98	49.84 \pm 4.86	44.64 \pm 4.58
对照组	61.84 \pm 5.86	58.13 \pm 4.78	50.13 \pm 4.28	48.39 \pm 4.14
<i>t</i> 值	0.141	14.980	0.300	4.705
<i>P</i> 值	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01

SDS: 抑郁自评量表; SAS: 焦虑自评量表。

表 2 两组患者干预后生活质量各维度评分比较 ($n = 45$, mean \pm SD, 分)

分组	躯体	社会	心理	功能与症状
干预组	25.54 \pm 1.28	28.06 \pm 1.45	55.82 \pm 1.75	46.66 \pm 2.14
对照组	25.12 \pm 0.98	26.54 \pm 1.24	53.16 \pm 1.44	46.52 \pm 2.68
<i>t</i> 值	1.748	5.344	7.874	0.274
<i>P</i> 值	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05

均无显著性差异($P>0.05$), 因此对照组5 wk后生活质量及焦虑抑郁情绪没有改善。

3 讨论

该对照研究的结果证实了结合心理教育、认知行为治疗、放松治疗的心理干预对结直肠癌患者的生活质量和焦虑抑郁情绪方面有积极影响。在干预组中, 被试经过5次心理干预后在总体健康情况、焦虑抑郁情绪及睡眠等方面均有显著改善; 而对照组被试5 wk前后在生活质量各方面及焦虑抑郁情绪没有显著性变化。

本研究中可以看到对照组被试5 wk前后生活质量各方面及焦虑抑郁的评分变化很小, 虽然有研究显示癌症患者术后随着时间的延长, 生活质量会有所提高, 但是在多长时间内有显著性改善及改善的稳定性仍不确定^[11]; 而心理干预给结直肠癌患者带来积极影响, 在生活质量的各方面都有一个改善趋势, 并且在总体健康情况、睡眠、焦虑情绪、抑郁情绪方面都有显著性改善。本研究的心理干预方法的有效成分可能有: (1)提供信息: 提供结直肠癌相关知识有助于减少患者的不确定感, 从而改善患者情绪, 在我国医患沟通形式紧张, 医生工作量大, 沟通时间很少, 患者诊断治疗及复查阶段, 从医生那里获得的知识相对较少, 对疾病及检查结果不正确的理解会导致患者的不确定感, 产生心理痛苦, 故而被试从干预过程中获得与自己密切

相关的结直肠癌知识, 可以降低不确定感, 减少心理痛苦^[12-14]; (2)情感支持: 让被试有归属感, 而且问题的普遍性使得成员之间有更多共同的话题。在心理干预的康复座谈过程中, 被试能接受与自己情况很接近的同伴的支持, 也能获得医生的鼓励。有研究显示, 通过心理教育和情感支持能够使癌症患者的行为改变, 养成健康的生活方式, 故而可以改善生活质量^[7]。同时在康复座谈的过程中, 如果自己的康复经验帮助了同伴, 通过这种利他行为提升了自己的价值感及存在感; (3)信心成分: 通过信心疗法录音来提高癌症患者的抗癌信心, 通过榜样的力量更加增加了患者康复的信心; (4)放松训练: 被试在心理干预中学习放松训练并回家坚持练习, 放松训练对改善睡眠障碍, 放松身心很有益处^[15]。

本研究设计中的结直肠癌患者心理干预方案虽然取得了一定的成效, 但仍存在很多可以改进的地方。咨询过程中很多癌症患者描述了自己完成主要的临床治疗进入康复期之初的迷茫与不安, 以及自己艰辛的康复之路, 认为对癌症患者的心理干预越早越好, 能缩短患者心理痛苦时间, 有利于康复。

本研究样本量较小, 仍需较大样本研究的验证; 本研究干预被试绝大多数为山东地区的结直肠癌患者, 不能代表全国的结直肠癌患者, 需要进一步的研究验证该心理干预方案是否适用于其他地区的结直肠癌患者。

4 参考文献

- 1 Saif MW, Chu E. Biology of colorectal cancer. *Cancer J* 2010; 16: 196-201 [PMID: 20526096 DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181e076af]
- 2 Montazeri A. Health-related quality of life in breast cancer patients: a bibliographic review of the literature from 1974 to 2007. *J Exp Clin Cancer Res* 2008; 27: 32 [PMID: 18759983 DOI: 10.1186/1756-9966-27-32]
- 3 任宏轩, 沈丽达. 社会心理因素对癌症的影响. *中国肿瘤* 2005; 14: 639-641
- 4 Osborn RL, Demoncada AC, Feuerstein M. Psychosocial interventions for depression, anxiety, and quality of life in cancer survivors: meta-analyses. *Int J Psychiatry Med* 2006; 36: 13-34 [PMID: 16927576 DOI: 10.2190/EUFN-RV1K-Y3TR-FK0L]
- 5 Linden W, Giris A. Psychological treatment outcomes for cancer patients: what do meta-analyses tell us about distress reduction? *Psychooncology* 2012; 21: 343-350 [PMID: 21882287 DOI: 10.1002/pon.2035]
- 6 Faller H, Herschbach P. Psychooncological interventions - how successful are they? Wie erfolgreich sind sie? *Nervenheilkunde* 2011; 30: 133-137
- 7 Dale HL, Adair PM, Humphris GM. Systematic review of post-treatment psychosocial and behaviour change interventions for men with cancer. *Psychooncology* 2010; 19: 227-237 [PMID: 19588538 DOI: 10.1002/pon.1598]
- 8 姜宝法, 刘春晓, 崔永春. EORTC QLQ-C30的信度、效度研究. *中国临床心理学杂志* 2005; 13: 31-33
- 9 关丽云, 刘巍. 食管贲门癌患者生活质量的研究-1996-2006年河北医科大学第四医院421例食管贲门癌患者术后生活质量的分析报告. *河北医科大学*, 2007: 1-63
- 10 梁小波, 苏文, 阎秀卿, 白文启, 李佩珍. 对肠造口患者生存质量的初步评价. *大肠肛门病外科杂志* 2002; 8: 54-56
- 11 Holland JC. *Psycho-oncology*. New York: Oxford University Press, 2010: 408-414
- 12 胡根, 俞一峰, 李森, 季凯. 结肠癌、直肠癌患者围术期的焦虑抑郁状况及影响因素分析. *实用临床医药杂志* 2012; 16: 32-35, 40
- 13 吴岭, 沙莉. 心理干预对结直肠癌配偶心理状况的影响. *中国误诊学杂志* 2011; 11: 4828
- 14 郭青, 薛小玲, 韩燕霞, 卢珏, 马芳琴. 癌症患者疾病不确定感的影响因素与干预现状. *解放军护理杂志* 2012; 29: 35-38
- 15 张静, 刘向阳, 余贺一. 放松训练对躯体化障碍的对照研究. *中国健康心理学杂志* 2004; 12: 269-270

■同行评价

本研究将心理学与肿瘤临床紧密结合, 设计合理, 有较高参考价值。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



MiRNA-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的系统评价

谢文群, 谭诗云, 王晓凡

■背景资料

大肠癌是重要的全球性公共卫生问题, 尽管大肠癌的病因虽未明确, 但其相关的高危因素渐被认识, 遗传易感性与大肠癌的发生发展密切相关。位于miR-146a前体pre-miRNA茎环结构区域的一个G/C单核苷酸多态性(miR-146a rs2910164)可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤的发生发展。

谢文群, 谭诗云, 王晓凡, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

谢文群, 武汉大学人民医院研究生, 主要从事消化内镜诊治优化的研究。

作者贡献分布: 谢文群及王晓凡对此文所做贡献均等; 此课题由谭诗云教授设计; 文献检索及数据搜集、分析过程由谢文群及王晓凡完成; 本论文写作由谢文群完成。

通讯作者: 谭诗云, 主任医师, 博士生导师, 430060, 湖北省武汉市武昌紫阳路99号, 武汉大学人民医院消化内科。

tanshiyun@medmail.com.cn

电话: 027-88041911-82145

收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review

Wen-Qun Xie, Shi-Yun Tan, Xiao-Fan Wang

Wen-Qun Xie, Shi-Yun Tan, Xiao-Fan Wang, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Shi-Yun Tan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, 99 Wuchang Ziyang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China. tanshiyun@medmail.com.cn

Received: 2013-12-08 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

Abstract

AIM: To accurately evaluate the association between the miRNA-146a rs2910164G/C polymorphism and susceptibility to colorectal cancer.

METHODS: An electronic search of PubMed, Excerpta Medica Database (Embase), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), the Cochrane Library, Weipu and Wanfang Database was performed to collect all the publications investigating the association between miR-146a rs2910164G/C polymorphism and risk of colorectal cancer. We then analyzed the differences in miRNA-146a rs2910164G/C genotypes (G vs C, GG vs CC, GG vs GC, GC vs CC, GG + GC vs CC, GG vs GC + CC) between cases and

controls by meta-analysis.

RESULTS: Seven studies involving 2978 cases and 3576 controls were found to be eligible for meta-analysis. We summarized the data on the association between miR-146a rs2910164G/C polymorphism and risk of colorectal cancer in the overall population. In the overall analysis, there was no evidence for an association between the miR-146a rs2910164 polymorphism and the risk of colorectal cancer (G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30, $P = 0.41$; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40, $P = 0.97$; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28, $P = 0.91$; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41, $P = 0.96$; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39, $P = 0.99$; GG vs GC + CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.81-1.24, $P = 0.98$).

CONCLUSION: This meta-analysis demonstrated that the miR-146a rs2910164 polymorphism is not associated with colorectal cancer susceptibility.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA; Single nucleotide polymorphisms; Colorectal cancer; Meta-analysis

Xie WQ, Tan SY, Wang XF. Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(6): 890-897 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.890>

摘要

目的: 评价miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性的相关性。

方法: 全面检索Pubmed、Excerpta Medica Database (Embase)、Chinese Biomedical Literature Database (CBM) and the Cochrane Library、维普、万方数据库, 收集研究miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大

■同行评议者
王道荣, 主任医师, 江苏省苏北人民医院胃肠外科

肠癌易感性相关性的文献. 对miRNA-146a rs2910164 G/C各基因型的比较模型(G vs C、GG vs CC、GG vs GC、GC vs CC、GG + GC vs CC、GG vs GC + CC)进行定量综合分析.

结果: 共纳入7篇文献, 共有大肠癌患者2978例, 健康对照3576例. Meta分析尚未发现miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性具有相关性(G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30, $P = 0.41$; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40, $P = 0.97$; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28, $P = 0.91$; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41, $P = 0.96$; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39, $P = 0.99$; GG vs GC + CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.81-1.24, $P = 0.98$).

结论: 本研究尚未发现miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MiRNA; 基因多态性; 大肠癌; Meta分析

核心提示: 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

谢文群, 谭诗云, 王晓凡. MiRNA-146a rs2910164 基因多态性与大肠癌易感性的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 890-897 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.890>

0 引言

据2011年全球癌症统计显示: 全球每年约有1200000例新发大肠癌病例和608700例死亡病例, 大肠癌的发病率居女性所有恶性肿瘤的第2位; 居男性所有恶性肿瘤的第3位, 其死亡率居分别居女性及男性所有恶性肿瘤死亡率的第3、4位. 大肠癌已成为重要的全球性公共卫生问题^[1,2]. 尽管大肠癌的病因虽未明确, 但其相关的高危因素渐被认识, 如吸烟、嗜酒、体力活动不足、肥胖及遗传易感性等^[3,4]. 在这些危险因素中, 遗传易感性与大肠癌的发生发展密切相关^[5].

微小RNA(microRNA, miRNA)是存在于真

核细胞当中具有进化保守性的一族非编码小片段RNA, 大小为18-24 bp, 通过与靶基因mRNA的碱基互补配对来影响mRNA的稳定性或抑制其翻译, 实现对蛋白表达的调控^[6]. MiRNA调控着大约30%的人类基因的转录体^[7], 控制着细胞的分化、增殖和程序性细胞死亡等多种重要生理及病理过程^[8]. 最近研究发现, miRNA具有类似癌基因或抑癌基因的功能^[9,10], 并且, miRNA在正常细胞和癌细胞中表达不同, 几乎所有的肿瘤都存在miRNA的表达异常^[11,12]. miRNA的表达具有组织特异性, 其表达谱与肿瘤的特点、分级相关, 在一些未发现原发灶的肿瘤疾病中miRNA可以用来判断肿瘤组织的来源^[13,14]. 因此, miRNA对肿瘤的诊断、治疗及预后都有重要意义. 作为最常见且重要的遗传标记, 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是指DNA序列单个核苷酸的变异, 其在特定的人群中发生率至少为1%. 单核苷酸多态性与多种癌症的病因及预后相关^[15-23]. 研究发现, 位于miRNA前体(pre-miRNAs)或成熟miRNA中的单核苷酸多态性会导致miRNA表达量及其功能的改变, 最终导致癌症等疾病的发生发展^[24,25]. MiR-146a位于人类基因组的5q33, 其在多种实体瘤中表达异常. 研究发现, 位于miR-146a前体pre-miRNA茎环结构区域的一个G/C单核苷酸多态性(miR-146a rs2910164)可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤的发生发展^[26-34]. 近年来, 国内外对miR-146a rs2910164基因多态性是否与大肠癌的发病有关进行了研究^[35-41], 但是, 单个研究间结果不尽一致, 为此, 本研究应用Meta分析的方法对以往研究结果进行定量合并与综合评价, 进一步探讨miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 由2名独立研究者对文献进行系统的检索, 任何分歧都通过双方的讨论达成一致. 以“miR-146a”、“rs2910164”、“基因多态性”和“大肠癌”为主题词检索维普、万方数据资源系统、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM), 并以“miR-146a”、“rs2910164”、“gene”、“variants”、“alleles”、“mutation”、“polymorphism”和“colorectal cancer”检索Pubmed、Excerpta Medica Database(Embase)、

■研究前沿

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 位于miRNA相关基因的单核苷酸多态性可以改变miRNA的表达量及功能, 进而导致肿瘤等疾病的发生. 近年来, 关于miR-146ars2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致; 且相关meta分析存在纳入文献较少的缺点.

■ 相关报道

Wang等系统评价了miR-146a rs2910164基因多态性与消化系统肿瘤易感性的相关性,本篇报道广泛搜集相关文献,所研究的消化系统肿瘤较全面。

表 1 纳入文献的基本情况

编号	研究	发表年限	种族	样本含量		H-W遗传平衡检验 P值	质量评分
				病例组	对照组		
1	Vinci等 ^[35]	2013	高加索人	160	178	0.590	14
2	Ma等 ^[36]	2013	亚洲人	1147	1203	0.075	15
3	Hezova等 ^[37]	2012	高加索人	197	212	0.410	14
4	Chae等 ^[38]	2013	亚洲人	399	568	0.950	15
5	Hu等 ^[39]	2013	亚洲人	276	373	>0.05	15
6	Min等 ^[40]	2012	亚洲人	446	502	0.443	15
7	Lv等 ^[41]	2013	亚洲人	353	540	0.080	15

the Cochrane Library等数据库,辅以文献追溯和手工检索等方法.对miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性关系的研究报道末次检索为2013-10,未进行语种限定。

1.2 方法

1.2.1 文献纳入与排除标准: 纳入标准: (1)关于miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性之间相关性的研究; (2)基于人的病例对照研究; (3)研究对象为病理组织学确诊的大肠癌患者; (4)各文献提供完整的病例组与对照组miR-146a rs 2910164的各基因型频数,可计算比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, 95%CI); (5)原始资料为已公开发表的中英文文献. 排除标准: (1)对同一研究重复发表的文献报道,只选取近期发表和结果最完整的文献; (2)未提供充分原始数据的且索取无果; (3)只有摘要而缺乏全文. 当一篇文献对不同种族进行研究时,则将每个种族的研究结果分别进行提取。

1.2.2 数据提取: 由2名独立的研究者对纳入文献的数据进行提取并核对,任何分歧都通过双方讨论达成一致. 提取的主要内容包括第一作者姓名、发表年份、种族、病例组和对照组的样本量、等位基因及各基因型分布频数等。

1.2.3 文献质量评价: 由2名独立的研究者对纳入文献进行质量评价,任何分歧都通过双方讨论达成一致. 评价标准为一组预先设定的标准. 该组标准是从以前的研究中提取的^[42],他以传统的流行病学及癌症的遗传问题为基础,该标准从5个方面对每个研究的质量进行评分.每个研究的得分是介于0到18的整数. 等于或大于12表明该文献质量好。

统计学处理 H-W遗传平衡检验: 对各研究的对照组人群基因型分布进行H-W遗传平衡检验,计算卡方值, $P<0.05$ 为不符合H-W遗传平衡^[43]。

Meta分析: OR及95%CI作为评价指标,评价miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的相关性. 分别计算每个miR-146a rs2910164 G/C基因模型的合并OR及其95%CI. 用Q检验和I²检验探究各研究间的异质性,若 $PQ<0.10$, $I^2>50\%$,说明各研究间存在显著异质性,则采用随机效应模型进行数据合并;反之各研究间则不存在显著异质性,用固定效应模型进行数据合并^[44,45]. 用Begg's漏斗图及Egger's线性回归分析来估计潜在的发表偏倚^[46,47], $P>0.05$ 为不存在发表偏倚。

2 结果

2.1 纳入研究的一般情况 初检出相关文献100篇,均为英文文献,经阅读问题及摘要后,剔除93篇文献(36篇为Meta分析, 57篇为研究其他疾病),进一步查找和阅读全文后,剔除2篇文献(均为机制研究),最后通过文献追溯的方法在Meta分析的参考文献中找到2篇符合标准的文献,最终纳入7篇文献[35-41],包含大肠癌患者2978例,健康对照3576例. 纳入研究质量评分均>12,表明纳入研究的质量较好. H-W遗传平衡检验结果显示对照组人群基因型分布符合H-W遗传平衡. 纳入研究的一般情况如表1,文献筛选流程如图1所示。

2.2 Meta分析结果 对纳入研究进行Meta分析,因纳入研究的各基因型均存在显著的异质性($I^2>50\%$),故采用随机效应模型进行数据合并. 各基因型合并OR及其95%CI结果如表2所示: G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30, $P = 0.41$; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40, $P = 0.97$; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28, $P = 0.91$; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41, $P = 0.96$; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39, $P = 0.99$; GG vs GC + CC: OR = 1.00,

表 2 miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的Meta分析

基因模型	OR(95%CI)	P值	I ² (%)	P(Q test)
G vs C	0.82(0.52-1.30)	0.41	97.0	<0.00001
GG vs CC	1.10(0.72-1.40)	0.97	72.0	0.001
GG vs GC	1.10(0.81-1.28)	0.91	65.0	0.009
GC vs CC	0.99(0.70-1.41)	0.96	84.0	<0.00001
GG + GC vs CC	1.00(0.72-1.39)	0.99	83.0	<0.00001
GG vs GC + CC	1.00(0.72-1.39)	0.98	63.0	0.01

表 3 Egger's线性回归检测发表偏倚结果

分组	P值					
	G vs C	GG vs CC	GG vs GC	GC vs CC	GG + GC vs CC	GG vs GC + CC
总体	0.054	0.656	0.400	0.954	0.953	0.274
亚洲	0.057	0.871	0.529	0.369	0.366	0.729

■创新盘点

近年来,关于miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致;且相关meta分析存在纳入文献较少的缺点.为此,本文广泛搜集相关文献,系统评价miR-146a rs2910164G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

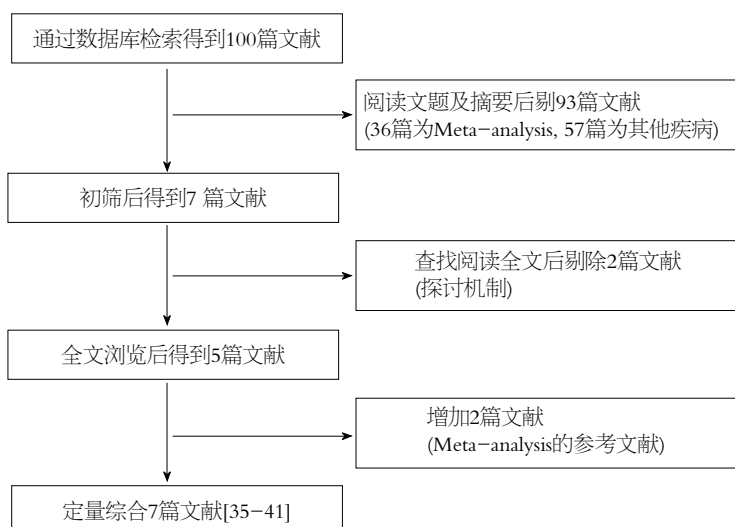


图 1 文献筛选流程.

95%CI: 0.81-1.24, $P = 0.98$. 分析结果发现, miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间无关联. 为评估纳入文献的发表偏倚, 做了Begg's漏斗图及Egger's线性回归分析(表3, 图2), miR-146a rs2910164 G/C各基因模型的Egger's线性回归分析结果为 P 值均 >0.05 , 表明不存在发表偏倚.

3 讨论

本研究对7篇关于miR-146a rs2910164G/C基因多态性与结直肠癌易感性之间相关性的文献进行了Meta分析, 因各研究间存在显著的异质性, 因此, 采用随机效应模型对数据进行合并分析. 结果显示, 本次Meta分析未发现miR-146a

rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性. 亚组分析显示, 在亚洲人群中, 本次研究也未发现发表偏倚检查中发现miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性. 本研究纳入的文献不存在发表偏倚.

SNP是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 位于miRNA相关基因的单核苷酸多态性可以改变miRNA的表达量及其与目标mRNA结合的亲和力及特异性, 导致miRNA调控的靶基因mRNA的表达异常, 进而导致肿瘤等疾病的发生. 位于miR-146a前体-pre-miR-146a的单核苷酸多态性rs2910164 G/C与多种肿瘤的发生发展有关. 近年来, 关于

■应用要点

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关。本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性, 研究尚未发现miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性。

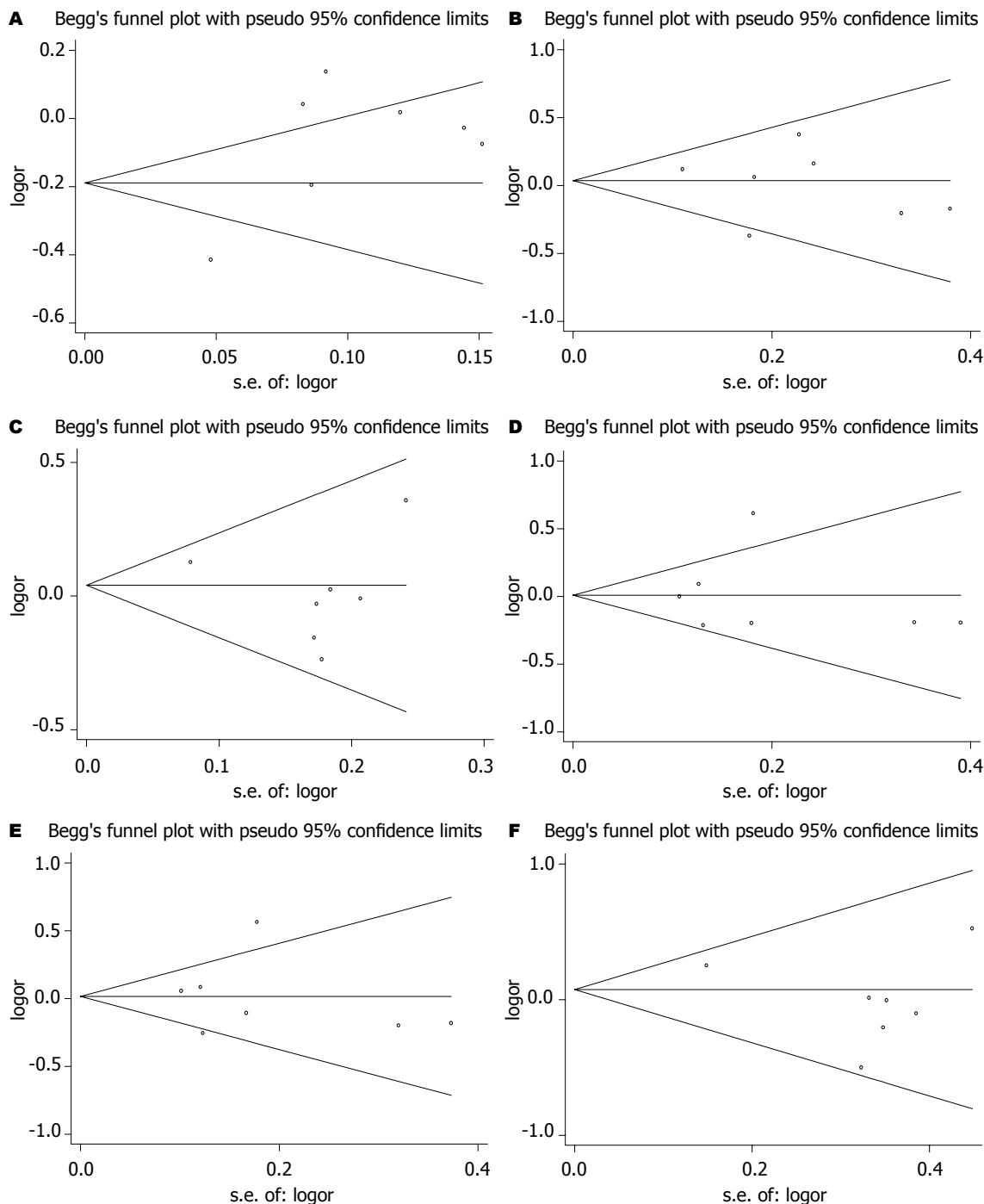


图2 miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性Meta分析发表偏倚结果(总体)。A: G vs C; B: GG vs CC; C: GG vs GC; D: GC vs CC; E: GG + GC vs CC; F: GG vs GC + CC。

miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致; 且相关Meta分析存在纳入文献较少的缺点。为此, 本文广泛搜集相关文献, 系统评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性。

本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性, 研究尚未发现miR-146a

rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性。然而, 本次研究尚存在以下不足: (1)本次研究纳入的文献数量较少; (2)本次研究纳入的文献多是关于亚洲人的研究, 对于其他种族的报道则较少, 由于不同的种族具有不同的遗传背景, 其miR-146a rs2910164 G/C等位基因频率也不相同, 进而对疾病的易感性不同; (3)本次研究尚未考虑基因之间及基因与环境之间

的相互作用的影响。这些因素的存在都会影响本次Meta分析结果的可靠性。这些问题的解决,有赖于开展大样本、多中心、同质性的病例对照研究,将研究结果纳入Meta分析,以便对miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性的关系做出更合理、可靠的结论。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. World-wide variations in colorectal cancer. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 366-378 [PMID: 19897840 DOI: 10.3322/caac.20038]
- Schottenfeld D, Beebe-Dimmer JL. Advances in cancer epidemiology: understanding causal mechanisms and the evidence for implementing interventions. *Annu Rev Public Health* 2005; 26: 37-60 [PMID: 15760280 DOI: 10.1146/annurev.publhealth.26.021304.144402]
- Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Jensen MK, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Bergmann M, Kontopoulou D, Trichopoulou A, Kassapa C, Masala G, Krogh V, Vineis P, Panico S, Tumino R, van Gils CH, Peeters P, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Skeie G, Lund E, Agudo A, Ardanaz E, López DC, Sanchez MJ, Quirós JR, Amiano P, Berglund G, Manjer J, Palmqvist R, Van Guelpen B, Allen N, Key T, Bingham S, Mazuir M, Boffetta P, Kaaks R, Riboli E. Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2007; 121: 2065-2072 [PMID: 17640039 DOI: 10.1002/ijc.22966]
- Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 2449-2460 [PMID: 20018966 DOI: 10.1056/NEJMra0804588]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035]
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431: 350-355 [PMID: 15372042 DOI: 10.1038/nature02871]
- Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]
- Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, Yuen ST, Chan TL, Kwong DL, Au GK, Liu CG, Calin GA, Croce CM, Harris CC. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA* 2008; 299: 425-436 [PMID: 18230780 DOI: 10.1001/jama.299.4.425]
- Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Newell J, Kerin MJ. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. *Ann Surg* 2010; 251: 499-505 [PMID: 20134314 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181cc939f]
- Visone R, Croce CM. MiRNAs and cancer. *Am J Pathol* 2009; 174: 1131-1138 [PMID: 19264914 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080794]
- Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, Benjamin H, Shabes N, Tabak S, Levy A, Lebanony D, Goren Y, Silberschein E, Targan N, Ben-Ari A, Gilad S, Sion-Vardy N, Tobar A, Feinmesser M, Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 462-469 [PMID: 18362881 DOI: 10.1038/nbt1392]
- Rosenwald S, Gilad S, Benjamin S, Lebanony D, Dromi N, Faerman A, Benjamin H, Tamir R, Ezagouri M, Goren E, Barshack I, Nass D, Tobar A, Feinmesser M, Rosenfeld N, Leizerman I, Ashkenazi K, Spector Y, Chajut A, Aharonov R. Validation of a microRNA-based qRT-PCR test for accurate identification of tumor tissue origin. *Mod Pathol* 2010; 23: 814-823 [PMID: 20348879 DOI: 10.1038/modpathol.2010.57]
- Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C, Croce CM. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 2007; 297: 1901-1908 [PMID: 17473300 DOI: 10.1001/jama.297.17.1901]
- Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, Magri E, Pedriali M, Fabbri M, Campiglio M, Ménard S, Palazzo JP, Rosenberg A, Musiani P, Volinia S, Nenci I, Calin GA, Querzoli P, Negrini M, Croce CM. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 7065-7070 [PMID: 16103053 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1783]
- Kozaki K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 2094-2105 [PMID: 18381414 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5194]
- Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435: 834-838 [PMID: 15944708 DOI: 10.1038/nature03702]
- Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-3756 [PMID: 15172979 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0637]
- Tran N, McLean T, Zhang X, Zhao CJ, Thomson JM, O'Brien C, Rose B. MicroRNA expression profiles in head and neck cancer cell lines. *Biochem Biophys*

■同行评价

文章创新性较强,应积极核对相关数据,充实文章的内容。

- Res Commun* 2007; 358: 12-17 [PMID: 17475218 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.201]
- 21 Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, Stephens RM, Okamoto A, Yokota J, Tanaka T, Calin GA, Liu CG, Croce CM, Harris CC. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006; 9: 189-198 [PMID: 16530703 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.01.025]
 - 22 Liu Z, Li G, Wei S, Niu J, El-Naggar AK, Sturgis EM, Wei Q. Genetic variants in selected pre-microRNA genes and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2010; 116: 4753-4760 [PMID: 20549817 DOI: 10.1002/cncr.25323]
 - 23 Srivastava K, Srivastava A, Mittal B. Common genetic variants in pre-microRNAs and risk of gallbladder cancer in North Indian population. *J Hum Genet* 2010; 55: 495-499 [PMID: 20520619 DOI: 10.1038/jhg.2010.54]
 - 24 Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, Zeng Y, Miao R, Jin G, Ma H, Chen Y, Shen H. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest* 2008; 118: 2600-2608 [PMID: 18521189]
 - 25 Hu Z, Liang J, Wang Z, Tian T, Zhou X, Chen J, Miao R, Wang Y, Wang X, Shen H. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Hum Mutat* 2009; 30: 79-84 [PMID: 18634034 DOI: 10.1002/humu.20837]
 - 26 Wang X, Tang S, Le SY, Lu R, Rader JS, Meyers C, Zheng ZM. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS One* 2008; 3: e2557 [PMID: 18596939 DOI: 10.1271/journal.pone.0002557]
 - 27 de la Chapelle A, Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3326-3336 [PMID: 21865360 DOI: 10.1210/jc.2011-1004]
 - 28 Hou Z, Xie L, Yu L, Qian X, Liu B. MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis. *Med Oncol* 2012; 29: 886-892 [PMID: 21347720 DOI: 10.1007/s12032-011-9862-7]
 - 29 Yu J, Li A, Hong SM, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA alterations of pancreatic intraepithelial neoplasias. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 981-992 [PMID: 22114139 DOI: 10.1158/1073-0432.CCR-1-2347]
 - 30 Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 13 [PMID: 22453030 DOI: 10.1186/1756-8722-5-13]
 - 31 Jeon HS, Lee YH, Lee SY, Jang JA, Choi YY, Yoo SS, Lee WK, Choi JE, Son JW, Kang YM, Park JY. A common polymorphism in pre-microRNA-146a is associated with lung cancer risk in a Korean population. *Gene* 2014; 534: 66-71 [PMID: 24144839 DOI: 10.1016/j.gene.2013.10.014]
 - 32 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7269-7274 [PMID: 18474871 DOI: 10.1073/pnas.0802682105]
 - 33 Peng S, Kuang Z, Sheng C, Zhang Y, Xu H, Cheng Q. Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2288-2293 [PMID: 19834808 DOI: 10.1007/s10620-009-1007-x]
 - 34 Chen S, He Y, Ding J, Jiang Y, Jia S, Xia W, Zhao J, Lu M, Gu Z, Gao Y. An insertion/deletion polymorphism in the 3' untranslated region of beta-transducin repeat-containing protein (betaTrCP) is associated with susceptibility for hepatocellular carcinoma in Chinese. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 552-556 [PMID: 19931512 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.11.096]
 - 35 Vinci S, Gelmini S, Mancini I, Malentacchi F, Pazzagli M, Beltrami C, Pinzani P, Orlando C. Genetic and epigenetic factors in regulation of microRNA in colorectal cancers. *Methods* 2013; 59: 138-146 [PMID: 22989523 DOI: 10.1016/j.ymeth.2012.09.002]
 - 36 Ma L, Zhu L, Gu D, Chu H, Tong N, Chen J, Zhang Z, Wang M. A genetic variant in miR-146a modifies colorectal cancer susceptibility in a Chinese population. *Arch Toxicol* 2013; 87: 825-833 [PMID: 23306950 DOI: 10.1007/s00204-012-1004-2]
 - 37 Hezova R, Kovarikova A, Bienertova-Vasku J, Sachlova M, Redova M, Vasku A, Svoboda M, Radova L, Kiss I, Vyzula R, Slaby O. Evaluation of SNPs in miR-196-a2, miR-27a and miR-146a as risk factors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2827-2831 [PMID: 22719192 DOI: 10.3748/wjg.v18.i22.2827]
 - 38 Chae YS, Kim JG, Lee SJ, Kang BW, Lee YJ, Park JY, Jeon HS, Park JS, Choi GS. A miR-146a polymorphism (rs2910164) predicts risk of and survival from colorectal cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 3233-3239 [PMID: 23898084]
 - 39 Hu X, Li L, Shang M, Zhou J, Song X, Lu X, Wang J, Ying B, Wang L. Association between microRNA genetic variants and susceptibility to colorectal cancer in Chinese population. *Tumour Biol* 2013 Oct 18. [Epub ahead of print] [PMID: 24136745]
 - 40 Min KT, Kim JW, Jeon YJ, Jang MJ, Chong SY, Oh D, Kim NK. Association of the miR-146aC& gt; G, 149C& gt; T, 196a2C& gt; T, and 499A& gt; G polymorphisms with colorectal cancer in the Korean population. *Mol Carcinog* 2012; 51 Suppl 1: E65-E73 [PMID: 22161766 DOI: 10.1002/mc.21849]
 - 41 Lv M, Dong W, Li L, Zhang L, Su X, Wang L, Gao L, Zhang L. Association between genetic variants in pre-miRNA and colorectal cancer risk in a Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1405-1410 [PMID: 23728616 DOI: 10.1007/s00432-013-1456-7]
 - 42 Wang F, Sun G, Zou Y, Fan L, Song B. Lack of association of miR-146a rs2910164 polymorphism with gastrointestinal cancers: evidence from 10206 subjects. *PLoS One* 2012; 7: e39623 [PMID: 22761848 DOI: 10.1371/journal.pone.0039623]
 - 43 Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 887-893 [PMID: 15789306]
 - 44 DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833]
 - 45 Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748 [PMID: 13655060]
 - 46 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical

cal test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563]
47 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics

of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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)

多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿

■背景资料

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是恶性浆细胞病中最常见的一种类型, 又称骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤或Kahler病。近年来发病率逐年增加, 因为早期临床症状体征不典型, 且可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化内科
河北省石家庄市 050000

王娜, 副教授, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由王娜与齐冉共同完成; 丁倩收集资料; 姜慧卿审校。

通讯作者: 王娜, 副教授, 硕士生导师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室: wangna1975@126.com
电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-12-28 修回日期: 2014-01-26

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-02-28

Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report

Na Wang, Ran Qi, Qian Ding, Hui-Qing Jiang

Na Wang, Ran Qi, Qian Ding, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Na Wang, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. wangna1975@126.com

Received: 2013-12-28 Revised: 2014-01-26

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-02-28

Abstract

As the most common form of malignant plasma cell disease, multiple myeloma is also known as myeloma, plasma cell myeloma or Kahler's disease. The incidence of multiple myeloma has gradually increased in recent years, but the diagnosis is often difficult due to various clinical manifestations and multiple affected organs. In this article, we report a case of multiple myeloma in a patient with abnormal accumulation of plasma cells in bone marrow, elevated level of a monoclonal protein in serum and urine, bone pain, renal injury, anemia, skull fractures and, intriguingly, high level of amylase in blood and urine. Although it was initially misdiagnosed as acute pancreatitis, the patient is finally diagnosed with multiple myeloma. Clinicians will benefit from this case in terms of how to improve diagnosis rate and avoid misdiagnosis.

■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Multiple myeloma; Pancreatitis; Macroamylasemia

Wang N, Qi R, Ding Q, Jiang HQ. Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 898-900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.898>

摘要

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是恶性浆细胞病中最常见的一种类型, 又称骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤或Kahler病。近年来发病率逐年增加, 因为早期临床症状体征不典型, 且可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。本文报道1例患者, 以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现, 骨髓涂片及活检结果均示浆细胞增生, 血清和尿出现单克隆M蛋白, 同时伴有骨痛、肾功能损害、贫血、颅骨骨质破坏, 确诊为MM。临床医生应提高对类似病例的认识, 及时行相关检查, 避免误诊。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 多发性骨髓瘤; 胰腺炎; 巨淀粉酶血症

核心提示: 多发性骨髓瘤(multiple myeloma)是一种恶性浆细胞病, 因为早期临床症状体征不典型, 可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。临床上患者出现淀粉酶明显升高但缺乏典型临床表现且针对胰腺炎治疗效果差时, 应警惕多发性骨髓瘤可能, 及时行骨髓细胞形态学检查、骨骼X线检查、免疫固定电泳, 以防误诊, 尽早诊治。

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿. 多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 898-900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.898>

0 引言

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶

性浆细胞病,其肿瘤细胞来源于骨髓中的浆细胞,其特征为骨髓浆细胞异常增生伴有单克隆免疫球蛋白或轻链(M蛋白)过度生成,常伴有多发性溶骨性损害、贫血、肾脏损害和感染。以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现的病例,临床上报道罕见。现将我院收治的1例以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现的多发性骨髓瘤病例报道如下。

1 病例报告

患者,女,69岁,因“左上腹疼痛2 mo”于2012-05-26入院。患者2 mo前无明显诱因出现左上腹持续性钝痛,能耐受,向腰背部放射,进食后加重。无恶心、呕吐,有排气、排便,无黏液脓血便,伴发热,体温最高达38.5℃,无发冷寒战,无咳嗽咳痰,无黄疸及皮肤瘙痒,上腹部CT示胰腺未见异常,胆囊多发结石,血淀粉酶7000 U/L。既往10年前患有高血压、糖尿病。有“青霉素、复方氨林巴比妥”过敏史。体格检查: T 38.0℃, P 80次/min, R 20次/min, BP 110/70 mmHg, 神清,皮肤、巩膜无黄染,结膜苍白,全身浅表淋巴结未触及肿大,心肺查体无异常。腹平软,未见胃肠型及蠕动波,肝脾未触及,未触及腹部包块,左上腹轻压痛,无反跳痛及肌紧张,无移动性浊音,肠鸣音弱。辅助检查:血常规:白细胞 $11.1 \times 10^9/L$,中性粒细胞82.6%,淋巴细胞百分比15.7%, HGB $107 g/L$,红细胞压积30.4%, PLT $206 \times 10^9/L$;血生化C反应蛋白 141.75 mg/L,乳酸脱氢酶503.0 U/L, α -羟丁酸脱氢酶420.1 U/L,总蛋白88.7 g/L,球蛋白46.7 g/L,白蛋白/球蛋白0.9, β_2 微球蛋白14.06 mg/L,尿素12.1 mmol/L,肌酐258.4 $\mu mol/L$,尿酸757.0 $\mu mol/L$,钠130.1 mmol/L,氯93.0 mmol/L,总胆固醇6.09 mmol/L,甘油三酯4.78 mmol/L,高密度脂蛋白0.85 mmol/L,余生化指标及凝血常规未见异常;血淀粉酶10542 U/L,尿淀粉酶3755 U/L。入院诊断:(1)急性胰腺炎;(2)胆囊多发结石;(3)高血压3级很高危;(4)2型糖尿病。给予禁食水,抑酸、抑制胰酶分泌及补液支持治疗后患者腹痛缓解,但血淀粉酶10610 U/L,尿淀粉酶2009 U/L,复查上腹CT示胰腺未见异常,后考虑患者高淀粉酶血症与临床表现不符,考虑为非胰源性疾病所致可能,行骨髓涂片及活检结果均示浆细胞明显增生,行流式细胞分析发现部分异常浆细胞;查免疫球蛋白IgG 26.7 g/L, IgA 0.44 g/L, IgM 0.20 g/L;颅骨平片可见多发类圆形低密度区,考虑骨质破坏;24 h尿蛋白

定量5.82 g/24 h;查尿液中本周氏蛋白阳性,血清免疫固定电泳结果为IgG-KAP型M蛋白血症;诊断MM明确,给予VTD方案(吡柔比星10 mg d1-4,地塞米松20 mg d1-4,长春地辛2 mg d1)治疗后,症状较前明显好转,复查肾功正常,血淀粉酶下降至4400 U/L后出院。

2 讨论

MM多见于中老年人,近年来发病率出现逐年增加的趋势,因为早期临床症状体征不典型,可累及全身多组织器官,极易漏诊和误诊。最新的2013版《中国多发性骨髓瘤诊治指南》^[1]确立的有症状骨髓瘤诊断标准(满足全部3条标准):(1)骨髓单克隆浆细胞比例 $\geq 10\%$ 和/或组织活检证明有浆细胞瘤;(2)血清和/或尿出现单克隆M蛋白;(3)骨髓瘤相关靶器官损害(至少一项或多项):校正血清钙 $> 2.65 mmol/L$,肾功能损害(肌酐 $> 177 \mu mol/L$),贫血(血红蛋白低于正常下限20 g/L或 $< 100 g/L$),溶骨性破坏,严重的骨质疏松或病理性骨折,其他类型的终末器官损害也偶有发生;若经过治疗证实这些脏器的损害与骨髓瘤相关可进一步支持诊断。

该患者根据(1)骨髓涂片及活检结果均示浆细胞增生,行流式细胞分型发现异常浆细胞,比例10%;(2)尿液中本周氏蛋白阳性,血清免疫固定电泳结果为IgG-KAP型M蛋白血症;(3)伴有骨痛、肾功能损害、贫血、颅骨骨质破坏,且经化疗后有较前明显的好转,多发性骨髓瘤诊断明确。

当血、尿淀粉酶明显升高时,最常见的疾病是胰腺炎,但淀粉酶升高对于胰腺炎诊断的特异度为80%-95%^[2]。也就是说血淀粉酶升高也可以见于许多非胰源性疾病,例如除胰腺疾病以外的其他消化系统疾病、恶性肿瘤如肺癌、卵巢癌、乳腺癌等疾病中均有出现血淀粉酶升高的报道。该患者症状疑似胰腺炎,但胰腺CT不支持胰腺炎表现,同时针对胰腺炎治疗效果不明显,而经过化疗后各项指标及临床症状均得到改善,故可排除胰腺炎可能。

分析该患者出现高达14590 U/L血淀粉酶的原因,考虑为血清中过多的免疫球蛋白可与淀粉酶结合形成复合物,由于该复合物分子量十分巨大,无法通过肾小球的滤过作用,无法从体内清除,故出现了血淀粉酶显著升高,称为巨淀粉酶血症^[3]。巨淀粉酶血症还可见于其他浆细胞病、慢性淋巴细胞白血病、华氏巨球蛋白血症等。

■ 研发前沿

MM是一种恶性浆细胞病,其特征为骨髓浆细胞异常增生伴有单克隆免疫球蛋白或轻链(M蛋白)过度生成,常伴有多发性溶骨性损害、贫血、肾脏损害和感染。

■ 相关报道

MM多见于中老年人,近年来发病率出现逐年增加的趋势,因为早期临床症状体征不典型,可累及全身多组织器官,极易漏诊和误诊。当血、尿淀粉酶明显升高时,最常见的疾病是胰腺炎,但淀粉酶升高对于胰腺炎诊断的特异度为80%-95%,血淀粉酶升高也可以见于许多非胰源性疾病。

■同行评价

MM是恶性浆细胞病中最常见的一种类型,早期临床症状体征不典型,极易漏诊和误诊。以巨淀粉酶血症为表现临床上较为少见,对临床工作有一定指导意义。

总结该病例,淀粉酶明显升高但缺乏典型临床表现且针对胰腺炎治疗效果差时,应积极考虑其他可引起淀粉酶升高的疾病。特别是出现以下情况:(1)中老年患者;(2)不明原因的胸背部、腰背部或其他部位的疼痛、骨质疏松甚至病理性骨折,可伴有血钙增高;(3)贫血,伴有不明原因的血沉明显增快;(4)严重的肾功能不全、持续蛋白尿且血压无明显异常;(5)球蛋白增高,白蛋白降低;(6)反复感染,一般抗感染治疗效果差应警惕多发性骨髓瘤可能,及时行骨

髓细胞形态学检查、骨骼X线检查、免疫固定电泳,以防误诊,尽早诊治。

3 参考文献

- 1 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国多发性骨髓瘤工作组. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2013年修订). 中华内科杂志 2013, 52: 791-795
- 2 Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW. Biochemical markers of acute pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 340-344 [PMID: 16567468 DOI: 10.1136/jcp.2002.002923]
- 3 燕东, 刘绍能, 白宇宁, 刘慧敏, 孟淼. 巨淀粉酶血症1例. 现代中西医结合杂志 2012, 8: 2705-2706

编辑 田滢 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 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483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *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。OAJ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42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , V_d , $T_{1/2}$, *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 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, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014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/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白浪 副教授
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈海龙 教授
大连医科大学附属第一医院院办

陈贻胜 教授
福建省立医院

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

郝纯毅 主任医师
北京肿瘤医院肿瘤外科

李君文 研究员
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

林潮双 副教授
中山大学附属第三医院感染科

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

禄韶英 博士
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

茅爱武 教授
上海同仁医院介入中心

潘阳林 副教授
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

宋新明 教授
中山大学附属第一医院胃肠外科

田文静 副教授
哈尔滨医科大学

徐泱 副主任医师
上海复旦大学附属中山医院

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

袁红霞 研究员
天津中医药大学

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

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

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普外科

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

