

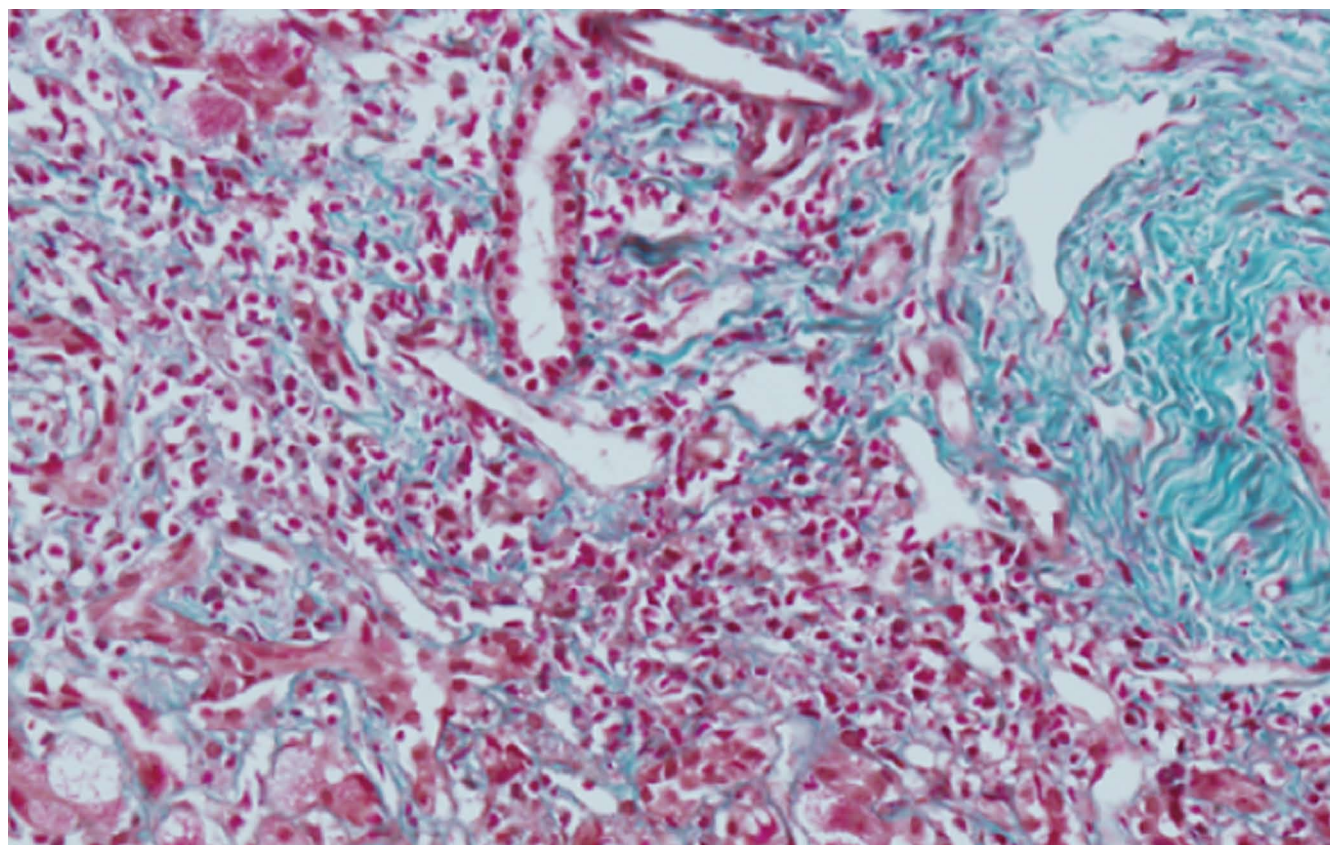
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 5 月 28 日 第 22 卷 第 15 期 (Volume 22 Number 15)



15 / 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 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《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
王俊平教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
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
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
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
张志坚教授
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5月28日 第22卷 第15期 (总第455期)

| | |
|------|--|
| 述 评 | 2073 质子泵抑制剂与酸相关性疾病 李浩, 施芳红, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福 |
| 基础研究 | 2081 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞疫苗对肝细胞癌瘤内CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ Treg细胞的影响 李日伦, 周爽, 秦杰, 梁春敏, 罗国容 2091 早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响 喻乐, 花璐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅 |
| 临床研究 | 2100 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义 王标钰, 张法灿, 张国 2108 GPC3与肝癌细胞增殖的相关性 李海荣, 黄兰珊, 陈 翌, 陆会平, 冯振博 |
| 文献综述 | 2116 肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展 胡高裕, 黄赞松 2122 体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展 赵志宇, 宋兵 2128 结直肠癌的表观遗传学 尉宏燕, 柴秀坤, 白文元 |
| 研究快报 | 2134 ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响 刘丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟 2140 人Cdc25C基因克隆及其原核表达载体的构建与表达 卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣 |
| 临床经验 | 2145 磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值 刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵嫔 2150 多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果 谢英姿, 张茂华 2155 荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用 朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟 2159 聚乙二醇干扰素 α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例 刘方军, 刘智惠 2163 TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例 程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德 2169 三维重建技术在精准肝切除中的临床应用 王松平, 李建生, 马金良, 莫卫东, 葛勇胜, 余继海 2175 腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素 仇奕然, 张海燕 2179 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较 李忠, 马荣强 2183 慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价 杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳 2190 腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用 魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李伟, 周健, 田大广 2194 食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值 章幽芳, 黄清选 2198 结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性 李忠, 张云, 樊振涛 2202 结肠癌患者预后临床病理的多因素分析 张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军 2208 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻 曹峰瑜, 吴彪 |

| | |
|-------|--|
| | <p>2213 便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效 韩柯, 向前</p> <p>2217 幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果 俞惠敏, 诸景辉</p> |
| 附 录 | <p>I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知</p> <p>I 2014年国内国际会议预告</p> |
| 志 谢 | I 志谢世界华人消化杂志编委 |
| 消 息 | <p>2099 《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)</p> <p>2115 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊</p> <p>2149 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</p> <p>2212 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号</p> <p>2216 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费</p> |
| 封面故事 | <p>王标钰, 张法灿, 张国. 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2100-2107</p> <p>http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp</p> <p>http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100</p> |
| 本期责任人 | <p>编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 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</p> |

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 2014-05-28

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

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

编辑部

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 手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计

源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《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, 分别位居自然科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

May 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 15

| | |
|----------------------------|--|
| EDITORIAL | 2073 H ⁺ /K ⁺ -ATPase inhibitors and acid-related disorders <i>Li H, Shi FH, Liu F, Chen H, Wang YQ, Gong XJ, Wei JF</i> |
| BASIC RESEARCH | 2081 Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma <i>Li RL, Zhou S, Qin J, Liang CM, Luo GR</i> 2091 Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats <i>Yu L, Hua L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM</i> |
| CLINICAL RESEARCH | 2100 Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis <i>Wang BY, Zhang FC, Zhang G</i> 2108 Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells <i>Li HR, Huang LS, Chen G, Lu HP, Feng ZB</i> |
| REVIEW | 2116 Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma <i>Hu GY, Huang ZS</i> 2122 Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass <i>Zhao ZY, Song B</i> 2128 Epigenetics of colorectal cancer <i>Ju HY, Chai XK, Bai WY</i> |
| RAPID COMMUNICATION | 2134 Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells <i>Liu D, Zhao ZX, Chi DP, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Chen P, Zheng LH, Wang XH, Wang YS</i> 2140 Cloning and prokaryotic expression of human Cdc25C <i>Zhuo SY, Chen CX, Zhong WG, Nong WX, Huang TM, Ma BG, Mo FR</i> |
| CLINICAL PRACTICE | 2145 Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy <i>Liu H, Shi GF, Li RX, Jia LT, Zhai YM, Shao X</i> 2150 Heweifang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis <i>Xie YZ, Zhang MH</i> 2155 Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer <i>Zhu L, Yang SF, Yu S, Zheng AM, Xu RW</i> 2159 PEG-IFN- α -2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B <i>Liu FJ, Liu ZH</i> 2163 TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases <i>Cheng SP, Xue HL, Zeng WZ, Qin JP, Jiang MD</i> 2169 Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy <i>Wang SP, Li JS, Ma JL, Jia WD, Ge YS, Yu JH</i> 2175 Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy <i>Qiu YR, Zhang HY</i> 2179 Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy <i>Li Z, Ma RQ</i> 2183 Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review <i>Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY</i> 2190 Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration in the treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy <i>Wei XP, Hu MD, Yang WX, Li W, Zhou J, Tian DG</i> 2194 Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases <i>Zhang YF, Huang QX</i> 2198 Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis <i>Li Z, Zhang Y, Fan ZT</i> 2202 Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma <i>Zhang BX, Pan HD, Gao ZY, Gu J, Zhao J</i> 2208 Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer <i>Cao FY, Wu B</i> 2213 Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients <i>Han K, Xiang Q</i> |

| | |
|---|--|
| | 2217 Therapeutic and nursing effects of <i>Helicobacter pylori</i> positive peptic ulcer Yu HM, Zhu JH |
| 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 | Wang BY, Zhang FC, Zhang G. Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(15): 2100-2107 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100 |
| RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE | Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Peng Guo</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 May 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 Zheji-

ang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

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

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

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 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

质子泵抑制剂与酸相关性疾病

李浩, 施芳红, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福

李浩, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 魏继福, 江苏省人民医院药学部
临床药理实验室 江苏省南京市 210029

李浩, 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心药剂科
上海市 200127

施芳红, 上海交通大学医学院附属上海仁济医院药剂科 上
海市 200127

龚晓健, 中国药科大学药理教研室 江苏省南京市 210009
魏继福, 研究员, 博士生导师, 主要从事药理学与分子生物学研究
及药物一期临床研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 30972822, 81273274,
81273593

科技重大专项“呼吸病新药临床评价研究技术平台建设”
基金资助项目, No. 2011ZX09302-003-02

作者贡献分布: 李浩与施芳红主要完成论文的写作; 刘菲与陈浩
提供文献的检索和筛选; 王永庆与龚晓健对论文进行审校; 魏继
福设计论文的整体结构和思路.

通讯作者: 魏继福, 研究员, 210029, 江苏省南京市鼓楼区广州
路300号, 江苏省人民医院药学部临床药理实验室.

weijifu@hotmail.com

电话: 025-68136984

收稿日期: 2013-12-13 修回日期: 2014-04-10

接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-05-28

H⁺/K⁺-ATPase inhibitors and acid-related disorders

Hao Li, Fang-Hong Shi, Fei Liu, Hao Chen,
Yong-Qing Wang, Xiao-Jian Gong, Ji-Fu Wei

Hao Li, Fei Liu, Hao Chen, Yong-Qing Wang, Ji-Fu Wei,
Research Division of Clinical Pharmacology, the First Af-
filiated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing
210029, Jiangsu Province, China

Hao Li, Department of Pharmacy, Shanghai Children's
Medical Center, Shanghai Jiaotong University School of
Medicine, Shanghai 200127, China

Fang-Hong Shi, Department of Pharmacy, Renji Hospital,
Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shang-
hai 200127, China

Xiao-Jian Gong, Department of Pharmacology, China Phar-
maceutical University, Nanjing 210009, Jiangsu Province,
China

Supported by: National Natural Science Foundation of
China, Nos. 30972822, 81273274 and 81273593; National
Major Scientific, Technological Special Project for "Signifi-
cant New Drugs Development", No. 2011ZX09302-003-02

Correspondence to: Ji-Fu Wei, Researcher, Research
Division of Clinical Pharmacology, the First Affiliated Hos-
pital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road,
Gulou District, Nanjing 210029, Jiangsu Province,
China. weijifu@hotmail.com

Received: 2013-12-13 Revised: 2014-04-10

Accepted: 2013-04-17 Published online: 2014-05-28

Abstract

H⁺/K⁺-ATPase inhibitors, which inhibit gastric

acid secretion, are a known class of pharmaceutical
agents generally used for the treatment of gastric
acid-related diseases including peptic ulcer dis-
ease, functional dyspepsia and gastroesophageal
reflux disease. This paper reviews the recent pro-
gress in research of H⁺/K⁺-ATPase inhibitors and
their applications in gastric acid-related diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights
reserved.

Key Words: H⁺/K⁺-ATPase inhibitors; Acid-related
disorders

Li H, Shi FH, Liu F, Chen H, Wang YQ, Gong XJ, Wei
JF. H⁺/K⁺-ATPase inhibitors and acid-related disorders.
Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2073-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2073.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2073>

摘要

质子泵抑制剂主要作用于胃H⁺/K⁺-ATP酶, 从
而达到抑制胃酸的目的. 临床上主要用于治疗
胃酸分泌过多而引发的疾病, 如胃溃疡、十二
指肠溃疡、功能性消化不良和胃食管反流病
等. 本文针对质子泵抑制剂的研究进展及其在
酸相关性疾病治疗中的应用进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 质子泵抑制剂; 酸相关性疾病

核心提示: 新一代质子泵抑制剂较第一代质子泵
抑制剂起效快, 个体差异少, 在治疗酸相关性疾
病中具有良好的应用前景. 钾竞争性酸阻滞剂虽
然还未在国内广泛用于临床, 但其良好的稳定性和
快速的体内作用使其具有良好的开发前景.

李浩, 施芳红, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福. 质子泵抑制剂
与酸相关性疾病. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2073-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2073.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2073>

0 引言

质子泵(proton pump), 即H⁺/K⁺-ATP酶(H⁺/K⁺-

■背景资料

质子泵抑制剂是
一类作用于胃
H⁺/K⁺-ATP酶, 抑
制胃酸分泌的
药物. 其在临床上
主要用于酸相关性
疾病的治疗.

■同行评议者

刘占举, 教授, 同
济大学附属上海
市第十人民医院;
汤静, 主管药师,
上海交通大学附
属第一人民医院
药学部

■研发前沿

目前研究热点集中在新一代质子泵抑制剂如具有光学特异性或受代谢酶影响较小的新型药物。钾竞争性酸阻滞剂随表现出良好的抑酸效果,但尚缺乏足够的临床数据。

ATPase), 是一种结合在细胞膜表面的, 利用ATP水解产生的能量驱动细胞膜两侧离子交换(质子、氯离子和钾离子)的P型阳离子转运体^[1]。质子泵主要存在于胃壁细胞和肾脏, 其功能各不相同。肾脏的质子泵主要负责酸化尿液和重吸收钾^[2]。而人体内主要的质子泵存在于胃壁细胞分泌小管的细胞膜上, 其借助ATP降解提供的能量进行 H^+ 、 K^+ 交换, 特异性地将 H^+ 泵入胃腔, 酸化胃内容物, 形成胃内高酸状态^[3]。

质子泵抑制剂(H^+/K^+ -ATPase inhibitors, proton pump inhibitors, PPIs), 包括不可逆性抑制质子泵的藥物如替莫拉唑(timoprazole, TMZ)、奥美拉唑(omeprazole, OMZ)、兰索拉唑(lansoprazole, LSZ)、雷贝拉唑(rabeprazole, RBZ)等和可逆性抑制质子泵的钾离子竞争性拮抗剂(the K^+ -competitive acid pump antagonists, P-CABs/APAs)。目前, 质子泵抑制剂主要用于治疗与胃酸分泌过多有关的疾病。

1 质子泵抑制剂的种类及其发展

20世纪初, 消化性溃疡和幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的致病作用与胃酸分泌过多之间的关系被得到证实。在组胺2受体阻断剂如西咪替丁上市前, 胃酸分泌过多一直无法得到有效地治疗。组胺2受体阻断剂虽然可以有效地抑制胃酸分泌, 但此类药物无法防止溃疡复发, 使得患者需长期维持药物治疗, 造成绝大多数患者产生药物耐受。20世纪初期, 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的发病率急剧增加。此类疾病的发病机制与胃酸分泌过多密切相关。然而组胺受体拮抗剂并不能有效的治疗此类疾病。1975年, 第一个以 H^+/K^+ -ATP酶为作用靶点的化合物问世。其利用胃酸激活成活性化合物后, 与 H^+/K^+ -ATP酶共价结合, 抑制胃酸分泌。1983年, 由TMZ修饰后得到的衍生物OMZ, 率先应用于临床研究中, 并取得了惊人的疗效。1989年后, OMZ被广泛的用于治疗胃酸相关性疾病。随之而来的是其他几个质子泵抑制剂包括LSZ、泮托拉唑、RBZ等^[1]。然而, 这些化合物血浆半衰期相对较短, 且需要在酸性条件下激活, 存在一定的局限性。因此, 一种全新的质子泵抑制剂, K^+ 竞争性质子泵拮抗剂面世。此类化合物不依赖于酸活化, 直接与质子泵结合, 更加快速有效的抑制胃酸分泌。虽然此类药物与不可逆抑制的质子泵抑制剂相比, 作用时间较短, 与质子泵结合是可逆的, 需在血浆中

维持一定的浓度, 才能确保其有效的作用于质子泵^[1]。但是其在酸性环境中稳定, 可以制成缓释制剂延长药物的释放时间, 以减少每日的给药次数, 因此有良好的应用前景。

1.1 不可逆性质子泵抑制剂 TMZ及其衍生物吡考拉唑(picoprazole)于1978年问世。其高度特异的作用于质子泵, 且不受细胞外分泌物(如组胺、胃泌素或乙酰胆碱)或细胞内分泌物(如双丁酰环磷腺苷)的影响^[4]。替莫拉唑除具有良好的抑制胃酸分泌的作用外, 还可抑制甲状腺中的碘化物的积累^[5]。由于替莫拉唑有引发甲状腺相关不良反应发生的风险, 替莫拉唑并没有在临床上得到广泛的应用。

第一代质子泵抑制剂包括OMZ、LSZ和泮托拉唑。OMZ为单烷氧基吡啶化合物, 是由美国食品和药物管理局(Food and Drugs Administration, FDA)批准的第一个用于临床的苯并咪唑类衍生物。其口服生物利用度为30%-40%左右^[6]。与OMZ相比, LSZ在吡啶环4位侧链导入氟原子(F3)后, 以三氟乙氧基为取代基, 其口服生物利用度较OMZ提高了30%左右^[7]。但Krupa等^[8]研究表明, 老年患者使用LSZ可能出现低镁血症, 存在一定的安全隐患。泮托拉唑吡啶环的4-甲氧基和3-甲氧基使其在中性pH环境中更加稳定, 且与质子泵结合具有更高的选择性^[9]。但Binnetoğlu等^[10]研究发现, 泮托拉唑在治疗上消化道出血的过程中会导致血小板的减少, 不建议长期使用。第一代PPI主要通过肝脏内的细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)的同工酶CYP2C19和CYP3A4代谢^[4]。根据人体内CYP2C19和CYP3A4基因分型及其表达酶活性的高低, 不同个体之间存在超快代谢者(ultra metabolizers, URMIs)、纯合子强代谢者(homozygote extensive metabolizers, HomEMs)、杂合子强代谢者(heterozygous extensive metabolizers, HetEMs)和弱代谢者(poor metabolizers, PMs)四种类型^[11,12]。由于第一代质子泵抑制剂的代谢与CYP2C19基因分型及其表达酶活性的高低密切相关, 导致临床上不同患者使用质子泵抑制剂后其血药浓度存在巨大差异, 致使患者间抑酸效果不一, 且容易导致药物相互作用。此外, 第一代质子泵抑制剂不能持续性的抑制胃酸, 需要在多次给药后才能发挥最大抑酸作用, 且易出现夜间“酸突破”。因此第一代质子泵抑制剂有待进一步改善。

新一代质子泵抑制剂在不同程度上克服了

第一代质子泵抑制剂的某些缺陷, 具有抑酸作用起效快、昼夜均可维持较高的抑酸水平、个体差异小、不良反应少且与其他药物之间较少发生相互影响。雷贝拉唑作为新一代质子泵抑制剂的代表药, 可作用于 H^+/K^+ -ATP酶的4个部位, 具有起效快、作用持久、抑酸强度高等特点^[13]。埃索美拉唑是第一个具有单一S型异构体的光学特异的质子泵抑制剂。由于其特殊的光学特性, 其更多地由CYP3A4代谢, 对CYP2C19依赖性小, 且半衰期较混合型长, 故血浆中活性药物浓度高而持久, 药物之间相互影响小, 具有良好的药效学特征^[14]。Cardile等^[15]证实, 埃索美拉唑可以安全有效地用于儿童GERD的治疗, 良好的控制反酸情况的发生, 但埃索美拉唑并不能显著改善新生儿GERD患者的体征和症状^[16]。之后上市的右兰索拉唑同样具有单一的光学特异性, 并较兰索拉唑有更为良好的药效学特征。Wu等^[17]研究发现, 右兰索拉唑30 mg治疗GERD的疗效优于埃索美拉唑20 mg或40 mg, 且可以同时缓解胃灼热和酸反流症状^[18]。莱米诺拉唑除具有抗胃酸作用外, 还具有良好的胃黏膜保护作用^[19]。艾普拉唑对CYP2C19的依赖性小, 起效快, 且半衰期更长, 可持续抑酸及控制夜间酸分泌^[20,21]。临床上常用的几种不可逆质子泵抑制剂的作用特点如表1^[22-25]。

1.2 可逆性质子泵抑制剂 钾竞争性酸阻滞剂是一类新型质子泵抑制剂, 其通过竞争性抑制 K^+ 进入壁细胞, 进而抑制 H^+/K^+ 交换。钾竞争性酸阻滞剂是一类亲脂性的弱碱性化合物, 且在酸性条件下有良好的稳定性, 解离常数较高(pKa约等于6.0), 与质子泵以非共价键结合, 属于可逆性质子泵抑制剂^[26]。目前, 钾竞争性酸阻滞剂主要包括咪唑吡啶(如SCH28080、AZD0865、BY841)和邻苯二甲酰磺胺嘧啶或喹啉衍生物(如SKF-96067、SKF-97574)。钾竞争性酸阻滞剂不依赖于酸活化, 可以直接作用于质子泵, 因此能够快速起效, 且在1 h内就能达到最大效果。通过药代动力学研究发现, 该类药物的血药浓度与口服给药剂量线性相关, 表明该类药物的血药浓度比较容易地达到最佳抑酸状态^[27]。SCH28080是首个钾竞争性酸阻滞剂, 由于其存在严重的肝细胞毒性而终止了临床试验。虽然soraprazan较埃索美拉唑抑酸作用强大持久^[28], 但在经过二期临床研究后, soraprazan相关研究于2007年被终止。目前, AZD-0865和Revaprazan等^[29]已进入临床研究阶段, 且Revaprazan已在韩国获准上市。

Lee等^[30]研究证实, Revaprazan除具有良好的抑酸效果外, 还可以抑制*H. pylori*引起的环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)表达而达到良好的抗炎作用(表2)。

2 质子泵抑制在酸相关疾病中的应用

酸相关疾病(acid related disorders, ARDs)是指由于胃酸分泌过多或与胃酸敏感有关的胃肠道疾病, 其主要包括消化性溃疡(peptic ulcer diseases, PUD)、GERD和功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)^[31,32]。胃酸分泌由壁细胞分泌小管膜上的 H^+/K^+ -ATP酶(质子泵)参与完成^[1]。*H. pylori*感染、十二指肠液反流、胃排空迟缓、长期服用非甾体抗炎药、不良生活习惯如吸烟、嗜酒等因素可使胃酸分泌增加, 从而导致食管、胃及十二指肠黏膜的损害^[33]。其中, *H. pylori*感染是消化性溃疡、慢性胃炎及胃癌的主要致病因素。*H. pylori*感染后, 可通过多重途径导致患者胃酸分泌量增加。*H. pylori*尿素酶分解尿素产生氨, 致使局部pH升高, 导致胃酸对胃泌素的反馈抑制作用受到干扰^[33]。*H. pylori*感染使得D细胞旁分泌生长抑素减少, 减弱由生长抑素对G细胞产生的抑制作用, 致使G细胞敏感性增强^[33]。因此, *H. pylori*感染后患者血清胃泌素水平升高, 从而促进胃酸分泌。胃酸在局部组织集聚使得pH值降低, 影响细胞内许多代谢酶的功能, 引起能量生成障碍, 细胞膜的主动转运过程失常, 致使细胞变性坏死。此外, H^+ 过多, 还能刺激肥大细胞, 引起组胺分泌, 组胺通过旁分泌作用于壁细胞使胃酸分泌进一步增高, 且组胺还可刺激局部组织, 引起毛细血管扩张, 通透性增加, 最终导致黏膜充血水肿、出血、糜烂甚至溃疡的发生。

目前, 酸相关性疾病的治疗主要包括祛除病因、保护胃黏膜及抗酸治疗3个方面^[33,34]。减少服用胃黏膜刺激性药物、养成良好的生活习惯、戒烟酒等可以减少酸相关性疾病的发生。对于由*H. pylori*感染而导致的酸相关性疾病, 应当根除感染的*H. pylori*。目前, 临床上治疗*H. pylori*多采用PPIs联合两种抗生素或铋剂联合两种抗生素方法治疗。而非*H. pylori*感染而导致的酸相关性疾病主要采用抗酸治疗^[35]。根据抗酸药物作用机制的不同, 抗酸药物主要包括制酸剂和抑酸剂两类。制酸剂主要是指能够中和胃酸的碱性药物, 如氢氧化铝凝胶、胃达喜、小苏打等。应用后可迅速升高胃内pH值以减轻

■ 相关报道

张培培等在《质子泵抑制剂研究新进展》一文中对质子泵抑制剂的分子作用机制、药理作用和药动学特性及其影响因素做系统的综述。

■创新盘点

本文系统地介绍了质子泵抑制剂的发展史、目前的研究状况及临床上最新的试验结果。

表 1 临床上常用的几种不可逆性质子泵抑制剂

| 中文名 | 英文名 | 结构式 | $t_{1/2}$ (h) | T_{max} (h) | 首次上市时间, 国家 | 是否收载于药典 |
|-------|-----------------|-----|---------------|---------------|----------------|-----------------|
| 奥美拉唑 | Omeprazole | | 0.5–1.2 | 1–4 | 1988–10, 瑞士、德国 | CP、USP、EP、BP、JP |
| 兰索拉唑 | Lansoprazole | | 0.9–2.1 | 1.2–2.1 | 1992–11, 日本 | USP、EP、BP |
| 泮托拉唑 | Pantoprazole | | 0.8–2.0 | 2–4 | 1995–10, 德国 | USP、EP、BP |
| 雷贝拉唑 | Rabeprazole | | 0.6–1.4 | 3–5 | 1998–3, 日本 | JP |
| 埃索美拉唑 | Esomeprazole | | 1.3–1.6 | 1.0–3.5 | 2000–9, 英国 | USP、EP、BP |
| 莱米诺拉唑 | laminoprazole | | 2.5 | 1–2 | 2000–12, 日本 | 否 |
| 艾普拉唑 | Ilaprazole | | 4.3 | 4–5 | 2008–3, 中国 | 否 |
| 右兰索拉唑 | Dexlansoprazole | | 1.0–2.0 | 1.0–2.0 | 2009–1, 美国 | 否 |

$t_{1/2}$: 半衰期; T_{max} : 达峰时间; USP: 美国药典USP35–NF30; EP: 欧洲药典7.0; BP: 英国药典BP2012; CP: 中国药典2010; JP: 日本药典JP16.

表 2 代表性钾竞争性酸阻滞剂

| 名称/代号 | 结构式 | 研发小组 | 现阶段情况 | 备注 |
|------------------------|-----|-------------------------|-----------------|--------|
| SCH-28080 | | A Schering-Plough group | Phase I 后停止研发 | 肝细胞毒性 |
| AZD-0865 | | AstraZeneca | Phase II b(美国) | 临床试验阶段 |
| Pumaprazole/ BY-841 | | The Byk Gulden group | Phase II 后停止研发 | 原因不详 |
| CS-526 | | The Sankyo/Ube group | Phase I 后停止研发 | 原因不详 |
| Soraprazan/ BY-359 | | An Altana group | II b期后停止研发 | 对化合物改进 |
| SKF-96067 | | The SK&F group | II / III 期后停止研发 | 原因不详 |
| SKF-97574 | | The SK&F group | II 期后停止研发 | 原因不详 |

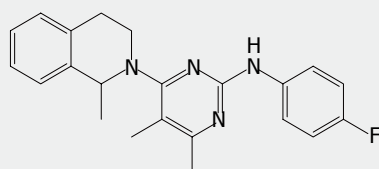
■应用要点

本文可以对临床用药给予一定的参考价值, 对于刚入门的读者也有很好的帮助。

■同行评价

本文对临床用药
有一定指导价值。

Revaprazan



The Yuhan group

II 期(美国)

原因不详

临床症状. 但这类药物不能有效地阻断胃酸分泌, 需长期服用, 临床应用有限^[36]. 抑酸剂主要包括胃泌素受体抑制剂、胆碱能受体抑制剂、H₂受体抑制剂和PPI^[1]. 胃泌素受体抑制剂如丙谷胺, 直接作用于胃泌素受体, 但其与受体结合的特异性不强, 抑酸作用较弱, 临床上很少应用. 胆碱能受体抑制剂能够抑制壁细胞膜上的M受体结合有效地抑制胃酸分泌, 且可阻断消化系统平滑肌M受体, 解除平滑肌痉挛, 缓解疼痛. 但其对受体所在组织器官的选择性不强, 因而可导致较多的不良反应. 新一代胆碱能受体抑制剂哌仑西平(prenzepine)可选择性作用于胃肠平滑肌M受体, 因而不良反应相对较少, 具有较好的临床应用前景. H₂受体抑制剂, 如尼替丁、法莫替丁、尼扎替丁及罗沙替丁等, 仅阻断组胺驱动的酸分泌, 抑酸作用因其他酸分泌刺激通路的存在而被削弱, 容易产生耐受性, 且由于其对组织胺其他型受体也有一定的作用, 故可引起较多的不良反应^[33]. PPI是目前抑酸作用最强的一类药物. 自1988年第一个PPI OMZ问世以来, PPI已在临床上得到了广泛的应用. PPI是一类弱碱性的脂溶性药物, 在酸性环境下与H⁺结合成离子状态并得以活化, 其次磺酰基团与质子泵的巯基进行不可逆的结合, 形成二硫键, 从而使质子泵永久性的失活, 达到强大的抑酸效果^[1]. 第一代PPI如OMZ、泮托拉唑及LSZ主要通过肝脏CYP2C19代谢, 常出现用药的个体差异, 且与其他药物有交互影响^[11]. 新一代PPI雷贝拉唑少依赖CYP2C19酶代谢, 因而个体差异较少, 与其他药物极少发生相互作用. 且在高酸和低酸环境下都能快速起效, 作用更稳定, 不良反应少, 且具有体外抗*H. pylori*活性, 直接攻击*H. pylori*, 非竞争的不可逆地抑制*H. pylori*尿素酶. 故具有良好的临床应用前景^[1]. Haddad等^[37]通过对1-11岁的GERD患儿给予RBZ研究发现, RBZ可以在24 wk内安全有效地用于儿童GERD的治疗.

质子泵抑制剂在治疗十二指肠溃疡^[38]、胃部*H. pylori*感染^[39]、GERD^[40]、胃炎^[41]、上消化

道出血^[42]等疾病中均有应用. 对于由*H. pylori*感染而引发的ARDs, 临床上推荐的治疗方法包括: (1)以质子泵抑制剂为主加用抗生素的联合疗法, 如采用PPI、阿莫西林、克拉霉素治疗2 wk, 之后连续服用PPI 4 wk, 总疗程为6 wk的治疗方案^[43]; (2)以质子泵抑制剂、铋剂连用抗生素的三联疗法; (3)以质子泵抑制剂、铋剂、甲硝唑加抗生素的四联疗法. 其中, 四联疗法中常用的抗生素有阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑、四环素和呋喃唑酮6种, 根据患者自身情况可以结合不同的PPI给予诊疗方案^[44]. Ren等^[45]通过对PPI结合5-HT二联疗法与单独使用PPI治疗GERD的研究结果表明, 二联疗法产生不良反应的几率高于单独使用PPI, 且疗效与单独使用PPI并没有显著的提高. López-Alvarenga等^[46]研究表明, 泮托拉唑-铋剂可以安全有效的缓解GERD引起的食管内外症状. 对于患有PUD和GERD的老年患者, Haddad等^[37]研究结果建议采用埃索美拉唑治疗.

3 结论

H⁺/K⁺-ATP酶是调节胃酸分泌的关键酶. 质子泵抑制剂可作用于H⁺/K⁺-ATP酶而达到抑制胃酸分泌的作用. 质子泵抑制剂在临床上使用时间长达20年, 且不良反应相对较少^[47], 长期使用不会对胃部产生刺激而引起胃萎缩等情况的发生^[48], 但长期使用质子泵抑制剂可能引起如骨折、呼吸系统感染、自发性腹膜炎、艰难梭杆菌感染等情况的发生^[49,50]. 其相对良好的安全性和强大的抑制胃酸分泌的作用使其成为治疗酸相关性疾病最常使用的药物. 相信随着研究的深入, 质子泵抑制剂将具有更加广泛的应用前景.

4 参考文献

- Li H, Meng L, Liu F, Wei JF, Wang YQ. H⁺/K⁺-ATPase inhibitors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2013; 23: 99-111 [PMID: 23205582]
- Kone BC. Renal H₂K-ATPase: structure, function and regulation. *Miner Electrolyte Metab* 1996; 22: 349-365 [PMID: 8933506]
- 梁小燕, 高青. 质子泵抑制剂的研发进展. *医学综述* 2007; 13: 245-247

- 4 Sachs G, Shin JM, Vagin O, Lambrecht N, Yakubov I, Munson K. The gastric H,K ATPase as a drug target: past, present, and future. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41 Suppl 2: S226-S242 [PMID: 17575528]
- 5 Zhang ML, Sugawa H, Mori T. Inhibition of thyrocyte iodide uptake by H+K+ ATPase inhibitor, timoprazole. *Endocr J* 1995; 42: 489-496 [PMID: 8556055]
- 6 Lindberg P, Brändström A, Wallmark B, Mattsson H, Rikner L, Hoffmann KJ. Omeprazole: the first proton pump inhibitor. *Med Res Rev* 1990; 10: 1-54 [PMID: 2404184]
- 7 Nagaya H, Satoh H, Maki Y. Possible mechanism for the inhibition of acid formation by the proton pump inhibitor AG-1749 in isolated canine parietal cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252: 1289-1295 [PMID: 2156997]
- 8 Krupa LZ, Fellows IW. Lansoprazole-induced hypomagnesaemia. *BMJ Case Rep* 2014; 2014 [PMID: 24414180 DOI: 10.1136/bcr-2012-006342]
- 9 Kohl B, Sturm E, Senn-Bilfinger J, Simon WA, Krüger U, Schaefer H, Rainer G, Figala V, Klemm K. (H+,K+)-ATPase inhibiting 2-[(2-pyridylmethyl)sulfinyl]benzimidazoles. 4. A novel series of dimethoxypyridyl-substituted inhibitors with enhanced selectivity. The selection of pantoprazole as a clinical candidate. *J Med Chem* 1992; 35: 1049-1057 [PMID: 1313110]
- 10 Binnetoğlu E, Akbal E, Sen H, Güneş F, Erbağ G, Aşık M, Bozkurt N, Uludağ A, Tekin M, Tekin SZ. Pantoprazole-induced thrombocytopenia in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Platelets* 2014 Feb 10. [Epub ahead of print] [PMID: 24512269]
- 11 张培培, 王永庆, 龚晓健. 质子泵抑制剂研究新进展. *药学进展* 2011; 35: 487-495
- 12 李浩, 施芳红, 王德旺, 王永庆, 魏继福. 质子泵抑制剂在呼吸系统疾病和抗病毒领域的应用. *药学与临床研究* 2013; 21: 539-543
- 13 Marelli S, Pace F. Rabeprazole for the treatment of acid-related disorders. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 423-435 [PMID: 22928894 DOI: 10.1586/egh.12.18]
- 14 Sahara S, Sugimoto M, Uotani T, Ichikawa H, Yamade M, Iwaizumi M, Yamada T, Osawa S, Sugimoto K, Umemura K, Miyajima H, Furuta T. Twice-daily dosing of esomeprazole effectively inhibits acid secretion in CYP2C19 rapid metabolisers compared with twice-daily omeprazole, rabeprazole or lansoprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 1129-1137 [PMID: 24099474 DOI: 10.1111/apt.12492]
- 15 Cardile S, Romano C. Clinical utility of esomeprazole for treatment of gastroesophageal reflux disease in pediatric and adolescent patients. *Adolesc Health Med Ther* 2012; 3: 27-31 [PMID: 24600284]
- 16 Davidson G, Wenzl TG, Thomson M, Omari T, Barker P, Lundborg P, Illueca M. Efficacy and safety of once-daily esomeprazole for the treatment of gastroesophageal reflux disease in neonatal patients. *J Pediatr* 2013; 163: 692-698. e1-e2 [PMID: 23800403 DOI: 10.1016/j.jpeds.2013.05.007]
- 17 Wu MS, Tan SC, Xiong T. Indirect comparison of randomised controlled trials: comparative efficacy of dexlansoprazole vs. esomeprazole in the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 190-201 [PMID: 23718547 DOI: 10.1111/apt.12349]
- 18 Peura DA, Pilmer B, Hunt B, Mody R, Perez MC. Distinguishing the impact of dexlansoprazole on heartburn vs. regurgitation in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 1303-1311 [PMID: 24118079 DOI: 10.1111/apt.12504]
- 19 Okabe S, Shimosako K, Amagase K. Pharmacological regulation of gastric acid secretion in the apical membrane of parietal cells; a new target for antisecretory drugs. *J Physiol Pharmacol* 2001; 52: 639-656 [PMID: 11787764]
- 20 Seo KA, Lee SJ, Kim KB, Bae SK, Liu KH, Kim DH, Shin JG. Ilaprazole, a new proton pump inhibitor, is primarily metabolized to ilaprazole sulfone by CYP3A4 and 3A5. *Xenobiotica* 2012; 42: 278-284 [PMID: 22022918 DOI: 10.3109/00498254.2011.622416]
- 21 de Bortoli N, Martinucci I, Giacchino M, Blandizzi C, Marchi S, Savarino V, Savarino E. The pharmacokinetics of ilaprazole for gastro-esophageal reflux treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2013; 9: 1361-1369 [PMID: 23802731 DOI: 10.1517/17425255.2013.813018]
- 22 Lind T, Rydberg L, Kylebäck A, Jonsson A, Andersson T, Hasselgren G, Holmberg J, Röhss K. Esomeprazole provides improved acid control vs. omeprazole in patients with symptoms of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 861-867 [PMID: 10886041]
- 23 Stedman CA, Barclay ML. Review article: comparison of the pharmacokinetics, acid suppression and efficacy of proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 963-978 [PMID: 10930890]
- 24 Shi S, Klotz U. Proton pump inhibitors: an update of their clinical use and pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 935-951 [PMID: 18679668 DOI: 10.1007/s00228-008-0538-y]
- 25 Shin JM, Kim N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 25-35 [PMID: 23350044 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.25]
- 26 Sachs G, Shin JM, Hunt R. Novel approaches to inhibition of gastric acid secretion. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 437-447 [PMID: 20924727 DOI: 10.1007/s11894-010-0149-5]
- 27 Maradey-Romero C, Fass R. New and Future Drug Development for Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil* 2014; 20: 6-16 [PMID: 24466441]
- 28 Simon WA, Herrmann M, Klein T, Shin JM, Huber R, Senn-Bilfinger J, Postius S. Soraprazan: setting new standards in inhibition of gastric acid secretion. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 866-874 [PMID: 17369284]
- 29 Kim HK, Park SH, Cheung DY, Cho YS, Kim JI, Kim SS, Chae HS, Kim JK, Chung IS. Clinical trial: inhibitory effect of revaprazan on gastric acid secretion in healthy male subjects. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1618-1625 [PMID: 20880169 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06408.x]
- 30 Lee JS, Cho JY, Song H, Kim EH, Hahm KB. Revaprazan, a novel acid pump antagonist, exerts anti-inflammatory action against Helicobacter pylori-induced COX-2 expression by inactivating Akt signaling. *J Clin Biochem Nutr* 2012; 51: 77-83 [PMID: 22962522 DOI: 10.3164/jcbn.11-94]
- 31 Majumdar SR, Soumerai SB, Farraye FA, Lee M, Kemp JA, Henning JM, Schrammel P, LeCates RF, Ross-Degnan D. Chronic acid-related disorders are common and underinvestigated. *Am J Gastroenterol*

- 2003; 98: 2409-2414 [PMID: 14638341]
- 32 Chiba T, Malfertheiner P, Satoh H. Proton Pump Inhibitors: A Balanced View. *Front Gastrointest Res* 2013; 32: 77-83 [DOI: 10.1159/000350633]
- 33 许天波, 柯美云. 酸相关疾病治疗研究进展. *中国医药导刊* 2003; 5: 101-103
- 34 刘伟, 钟良, 孙大裕. 酸相关疾病治疗药物的研究进展. *临床消化病杂志* 2006; 18: 318-318
- 35 万国兰. 消化性溃疡的药物治疗及进展. *中国医药导报* 2007; 4: 5-6
- 36 杨波, 王国清. 抗酸药研究进展. *沈阳药科大学学报* 2001; 18: 148-151
- 37 Haddad I, Kierkus J, Tron E, Ulmer A, Hu P, Silber S, Sloan S, Leitz GJ. Maintenance of Efficacy and Safety of Rabeprazole in Children With Endoscopically Proven GERD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 510-517 [PMID: 24164904]
- 38 Li XB, Ge ZZ, Chen XY, Liu WZ. Duodenal gastric metaplasia and Helicobacter pylori infection in patients with diffuse nodular duodenitis. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 897-902 [PMID: 17653441]
- 39 Gisbert JP. Potent gastric acid inhibition in Helicobacter pylori eradication. *Drugs* 2005; 65 Suppl 1: 83-96 [PMID: 16335862]
- 40 Horn J. The proton-pump inhibitors: similarities and differences. *Clin Ther* 2000; 22: 266-280; discussion 265 [PMID: 10963283]
- 41 Bergman MP, Amedei A, D'Elios MM, Azzurri A, Benagiano M, Tamburini C, van der Zee R, Vandenbroucke-Grauls CM, Appelmek BJ, Del Prete G. Characterization of H⁺,K⁺-ATPase T cell epitopes in human autoimmune gastritis. *Eur J Immunol* 2003; 33: 539-545 [PMID: 12645953]
- 42 Elphick DA, Riley SA. Omeprazole before endoscopy in patients with gastrointestinal bleeding. *N Engl J Med* 2007; 357: 303; author reply 304 [PMID: 17634470]
- 43 刘莉, 王芳, 洪喆, 吴琦, 於健. 以雷贝拉唑和兰索拉唑为基础的三联疗法治疗复发性消化性溃疡的疗效比较. *中国临床医学* 2010; 17: 513-514
- 44 周丽雅, 闫秀娥. 含铋剂四联疗法治疗幽门螺杆菌感染药物选择. *中国实用内科杂志* 2013; 33: 185-185
- 45 Ren LH, Chen WX, Qian LJ, Li S, Gu M, Shi RH. Addition of prokinetics to PPI therapy in gastroesophageal reflux disease: A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2412-2419 [PMID: 24605040]
- 46 López-Alvarenga JC, Orr W, Vargas-Romero JA, Remes-Troche JM, Morales-Arámbula M, Soto-Pérez JC, Mateos-Pérez G, Sobrino-Cossío S, Teramoto-Matsubara O, López-Colombo A, Orozco-Gamiz A, Saez-Ríos A, Arellano-Plancarte A, Chiu-Ugalde J, Tholen A, Horbach S, Lundberg L, Fass R. Relief of Night-time Symptoms Associated With Gastroesophageal Reflux Disease Following 4 Weeks of Treatment With Pantoprazole Magnesium: The Mexican Gastroesophageal Reflux Disease Working Group. *J Neurogastroenterol Motil* 2014; 20: 64-73 [PMID: 24466446 DOI: 10.5056/jnm.2014.20.1.64]
- 47 Martín de Argila C. Safety of potent gastric acid inhibition. *Drugs* 2005; 65 Suppl 1: 97-104 [PMID: 16335863]
- 48 Eslami L, Nasser-Moghaddam S. Meta-analyses: does long-term PPI use increase the risk of gastric premalignant lesions? *Arch Iran Med* 2013; 16: 449-458 [PMID: 23906249 DOI: 10.13168/AIM.004]
- 49 张增珠, 李刚, 陈集志, 熊贤兵, 王丹辉. 质子泵抑制剂长期用药的临床风险. *中国药物警戒* 2013; 10: 663-665
- 50 王安起. 质子泵抑制剂不良反应文献分析. *中国药物警戒* 2013; 10: 683-686

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞瘤苗对肝细胞癌瘤内CD25⁺Foxp3⁺ Treg细胞的影响

李日伦, 周爽, 秦杰, 梁春敏, 罗国容

李日伦, 罗国容, 广西医科大学组织胚胎学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

周爽, 秦杰, 梁春敏, 复旦大学上海医学院解剖与组织胚胎学系 上海市 200032

李日伦, 博士研究生, 讲师, 主要从事肿瘤分子生物学的研究。

国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 30500280

国家自然科学基金面上基金资助项目, No. 30871312

作者贡献分布: 李日伦、周爽、秦杰、梁春敏及罗国容对此文均有贡献; 此课题由李日伦在梁春敏与罗国容的指导下设计; 研究过程主要由李日伦操作完成并得到周爽与秦杰的协助; 研究所用试剂及资金主要由梁春敏提供; 数据分析由李日伦完成; 本论文写作由李日伦完成并得到罗国容与梁春敏的指导。

通讯作者: 罗国容, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学组织胚胎学教研室。

grongluo@yahoo.com

电话: 0771-5351365

收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-04-08

接受日期: 2014-04-18 在线出版日期: 2014-05-28

Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma

Ri-Lun Li, Shuang Zhou, Jie Qin, Chun-Min Liang, Guo-Rong Luo

Ri-Lun Li, Guo-Rong Luo, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Shuang Zhou, Jie Qin, Chun-Min Liang, Department of Anatomy and Histology and Embryology, Shanghai Medical College Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30500280 and 30871312

Correspondence to: Guo-Rong Luo, Professor, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. grongluo@yahoo.com

Received: 2014-03-11 Revised: 2014-04-08

Accepted: 2014-04-18 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To determine whether the bone marrow derived dendritic cell (BMDC) vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins affects the infiltration of intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs in a mouse hepatocellular carcinoma (HCC) model.

METHODS: In the presence of GM-CSF and IL-4, BMDCs were induced *in vitro*. BMDCs were sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins to generate a vaccine for HCC. The expression of CD11c, CCR7, CD80 and CD86 on these sensitized BMDCs were analyzed by FACS. The anti-tumor effect of this vaccine was evaluated using a mouse HCC model established by subcutaneous injection of Hepal-6 cells. Eight days later, the tumor-bearing mice were divided into four groups, which underwent intratumoral injection of BMDCs sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins, serum-free culture medium, BMDCs without sensitization and BMDCs sensitized by unheated hepal-6 cell proteins (once every 7 days, 2 times altogether), respectively. Nine days after final administration, the mice were sacrificed and the tumor samples were taken for immunofluorescence staining for CD8⁺ cells and intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs.

RESULTS: Light microscopy and scanning electron microscopy showed that BMDCs propagated in the presence of GM-CSF and IL-4 displayed the typical morphological characteristics of dendritic cells. Immunocytochemical staining showed that they expressed the dendritic cell marks including CD11c, CCR7, CD80 and CD86. Compared with the controls (BMDCs without sensitization or sensitized by unheated hepal-6 cells proteins), the BMDCs sensitized by heat shocked hepal-6 cells proteins showed increased expression of CD11c (67.2 ± 4.49 vs 52.4 ± 5.20 , 58.4 ± 4.43), CCR7 (65.4 ± 5.34 vs 45.9 ± 5.04 , 57.0 ± 3.46), CD80 (62.9 ± 4.69 vs 46.9 ± 4.75 , 54.4 ± 3.47) and CD86 (73.3 ± 3.58 vs 60.1 ± 2.98 , 63.7 ± 3.10) ($P < 0.01$ for all). Compared with the controls, the mice administrated with the BMDC vaccine sensitized by heat shocked Hepal-6 cell proteins showed increased CD8⁺ T cells (55.0 ± 4.11 vs 38.2 ± 3.34 , 44.6 ± 4.29 , 45.6 ± 4.92 , $P < 0.01$ for all) and decreased intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs (0.37 ± 0.028 vs 1.31 ± 0.020 , 0.77 ± 0.057 , 0.57 ± 0.062 , $P < 0.05$ for all).

■背景资料

肿瘤微环境是肿瘤发生和发展的重要环境,也是肿瘤免疫耐受的主要因素。肿瘤免疫耐受主要表现为抗原缺失、CD25⁺Foxp3⁺ T细胞增多和树突状细胞(dendritic cells, DCs)功能下降等。因此,寻求免疫原强的抗原有效促进DCs成熟与抗原呈递能力,减弱CD25⁺Foxp3⁺细胞功能,促进CD8⁺ T细胞的增殖和活化是肿瘤免疫治疗的研究热点。

■同行评议者

代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所

■研究前沿

肿瘤裂解物、肿瘤细胞裂解蛋白、肿瘤RNA、细胞因子等致敏或基因修饰DCs等制作抗肿瘤疫苗是肿瘤免疫治疗的重要手段。但迄今还未找到理想的刺激DCs成熟的抗原物质,因此DCs疫苗的开发仍是探索的主要方向。

CONCLUSION: Heat shocked hepal-6 cell protein sensitization can upregulate the expression of CD11c, CCR7, CD80 and CD86 on BMDCs *in vitro*. Administration with this BMDC vaccine can increase CD8⁺ T cells and decrease intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs in HCC mice.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Heat shocked hepal-6 cell protein; Bone marrow derived dendritic cells; CD8⁺ T cells; CD25⁺Foxp3⁺ Tregs; Hepatocellular carcinoma

Li RL, Zhou S, Qin J, Liang CM, Luo GR. Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral CD25⁺Foxp3⁺ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2081-2090 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2081>

摘要

目的: 观察注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的骨髓来源树突状细胞(bone marrow derived dendritic cells, BMDCs)疫苗对小鼠肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)瘤内CD25⁺叉头盒转录因子P3(forkhead box p3, Foxp3)⁺调节T淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)浸润的影响。

方法: 在粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和白介素-4(interleukin-4, IL-4)诱导下体外扩增BMDCs, 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外致敏BMDCs制备疫苗, 荧光免疫化学染色和FACS检测致敏前后BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达变化。使用Hepal-6细胞皮下注射的方法制备小鼠(C57BL/6J)HCC模型, 成瘤小鼠分组注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs疫苗(足垫部和瘤内, 每7 d注射1次, 共2次), 并另设对照(空白对照组、BMDCs组和Hepal-6细胞裂解蛋白组)。在治疗结束后9 d获取组织标本, 免疫荧光组织化学染色和FACS检测瘤内注射后肿瘤内CD8⁺ T细胞和CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞的浸润情况。

结果: 光镜和扫描电镜显示: GM-CSF和IL-4在体外诱导扩增的BMDCs具有树突状细胞特征性的形态特征, 且免疫细胞化学染色显示: 该细胞表达CD11c, CCR7, CD80和CD86。使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs组, 与对照组(BMDCs组和Hepal-6

细胞裂解蛋白组)相比该组细胞CD11c(67.2 ± 4.49 vs 52.4 ± 5.20 , 58.4 ± 4.43 , $P < 0.01$), CCR7(65.4 ± 5.34 vs 45.9 ± 5.04 , 57.0 ± 3.46 , $P < 0.01$), CD80(62.9 ± 4.69 vs 46.9 ± 4.75 , 54.4 ± 3.47 , $P < 0.01$)和CD86(73.3 ± 3.58 vs 60.1 ± 2.98 , 63.7 ± 3.10 , $P < 0.01$)的表达均明显增高。使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs疫苗为HCC荷瘤小鼠进行注射治疗, 治疗后的检测结果显示: 该组小鼠瘤内CD8⁺ T细胞的浸润明显高于对照组(空白对照组、BMDCs组和Hepal-6细胞裂解蛋白组)(55.0 ± 4.11 vs 38.2 ± 3.34 , 44.6 ± 4.29 , 45.6 ± 4.92 , $P < 0.01$), 而同时瘤内CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞的浸润则明显低于相应对照组(0.37 ± 0.028 vs 1.31 ± 0.020 , 0.77 ± 0.057 , 0.57 ± 0.062 , $P < 0.05$)。

结论: 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs疫苗进行治疗, 可增强HCC小鼠瘤内CD8⁺ T细胞的浸润, 并同时减少CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞的浸润, 该疫苗具有抗肿瘤免疫效果。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白; 骨髓来源树突状细胞; CD8⁺ T细胞; CD25⁺Foxp3⁺ Treg细胞; 肝细胞癌

核心提示: 肿瘤免疫耐受是肿瘤免疫治疗的瓶颈, 而CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T细胞在肿瘤内的浸润是构成瓶颈的关键因素之一。尽管不同形式的抗原刺激DCs制备的疫苗有一定的抗肿瘤效应但效果不理想, 抗原的免疫原性是影响疫苗效果的关键因素之一。本研究利用Hepal-6细胞热休克后的裂解蛋白结合了肿瘤细胞裂解蛋白全抗原性和热休克后免疫原性增强的优势, 在体外有较强致敏DCs成熟的作用, 在体内能活化和促进CD8⁺ T细胞迁移入肿瘤灶, 减少CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T细胞在瘤内的浸润, 有较强的抗肿瘤效应。

李日伦, 周爽, 秦杰, 梁春敏, 罗国容. Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞疫苗对肝细胞癌瘤内CD25⁺Foxp3⁺ Treg细胞的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(15): 2081-2090 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2081>

0 引言

肿瘤是严重威胁人类健康和生命的常见疾病。肿瘤发生、发展的原因复杂, 研究表明, 肿瘤宿主体内普遍存在由肿瘤细胞相关抗原、肿瘤浸

浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)和细胞因子等组成的免疫耐受微环境^[1]。调节T淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)是TILs的成员之一^[2]。肿瘤患者外周血和肿瘤灶CD4⁺CD25⁺叉头盒转录因子P3(forkhead box p3, Foxp3)⁺ Tregs浸润普遍增多^[3-5]。Tregs可抑制辅助T淋巴细胞-1(T helper type 1, Th1)增殖, 下调Th1细胞介导的抗肿瘤免疫^[6,7]。因此, 提高肿瘤的免疫原性、促进免疫系统抗肿瘤排斥反应是肿瘤免疫治疗的重要手段。肿瘤免疫治疗的关键一环是促进树突状细胞(dendritic cells, DCs)的成熟与提高其抗原呈递能力^[8]。DCs是功能强大的专职抗原呈递细胞^[8], 利用肿瘤或肿瘤细胞裂解物^[9,10]、肿瘤RNA^[11]和细胞因子^[12]等致敏的DCs瘤苗已对一些肿瘤取得免疫治疗效果。研究已证实, 肿瘤细胞裂解蛋白具有全抗原性, 致敏的DCs能活化宿主体内多克隆T细胞产生抗肿瘤免疫效应^[9,10]。肿瘤细胞热休克后产生大量具有强抗原性的热休克蛋白(heat shocked protein, HSP), 如HSP70和HSP90等, 具有提高细胞抗原性的作用^[13]。本研究结合肿瘤细胞裂解蛋白的全抗原性和热休克后抗原性提高的双重优点, 利用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外致敏BMDCs制成瘤苗, 每隔7 d足垫部和瘤内注射HCC小鼠共2次, 另设空白组、BMDCs组、Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs组为对照。治疗结束后第9 d处死各组小鼠, FACS检测肿瘤组织内CD8⁺T细胞及CD25⁺Foxp3⁺细胞浸润的改变。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄C57BL/6J近交系♀小鼠从中国科学院上海实验动物中心购买; Hepal-6为小鼠来源的肝癌细胞株(ATCC CRL-1830), 由复旦大学附属中山医院肝癌研究所保存并提供; 高糖DMEM、RPMI 1640、胰蛋白酶(trypsin)-EDTA、胎牛血清(heat-inactivated fetal calf serum)购自GIBCOL公司; 培养板和离心管、细胞培养瓶从Corning Corstar公司购买; PE-conjugated rat anti mouse CD11c(N418)、CCR7(4B12)、FITC-conjugated rat anti mouse CD80(16-10A1)、CD86(GL1)、FITC-conjugated rat anti mouse CD25(PC61.5)、PE-conjugated rat anti mouse Foxp3(FJK16s)、FITC-conjugated rat anti mouse CD8、affinity purified rat anti mouse CD25 (PC61.5)、affinity purified rabbit anti mouse Foxp3 (NRRF-30)购自eBioScience公司; FITC-

conjugated goat anti rat IgG、Cy3-conjugated goat anti rabbit IgG购自KPL公司; Mouse CD4⁺ CD25⁺ Regulatory T cell Isolation Kit购自Miltenyi Biotec公司。

1.2 方法

1.2.1 Hepal-6细胞培养和传代: (1)从液氮罐取出Hepal-6细胞冻存管快速放入37℃无菌双蒸水液化后, 吸出冻存液放入DMEM: RPMI 1640 = 1:1混合培养液(10%胎牛血清)600 r/min离心6 min; (2)将细胞放入盛有DMEM: RPMI 1640 = 1:1混合培养液(10%胎牛血清)培养瓶, 5%CO₂、37℃饱和湿度培养箱培养; (3)显微镜下观察贴壁生长的细胞基本铺满瓶底时倒弃培养液, 加入0.25%的胰蛋白酶室温消化后, 600 r/min离心6 min, 重悬细胞。按 1.0×10^5 /mL细胞浓度分瓶加入DMEM: RPMI 1640 = 1:1混合培养液(10%胎牛血清)继续培养, 根据细胞生长情况和培养液颜色变化更换培养液。

1.2.2 Hepal-6肿瘤模型的制作: (1)Hepal-6细胞传代3次后收集对数生长期细胞, 0.25%的胰蛋白酶-EDTA消化, 600 r/min离心6 min, 重悬并调整细胞浓度为 2×10^7 /mL; (2)按实验分组要求取C57BL/6J小鼠乙醚轻微麻醉后, 每只右肩胛区皮下1次性接种0.2 mL浓度为 2×10^7 /mL的Hepal-6细胞, 按正常条件饲养, 在接种第7-8 d小鼠右肩胛区可触及直径约5-7 mm的肿瘤。

1.2.3 两步法免疫磁珠体外分离小鼠肿瘤CD4⁺CD25⁺ T细胞: 参考试剂盒操作: (1)成瘤12 d摘荷瘤小鼠肿瘤, 1×PBS碾磨肿瘤组织后, 4℃、1000 r/min离心10 min; (2)细胞混匀, 加入9 mL双蒸水5-7 s后, 迅速加入1 mL 10×PBS终止破膜, 1×PBS重悬细胞; (3)加台盼蓝染液显微镜下观察和计数细胞, 细胞活力>90%时继续后续步骤; (4)去除非CD4⁺ T细胞: 将细胞1000 r/min 4℃离心10 min, 每 10^7 细胞加40 μL PBA和10 μL cook-tail-Biotin antibody混匀细胞, 4℃孵育15 min; 加30 μL PBA、20 μL Anti-Biotin MicroBeads和10 μL CD25-PE antibody再次混匀细胞, 4℃避光孵育20 min; 加入1 mL PBA, 1000 r/min 4℃离心10 min后加500 μL PBA混匀; 加2 mL PBA润洗LD柱中后1次性加入上述500 μL细胞悬液, 收集流出物即为CD4⁺ T细胞; (5)标记分离的CD4⁺CD25⁺ T细胞: 将收集的CD4⁺ T细胞1000 r/min 4℃离心10 min, 90 μL PBA和10 μL Anti-PE MicroBeads混匀细胞; 4℃避光孵育20 min后加2 mL PBA 1000 r/min 4℃离心10 min后

■ 相关报道

研究表明, 肿瘤细胞裂解蛋白具有全抗原性, 能刺激多个T细胞表位而活化多克隆T细胞, 热休克蛋白(heat shocked protein, HSP)在多数肿瘤不同程度表达异常, HSP能将其结合的多肽通过内源性途径经MHC-I类分子而引起特异的CD8⁺ T细胞反应。因此, 利用肿瘤细胞裂解蛋白的全抗原性和HSP或HSP-肽结合物免疫原性强的联合作用有可能刺激更强的抗肿瘤免疫反应。

■创新盘点

DCs疫苗的制备多用单一抗原或单个基因修饰,抗肿瘤效果不理想。本研究利用肿瘤裂解蛋白的全抗原性结合肿瘤细胞热休克后HSP表达上调,免疫原性增强的优点以制备免疫效果更强的DCs疫苗。

加500 μL PBA重悬细胞;用500 μL PBA润洗MS柱后,将上述500 μL 细胞悬液1次性加入MS柱中,流出的为 $\text{CD4}^+\text{CD25}^-$ T细胞,留在MS柱中的为 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T细胞。

1.2.4 CD25^+ 和 Foxp3^+ 抗体免疫荧光法双标分离的 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T细胞: (1)将分离的 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T细胞制作细胞涂片自然干燥后冷丙酮固定20 min, $1\times\text{PBS}$ 漂洗3次; (2)0.1% Triton-X-100室温下处理10 min, $1\times\text{PBS}$ 漂洗3次,山羊血清室温封闭30 min; (3)滴加兔抗小鼠 Foxp3 单克隆抗体,大鼠抗小鼠 CD25 抗体4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜后 $1\times\text{PBS}$ 漂洗3次; (4)滴加Cy3-羊抗兔IgG, FITC-羊抗大鼠IgG室温避光孵育2 h,加入1:1000稀释的DAPI液,室温避光孵育, $1\times\text{PBS}$ 漂洗3-4次后磷酸甘油封片送至中科院上海细胞研究所行激光共聚焦显微镜拍照。

1.2.5 Hepal-6细胞热休克与蛋白的提取: (1)将传3代的Hepal-6细胞换培养液后继续培养12 h; (2)先将培养箱在5% CO_2 环境下缓慢升温至42 $^\circ\text{C}$,放入细胞热休克1 h后立即取出在5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中恢复6 h取出细胞,细胞刷小心刮取瓶底细胞, $1\times\text{PBS}$ 洗涤3次; (3)双蒸水重悬细胞至-80 $^\circ\text{C}$ 冰箱冻融3次后研磨细胞,将细胞研磨液14000 r/min、4 $^\circ\text{C}$ 离心30 min,小心吸取蛋白上清,即为总蛋白,分装在-80 $^\circ\text{C}$ 冰箱保存。BCA法测定蛋白质的浓度。

1.2.6 BMDCs的诱导培养: (1)处死6-8周龄C57BL/6J小鼠,取股骨剔除所附肌肉,用1次性注射器在 $1\times\text{PBS}$ 中冲出骨髓至股骨发白; (2)收集细胞悬液,1000 r/min离心10 min,加9 mL双蒸水约5-10 s破除红细胞后随即加1 mL $10\times\text{PBS}$ 中止; (3)细胞过滤后1000 r/min离心10 min,细胞计数后调整细胞浓度至 $2\times 10^6/\text{mL}$ 。以 2×10^6 细胞/孔接种到含重组小鼠GM-CSF(20 ng/mL)和IL-4(10 ng/mL)的24孔培养板,5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养,隔天半量换培养液并补足细胞因子继续培养。

1.2.7 BMDCs的鉴定: (1)相差显微镜观察并拍照培养BMDCs集落的大小、数量和突起等; (2)收集培养9 d的BMDCs, $1\times\text{PBS}$ 1000 r/min离心10 min洗涤3次。部分送复旦大学上海医学院电镜室扫描电镜拍照,部分制成细胞涂片; (3)冷丙酮固定细胞涂片20 min后一部分HE染色并拍照,一部分用于荧光免疫组织化学检测 CD11c 、 CCR7 、 CD80 、 CD86 的表达。

1.2.8 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BM-

DCs: (1)将培养5 d的BMDCs半量换培养液并调整细胞浓度至 $2\times 10^6/\text{mL}$, 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱培养24 h后分3组: BMDCs对照组、Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(200 ng/mL)刺激对照组和Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组。每组设6复孔; (2)BMDCs对照组每孔加入等体积的 $1\times\text{PBS}$; Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组每孔加入1.5 μg Hepal-6细胞裂解蛋白; Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs组每孔加入1.5 μg Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白; (3)各孔培养液均调至1 mL, 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养12 h后,收集各组细胞并调整细胞浓度至 $2\times 10^7/\text{mL}$ 。

1.2.9 FACS分析Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏前后BMDCs的 CD11c 、 CCR7 、 CD80 、 CD86 表达: (1)将收集的各组BMDCs各分装5个EP管,2000 r/min离心3 min; (2)各EP单独加500 μL 含PE-大鼠抗小鼠 CCR7 、 CD11c 单克隆抗体, FITC-大鼠抗小鼠 CD80 、 CD86 单克隆抗体,4 $^\circ\text{C}$ 避光孵育40 min; (3) $1\times\text{PBS}$, 2000 r/min离心3 min,洗2次加500 μL Flow Cytometry Staining Buffer重悬混匀,上机检测,用随机所带流式分析软件分析实验数据。

1.2.10 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs注射荷瘤小鼠: 接种8 d后成瘤小鼠随机分4组。 (1)荷瘤对照组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL $1\times\text{PBS}$; (2)对照BMDCs组每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为 $2\times 10^7/\text{mL}$ 的BMDCs; (3)Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为 $2\times 10^7/\text{mL}$ 的Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs; (4)Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为 $2\times 10^7/\text{mL}$ 的Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs, 各组每7 d注射1次,共2次。

1.2.11 FACS分析小鼠肿瘤 CD8^+ T细胞和 $\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+$ T细胞的浸润: (1)治疗9 d后,处死各组小鼠,取肿瘤组织并碾碎, PBS冲洗成细胞悬液1000 r/min离心10 min; (2)加9 mL双蒸水轻摇5-8 min破除红细胞膜迅速加1 mL $10\times\text{PBS}$ 终止,1000 r/min离心10 min; (3)细胞计数,调细胞浓度至 $1\times 10^6/\text{mL}$; (4)将各组细胞2000 r/min离心3 min,分别加100 μL Flow Cytometry Staining Buffer后各加入: FITC-大鼠抗小鼠 CD8 抗体、PE-大鼠抗小鼠 Foxp3^+ 抗体和FITC-大鼠抗小鼠 CD25 抗体混匀,4 $^\circ\text{C}$ 避光孵育40 min; (5)1 mL 1

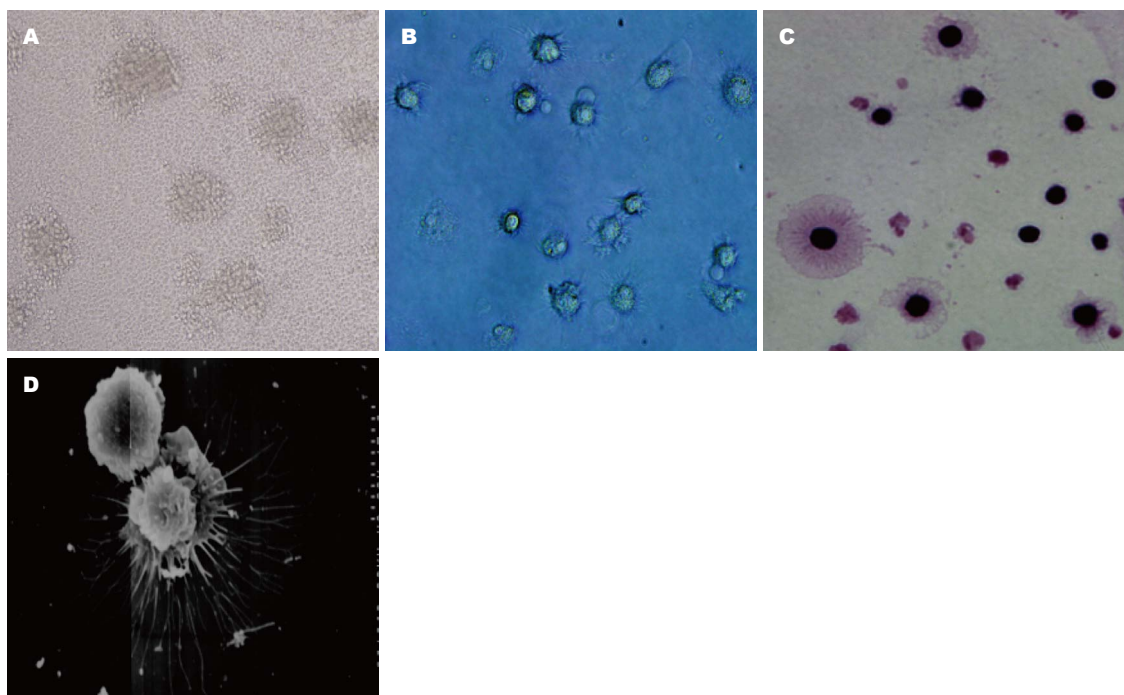


图1 显微镜下观察BMDCs的形态。A: 树突状细胞集落($\times 200$); B: 树突状细胞($\times 400$); C: 树突状细胞HE染色($\times 400$); D: 树突状细胞扫描电镜($\times 7000$)。BMDCs: 骨髓来源树突状细胞。

■应用要点

Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外对骨髓来源树突状细胞(bone marrow derived dendritic cells, BMDCs)有较强的致敏作用,致敏的BMDCs在体内能促进小鼠肝细胞癌肿瘤灶内CD8⁺T细胞的增殖和活化,减少CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T细胞的浸润,对肝癌的免疫治疗有参考作用。

表1 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs后, CD11c、CCR7、CD80和CD86表达细胞计数($n=6$, mean \pm SD, %)

| 分组 | CD11c ⁺ | CCR7 ⁺ | CD80 ⁺ | CCR86 ⁺ |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| BMDCs对照组 | 52.4 \pm 5.20 ^b | 46.9 \pm 5.04 ^b | 46.9 \pm 4.75 ^b | 60.1 \pm 2.98 ^b |
| Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组 | 58.4 \pm 4.42 ^b | 57.0 \pm 3.46 ^b | 54.4 \pm 3.47 ^b | 63.7 \pm 3.10 ^b |
| LPS对照组 | 64.6 \pm 3.86 | 64.3 \pm 6.42 | 56.9 \pm 4.06 ^a | 67.4 \pm 2.08 ^b |
| Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组 | 67.2 \pm 4.49 | 65.4 \pm 5.34 | 62.9 \pm 4.69 | 73.3 \pm 3.58 |

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组。BMDCs: 骨髓来源树突状细胞; LPS: 脂多糖。

×PBS, 2000 r/min离心3 min洗涤2次后, 各加500 μ L Flow Cytometry Staining Buffer重悬混匀, 上机检测, 用随机所带流式分析软件分析实验数据。

统计学处理 实验数据以mean \pm SD表示, 组间差异采用SPSS16.0统计软件进行单因素方差分析, 若方差齐性, 两两比较采用LSD法, 若方差不齐, 采用Games-Howell检验分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体外扩增BMDCs的鉴定 显微镜下观察可见: GM-CSF和IL-4体外诱导的C57BL/6J小鼠BMDCs在第3天形成明显的集落, 第6天集落增大, 并释放出较多的BMDCs, 第9、12天集落释放的BMDCs数量更多, 集落松散变小。HE染色显示第9天的BMDCs有明显树突状突起, 扫描电

镜可见多数次级分支(图1), 荧光免疫细胞化学染色显示: BMDCs表达CD11c、CCR7、CD80和CD86(图2)。

2.2 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏前后BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达变化 FACS分析显示(表1, 图3): Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs上调了CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达, 与BMDCs对照组和Hepal-6细胞裂解蛋白对照组相比差异具有统计学意义($P<0.01$)。尽管LPS刺激同样可以上调BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达(与Hepal-6细胞裂解蛋白组相比, $P<0.05$), 但Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs比LPS组具有更高的CD80和CD86表达, 且两组之间的差异具有统计学意义(CD80: $P<0.05$, CD86: $P<0.01$)。

■同行评价
文章新颖性突出,
对读者有一定的
参考价值.

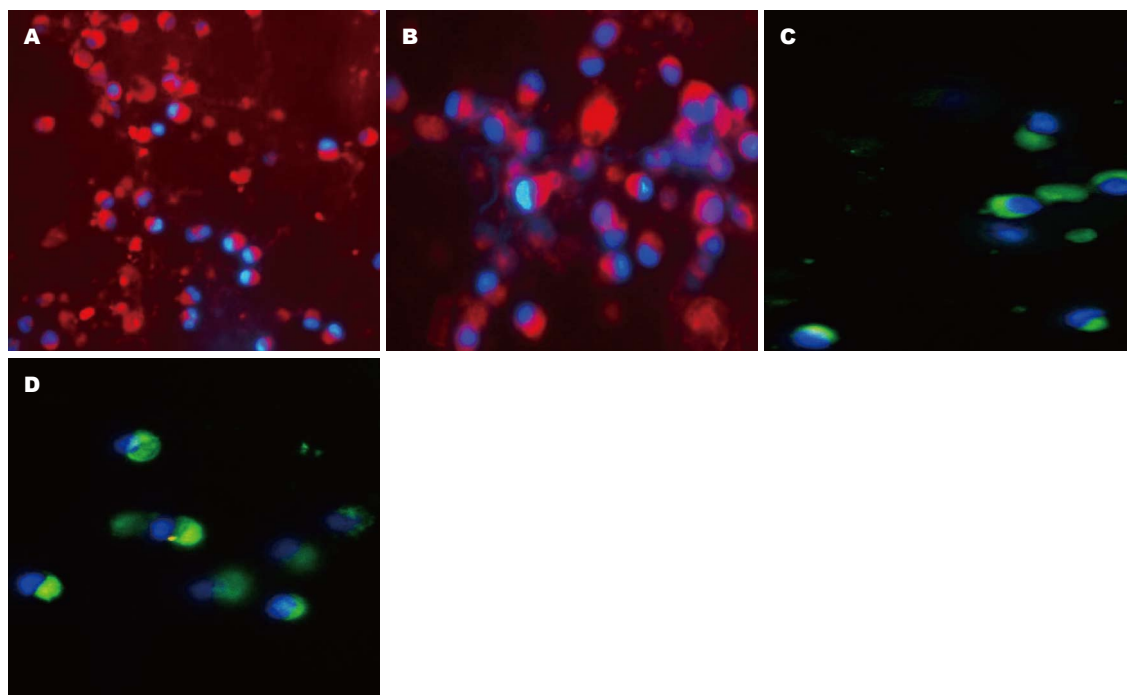


图2 荧光免疫组织化学检测CD11c、CCR7、CD80和CD86在BMDCs的表达. A: CCR7(PE × 200); B: CD11c(PE × 400); C: CD80(FITC × 400); D: CD86(FITC × 400). BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

表2 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs治疗后, CD8⁺细胞和CD25⁺Foxp3⁺细胞在瘤体内的浸润计数 ($n = 6$, mean \pm SD, %)

| 分组 | CD8 ⁺ | CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ |
|---------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| 空白对照组 | 38.2 \pm 3.34 ^b | 1.31 \pm 0.202 ^b |
| BMDCs对照组 | 44.6 \pm 4.29 ^b | 0.77 \pm 0.057 ^b |
| Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组 | 45.6 \pm 4.92 ^b | 0.57 \pm 0.062 ^a |
| Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组 | 55.0 \pm 4.11 | 0.37 \pm 0.028 |

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组. BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

2.3 注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs瘤苗对HCC荷瘤小鼠瘤内CD8⁺ T细胞和CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞浸润的影响 在对HCC模型小鼠运用瘤苗进行治疗后的第9天(图4), 针对瘤内CD8⁺ T细胞和CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞浸润情况的FACS检测显示(表2, 图5): 与空白对照组、BMDCs对照组和Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs对照组比, Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs组呈现增强的CD8⁺ T细胞瘤内浸润($P < 0.01$), 但该组瘤内CD25⁺Foxp3⁺ Tregs细胞的浸润则明显减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$).

3 讨论

肿瘤微环境的免疫耐受表现包括抗原缺失、免疫抑制细胞增多^[3]、DCs抗原提呈能力下降等^[14-17]. 因此, 有效的抗癌免疫治疗首先要有强

免疫原刺激DCs成熟, 促进其抗原呈递能力. 其次是成熟的DCs在荷瘤宿主体内能促进免疫效应CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞的增殖和活化, 抑制和减少Tregs等免疫抑制细胞在瘤内的浸润. Tregs是以免疫抑制为主要功能的T细胞, 表达CD25^[18]和Foxp3分子^[19], Foxp3的是Tregs活化与功能成熟的标志^[20], Foxp3表达能复苏休眠状态的Tregs, 提高其增殖潜能^[21]. CD25⁺Foxp3⁺ Tregs在多种肿瘤浸润^[22], 且与结肠癌^[23,24]、结直肠癌^[25]、胃癌^[26]、头颈癌^[27,28]、淋巴瘤^[29]、宫颈癌^[4]、卵巢癌^[30]和肺癌^[31]等预后相关. 肿瘤浸润的CD25⁺Foxp3⁺ Tregs抑制CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞的活化、增殖和细胞因子的分泌^[32], 抑制自然杀伤细胞(natural killer, NK)细胞和DCs的成熟^[33], 抑制B细胞的增殖和抗体产生^[34]. CD25⁺Foxp3⁺ Tregs的免疫抑制机制主要是细胞直接

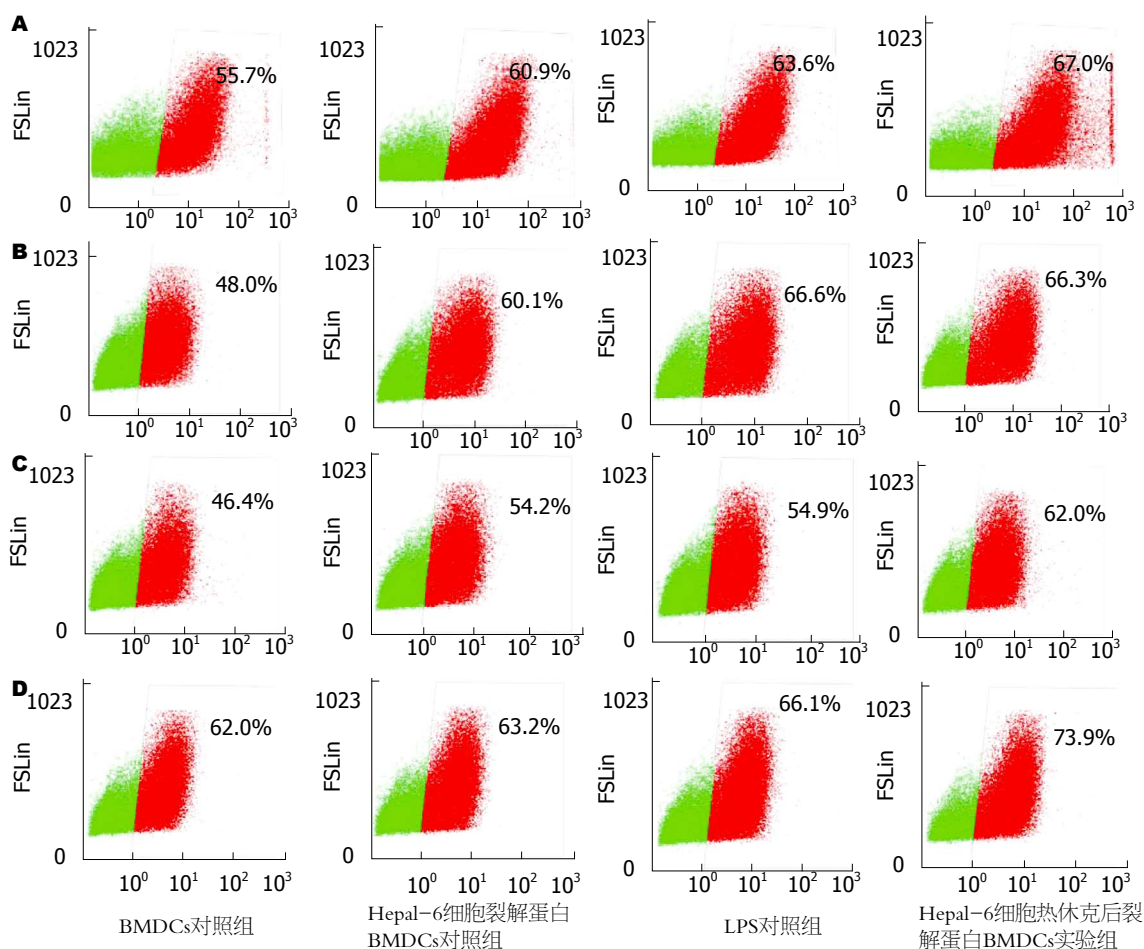


图 3 FACS法检测Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs后CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达。A: CD11c; B: CCR7; C: CD80; D: CD86。BMDCs: 骨髓来源树突状细胞; LPS: 脂多糖。

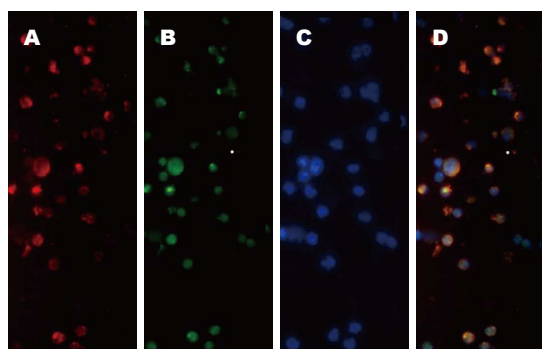


图 4 荧光免疫组织化学双标瘤内浸润CD25⁺Foxp3⁺细胞。A: Foxp3⁺细胞(PE × 200); B: CD25⁺细胞(FITC × 200); C: 细胞核(DAPI × 200); D: CD25⁺Foxp3⁺细胞(merge × 200)。

接触的细胞毒T细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)途径^[35,36]和细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)^[37]、转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)途径^[38]。

本实验免疫荧光组织化学双标法显示Hepal-6细胞建立的HCC小鼠瘤内有CD25⁺Foxp3⁺

Tregs浸润(图4), 提示CD25⁺Foxp3⁺ Tregs与小鼠HCC关系密切。实验诱导的BMDCs在显微镜下具有典型的DCs集落和树突, 表达CCR7、CD11c、CD80和CD86分子。Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs实验组上调CD11c、CCR7、CD80、CD86的表达($P < 0.01$); DCs成熟刺激物质LPS对照组BMDCs的CD11c、CCR7、CD86的表达也上调($P < 0.05$), 实验组CD80($P < 0.05$)、CD86($P < 0.01$)表达高于LPS组, 提示Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白具有较强的刺激BMDCs成熟能力。致敏后的BMDCs瘤苗足垫部和瘤体内注射治疗HCC小鼠后, 明显下调CD25⁺Foxp3⁺ Tregs($P < 0.05$), 但上调CD8⁺ T细胞在瘤体内的浸润($P < 0.01$)。提示瘤苗对瘤体CD8⁺ T细胞的浸润有增强作用, 但对CD25⁺Foxp3⁺ Tregs浸润有抑制作用。Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白对BMDCs的成熟刺激以及疫苗对瘤体CD25⁺Foxp3⁺ Tregs和CD8⁺ T细胞浸润的影响可能与以下机制有关: Hepal-6热休克后裂解蛋白的

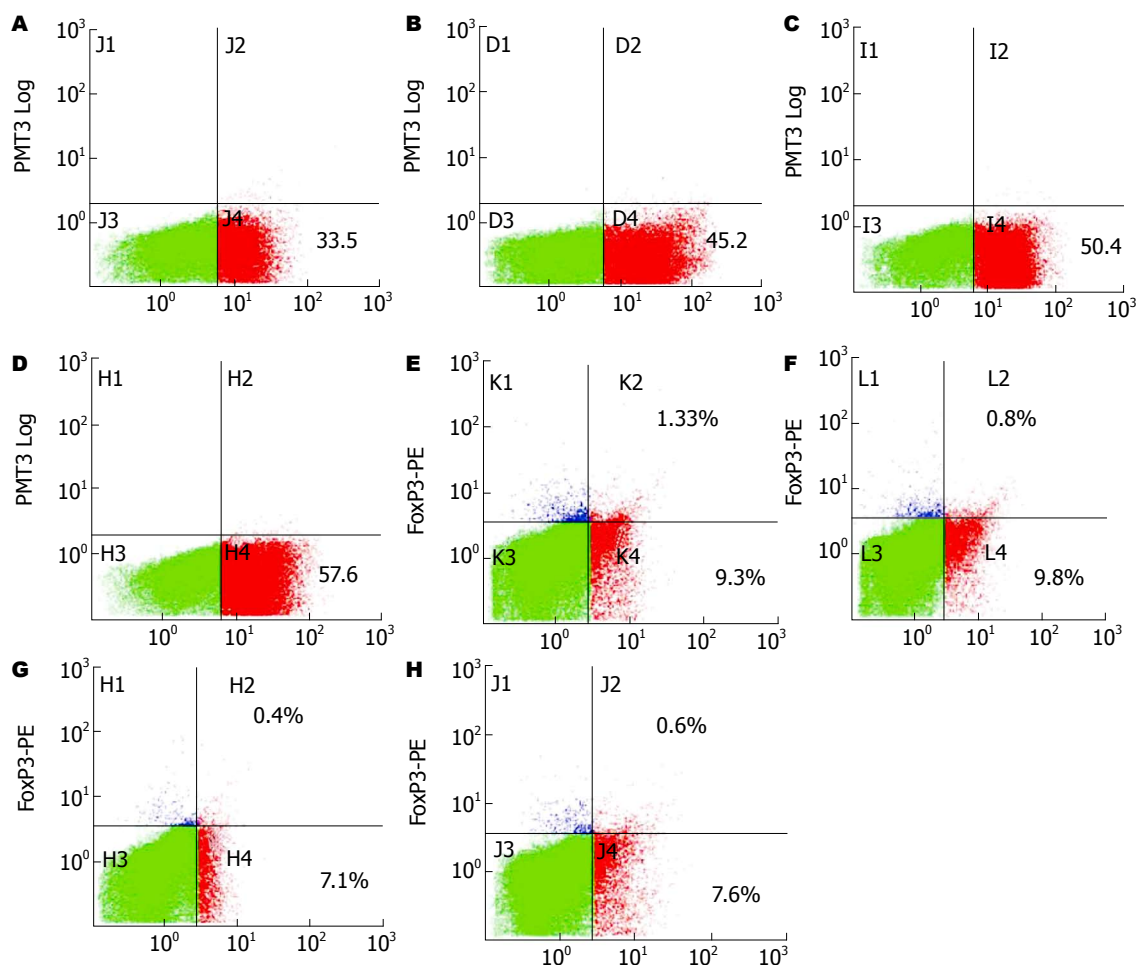


图5 FACS法检测治疗后 $CD8^+$ 细胞和 $CD25^+Foxp3^+$ 细胞在瘤内的浸润。A-D: $CD8^+$ 细胞; E-H: $CD25^+Foxp3^+$ 细胞; A, E: 空白对照组; B, F: BMDCs对照组; C, H: Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs对照组; D, G: Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs实验组。BMDCs: 骨髓来源树突状细胞。

多种抗原成分被BMDCs捕获并被处理, 以MHC-II类分子或抗原肽表达于细胞膜^[39-41], HSPs、HSPs-抗原肽复合物与BMDCs表面的CD40、CD91结合被内化促进BMDCs成熟为DCs(mature dendritic cells, mDCs)^[42]。mDCs上调表达CCR7、CD80和CD86分子^[39], CCR7与次级淋巴组织趋化因子(secondary lymphoid chemokine, SLC)结合后一方面提高DCs的趋化迁移能力有利于抗原递呈, 另外一方面在宿主体内趋化周围淋巴器官的 $CD4^+$ T细胞、 $CD8^+$ T细胞迁移入肿瘤发挥抗肿瘤作用^[43]。mDCs在体内能促进 $CD8^+$ T细胞的归巢和活化^[44-46], 下调TGF- β 、IL-10表达抑制 $CD25^+Foxp3^+$ Tregs的增殖和功能^[9,10,12,18,19], 减弱 $Foxp3^+$ Tregs的免疫抑制作用^[38]。

总之, Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外能促进BMDCs的成熟, 疫苗注射治疗后能抑制 $CD25^+Foxp3^+$ Tregs但增强 $CD8^+$ T细胞在HCC小鼠肿瘤的浸润, 改善免疫环境, 促进肿瘤免疫排

斥, 有明显的抗肿瘤效应, 但疫苗的作用机制还要有待实验进一步阐明。

4 参考文献

- 1 Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 263-274 [PMID: 15776005 DOI: 10.1038/nrc1586]
- 2 Gajewski TF, Meng Y, Harlin H. Immune suppression in the tumor microenvironment. *J Immunother* 2006; 29: 233-240 [PMID: 16699366 DOI: 10.1097/01.cji.0000199193.29048.56]
- 3 Esendagli G, Bruderek K, Goldmann T, Busche A, Branscheid D, Vollmer E, Brandau S. Malignant and non-malignant lung tissue areas are differentially populated by natural killer cells and regulatory T cells in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 59: 32-40 [PMID: 17825949 DOI: 10.1016/j.lungcan.2007.07.022]
- 4 Jordanova ES, Gorter A, Ayachi O, Prins F, Durrant LG, Kenter GG, van der Burg SH, Fleuren GJ. Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and $CD8^+$ /regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients? *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2028-2035 [PMID: 18544442 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1000]

- 18381941 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4554]
- 5 Anz D, Mueller W, Golic M, Kunz WG, Rapp M, Koelzer VH, Ellermeier J, Ellwart JW, Schnurr M, Bourquin C, Endres S. CD103 is a hallmark of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Int J Cancer* 2011; 129: 2417-2426 [PMID: 21207371 DOI: 10.1002/ijc.25902]
- 6 Chaput N, Louafi S, Bardier A, Charlotte F, Vaillant JC, Ménégau F, Rosenzweig M, Lemoine F, Klatzmann D, Taieb J. Identification of CD8⁺CD25⁺Foxp3⁺ suppressive T cells in colorectal cancer tissue. *Gut* 2009; 58: 520-529 [PMID: 19022917 DOI: 10.1136/gut.2008.158824]
- 7 Nomura T, Sakaguchi S. Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in tumor immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 293: 287-302 [PMID: 15981485 DOI: 10.1007/3-540-27702-1_13]
- 8 Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 265-277 [PMID: 22437871 DOI: 10.1038/nrc3258]
- 9 Fields RC, Shimizu K, Mulé JJ. Murine dendritic cells pulsed with whole tumor lysates mediate potent antitumor immune responses in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 9482-9487 [PMID: 9689106 DOI: 10.1073/pnas.95.16.9482]
- 10 Geiger J, Hutchinson R, Hohenkirk L, McKenna E, Chang A, Mulé J. Treatment of solid tumours in children with tumour-lysate-pulsed dendritic cells. *Lancet* 2000; 356: 1163-1165 [PMID: 11030299 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02762-8]
- 11 林嘉盈, 李晓艳. Hep-2细胞总RNA转染树突状细胞诱发抗喉癌特异性免疫效应的研究. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 2308-2312
- 12 Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, Pedroza-Gonzalez A, Matsui T, Zurawski G, Oh S, Fay J, Pascual V, Banchereau J, Palucka K. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev* 2010; 234: 199-212 [PMID: 20193020 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00884.x]
- 13 Okamoto M, Tazawa K, Kawagoshi T, Maeda M, Honda T, Sakamoto T, Tsukada K. The combined effect against colon-26 cells of heat treatment and immunization with heat treated colon-26 tumour cell extract. *Int J Hyperthermia* 2000; 16: 263-273 [PMID: 10830588 DOI: 10.1080/026567300285277]
- 14 Diamond MS, Kinder M, Matsushita H, Mashayekhi M, Dunn GP, Archambault JM, Lee H, Arthur CD, White JM, Kalinke U, Murphy KM, Schreiber RD. Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors. *J Exp Med* 2011; 208: 1989-2003 [PMID: 21930769 DOI: 10.1084/jem.20101158]
- 15 Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, Woo SR, Kranz DM, Murphy KM, Gajewski TF. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8⁺ T cell responses through CD8 α ⁺ dendritic cells. *J Exp Med* 2011; 208: 2005-2016 [PMID: 21930765 DOI: 10.1084/jem.20101159]
- 16 Chang LL, Wang SW, Wu IC, Yu FJ, Su YC, Chen YP, Wu DC, Kuo CH, Hung CH. Impaired dendritic cell maturation and IL-10 production following H. pylori stimulation in gastric cancer patients. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 96: 211-220 [PMID: 22526791 DOI: 10.1007/s00253-012-4034-z]
- 17 Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
- 18 Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4⁺CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol* 2001; 167: 1245-1253 [PMID: 11466340]
- 19 Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression. *Blood* 2009; 114: 3727-3735 [PMID: 19641188 DOI: 10.1182/blood-2009-05-219584]
- 20 Ziegler SF, Buckner JH. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect* 2009; 11: 594-598 [PMID: 19371792 DOI: 10.1016/j.micinf.2009.04.002]
- 21 Lin W, Haribhai D, Relland LM, Truong N, Carlson MR, Williams CB, Chatila TA. Regulatory T cell development in the absence of functional Foxp3. *Nat Immunol* 2007; 8: 359-368 [PMID: 17273171 DOI: 10.1038/ni1445]
- 22 Mougiakakos D, Choudhury A, Lladser A, Kiessling R, Johansson CC. Regulatory T cells in cancer. *Adv Cancer Res* 2010; 107: 57-117 [PMID: 20399961 DOI: 10.1016/S0065-230X(10)07003-X]
- 23 Erdman SE, Poutahidis T. Roles for inflammation and regulatory T cells in colon cancer. *Toxicol Pathol* 2010; 38: 76-87 [PMID: 20019355 DOI: 10.1177/0192623309354110]
- 24 Sinicrope FA, Rego RL, Ansell SM, Knutson KL, Foster NR, Sargent DJ. Intraepithelial effector (CD3⁺)/regulatory (FoxP3⁺) T-cell ratio predicts a clinical outcome of human colon carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137: 1270-1279 [PMID: 19577568 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.06.053]
- 25 Frey DM, Drieser RA, Viehl CT, Zlobec I, Lugli A, Zingg U, Oertli D, Kettelhack C, Terracciano L, Tornillo L. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3⁺ regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2010; 126: 2635-2643 [PMID: 19856313 DOI: 10.1002/ijc.24989]
- 26 Kashimura S, Saze Z, Terashima M, Soeta N, Ohtani S, Osuka F, Kogure M, Gotoh M. CD83⁺ dendritic cells and Foxp3⁺ regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 15: 144-153 [PMID: 22083420 DOI: 10.1007/s10120-011-0090-9]
- 27 Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay Nel H, Mosseri V, Laccourreye O, Bruneval P, Fridman WH, Brasnu DF, Tartour E. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4⁺ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 465-472 [PMID: 16428488 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1886]
- 28 Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, Montserrat E, Campo E, Banham AH. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006; 108: 2957-2964 [PMID: 16825494 DOI: 10.1182/blood-2006-04-018218]
- 29 Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, Burton CM, Rossen K, Skovgaard GL, Ryder LP, Ralfkiaer E. FOXP3⁺ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival. *Leukemia* 2007; 21: 2512-2518 [PMID: 17713545 DOI: 10.1038/sj.leu.2404913]
- 30 Milne K, Alexander C, Webb JR, Sun W, Dillon K, Kalloger SE, Gilks CB, Clarke B, Köbel M, Nelson

- BH. Absolute lymphocyte count is associated with survival in ovarian cancer independent of tumor-infiltrating lymphocytes. *J Transl Med* 2012; 10: 33 [PMID: 22369276 DOI: 10.1186/1479-5876-10-33]
- 31 Petersen RP, Campa MJ, Sperlazza J, Conlon D, Joshi MB, Harpole DH, Patz EF. Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients. *Cancer* 2006; 107: 2866-2872 [PMID: 17099880 DOI: 10.1002/cncr.22282]
- 32 Nishikawa H, Jäger E, Ritter G, Old LJ, Gnjatich S. CD4+ CD25+ regulatory T cells control the induction of antigen-specific CD4+ helper T cell responses in cancer patients. *Blood* 2005; 106: 1008-1011 [PMID: 15840697 DOI: 10.1182/blood-2005-02-0607]
- 33 Ralainirina N, Poli A, Michel T, Poos L, Andrès E, Hentges F, Zimmer J. Control of NK cell functions by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 144-153 [PMID: 16959895 DOI: 10.1189/jlb.0606409]
- 34 Tiemessen MM, Jagger AL, Evans HG, van Herwijnen MJ, John S, Taams LS. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 19446-19451 [PMID: 18042719 DOI: 10.1073/pnas.0706832104]
- 35 Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, Orabona C, Bianchi R, Beladonna ML, Volpi C, Santamaria P, Fioretti MC, Puccetti P. The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells. *J Immunol* 2006; 176: 6752-6761 [PMID: 16709834]
- 36 Misra N, Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J Immunol* 2004; 172: 4676-4680 [PMID: 15067041]
- 37 Kryczek I, Wei S, Zou L, Zhu G, Mottram P, Xu H, Chen L, Zou W. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 40-44 [PMID: 16785496]
- 38 Wan YY, Flavell RA. The roles for cytokines in the generation and maintenance of regulatory T cells. *Immunol Rev* 2006; 212: 114-130 [PMID: 16903910 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2006.00407.x]
- 39 Jin P, Han TH, Ren J, Saunders S, Wang E, Marincola FM, Stroncek DF. Molecular signatures of maturing dendritic cells: implications for testing the quality of dendritic cell therapies. *J Transl Med* 2010; 8: 4 [PMID: 20078880 DOI: 10.1186/1479-5876-8-4]
- 40 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252 [PMID: 9521319 DOI: 10.1038/32588]
- 41 Shen Z, Reznikoff G, Dranoff G, Rock KL. Cloned dendritic cells can present exogenous antigens on both MHC class I and class II molecules. *J Immunol* 1997; 158: 2723-2730 [PMID: 9058806]
- 42 Singh-Jasuja H, Hilf N, Arnold-Schild D, Schild H. The role of heat shock proteins and their receptors in the activation of the immune system. *Biol Chem* 2001; 382: 629-636 [PMID: 11405225 DOI: 10.1515/BC.2001.074]
- 43 Sallusto F, Lanzavecchia A. Understanding dendritic cell and T-lymphocyte traffic through the analysis of chemokine receptor expression. *Immunol Rev* 2000; 177: 134-140 [PMID: 11138771 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2000.17717.x]
- 44 Seki I, Suzuki M, Miyasaka N, Kohsaka H. Expression of CD45 isoforms correlates with differential proliferative responses of peripheral CD4+ and CD8+ T cells. *Immunol Lett* 2010; 129: 39-46 [PMID: 20093141 DOI: 10.1016/j.imlet.2009.12.020]
- 45 Kalinski P, Urban J, Narang R, Berk E, Wieckowski E, Muthuswamy R. Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines: what we have and what we need. *Future Oncol* 2009; 5: 379-390 [PMID: 19374544 DOI: 10.2217/fon.09.6]
- 46 Mempel TR, Bauer CA. Intravital imaging of CD8+ T cell function in cancer. *Clin Exp Metastasis* 2009; 26: 311-327 [PMID: 18665448 DOI: 10.1007/s10585-008-9196-9]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响

喻乐, 花璐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅

喻乐, 花璐, 陈自洋, 张咏梅, 江苏省麻醉学重点实验室 江苏省徐州市 221004
花嵘, 中国人民解放军第九七医院急诊科 江苏省徐州市 221004
喻乐, 在读硕士, 主要从事麻醉与镇痛的基础与临床的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81171041
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2011197
江苏省高校自然科学研究重大基金资助项目, No. 13KJA320001
江苏省2012年度普通高校研究生科研创新计划基金资助项目, No. XYYC-1214
作者贡献分布: 此课题由喻乐与张咏梅设计; 研究过程喻乐、花璐、陈自洋及花嵘操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张咏梅提供; 数据分析由喻乐与花璐完成; 本论文写作由喻乐与张咏梅完成
通讯作者: 张咏梅, 教授, 221004, 江苏省徐州市铜山路209号, 江苏省麻醉学重点实验室. zhangym700@163.com
电话: 0516-83262683
收稿日期: 2014-03-07 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats

Le Yu, Lu Hua, Zi-Yang Chen, Rong Hua, Yong-Mei Zhang

Le Yu, Lu Hua, Zi-Yang Chen, Yong-Mei Zhang, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou Medical College; Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China
Rong Hua, Department of Emergency Medicine, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81171041; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2011197; the Key Subject of Colleges and Universities Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 13KJA320001; the University Graduate Student Science and Technology Innovation Project of Jiangsu Province, No. XYYC-1214
Correspondence to: Yong-Mei Zhang, Professor, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou Medical College Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, 209 Tongshan Road, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China. zhangym700@163.com
Received: 2014-03-07 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension (CRD) on depression-like behavior and expression of corticotropin releasing hormone (CRH) in the paraventricular nucleus (PVN) of adult male rats, and to explore the underlying mechanism.

METHODS: Neonatal male rats were randomly divided into two groups ($n = 10$ for each), a sham operation group and a CRD group. The CRD group was given colorectal distension twice daily on postnatal days 8, 10, and 12. Abdominal withdrawal reflex (AWR) scores, pain threshold, and external oblique discharge amplitude were used to test visceral hypersensitivity during postnatal weeks 8-10. Open field test, sucrose preference test and forced swim test were used to test depression-like behavior during postnatal weeks 10-12. After behavior tests, HE staining was used to detect pathological changes of the colorectal tissue. Immunofluorescence was used to detect the expression of CRH in the PVN. Radioimmunoassay was used to detect the level of cortisol in blood.

RESULTS: Colorectal distension resulted in chronic visceral hypersensitivity without pathological changes in the colorectal tissue. Rats with functional chronic visceral pain caused by early-life stress exhibited depression-like behavior. The expression of CRH in the PVN and the level of CORT in blood of CRD rats increased compared with control rats.

CONCLUSION: Rats with functional chronic visceral pain caused by early-life stress show depression-like behavior, and the underlying mechanism may be related to increased expression of CRH in the PVN and dysfunction of the HPA axis.

■背景资料

早期生活负性事件包括童年虐待等是成年后抑郁发生的高危因素。而抑郁是慢性疼痛常见的伴随症状, 导致严重的疾病负担。慢性功能性内脏痛大鼠是否伴有抑郁样行为及其机制尚不明确。早期生活应激所致功能性慢性内脏痛模型的建立, 为进一步研究人类功能性慢性内脏痛伴发抑郁的发展机制以及治疗提供契机。

■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

■ 研究前沿

近年来,早期生活应激能够增加成年后各种精神疾病障碍和行为问题的发生,引起人们的广泛关注。有调查显示抑郁患者的边缘区域包括下丘脑和海马有功能改变,表现为促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)分泌过多,HPA轴功能活跃。对于早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠是否伴发抑郁及是否影响室旁核内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达,未见报道。

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Functional chronic visceral pain; Colorectal distension; Early-life stress; Depression; Corticotropin releasing hormone

Yu L, Hua L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM. Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2091-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2091>

摘要

目的: 观察大鼠新生期经历直结肠扩张所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为及下丘脑室旁核(corticotropin releasing hormone, PVN)内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达的影响,探讨早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁样行为的可能作用机制。

方法: 将新生期♂SD大鼠20只,随机分成2组($n = 10$):假手术(Sham)组,新生期结直肠扩张(colorectal distension, CRD)组。CRD组大鼠出生后第8、10、12天,每天给予两次结直肠扩张,成年后即出生后第8-10周,检测腹壁撤退反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)评分、痛阈以及腹外斜肌放电幅度,出生后第10-12周检测旷场实验、糖水偏好及强迫游泳等抑郁样行为变化,行为学检测后取结肠进行HE染色观察组织病理变化,取血浆检测皮质酮(cortisol, CORT)水平,取脑PVN进行荧光检测CRH表达水平。

结果: (1)大鼠新生期经历直结肠扩张,成年后痛阈值下降,AWR评分、腹外斜肌放电幅度增高($P < 0.05$, $P < 0.05$),结直肠组织均未见明显病理改变;(2)与Sham组相比,CRD组大鼠在5 min旷场实验中的穿格子线数、直立次数和总运动距离明显减少(均 $P < 0.05$),总休息时间明显增多($P < 0.05$),糖水消耗率下降($P < 0.05$),强迫游泳过程中不动时间增加($P < 0.05$);(3)与Sham组相比较,CRD组大鼠血浆中CORT的水平增高($P < 0.05$),PVN内CRH表达也增加($P < 0.05$)。

结论: 早期生活应激致功能性慢性内脏痛大鼠有抑郁样行为改变,其机制可能与PVN内CRH表达增加,HPA轴功能失调有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 功能性慢性内脏痛; 直结肠扩张; 早期生活应激; 抑郁; 促肾上腺皮质激素释放激素

核心提示: 下丘脑室旁核内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone)表达增加,下丘脑-腺垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal)轴功能失调可能是早期生活应激致功能性慢性内脏痛大鼠内脏痛觉过敏和伴抑郁样行为改变的共同的病理生理机制。

喻乐, 花璐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅. 早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(15): 2091-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2091>

0 引言

功能性慢性内脏痛是一种以腹痛或腹部不适,伴或不伴排便习惯改变为特征的胃肠功能性疾病,症状至少持续3 mo,但结肠组织未见明显病理学变化,其发病机制复杂,可能与包括心理因素、胃肠道异常运动与分泌、内脏高敏感性在内的中枢和外周因素有关^[1-3]。目前新生期直结肠扩张模型是国内外公认的比较理想的功能性慢性内脏痛模型之一。大量的研究和分析^[4-6]已证实,早期生活应激包括童年虐待、忽视、母婴分离等是成年后抑郁发生的高危因素。而抑郁等精神障碍是慢性疼痛常见的伴随症状,导致严重的疾病负担,严重影响患者的生活质量^[7,8]。早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠是否伴发抑郁样行为及其作用机制尚不确切。本研究通过观察大鼠新生期经历直结肠扩张所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为及下丘脑室旁核(corticotropin releasing hormone, PVN)内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达的影响,探讨早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁样行为的可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 新生第8天♂SD大鼠,由徐州医学院实验动物中心提供。新生大鼠与母鼠同笼直到28 d,鼠乳喂养。母婴分离后,每5只子鼠1笼,保持室温 $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 及12 h/12 h明/暗光照,能够自由取食和进水。随后大鼠正常饲养到第8周进行下述各项实验。采用随机数字表法,将大鼠随机

分为2组($n = 10$): 假手术组(Sham组)、新生期结直肠扩张组(colorectal distension, CRD组)。兔抗大鼠CRH(abcam公司, 美国); Alexa 594驴抗兔IgG(Life Technologies公司, 美国); 血浆皮质酮放射免疫试剂盒(北京华英生物技术研究, 中国); 人血管成形气囊20.0 mm×3.0 mm(美国); BL-420E+多道生理记录仪(成都泰盟公司, 中国); 荧光显微镜(Olympus IX-81, 日本); 旷场箱及强迫游泳圆筒(上海软隆公司, 中国)。

1.2 方法

1.2.1 功能性慢性内脏痛模型的建立: 参照文献[9]通过新生期反复CRD的方法制备功能性慢性内脏痛模型: 新生大鼠于出生后第8、10、12天, 每天上午固定时间给予两次结直肠扩张, 将直径3 mm, 长20 mm的血管成形气囊从肛门插入至清醒新生大鼠的降结肠, 用0.3 mL水扩张产生60 mmHg的压力在结肠内留置1 min后, 将其减压退出, 间隔30 min后重复扩张1次。Sham组大鼠除未进行结直肠扩张外, 其他操作均与CRD组一致。

1.2.2 行为学测定: (1)AWR评分: 按Al-Chaer等^[9]报道的方法, 大鼠在实验前18 h禁食不禁水, 用乙醚或氟烷麻醉后, 将未充气的球囊涂石蜡油后插入结直肠内, 用胶布将肛门外导管固定于大鼠尾根部, 导管经三通连接注射器和血压计, 大鼠放置在20 cm×6 cm×8 cm的有机玻璃箱内观察, 约30 min大鼠完全适应后开始实验。分别采用20、40、60、80 mmHg 4个压力, 每次扩张持续20 s, 刺激间隔4 min, 采用单盲法, 取3次评分之均值。AWR的评分标准^[10]为: 0分: 无明显行为变化; 1分: 大鼠身体不动或仅有简单的头部运动; 2分: 腹部肌肉开始收缩; 3分: 下腹壁抬高箱底或明显收缩变平; 4分: 腹壁拱起或伴身体、骨盆躬起; (2)AWR方法测定痛阈: 球囊放置过程同前, 通过注射器持续、缓慢加压, 每10 mmHg为一压力梯度, 每个压力停留10 s, 间隔4 min, 以肉眼观察出现明显的下腹壁抬高箱底或明显收缩变平(AWR 3分)时的最小压力值为痛阈。扩张压力范围在10-80 mmHg之间; 每只大鼠重复3次, 取平均值; (3)腹外斜肌放电的测量: 参照文献[9,11], 前述方法置入球囊后, 将大鼠固定于手术台上, 用1%左右的氟烷维持麻醉, 并随时通过测量疼痛反应调整气体麻醉机内氟烷的流量, 使大鼠不发生自主活动, 却有疼痛反应存在。将银丝双极电极插入腹股沟韧带上方、距中线1.5 cm的一侧腹外斜肌上, 待适应15 min

后, 对清醒大鼠予以结直肠扩张, 压力梯度分别为20、40、60、80 mmHg, 每次加压10 s, 刺激间隔4 min。用BL-420E+生物机能实验系统记录在不同压力的结直肠扩张刺激下大鼠腹外斜肌的放电活动变化。记录参数设置: 高频滤过2 kHz, 时间常数0.001 s, 采样频率为40 Hz, 灵敏度500 μ V, 扫描速度250 ms/div; (4)旷场实验: 参照文献[12], 旷场为100 cm×100 cm×50 cm黑色聚碳酸酯板围成方箱, 计算机Anymaze软件将其底部平分为25个方格, 实验时手提大鼠尾巴将其轻轻放在箱底中心方格内, 记录大鼠5 min的旷场行为, 如穿格子线数, 直立次数, 总运动距离和总休息时间。每次观察结束后清洗方箱内壁及底面, 以免上次余留的信息(如动物的大、小便、气味)影响下次测试结果; (5)糖水偏好实验: 参照文献[12,13], 将大鼠单笼饲养, 分别给予一瓶1%蔗糖溶液, 一瓶自来水后适应48 h, 禁水禁食24 h后进行糖水偏好实验。每只大鼠同时给予事先称重的两瓶水, 1瓶为1%蔗糖溶液, 1瓶为自来水, 为避免大鼠喜好饮一侧水, 应定期倒换两水瓶位置, 1 h后取走进行称量, 每只大鼠糖水消耗率 = 糖水消耗量/(糖水消耗量+普通自来水消耗量)×100%; (6)强迫游泳实验: 参照文献[12,14], 将大鼠放入直径18 cm, 水深(30-40 cm)的圆筒中, 水温23℃±1℃, 记录大鼠5 min不动的时间(动物四肢不动漂浮于水面, 仅头部露出水面呼吸)。每次测试完毕后, 缸中的水需要倒掉并清洗干净后再开始下1次测试。

1.2.3 结直肠组织病理学检查: 第12周, 经组织灌注固定后, 取大鼠距肛门10 cm处降结肠作标本。切片由徐州医学院附属医院病理科专家诊断, 观察指标为结直肠局部组织有无损伤及炎症等异常改变。

1.2.4 血浆糖皮质激素水平的测定: 静脉取血, 枸橼酸钠抗凝, 分离血浆, 以二氯甲烷提取, 放射免疫法测定血浆皮质酮含量(ng/mL)。

1.2.5 免疫荧光染色法检测PVN内CRH: 第12周大鼠经心脏组织灌注固定取脑固定, 沉糖脱水后脑组织冠状冰冻连续切片(厚度30 μ m), PBS漂洗, 用含有0.3%Triton X-100的10%驴血清室温封闭2 h, 加入兔抗大鼠CRH抗体(1:200), 4℃孵育24 h, PBS漂洗, 暗室内加入Alexa 594驴抗兔IgG(1:200), 室温孵育2 h, PBS漂洗, 贴片、封片, 共聚焦显微镜下观察拍片、计数。

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计学软件进行数据分析, 两组

■ 相关报道

有研究显示功能性慢性内脏痛患者在肠动力、内脏敏感性和HPA轴的功能等方面呈现出典型改变, 这些改变同时也是慢性应激相关精神疾病的共同特征。以地塞米松评价下丘脑反馈抑制CRH的研究显示, 约1/2的重度抑郁患者其正常皮质激素抑制反应丧失。

■创新盘点

哺乳动物在神经发育的可塑阶段, 基因与环境(应激)相互作用有可能影响幼年神经发育。利用新生期经历直结肠扩张模拟早期生活应激建立功能性慢性内脏痛模型, 有助于我们从脑-肠轴的角度探讨早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁可能作用机制。

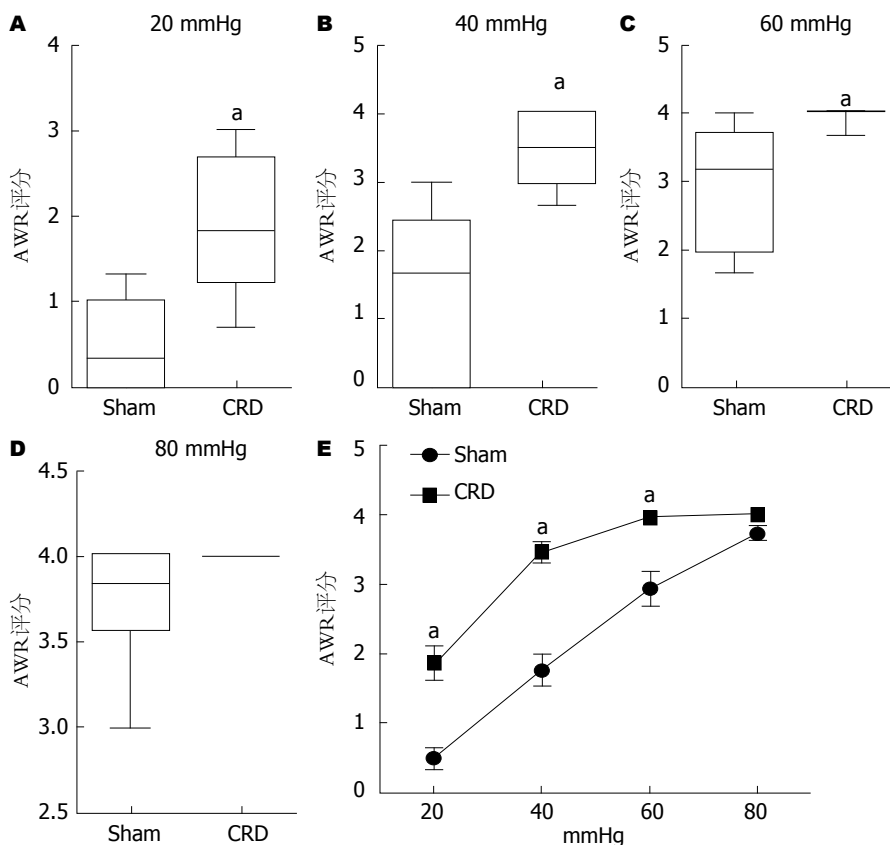


图1 大鼠新生期经历直结肠扩张对成年后AWR评分的影响。A: 两组大鼠在20 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; B: 两组大鼠在40 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; C: 两组大鼠在60 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; D: 两组大鼠在80 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; E: 两组大鼠随着扩张压力刺激的不断变化AWR评分的变化趋势。该箱图中箱体代表四分位距, 中间黑线代表中位数, 上下短线代表5%到95%的可信区间。* $P < 0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结肠扩张组。

间比较采用成组 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠新生期经历CRD成年后对AWR评分、痛阈及腹外斜肌放电幅度的影响 与Sham组相比较, 在20、40和60 mmHg扩张压力刺激下, CRD组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度增加($P < 0.05$, $P < 0.05$), 在80 mmHg压力刺激下两组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度无显著差异($P > 0.05$, $P > 0.05$), 而且随着扩张压力刺激的不断增加, 从20-80 mmHg, 两组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度均越来越高(图1, 2)。与Sham组相比较, CRD组大鼠的痛阈明显降低($P < 0.05$)(图3)。

2.2 大鼠新生期经历CRD成年后结直肠组织病理变化情况 常规病理切片光镜下: 两组大鼠结直肠组织结构完整, 排列整齐, 黏膜表面光滑, 固有层内肠腺规则; 胞质呈嗜酸性红染, 胞核为圆形或椭圆形, 染成均匀的蓝黑色, 形态规则,

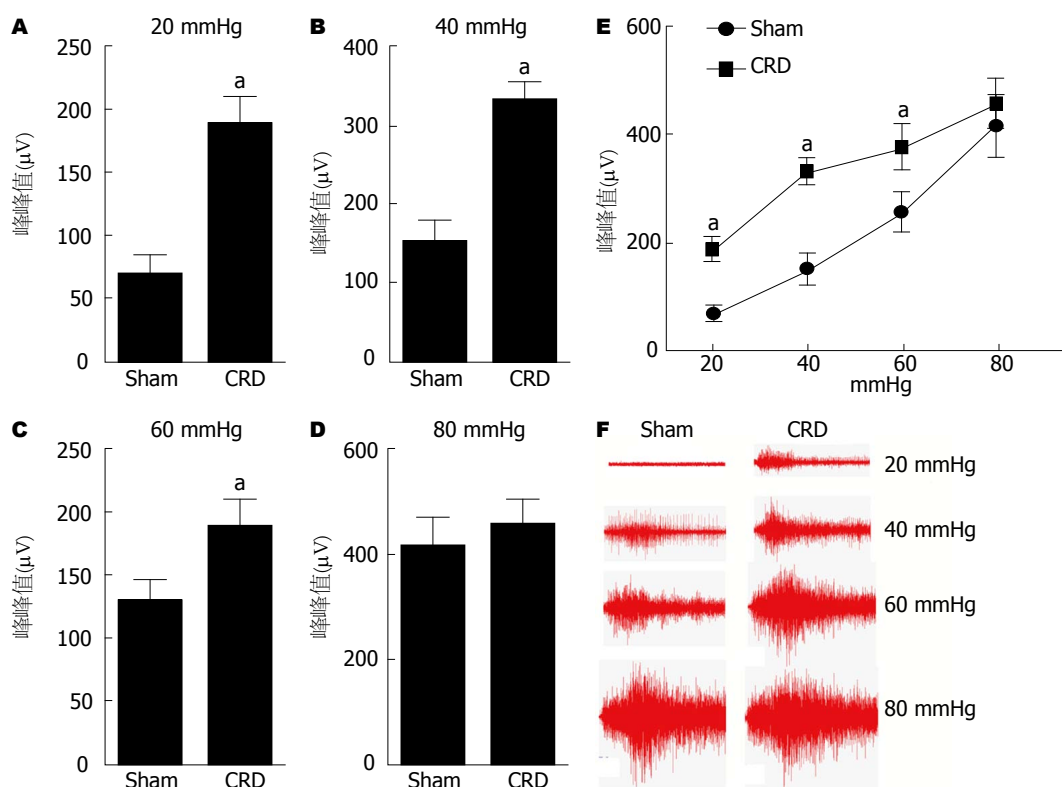
大小较为一致, 核仁清晰可见; 周围间质无明显水肿, 未见中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞浸润(图4)。

2.3 大鼠新生期经历CRD成年后抑郁样行为变化情况 与Sham组相比, CRD组大鼠在5 min旷场实验中的穿格子线数、直立次数和总运动距离明显减少(均 $P < 0.05$), 总休息时间明显增多($P < 0.05$)(图5), 糖水消耗率下降($P < 0.05$)(图6), 强迫游泳过程中不动时间增加($P < 0.05$)(图7)。

2.4 大鼠新生期经历CRD成年后血浆糖皮质激素水平变化情况及下丘脑室旁核内CRH的表达情况 与Sham组相比较, CRD组大鼠血浆中CORT的水平增高($P < 0.05$)(图8), 免疫荧光结果显示, 下丘脑PVN内CRH表达也增加($P < 0.05$)(图9)。

3 讨论

人的大脑在6-19岁期间处于快速发育和优化阶段, 这种神经发育的可塑性最终决定成年后的脑高级功能^[15,16]。因此, 基因与环境(应激)相互



应用要点

本研究的实验结果对早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠成年后伴发抑郁等精神障碍的病理生理机制有了进一步的认识, 为临床上采取积极有效的防治措施, 减少早期不良生活经历所造成的危害提供有力的依据。

图 2 大鼠新生期经历直肠扩张对成年后腹外斜肌放电幅度的影响。A: 两组大鼠在20 mmHg直肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; B: 两组大鼠在40 mmHg直肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; C: 两组大鼠在60 mmHg直肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; D: 两组大鼠在80 mmHg直肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; E: 两组大鼠随着扩张压力刺激的不增加AWR评分的变化趋势; F: 两组大鼠在不同压力刺激下腹外斜肌放电情况的典型肌电图。* $P < 0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结肠扩张组。

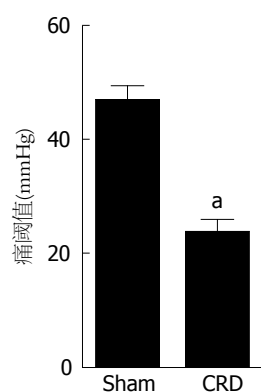


图 3 大鼠新生期经历直肠扩张对成年后痛阈的影响。* $P < 0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结肠扩张组。

作用有可能影响幼年神经发育, 最终导致成年后抑郁的发生。早期生活应激事件, 如童年虐待、失去父母、被忽视等不良事件可影响结肠动力并引起内脏痛觉过敏, 增加成年后腹痛相关功能性肠病发生的危险性^[17]。而抑郁精神障碍是慢性疼痛常见的伴随症状, 导致严重的疾病负担, 影响患者的生活质量。本研究通过对大鼠新生期进行反复的结肠扩张建立功能性慢

性内脏痛模型, 观察大鼠成年后抑郁样行为变化及下丘脑PVN内CRH表达的情况, 探讨早期生活应激所致功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁的可能作用机制, 为临床上多途径预防和治疗功能性慢性内脏痛提供可靠的依据, 改善患者的生活质量。

本研究观察到新生期经历直肠扩张的CRD组大鼠与Sham组大鼠相比较, 成年后的痛阈值降低, AWR评分和腹外斜肌放电幅度增加, 结肠组织无明显病理学改变, 说明我们的功能性慢性内脏痛模型的建立是比较稳定的。旷场实验, 糖水偏好实验及强迫游泳实验是衡量啮齿类动物抑郁样行为的良好指标^[12,18]。本研究CRD组大鼠较Sham组大鼠在旷场实验中的穿梭格子线数和直立次数均减少, 总休息时间增加, 总运动距离减少, 提示CRD组大鼠的自主行动和对外界的空间探索行为明显减少, 兴趣淡漠。糖水消耗率是目前动物实验中快感缺失的评价指标, 快感缺失指的是体验快乐的能力下降, 被认为是抑郁症的核心症状。糖水偏好实验中CRD组大鼠的糖水消耗率减少, 提示CRD组大

■同行评价

本研究通过动物实验证实早期生活应激致功能性慢性内脏痛可引发成年后大鼠抑郁行为,可能通过下丘脑室旁核CRH起作用,对IBS的认识有一定意义。

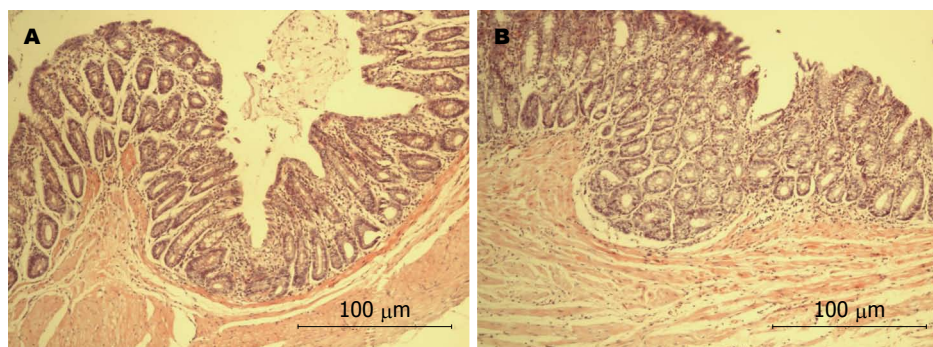


图4 大鼠新生期经历直肠扩张成年后结肠组织病理结果. A: Sham组; B: CRD组. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结肠扩张组.

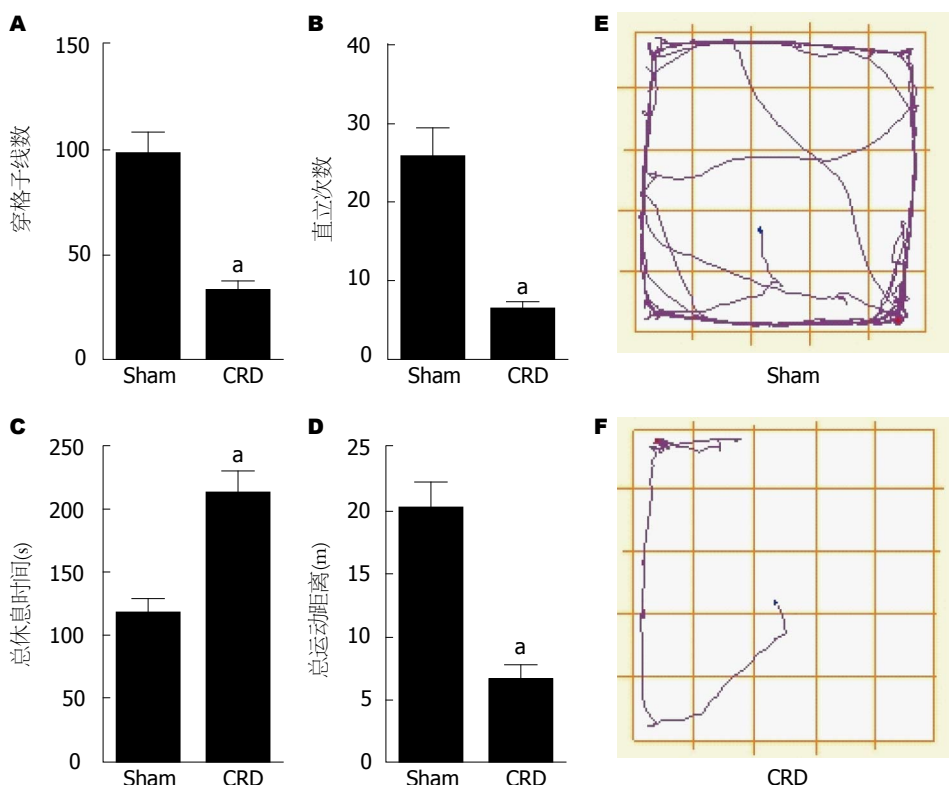


图5 大鼠新生期经历直肠扩张成年后5 min旷场实验结果. A: 穿格子线数; B: 直立次数; C: 总休息时间; D: 总运动距离; E, F: 典型轨迹图. * $P < 0.05$ vs Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结肠扩张组.

鼠抑郁症状明显. 强迫游泳是模拟行为绝望而设计的, 动物经历一段时间的挣扎后就会由试图逃脱不断游泳的积极状态变为仅保持头部浮出水面停止游泳的消极状态, 抑郁的动物出现消极状态早, 不动时间就会增加. 本研究中CRD组大鼠较Sham组大鼠游泳不动时间增加, 提示CRD大鼠的消极沮丧情绪. 以上研究结果均说明, 早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴有抑郁样行为表现.

目前, 功能性慢性内脏痛的发病机制尚不清楚. 有研究显示功能性慢性内脏痛患者在肠动力、内脏敏感性和HPA轴的功能等方面呈现出

典型改变^[19,20], 这些改变同时也是慢性应激相关精神疾病的共同特征^[21,22]. CRH是HPA轴的重要调节肽, 下丘脑接受刺激后释放CRH, 刺激垂体ACTH的释放, 使血浆中糖皮质激素CORT水平增高. 慢性疼痛状态下, 长时间持续应激会破坏HPA轴的反馈机制, 通过HPA轴, 大脑和外周的糖皮质激素受体下调可能诱导更高水平的糖皮质激素产生, 最终导致HPA轴功能失调. 本研究证实了大鼠新生期经历反复的结直肠扩张, 成年后血浆中的CORT水平增高, PVN内CRH表达增加, 这些都有可能最终导致HPA轴功能失调, 内脏痛觉高敏. 本研究的实验结果提示下丘脑

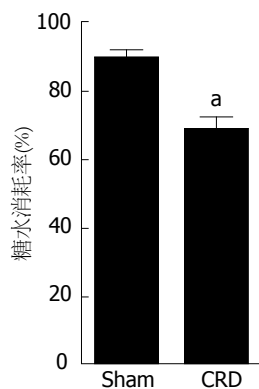


图 6 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后糖水偏好试验中1%蔗糖消耗率。^a $P<0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组。

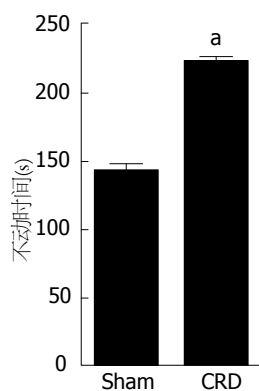


图 7 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后强迫游泳实验中不动时间情况。^a $P<0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组。

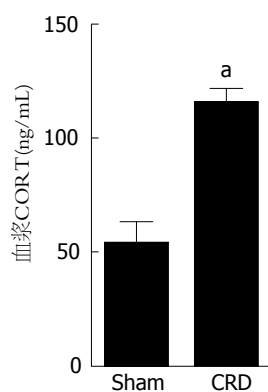


图 8 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后血浆CORT水平变化情况。^a $P<0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组。

PVN内CRH神经元敏化可能参与早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠内脏痛觉高敏的形成与维持。

早期生活应激能够增加成年后各种精神疾病障碍和行为问题的发生, 有研究显示早期发育阶段的应激能够引起成年后HPA轴功能对应激

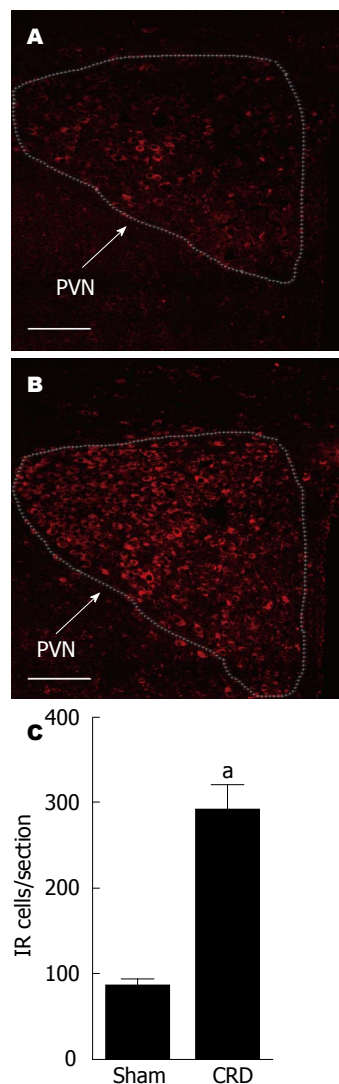


图 9 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后下丘脑室旁核内CRH的表达情况。A: Sham组大鼠室旁核内CRH的表达情况; B: CRD组大鼠室旁核内CRH的表达情况, 两组大鼠相比较。^a $P<0.05$ vs Sham组大鼠。Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组。PVN: 下丘脑室旁核。

反应的持续改变, 最终引起抑郁易感性增加^[23-26]。在神经内分泌系统中, 一方面, HPA轴的激活为交感神经反应提供了能量基础; 另一方面, HPA轴和交感肾上腺系统与脑的周边、皮质系统相互作用, 提高了觉醒、处境评估和认知性能^[27]。在应激反应下, HPA轴会调节神经递质的释放、交感肾上腺的活动、体循环中糖皮质激素的含量, 从而控制交感神经反应和躯体症状。而在慢性应激反应下, 多重信息会作用于神经中枢系统, 可能会扰乱HPA轴的负反馈, 从而出现焦虑、抑郁和慢性疼痛等情况^[28,29]。调查^[26]显示抑郁患者的边缘区域包括下丘脑和海马有功能改变, 表现为CRH分泌过多, HPA轴功能活跃。以地塞米松评价下丘脑反馈抑制CRH的研究^[30]显示,

约1/2的重度抑郁患者其正常皮质激素抑制反应丧失。长期高水平糖皮质激素对中枢神经系统级心脏均有负面影响。就本研究来分析,可能是早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛诱导了抑郁精神障碍的发生,而抑郁又促进了功能性慢性内脏痛的发生发展及维持,而HPA轴功能紊乱可能是早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁精神障碍的原因,也有可能是慢性疼痛和抑郁共同的神经生理机制^[31]。

总之,本研究的实验结果对早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠成年后伴发抑郁等精神障碍的病理生理机制有了进一步的认识,为临床上采取积极有效的防治措施,减少早期不良生活经历所造成的危害提供有力的依据。

4 参考文献

- Austin PD, Henderson SE. Biopsychosocial assessment criteria for functional chronic visceral pain: a pilot review of concept and practice. *Pain Med* 2011; 12: 552-564 [PMID: 21143765 DOI: 10.1111/j.1526-4637.2010.01025.x]
- Anand P, Aziz Q, Willert R, van Oudenhove L. Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 29-46 [PMID: 17280584]
- Feng B, La JH, Schwartz ES, Gebhart GF. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Neural and neuro-immune mechanisms of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G1085-G1098 [PMID: 22403791 DOI: 10.1152/ajpgi.00542.2011]
- Jumper SA. A meta-analysis of the relationship of child sexual abuse to adult psychological adjustment. *Child Abuse Negl* 1995; 19: 715-728 [PMID: 7552840]
- Paolucci EO, Genuis ML, Violato C. A meta-analysis of the published research on the effects of child sexual abuse. *J Psychol* 2001; 135: 17-36 [PMID: 11235837]
- Schmidt MV, Wang XD, Meijer OC. Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression? *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 214: 131-140 [PMID: 21086114 DOI: 10.1007/s00213-010-2096-0]
- Ataoglu E, Tiftik T, Kara M, Tunç H, Ersöz M, Akkuş S. Effects of chronic pain on quality of life and depression in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2013; 51: 23-26 [PMID: 22547044 DOI: 10.1038/sc.2012.51]
- Greenberg EN. The consequences of chronic pain. *J Pain Palliat Care Pharmacother* 2012; 26: 64-67 [PMID: 22448948 DOI: 10.3109/15360288.2011.650359]
- Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285 [PMID: 11054385]
- Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-G856 [PMID: 17110521]
- 杨燕珍, 吴斌, 张睿, 卓玲, 陈晓芳, 林国威, 林春. 腹外斜肌放电测量在幼鼠内脏痛觉高敏感模型评价中的应用. *中国当代儿科杂志* 2008; 10: 637-641
- Beaugé LA, DiPolo R. Sidedness of the ATP-Na⁺-K⁺ interactions with the Na⁺ pump in squid axons. *Biochim Biophys Acta* 1979; 553: 495-500 [PMID: 222318 DOI: 10.1007/978-1-61779-458-2_7]
- Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA, van Luijtelaaar G. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia* 2010; 51: 146-160 [PMID: 19674046 DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02260.x]
- Yazir Y, Utkan T, Aricioglu F. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase prevents depression-like behaviour in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 111: 154-160 [PMID: 22385503 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2012.00877.x]
- Shaw P, Greenstein D, Lerch J, Clasen L, Lenroot R, Gogtay N, Evans A, Rapoport J, Giedd J. Intellectual ability and cortical development in children and adolescents. *Nature* 2006; 440: 676-679 [PMID: 16572172]
- Bilbo SD, Schwarz JM. The immune system and developmental programming of brain and behavior. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33: 267-286 [PMID: 22982535 DOI: 10.1016/j.yfrne.2012.08.006]
- 卓玲, 吴斌. 新生期母婴分离对大鼠的远期影响. *国际儿科学杂志* 2008; 35: 130-134
- 王丹. 抑郁症动物模型及行为学评价. *西安文理学院学报(自然科学版)* 2012; (2): 51-53
- Cervero F, Jänig W. Visceral nociceptors: a new world order? *Trends Neurosci* 1992; 15: 374-378 [PMID: 1279857]
- Mayer EA, Collins SM. Evolving pathophysiologic models of functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 2002; 122: 2032-2048 [PMID: 12055608]
- Clarke G, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Irritable bowel syndrome: towards biomarker identification. *Trends Mol Med* 2009; 15: 478-489 [PMID: 19811951 DOI: 10.1016/j.molmed.2009.08.001]
- Gros DF, Antony MM, McCabe RE, Swinson RP. Frequency and severity of the symptoms of irritable bowel syndrome across the anxiety disorders and depression. *J Anxiety Disord* 2009; 23: 290-296 [PMID: 18819774 DOI: 10.1016/j.janxdis.2008.08.004]
- Tofoli SMC, Baes CVW, Martins CMS, Juruena M. Early life stress, HPA axis, and depression. *Psychol Neurosci* 2011; 4: 229-234 [DOI: 10.3922/j.psns.2011.2.008]
- Juruena MF. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. *Epilepsy Behav* 2013 Nov 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24269030 DOI: 10.1016/j.yebeh.2013.10.020]
- Heim C, Newport DJ, Mletzko T, Miller AH, Nemeroff CB. The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33: 693-710 [PMID: 18602762 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.03.008]
- Baes CV, Tofoli SMD, Martins CMS, Juruena MF. Assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: glucocorticoid receptor and mineralocorti-

- coid receptor function in depression with early life stress - a systematic review. *Acta Neuropsychiatr* 2012; 24: 4-15 [DOI: 10.1111/j.1601-5215.2011.00610.x]
- 27 Lilly MP, Gann DS. The hypothalamic-pituitary-adrenal-immune axis. A critical assessment. *Arch Surg* 1992; 127: 1463-1474 [PMID: 1365694]
- 28 Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 2008; 31: 464-468 [PMID: 18675469 DOI: 10.1016/j.tins.2008.06.006]
- 29 Blackburn-Munro G. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysfunction as a contributory factor to chronic pain and depression. *Curr Pain Headache Rep* 2004; 8: 116-124 [PMID: 14980146]
- 30 Carroll BJ, Cassidy F, Naftolowitz D, Tatham NE, Wilson WH, Iranmanesh A, Liu PY, Veldhuis JD. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 2007; (433): 90-103 [PMID: 17280575]
- 31 刘义, 高静方. 抑郁与慢性疼痛相关的神经生物学共同机制研究进展. *精神医学杂志* 2010; 23: 155-157

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》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)。

泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义

王标钰, 张法灿, 张国

■背景资料

肝纤维化是肝脏对各种因素所导致的肝损害时细胞外基质合成、降解与沉积不平衡而引起的病理过程, 涉及复杂的细胞及分子机制。其中, 转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)/Smad信号通路可能是慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染导致肝纤维化重要机制。

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

王标钰, 住院医师, 广西医科大学在读硕士研究生, 主要从事慢性肝病的研究。

广西壮族自治区卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200958号

作者贡献分布: 王标钰与张法灿对此文所做贡献均等; 课题由王标钰、张法灿与张国设计; 研究过程由王标钰与张国操作完成; 研究所用试剂及分析工具由张法灿提供; 数据分析由王标钰与张国完成; 本论文写作由王标钰完成。

通讯作者: 张法灿, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科。

zhangfacan@126.com

电话: 0771-2186869

收稿日期: 2014-02-18 修回日期: 2014-03-25

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis

Biao-Yu Wang, Fa-Can Zhang, Guo Zhang

Biao-Yu Wang, Fa-Can Zhang, Guo Zhang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Key Research Funded Projects from Department of Public Health of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200958

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

Received: 2014-02-18 Revised: 2014-03-25

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the expression of Smad ubiquitination regulatory factor (Smurf)1, Smurf2, Smad3 and Smad7 proteins in liver fibrosis and to evaluate their interactions.

METHODS: Immunohistochemistry was applied to detect the expression of Smurf1, Smurf2, Smad3 and Smad7 in 9 normal liver tissue samples and 38 chronic HBV infection tissue samples.

RESULTS: Smurf1, Smurf2, Smad3 and Smad7 showed widespread expression in the liver

parenchymal cells and nonparenchymal cells. Compared with normal liver tissue, the positive rates of Smad3 and Smurf2 expression increased significantly (66.7% vs 100%, 66.7% vs 92.1%, $P < 0.01$ for both) and the positive rate of Smad7 expression decreased significantly in liver fibrosis (77.8% vs 39.5%, $P < 0.01$), although the positive rate of Smurf1 expression had no significant change (77.8% vs 63.2%, $P > 0.05$). There were significant positive correlations between Smad3 and Smurf2 expression and the degree of fibrosis ($P < 0.01$ for both). Smad7 expression was negatively correlated with the degree of fibrosis ($P < 0.01$). There was no significant correlation between Smurf1 expression and liver fibrosis ($P > 0.05$). Smurf2 expression was positively correlated with Smad3 expression ($P < 0.01$) and negatively with Smad7 expression ($P < 0.01$). There was no significant relationship between Smurf1 and Smurf2, Smad3, Smad7 expression ($P > 0.05$ for all). There was a negative correlation between expression of Smad3 and that of Smad7 ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The increase of Smad3 signal and decrease of Smad7 signal may lead to the development of liver fibrosis, and Smurf2 may play a bidirectionally regulatory role in the progression of liver fibrosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Smurf; Signal transduction

Wang BY, Zhang FC, Zhang G. Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2100-2107
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100>

摘要

目的: 观察Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白在人肝纤维化组织中的表达, 探讨四者的相互关系及介导的信号传导在肝纤维化发生中的作用机制。

方法: 采用免疫组织化学法测定9例正常肝组

■同行评议者
庄林, 主任医师,
昆明市第三人民
医院肝病科

织和38例慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者肝组织中Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的表达情况。

结果: Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7在肝内实质细胞及非实质细胞均可见广泛表达。与正常肝相比, 肝纤维化组Smad3、Smurf2的阳性表达率显著增加(66.7% vs 100%、66.7% vs 92.1%, $P<0.01$ 、 $P<0.01$), Smad7阳性表达率显著降低(77.8% vs 39.5%, $P<0.01$); 而Smurf1阳性表达率无显著变化(77.8% vs 63.2%, $P>0.05$), 差异无统计学意义。Smad3、Smurf2与纤维化程度呈显著正相关($P<0.01$ 、 $P<0.01$); Smad7与纤维化程度呈显著负相关($P<0.01$); Smurf1与肝纤维化无显著相关性($P>0.05$)。Smurf2与Smad3呈显著正相关($P<0.01$), 与Smad7呈显著负相关($P<0.01$); Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7均无相关性(均 $P>0.05$); Smad3与Smad7呈负相关($P<0.01$)。

结论: Smad3信号增强及Smad7信号缺失可能导致肝纤维化发展, Smurf2在肝纤维化进展中可能发挥双向调节作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; Smurf; 信号传导

核心提示: Smad泛素化调节因子(smad ubiquitination regulatory factor, Smurf)参与了转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$)/Smad信号通路的调节, Smurf2在肝纤维化进展中发挥双向调节作用, 但其对信号通路的促进作用可能远大于抑制作用, 最终促进肝纤维化的进展。

王标钰, 张法灿, 张国. 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2100-2107
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100>

0 引言

目前认为肝纤维化发生时细胞外基质(extracellular matrix, ECM)主要来源于活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), 而转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)则是导致肝纤维化最重要的细胞因子之一^[1]。转化生长因子 β 超家族信号传导因子(drosophila mothers against decapentaplegic protein, Smad)蛋白做为TGF- $\beta 1$ 下游信号因子, 在TGF- $\beta 1$ /Smad信号

通路中发挥着重要作用。Smad泛素化调节因子-2(smad ubiquitination regulatory factor2, Smurf2)是E3泛素连接酶中的一种, 在TGF- $\beta 1$ /Smad信号通路起着重要的调控作用^[2-4]。我们对慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者进行肝纤维化分级, 然后用免疫组织化学法检测Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7在人正常肝组织及肝纤维化组织中的表达, 探讨四者的相互关系及介导的信号在纤维化发生中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/2012-12广西壮族自治区人民医院38例诊断明确的慢性HBV感染者病理存档肝穿标本(肝纤维化分级为S1-4期), 男性32例, 女性6例, 年龄 39.18 ± 9.60 岁。另9例因外伤及良性肿瘤手术切除而收集的正常肝组织来自广西医科大学一附院。本研究经过广西壮族自治区人民医院伦理委员会同意。所有标本均经过40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μm 连续切片, 主要试剂Smad3、Smad7、Smurf1、Smurf2购自美国圣克鲁斯(Santa Cruz)公司, 辣根过氧化物酶标记二抗购自美国赛信通(Cell Signaling Technology)公司及中衫金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 肝标本病理学检查: 肝组织石蜡切片, 常规作HE染色及Masson染色观察组织学情况, 并由两名资深病理科专家做出组织学诊断。

1.2.2 采用免疫组织化学染色二步法: 石蜡切片常规脱蜡至水, 用0.01 mol/L的柠檬酸缓冲液煮沸后高压修复抗原10 min, 3% H_2O_2 修复内源性过氧化物酶10 min, 自然冷却室温后分别滴加Smad3、Smad7、Smurf1及Smurf2一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; PBS冲洗3 min \times 5次, 再依次滴加辣根过氧化物酶标记二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱孵育30 min; PBS冲洗3 min \times 5次, 最后DAB显色约3 min, 苏木素复染1 min, 1%盐酸乙醇分化2 s, 氨水反蓝。常规乙醇脱水、中性树胶封片, 光镜下观察并分析Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白表达情况。Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7抗体稀释度均为1:100。用PBS代替一抗作阴性对照。免疫组织化学结果判定: 采用双盲法观察结果, 每例肝组织标本在高倍镜下选取5个视野, 评分标准参照文献[5], 根据组织切片中阳性细胞百分比和着色强度进行半定量分级评分。阳性细胞百分比 $\leq 10\%$ 为0分, 11%-25%为1分,

■ 研发前沿

目前研究多集中在对TGF- β 信号传导通路底物及受体的调节上, Smad3和Smad7受泛素化调节因子(Smurf)的调节, 但Smurf对Smad的调节是否影响到肝纤维化的过程目前仍未解决。

■相关报道

2012年Zhang等研究发现, Smurf2在儿童增生性瘢痕的成纤维细胞中表达逐渐增加, 参与了增生性瘢痕的进展. 研究表明调高Smurf2的表达能使细胞对TGF- β 更加敏感, 产生更为有效的信号.

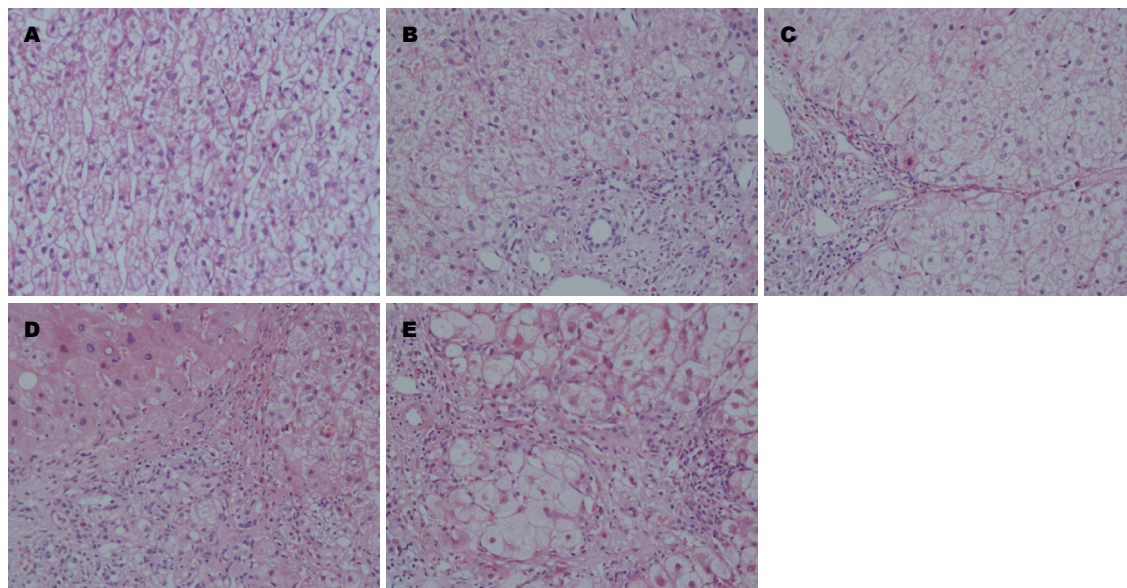


图1 肝组织HE染色($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

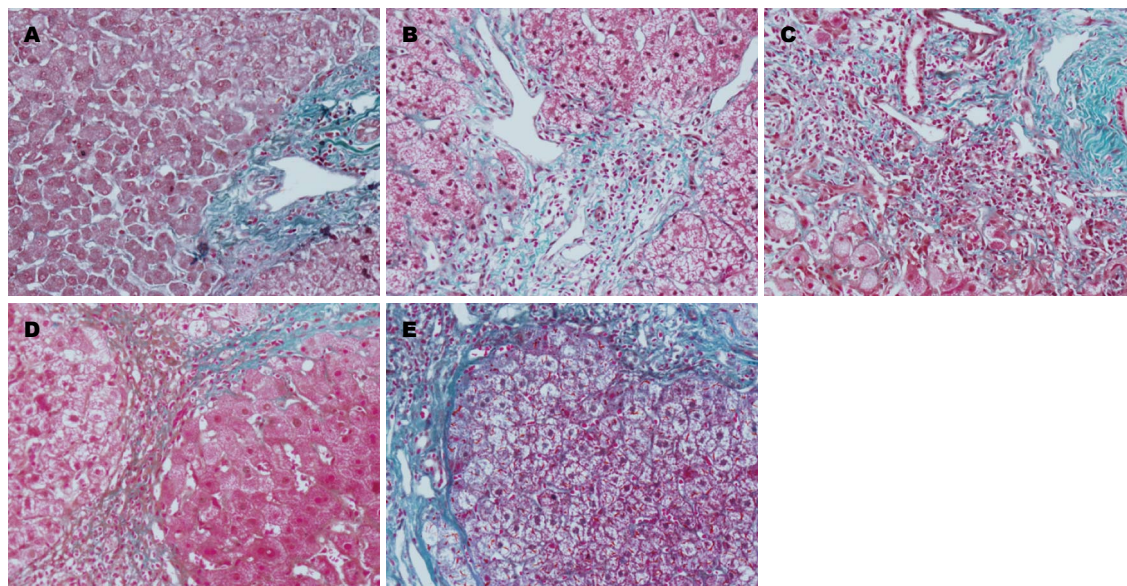


图2 肝组织Masson染色($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

26%-50%为2分, 51%-75%为3分, $\geq 76\%$ 为4分; 不着色为0分, 浅黄色为1分, 黄色为2分, 棕黄色为3分. 取上述两项分值乘积作为总积分: 0分为阴性, 1-4为弱阳性(+), 6-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++).

统计学处理 应用SPSS17.0软件对数据进行处理, 纤维化组与正常对照组Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白两两比较用秩和检验, Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7与肝纤维化等级相关性用Spearman相关性分析, Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7相互关系进行Spearman相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝组织观察 正常肝组织HE染色显示, 肝小叶结构正常, 肝细胞索以肝小叶中央静脉为中心呈放射状有序排列, 无明显炎性细胞浸润和细胞变性、坏死; 肝纤维化组织HE可见不同程度的变性、坏死及淋巴细胞浸润(图1). 正常肝Masson染色仅见汇管区有少量的纤维组织; 肝纤维化组织S1级可见汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化, S2级可见有纤维间隔形成, S3级纤维间隔伴小叶结构紊乱, S4级呈早期肝硬化表现(图2).

2.2 肝组织Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的

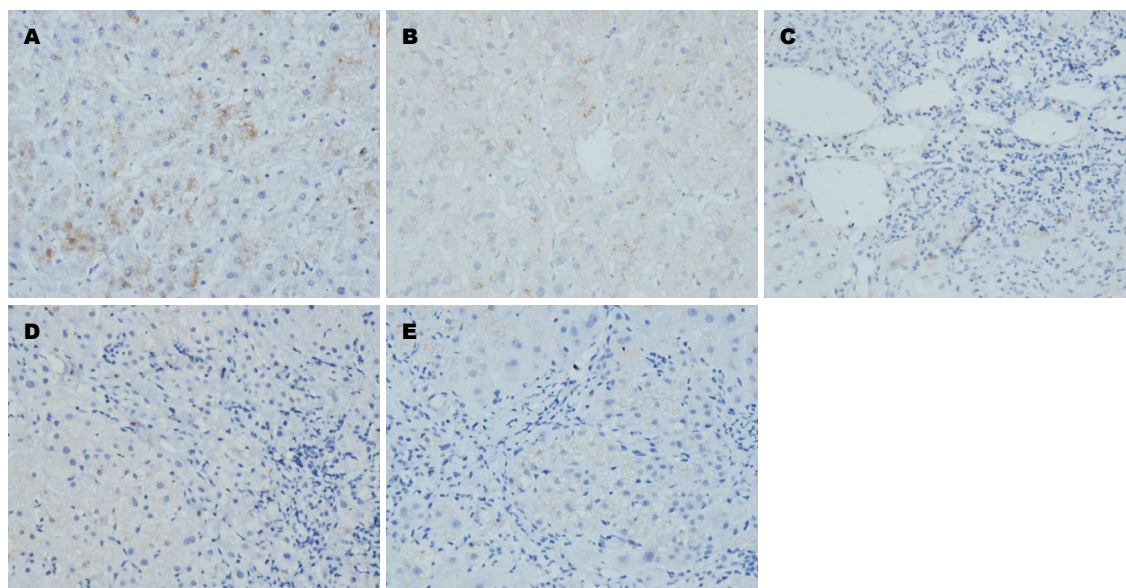


图 3 Smad7在人正常肝及肝纤维化组织中的表达($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

■创新盘点

目前Smurf1在人肝纤维化组织中表达情况尚未见相关报道,本研究通过检测Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的表达情况,利于更全面的探讨泛素化调节因子对Smad的调节及对肝纤维化的影响.

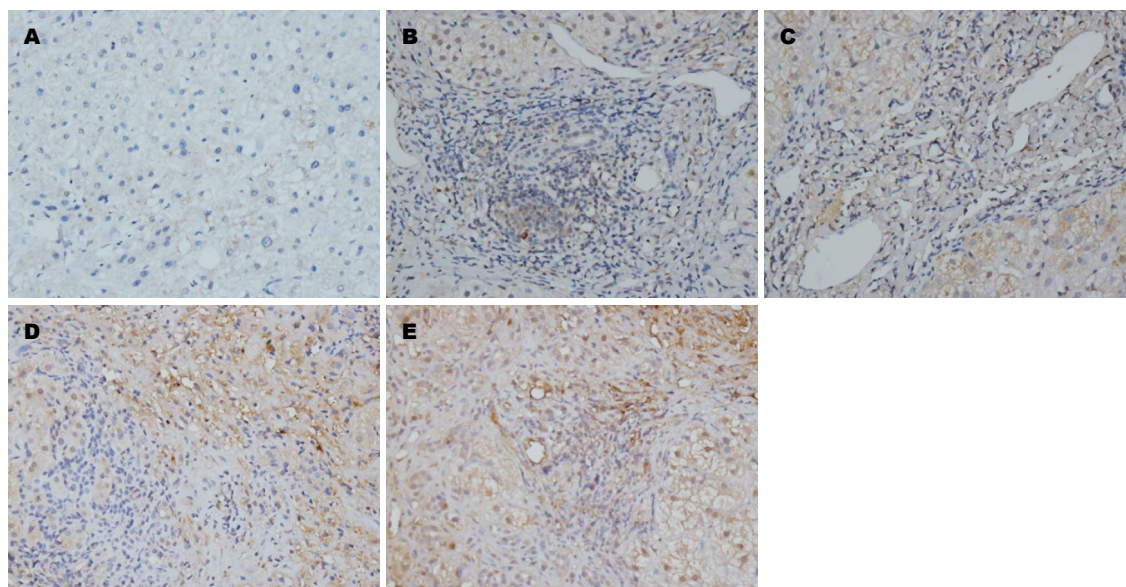


图 4 Smad3在人正常肝及肝纤维化组织中的表达($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

表达 表达呈黄色及棕黄色,在正常肝组织中主要分布在肝实质细胞胞质及肝星状细胞中,汇管区及肝窦diss间隙亦可见少量弱阳性表达,也可出现阴性表达.与正常肝组织相比,Smad7表达明显减少,主要分布在少数肝实质细胞胞质中,较多表达为阴性(图3); Smad3、Smurf2表达明显增多,主要分布在汇管区、纤维间隔及中央静脉周围的成纤维细胞、肝星状细胞及淋巴细胞,肝实质细胞胞质内亦可见弥漫性弱阳性表达(图4, 5). Smurf1表达与正常肝组织比较,变化不显著,主要在纤维间隔成纤维细胞、肝星状细胞及淋巴细胞及肝实质细胞胞质内表达(图6).与正常

肝相比,肝纤维化组Smad3、Smurf2表达显著增加($Z = -3.110$ 、 $Z = -2.716$, $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$), (表1, 2), Smad7表达显著降低($Z = -2.899$, $P < 0.01$), (表3); 而Smurf1表达无显著变化($Z = -1.399$, $P > 0.05$), (表4), 差异无统计学意义.

2.3 Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7与肝纤维化相关性分析 Smad3、Smurf2与纤维化程度呈显著正相关($r = 0.627$ 、 $r = 0.652$, $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$), (表1, 2, 图4, 5); Smad7与纤维化程度呈显著负相关($r = -0.488$, $P < 0.01$), (表3, 图3); Smurf1与肝纤维化无显著相关性($r = -0.064$, $P > 0.05$), (表4, 图6).

■应用要点

TGF- β 1/Smad信号通路可能是慢性HBV感染导致肝纤维化的重要机制, Smurf2对信号通路传导发挥促进作用, 如果对通路中的信号分子施加干预或许能延缓肝纤维化的进展.

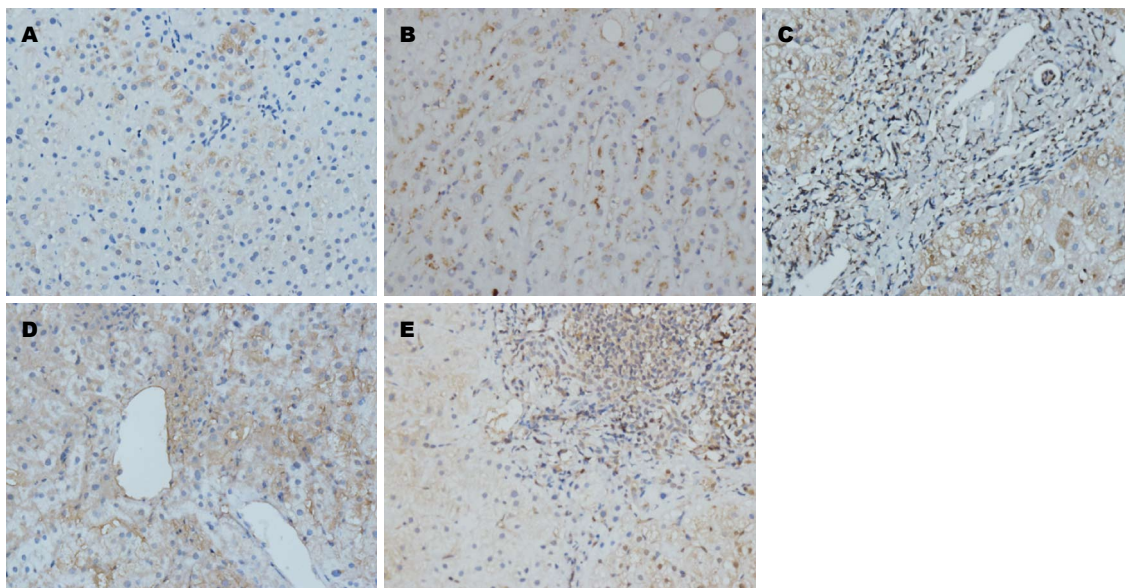


图 5 Smurf2在人正常肝及肝纤维化组织中的表达($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

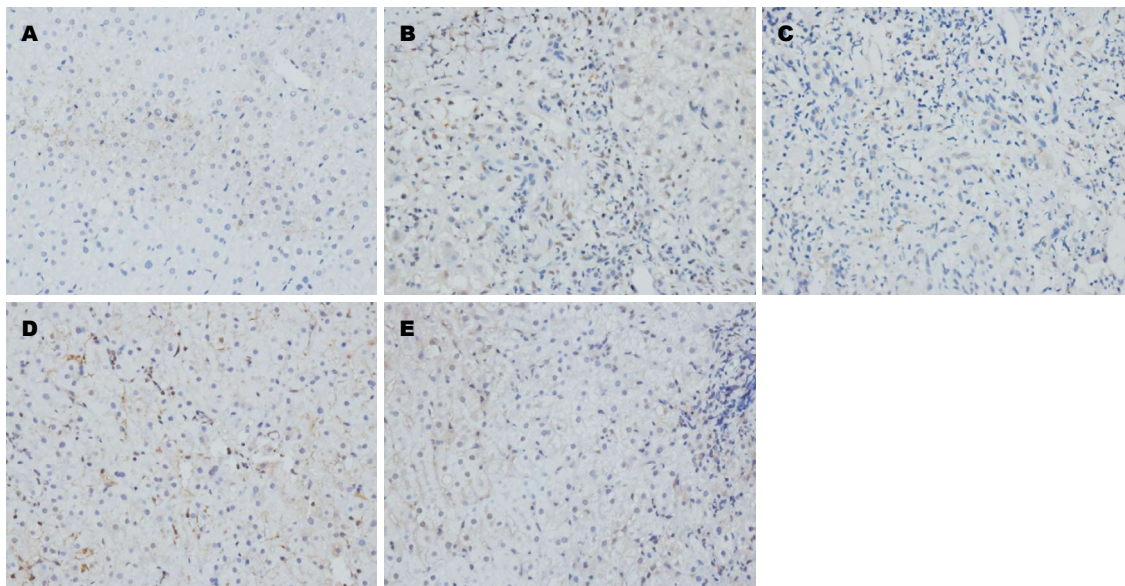


图 6 Smurf1在人正常肝及肝纤维化组织中的表达($\times 200$). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

2.4 Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的相互关系 Smurf2与Smad3呈显著正相关($r = 0.523$, $P < 0.01$), 与Smad7呈显著负相关($r = -0.447$, $P < 0.01$); Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7无相关性($r = -0.008$ 、 $r = -0.053$ 、 $r = 0.219$, $P > 0.05$); Smad3与Smad7呈负直线相关($r = -0.389$, $P < 0.01$).

3 讨论

TGF- β 1是引起肝纤维化最有效的细胞因子, 通过促进ECM的产生和沉积引起肝纤维化的发生, 其中TGF- β 1/Smad信号传导通路是促进ECM生成的重要途径^[6]. ECM主要来源于活化的肝星

状细胞, 而肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化和增殖是肝纤维化发展的中心环节^[7], TGF- β 1可通过与其唯一的底物Smads结合发挥生物效应, 从而刺激HSC的活化和增殖^[8]. 现在许多研究都集中在TGF- β 信号传导通路, 特别是其底物及受体的调节^[9-12]. 我们的研究显示, 在肝纤维化组织中Smad3大量表达在肝汇管区、纤维间隔的肝星状细胞及成纤维细胞中, 说明TGF- β 1信号传导活跃导致了HSC大量活化. 根据其Smads在TGF- β 信号传导中功能不同分为3类: (1)受体调节性Smads(R-Smads): 其中Smad2、3直接参与TGF- β 信号传导; (2)通用

表 1 Smad3在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

| 分组 | n | 表达强度 | | | |
|-----|----|------|---|----|-----|
| | | - | + | ++ | +++ |
| 正常肝 | 9 | 3 | 3 | 3 | 0 |
| S1 | 13 | 0 | 6 | 5 | 2 |
| S2 | 9 | 0 | 2 | 5 | 2 |
| S3 | 9 | 0 | 0 | 7 | 2 |
| S4 | 7 | 0 | 0 | 2 | 5 |

表 2 Smurf2在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

| 分组 | n | 表达强度 | | | |
|-----|----|------|---|----|-----|
| | | - | + | ++ | +++ |
| 正常肝 | 9 | 3 | 5 | 1 | 0 |
| S1 | 13 | 3 | 7 | 3 | 0 |
| S2 | 9 | 0 | 4 | 4 | 1 |
| S3 | 9 | 0 | 1 | 7 | 1 |
| S4 | 7 | 0 | 1 | 3 | 3 |

■同行评价

本文有科学性、创新性和可读性, 可以在一定程度上反映我国胃肠病学临床和基础研究先进水平。

表 3 Smad7在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

| 分组 | n | 表达强度 | | | |
|-----|----|------|---|----|-----|
| | | - | + | ++ | +++ |
| 正常肝 | 9 | 2 | 3 | 4 | 0 |
| S1 | 13 | 5 | 8 | 0 | 0 |
| S2 | 9 | 6 | 3 | 0 | 0 |
| S3 | 9 | 6 | 3 | 0 | 0 |
| S4 | 7 | 6 | 1 | 0 | 0 |

表 4 Smurf1在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

| 分组 | n | 表达强度 | | | |
|-----|----|------|---|----|-----|
| | | - | + | ++ | +++ |
| 正常肝 | 9 | 2 | 4 | 3 | 0 |
| S1 | 13 | 5 | 7 | 1 | 0 |
| S2 | 9 | 4 | 5 | 0 | 0 |
| S3 | 9 | 4 | 2 | 3 | 0 |
| S4 | 7 | 1 | 6 | 0 | 0 |

性Smads(Co-Smad), 主要是Smad4; (3)抑制性Smads(I-Smads), 包括Smad6、7, 其中Smad7对TGF- β 1/Smad信号传导进行负调控。目前认为TGF- β 1主要通过受体及其下游信号分子Smads完成信号通路的传导。TGF- β 首先与受体复合物中的II型受体结合, 然后磷酸化并激活I型受体中的丝氨酸/苏氨酸激酶, 活化的I型受体可磷酸化R-Smads, R-Smads可与Smad4形成复合物, 穿梭入细胞核内调节基因表达^[13]。

Smurf是E3泛素连接酶HECT家族中的成员之一, 其中Smurf2在调节TGF- β 1/Smad过程中扮演着重要角色。研究发现Smurf2可以通过降解TGF- β I型及II受体抑制TGF- β 信号通路的传导^[2]。Smurf2除了对TGF- β 受体的降解外, 还选择性地与Smad2和Smad3直接结合, 泛素化降解Smad2及Smad3^[14], 从而减弱TGF- β 信号。此外, 其可与Smad7形成Smad7-Smurf2复合物再与TGF- β 受体结合, 最终共同降解Smad7和TGF- β 受体^[15-17]。Smurf1则可以通过Smad7与TGF- β 受体结合, 最终导致Smad7和TGF- β 受体的共同降解^[18]。Tahashi等^[19]研究发现, 在肝纤维化大鼠模型中, 急性肝损伤时TGF- β 可快速诱导Smad7表达, Smad7可使HSC内TGF- β /Smad信号传导通路呈现平衡状态, 不致于产生过多的胶原蛋白; 但在HSC转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)后便失去了TGF- β 诱导Smad7表达上调的

敏感性, 结果导致R-Smad持续磷酸化且无法被Smad7抑制, R-Smad信号下转, 又介导HSC向MFB转化并分泌大量TGF- β , 继续激活ECM的转录, 引起ECM大量堆积, 最终造成恶性循环。我们的研究显示在肝纤维化组织中, Smad7表达随着肝纤维化程度加重逐减少, Smad3表达逐渐增多, 由此可见, Smad7表达的缺失导致其对TGF- β 1/Smad信号负调控失灵, 而Smad3持续表达则导致了信号传导增强, 最终促进了肝纤维化的发生及发展。Latella等^[20]发现Smad3缺陷转基因小鼠较野生型小鼠而言, 因为缺失Smad3信号分子而不易出现肝纤维化。

本研究表明在正常肝组织中Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7均有表达, 但在肝纤维化组中Smurf2、Smad3表达显著升高, 而Smad7表达显著下降。Smad3随着肝纤维化程度加重, 表达进行性增加, 与肝纤维化程度呈显著正相关($P<0.01$), 而做为下游信号分子的Smad3表达越多, 说明TGF- β 1信号通路传导越激烈, 从而刺激肝星状细胞的活化和增殖, 转化为肌成纤维细胞, 进而导致肝纤维化的进展。Smurf2与肝纤维化程度呈显著正相关($P<0.01$), Tan等^[21]研究发现在小鼠肾纤维化中Smurf2的表达增高, 上调Smurf2的表达能够显著增强Smad核转录共抑制因子SnoN(ski-related novel protein n, SnoN)的降解, 而SnoN的降解又会进一步刺激TGF- β

信号^[22], 这可能是Smurf2与纤维化程度呈显著正相关的原因之一. Zhang等^[23]研究也有类似发现, Smurf2在儿童增生性瘢痕的成纤维细胞中表达逐渐增加, 参与了增生性瘢痕的进展. Smurf2与Smad3呈显著正相关($P<0.01$), 研究表明调高Smurf2的表达能使细胞对TGF- β 更加敏感, 产生更为有效的信号^[24]. 根据Smurf2对TGF- β 1/Smad信号通路的促进作用, 因此可以解释Smurf2与Smad3的正相关关系. Smurf2与Smad7呈显著负相关($P<0.01$), 是因为Smurf2对Smad7也具有降解作用, Fukasawa等^[25]在单侧输尿管闭塞的模型实验中证实了Smurf2降解Smad7的作用, Smurf2表达越多对Smad7的降解越大, 故二者呈现负相关. 然而Smurf2选择性的降解Smad7必然会导致信号通路的增强^[26]. 这对于抑制信号通路的传导, 延缓肝纤维化的进展是不利的. 可见, Smurf2在TGF- β 1/Smad信号传导中发挥双向调节的作用, 但对信号通路的促进作用可能远大于其抑制作用, 最终导致肝纤维化的发展. Smad7与肝纤维化程度呈显著负相关($P<0.01$), 与Smad3呈负直线相关($P<0.01$), 说明Smad7表达缺失导致了其对信号通路抑制作用的减弱, 而通路信号的持续下传又必然导致Smad3表达的大量增加. Smurf1与肝纤维化无显著相关性($P>0.05$), Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7亦无相关性($P>0.05$), Smurf1虽可通过对Smad7和TGF- β 受体进行降解调节信号传导, 但有研究表明^[27-30]Smurf1主要通过降解Smad1、Smad5泛素化降解参与BMP信号通路的调节. 因此, 其在肝纤维化发展中究竟发挥多大作用仍需进一步研究. 我们认为TGF- β 1/Smad信号通路可能是慢性HBV感染导致肝纤维化的重要机制, 如果对通路中的信号分子施加干预或许能延缓肝纤维化的进展. 张国等^[31]发现活血软坚方可能通过非特异性作用干扰转化生长因子和Smad的功能来发挥抗纤维化的作用. 这为慢性HBV感染后肝纤维化的防治提供一新途径.

4 参考文献

- Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]
- Fukasawa H, Yamamoto T, Fujigaki Y, Misaki T, Ohashi N, Takayama T, Suzuki S, Mugiya S, Oda T, Uchida C, Kitagawa K, Hattori T, Hayashi H, Ozono S, Kitagawa M, Hishida A. Reduction of transforming growth factor-beta type II receptor is caused by the enhanced ubiquitin-dependent degradation in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 127: 1517-1525 [PMID: 20073064 DOI: 10.1002/ijc.25164]
- Dabydeen SA, Meneses PI. Smurf2 alters BPV1 trafficking and decreases infection. *Arch Virol* 2011; 156: 827-838 [PMID: 21318310 DOI: 10.1007/s00705-011-0924-0]
- Lönn P, Morén A, Raja E, Dahl M, Moustakas A. Regulating the stability of TGFbeta receptors and Smads. *Cell Res* 2009; 19: 21-35 [PMID: 19030025 DOI: 10.1038/cr.2008.308]
- Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers G, Leenen L. Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg* 2006; 1: 15 [PMID: 16759367 DOI: 10.1186/1749-7922-1-15]
- Cutroneo KR. TGF-beta-induced fibrosis and SMAD signaling: oligo decoys as natural therapeutics for inhibition of tissue fibrosis and scarring. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S54-S60 [PMID: 17727468 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00226.x]
- Popov Y, Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies. *Hepatology* 2009; 50: 1294-1306 [PMID: 19711424 DOI: 10.1002/hep.23123]
- Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S73-S78 [PMID: 17567473 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04658.x]
- Kim EY, Kim BC. Lipopolysaccharide inhibits transforming growth factor-beta1-stimulated Smad6 expression by inducing phosphorylation of the linker region of Smad3 through a TLR4-IRAK1-ERK1/2 pathway. *FEBS Lett* 2011; 585: 779-785 [PMID: 21295571 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.01.044]
- Meyer C, Godoy P, Bachmann A, Liu Y, Barzan D, Ilkavets I, Maier P, Herskind C, Hengstler JG, Doolley S. Distinct role of endocytosis for Smad and non-Smad TGF- β signaling regulation in hepatocytes. *J Hepatol* 2011; 55: 369-378 [PMID: 21184784 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.027]
- Malapeira J, Esselens C, Bech-Serra JJ, Canals F, Arribas J. ADAM17 (TACE) regulates TGF β signaling through the cleavage of vaserin. *Oncogene* 2011; 30: 1912-1922 [PMID: 21170088 DOI: 10.1038/onc.2010.565]
- Cai Y, Zhou CH, Fu D, Shen XZ. Overexpression of Smad ubiquitin regulatory factor 2 suppresses transforming growth factor- β mediated liver fibrosis. *J Dig Dis* 2012; 13: 327-334 [PMID: 22624557 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00592.x]
- Massagué J, Gomis RR. The logic of TGFbeta signaling. *FEBS Lett* 2006; 580: 2811-2820 [PMID: 16678165]
- Ito I, Hanyu A, Wayama M, Goto N, Katsuno Y, Kawasaki S, Nakajima Y, Kajiro M, Komatsu Y, Fujimura A, Hirota R, Murayama A, Kimura K, Imamura T, Yanagisawa J. Estrogen inhibits transforming growth factor beta signaling by promoting Smad2/3 degradation. *J Biol Chem* 2010; 285: 14747-14755 [PMID: 20207742 DOI: 10.1074/jbc.M109.093039]
- Inoue Y, Imamura T. Regulation of TGF-beta family signaling by E3 ubiquitin ligases. *Cancer Sci* 2008; 99: 2107-2112 [PMID: 18808420 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00925.x]
- Bizet AA, Tran-Khanh N, Saksena A, Liu K, Buschmann MD, Philip A. CD109-mediated degradation of TGF- β receptors and inhibition of TGF- β re-

- sponses involve regulation of SMAD7 and Smurf2 localization and function. *J Cell Biochem* 2012; 113: 238-246 [PMID: 21898545 DOI: 10.1002/jcb.23349]
- 17 Dooley S, ten Dijke P. TGF- β in progression of liver disease. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 245-256 [PMID: 22006249 DOI: 10.1007/s00441-011-1246-y]
 - 18 Ebisawa T, Fukuchi M, Murakami G, Chiba T, Tanaka K, Imamura T, Miyazono K. Smurf1 interacts with transforming growth factor-beta type I receptor through Smad7 and induces receptor degradation. *J Biol Chem* 2001; 276: 12477-12480 [PMID: 11278251 DOI: 10.1074/jbc.C100008200]
 - 19 Tahashi Y, Matsuzaki K, Date M, Yoshida K, Furukawa F, Sugano Y, Matsushita M, Himeno Y, Inagaki Y, Inoue K. Differential regulation of TGF-beta signal in hepatic stellate cells between acute and chronic rat liver injury. *Hepatology* 2002; 35: 49-61 [PMID: 11786959]
 - 20 Latella G, Vetusch A, Sferri R, Catitti V, D'Angelo A, Zanninelli G, Flanders KC, Gaudio E. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice. *Liver Int* 2009; 29: 997-1009 [PMID: 19422482 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02011.x]
 - 21 Tan R, Zhang J, Tan X, Zhang X, Yang J, Liu Y. Downregulation of SnoN expression in obstructive nephropathy is mediated by an enhanced ubiquitin-dependent degradation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2781-2791 [PMID: 16959829 DOI: 10.1681/ASN.2005101055]
 - 22 De Boeck M, ten Dijke P. Key role for ubiquitin protein modification in TGF β signal transduction. *Ups J Med Sci* 2012; 117: 153-165 [PMID: 22335355 DOI: 10.3109/03009734.2012.654858]
 - 23 Zhang Z, Finnerty CC, He J, Herndon DN. Smad ubiquitination regulatory factor 2 expression is enhanced in hypertrophic scar fibroblasts from burned children. *Burns* 2012; 38: 236-246 [PMID: 21920670 DOI: 10.1016/j.burns.2011.08.012]
 - 24 Tan R, He W, Lin X, Kiss LP, Liu Y. Smad ubiquitination regulatory factor-2 in the fibrotic kidney: regulation, target specificity, and functional implication. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: F1076-F1083 [PMID: 18353873 DOI: 10.1152/ajprenal.00323.2007]
 - 25 Fukasawa H, Yamamoto T, Togawa A, Ohashi N, Fujigaki Y, Oda T, Uchida C, Kitagawa K, Hattori T, Suzuki S, Kitagawa M, Hishida A. Down-regulation of Smad7 expression by ubiquitin-dependent degradation contributes to renal fibrosis in obstructive nephropathy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8687-8692 [PMID: 15173588 DOI: 10.1073/pnas.0400035101]
 - 26 Al-Salihi MA, Herhaus L, Sapkota GP. Regulation of the transforming growth factor β pathway by reversible ubiquitylation. *Open Biol* 2012; 2: 120082 [PMID: 22724073 DOI: 10.1098/rsob.120082]
 - 27 Murakami G, Watabe T, Takaoka K, Miyazono K, Imamura T. Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by Smurf1 and inhibitory Smads. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2809-2817 [PMID: 12857866 DOI: 10.1091/mbc.E02-07-0441]
 - 28 Ying SX, Hussain ZJ, Zhang YE. Smurf1 facilitates myogenic differentiation and antagonizes the bone morphogenetic protein-2-induced osteoblast conversion by targeting Smad5 for degradation. *J Biol Chem* 2003; 278: 39029-39036 [PMID: 12871975 DOI: 10.1074/jbc.M301193200]
 - 29 Das S, Chang C. Regulation of early xenopus embryogenesis by Smad ubiquitination regulatory factor 2. *Dev Dyn* 2012; 241: 1260-1273 [PMID: 22674516 DOI: 10.1002/dvdy.23811]
 - 30 Zhao L, Huang J, Guo R, Wang Y, Chen D, Xing L. Smurf1 inhibits mesenchymal stem cell proliferation and differentiation into osteoblasts through JunB degradation. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 1246-1256 [PMID: 20200942 DOI: 10.1002/jbmr.28]
 - 31 张国, 张法灿, 王天才, 梁扩寰. 活血软坚方对肝星状细胞Smad信号的影响及意义. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 213-215

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



GPC3与肝癌细胞增殖的相关性

李海荣, 黄兰珊, 陈 罡, 陆会平, 冯振博

■背景资料

磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者过度表达的癌抗原之一, 初步展示出作为新的肝癌蛋白类标志物的临床应用价值。然而, GPC3对肝癌细胞生长的作用及具体机制报道不一, 本研究采用检测临床组织表达和体外功能实验的方法深入研究GPC3促进HCC发生发展的分子机制, 探讨GPC3在肝细胞癌增殖中的价值具有重要的意义。

李海荣, 黄兰珊, 陈罡, 陆会平, 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

李海荣, 在读硕士, 主要从事肝癌病理诊断与发生发展机制的研究。

广西科技攻关基金资助项目, Nos. 10124001A-1, 1298003-2-5

作者贡献分布: 此课题由李海荣与冯振博设计; 研究过程由李海荣操作完成; 研究所用新试剂由黄兰珊与陆会平提供; 数据分析由李海荣与陈罡完成; 论文由李海荣撰写; 陈罡与冯振博审核。

通讯作者: 冯振博, 教授, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22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: 2014-03-07 修回日期: 2014-04-03

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells

Hai-Rong Li, Lan-Shan Huang, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Zhen-Bo Feng

Hai-Rong Li, Lan-Shan Huang, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Zhen-Bo Feng, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Science and Technology Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. 10124001A-1 and 1298003-2-5

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: 2014-03-07 Revised: 2014-04-03

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between GPC3 expression and proliferative ability of hepatocellular carcinoma (HCC) cells.

METHODS: Immunohistochemistry was employed to detect the expression of GPC3 in 54 HCC tissues. The correlation between GPC3 expression and Ki-67 labeling index (Li) and other clinicopathologic characteristics was studied. An shRNA targeting the GPC3 gene was transfected into SMMC7721 cells to silence GPC3 expression. MTT assay was performed to determine

the effect of GPC3 knockdown on the growth of HCC SMMC7721 cells.

RESULTS: GPC3 expression was significantly correlated with Ki-67 Li ($r = 0.521$, $P = 0.000$). GPC3 expression was related to differentiation degree and vessel invasion of HCC ($r = 0.287$, 0.289 ; $P = 0.035$, 0.034). The cell proliferative activity was significantly reduced in the GPC3-shRNA group compared with the negative control group and blank control group ($F = 45.38$, $P = 0.000$).

CONCLUSION: GPC3 may play an important role in the occurrence, development and invasion of HCC, mainly due to the effect on the proliferation of HCC cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glypican-3; Ki-67; Hepatoma cells; Proliferation

Li HR, Huang LS, Chen G, Lu HP, Feng ZB. Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2108-2115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2108.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2108>

摘要

目的: 探讨肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织内及体外细胞培养中磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)与细胞增殖的关系。

方法: 采用免疫组织化学方法检测54例HCC组织中GPC3的表达, 并对比其与Ki-67标记指数及各种临床病理参数的关系。使用shRNA抑制SMMC7721肝癌细胞系中GPC3的表达, MTT检测肝癌细胞的增殖变化。

结果: 在HCC组织中, GPC3与Ki-67指数有关($r = 0.521$, $P = 0.000$), 也与分化程度、血管浸润情况具有相关性($r = 0.287$, 0.289 ; $P = 0.035$, 0.034)。体外实验结果显示, 抑制GPC3表达后,

■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心

实验组细胞增殖活性明显低于阴性对照组和空白对照组($F = 45.38, P = 0.000$).

结论: GPC3在HCC的发生、发展和浸润过程中起重要作用, 主要与影响肝癌细胞增殖有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; Ki-67; 肝癌细胞; 增殖

核心提示: Ki-67在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达越高, 预后越差. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)的表达强度与分化程度有关, 且与Ki-67有明显正相关关系. 通过抑制GPC3基因在SMMC7721细胞系的表达, 对肝癌细胞系的增殖有明显抑制作用, GPC3过表达在肝细胞癌增殖过程中起直接促进作用.

李海荣, 黄兰嫻, 陈罡, 陆会平, 冯振博. GPC3与肝癌细胞增殖的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2108-2115 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2108.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2108>

0 引言

磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)是一种膜性硫酸乙酰肝素蛋白多糖, 通过磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上, 并通过结合多种细胞表面生长因子来调控细胞生长、增殖、分化、黏附和迁移等行为. 近年来, 研究发现, GPC3可成为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的一个新的肿瘤标志物^[1]. 因此, 深入研究GPC3在肝癌发生、发展中的作用, 对于揭示肝癌形成及发展的机制具有重要意义.

细胞生长各个阶段的变化是肿瘤发生发展的重要因素, 细胞增殖失控的结果是肿瘤细胞数量的增多, 导致肿瘤的生长, 进而引发肿瘤细胞的转移. 肿瘤细胞的增殖状态及增殖能力是评判肿瘤生物学行为的重要指标. Ki-67是一种抗核增殖细胞核蛋白的单克隆抗体, 其表达于细胞周期的各个活跃时期, 而在静止期表达消失, 被认为是细胞增殖活性的标志物^[2]. 本研究采用免疫组织化学方法检测HCC组织中GPC3的表达, 对比其与Ki-67标记指数及各种临床病理参数的关系; 并进一步在体外实验中使用RNA干扰技术抑制SMMC7721肝癌细胞GPC3的表达, 检测干扰后HCC细胞的增殖变化, 探索GPC3与肿瘤细胞增殖的关系, 为HCC的预防和治疗提供新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2011-12广西医科大学第一附属医院病理科HCC及相应癌旁肝组织蜡块标本54例, 其中男性47例, 女性7例, 年龄24-74岁, 平均年龄48岁. 参照WHO肿瘤分类与诊断标准2010版进行分级, 将分化程度分高、中、低分化3组. 所有病例病理资料完整, 患者术前均未行放、化疗及免疫治疗. GPC3、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Ki-67、nm23即用型抗体、DAB显色剂购自中杉金桥生物技术有限公司. SMMC7721肝癌细胞系购自中国科学院上海生科院细胞资源中心细胞库; 质粒的构建和包装购自上海吉凯公司; 1640培养基、胎牛血清购自WISSENT公司; Lipofectime 2000转染试剂购自Invitrogen公司; 细胞总RNA提取试剂盒购自Axygen公司; 逆转录试剂盒购自Fermentas公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法: 采用免疫组织化学SP法: 操作步骤按照试剂盒说明书进行. 用经预实验证明阳性表达的胃癌组织作为阳性对照, PBS代替一抗作为阴性对照.

1.2.2 结果判断: 采用双评分半定量方法, 细胞核和/细胞质出现淡黄色、棕黄色或棕褐色染色为阳性细胞. 每张切片随机选取5个高倍视野($\times 400$), 每个视野数100个细胞, 按阳性细胞所占百分比评分^[3]: $\leq 5\%$ 为0; 6%-25%为1; 26%-50%为2; 51%-75%为3; $\geq 76\%$ 为4. 其次染色强度评分: 不着色为0; 淡黄色为1; 棕黄色为2; 棕褐色为3. 最后将染色强度与阳性细胞所占百分比计分乘积定为每1例染色的综合评分, 0-2分为(-), 3-5分为(+), 6-9分为(++), 10-12分为(+++), 所有-、+、++、+++分别对应阴性、弱阳性、中等阳性、强阳性.

1.2.3 细胞培养和转染: 人肝癌细胞系SMMC7721培养于含10%胎牛血清的1640培养基, 37℃、50 mL/L CO₂条件下培养. 将shRNA转染至人肝癌细胞系SMMC7721, 于转染前24 h将对数生长期细胞接种于24孔板, 细胞数为 5×10^4 个/孔; 用opti-mem减血清培养基培养24 h后, 细胞融合率达到80%即进行转染; 转染6 h后换含10%胎牛血清1640培养基继续培养. 细胞分3组: 空白对照组(未转染组)、阴性对照组(空载质粒组)和实验组(GPC3-shRNA转染组)于荧光显微镜下观察24、48、72 h转染效果.

1.2.4 RT-PCR检测基因表达: 应用Primer 5.0

■ 研发前沿

GPC3是glypican家族的一员, 通过磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上, 通过结合多种细胞表面生长因子而调控细胞生长、增殖、分化、黏附和迁移等行为. 目前其研究的热点主要为调控基因表达的机制以及肿瘤靶向基因治疗的作用, 但关于GPC3在肝细胞癌增殖、转移及复发中的作用及具体机制报道不一, 组织标本检测与体外实验的联合能够比较系统的为GPC3在肝细胞癌增殖、转移的作用提供新的实验证据.

■相关报道

Ligato等认为GPC3可用于区别原发性肝癌与其他良恶性肝肿瘤和转移灶, Shirakawa等指出GPC3表达强度与肝细胞癌增殖复发相关。但杜经丽等对185例肝癌患者中临床病理情况进行生存分析, 发现GPC3与术后复发无明显关系。

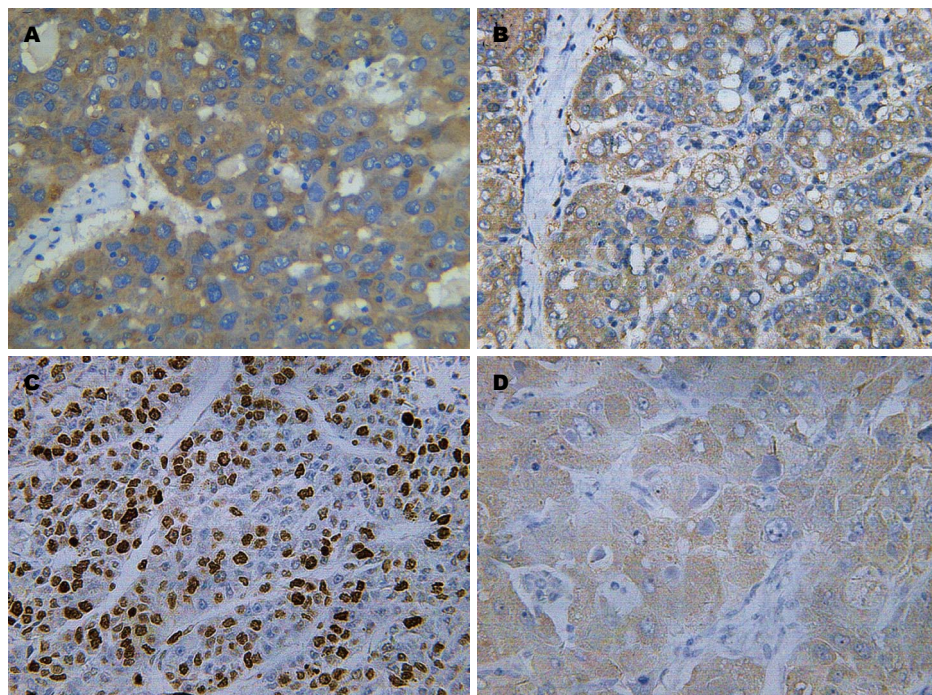


图1 HCC组织中GPC3、nm23、Ki-67、VEGF的阳性表达情况(SP×400)。A: GPC3; B: nm23; C: Ki-67; D: VEGF。HCC: 肝细胞癌; GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; VEGF: 血管内皮生长因子。

设计软件设计引物, (1)GPC3: 上游, TCC-GCTCCTTCTTCCAGAGA; 下游, ATGTT-GGGCCCTTAGGGAGA; (2) β -actin: 上游, GCACCACACCTTCTACAATGAGC; 下游, GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC; PCR反应条件为: 95℃预变性3 min, 95℃变性30 s, 54℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 72℃再延伸7 min, 4℃∞; GPC3为35个循环; β -actin为28个循环。引物均由美国Invitrogen公司合成。细胞总RNA提取按照Axygen提取试剂盒说明书完成, 各取总RNA 0.8 μ g逆转录获得cDNA, 以 β -actin为内参, 进行PCR反应。PCR产物以18 g/L琼脂糖凝胶电泳, 核酸染料染色。应用Bio-Rad凝胶成像系统分析, PCR产物量以光密度/面积表示, 以GPC3产物量/ β -actin产物量的比值为最终结果, 重复3次。

1.2.5 MTT法检测细胞增殖: 取对数生长期的各组细胞接种于96孔板, 计数 1.5×10^3 个细胞/孔, 每组细胞做5个复孔; 分别于种板后24、48、72、96 h加入10 μ L MTT溶液; 培养箱中孵育4 h后, 小心吸尽培养液, 每孔加入150 μ L DMSO; 酶标仪检测570 nm处吸光度(A)值, 绘制生长曲线。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件对数据进行分析。计量资料采用方差分析, GPC3与临床参数关系采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法, 相关性分析用Spearman等级相关分析, 检验水准 $\alpha =$

0.05。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

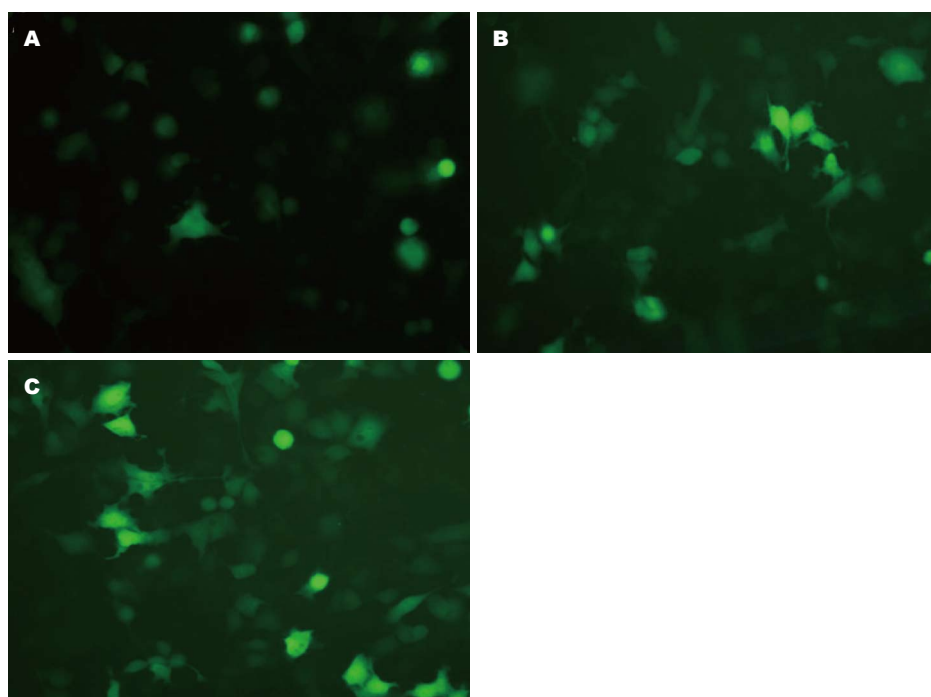
2.1 GPC3的表达与临床病理参数的关系 GPC3在HCC组织中表达定位于细胞质中(图1A), 其阳性率为72%(39/54)明显高于癌旁组织(5%, 3/54, $P = 0.000$)。经 χ^2 检验或Fisher确切概率法分析GPC3的表达水平在HCC组织分化程度、血管癌栓中的表达差异显著(表1)。经Spearman相关性分析GPC3与其二者有关($r = 0.287, 0.289$; $P = 0.035, 0.034$), 与患者性别、年龄、是否有肝硬化、肿瘤大小、肿瘤数目、AFP、HBsAg、nm23的表达无关($P > 0.05$)。

2.2 GPC3、nm23、VEGF与Ki-67的关系 HCC组织中GPC3的表达水平与Ki-67呈明显相关性($r = 0.521, P = 0.000$); HCC组织中nm23的表达水平与Ki-67、VEGF表达均无相关性($P > 0.05$)。Ki-67表达强度与VEGF表达呈显著正相关($r = 0.353, P = 0.009$)(表2)。

2.3 GPC3对肝癌细胞SMMC7721增殖的影响

2.3.1 细胞转染效率: SMMC7721细胞转染荧光阴性对照质粒后, 在荧光显微镜下观察发现24、48、72 h荧光表达逐渐增多(图2)。

2.3.2 RT-PCR检测GPC3 mRNA表达量: 相对空白对照组和阴性对照组, 实验组GPC3 mRNA表达受到抑制(0.233 ± 0.066 vs $0.760 \pm 0.072, 0.707$



■创新盘点

关于GPC3与肝癌细胞的作用研究较多, 而关于GPC3与Ki-67、VEGF、nm23等临床病理参数之间的关系报道较少, 本研究通过组织标本检测与体外实验的联合对GPC3促进肝细胞癌增殖、转移提供更多实验依据。

图2 转染荧光阴性对照组质粒后3个时间段荧光表达的强度($\times 200$). A: 24 h荧光表达; B: 48 h荧光表达; C: 72 h荧光表达。

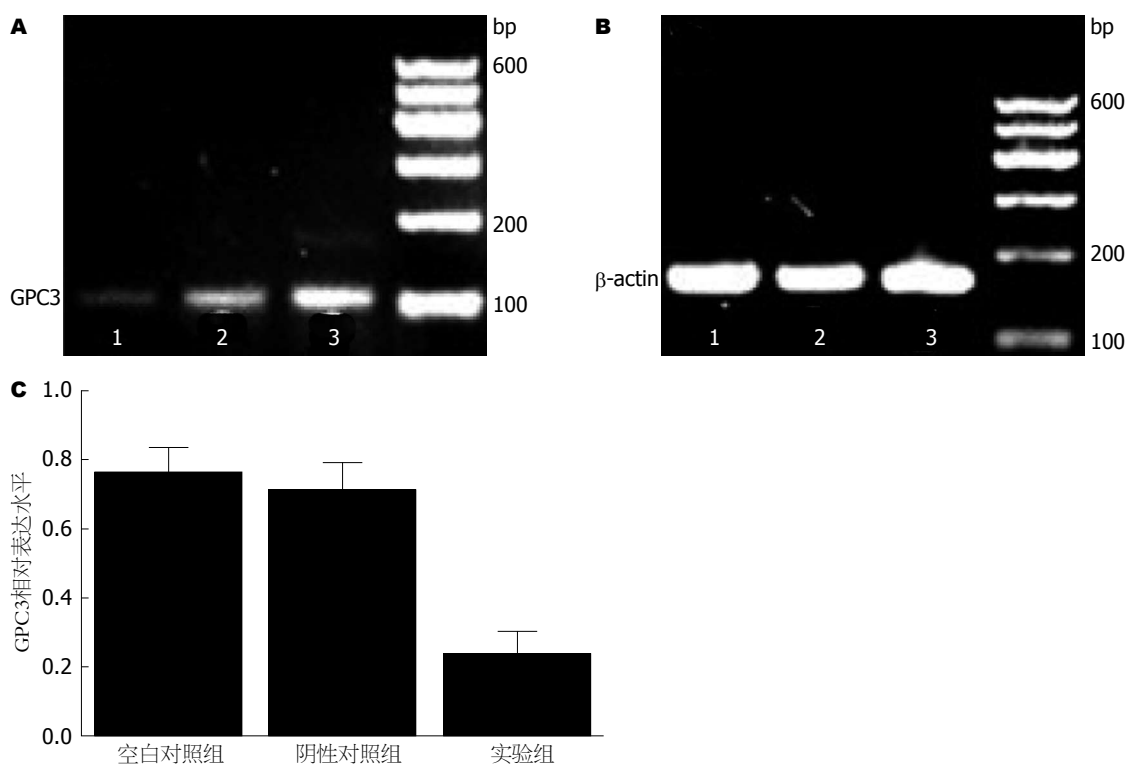


图3 各组细胞GPC3 mRNA表达情况. A: RT-PCR检测各组细胞GPC3 mRNA相对表达水平; 1: 实验组; 2: 阴性对照组; 3: 空白对照组; B: RT-PCR检测各组细胞 β -actin mRNA相对表达水平; 1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 实验组; C: 各组细胞GPC3 mRNA的相对表达量. GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3.

± 0.083 , $F = 45.38$, $P = 0.000$)(图3).

2.3.3 细胞增殖活性判定: 与空白对照组和阴性对照组相比, 实验组细胞570 nm处的A值在转染

24、48、72、96 h时的差异均具有统计学意义($P < 0.01$). 由此可见, 实验组细胞生长受到明显抑制(表3, 图4).

■应用要点

GPC3的过表达在HCC增殖、转移及术后复发过程中具有重要作用,其作为分子治疗的靶点在进入临床治疗阶段之前依然需要更多基础及临床实验的支持。

表 1 GPC3与肝细胞癌临床病理参数的联系

| 分组 | GPC3 | | | | χ^2 | P值 |
|----------|------|----|----|-----|----------|-------|
| | - | + | ++ | +++ | | |
| 性别 | | | | | 0.770 | 0.950 |
| 男 | 13 | 10 | 12 | 12 | | |
| 女 | 2 | 2 | 2 | 1 | | |
| 年龄(岁) | | | | | 1.794 | 0.616 |
| <50 | 10 | 7 | 10 | 9 | | |
| ≥50 | 5 | 5 | 4 | 4 | | |
| 肿瘤大小(cm) | | | | | 0.779 | 0.914 |
| <5 | 5 | 4 | 3 | 4 | | |
| ≥5 | 10 | 8 | 11 | 9 | | |
| 肿瘤数目 | | | | | 5.411 | 0.146 |
| 多发 | 6 | 1 | 7 | 3 | | |
| 单发 | 9 | 11 | 7 | 10 | | |
| 分化程度 | | | | | 10.289 | 0.049 |
| 高分化 | 14 | 8 | 6 | 8 | | |
| 中分化 | 1 | 3 | 7 | 5 | | |
| 低分化 | 0 | 1 | 1 | 0 | | |
| 血管癌栓 | | | | | 4.418 | 0.023 |
| 有 | 7 | 5 | 5 | 1 | | |
| 无 | 8 | 7 | 9 | 12 | | |
| 肝硬化 | | | | | 1.327 | 0.275 |
| 有 | 7 | 6 | 4 | 4 | | |
| 无 | 8 | 6 | 10 | 9 | | |
| 组织分型 | | | | | 8.500 | 0.470 |
| 混合细胞型 | 3 | 2 | 3 | 4 | | |
| 梁索型 | 9 | 10 | 7 | 4 | | |
| 腺样型 | 1 | 0 | 2 | 2 | | |
| 透明细胞型 | 2 | 0 | 2 | 3 | | |
| 肝硬化 | | | | | 1.993 | 0.574 |
| 无 | 8 | 6 | 10 | 9 | | |
| 有 | 7 | 6 | 4 | 4 | | |
| AFP | | | | | 1.523 | 0.677 |
| (-) | 7 | 4 | 7 | 4 | | |
| (+) | 8 | 8 | 7 | 9 | | |
| HBsAg | | | | | 4.097 | 0.251 |
| (-) | 8 | 6 | 3 | 4 | | |
| (+) | 7 | 6 | 11 | 9 | | |
| nm23 | | | | | 6.986 | 0.645 |
| - | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| + | 4 | 5 | 5 | 9 | | |
| ++ | 6 | 4 | 4 | 2 | | |
| +++ | 4 | 3 | 4 | 2 | | |
| VEGF | | | | | 5.011 | 0.843 |
| - | 3 | 1 | 1 | 2 | | |
| + | 4 | 5 | 3 | 4 | | |
| ++ | 4 | 4 | 7 | 6 | | |
| +++ | 4 | 2 | 3 | 1 | | |

GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; AFP: 甲胎蛋白; VEGF: 血管内皮生长因子; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

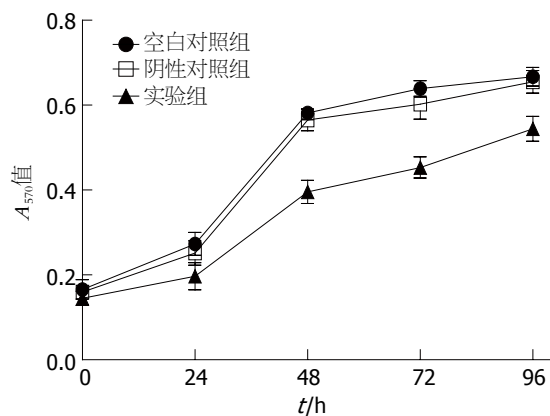


图 4 各组细胞生长曲线。

3 讨论

目前, GPC3与肝癌临床病理关系已成为研究的热点^[4,5]。在生理状态下, GPC3多在胚胎、胎儿时期表达, 出生后仅少数器官低表达, 并且与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关^[6,7], 在肺癌^[8]、乳腺癌^[9]、胃癌^[10]等的表达下降, 而在HCC、黑色素瘤等组织中高表达。Abdul-Al等^[11]发现在原发性肝癌患者中阳性率为72%。Ligato等^[12]认为GPC3是一个高度敏感的肿瘤标志物, 可用于区别原发性肝癌与其他良恶性肝肿瘤和转移灶。本研究结果显示, HCC组织中GPC3的表达明显高于癌旁肝组织($P = 0.000$), 阳性率为72%(39/54), 与患者性别、年龄、肝硬化、肿瘤大小、肿瘤数目、AFP、HBsAg无关。在影响预后因素的研究中^[13], 血管癌栓被认为是反映术后复发和转移的最准确的预后指标。本研究发现, GPC3的表达强度与血管癌栓有关, 提示GPC3在肝细胞癌侵袭、转移过程中发挥重要作用。并且在肝细胞癌的预后研究中, 有报道^[14]指出GPC3是肝癌术后早期复发的独立危险因素, 而且Shirakawa等^[15]指出GPC3表达强度越高, 其促进肝细胞癌增殖、复发转移的可能性越大。

肿瘤细胞异常增殖、转移的产生总是与多种基因的协同表达有关^[16]。因此, 为了完成转移, 肿瘤细胞的每一步都会由不同的基因调控。nm23是第一个发现与转移抑制相关的基因^[17], 其表达水平的下降和胃癌^[18]、黑色素瘤^[19]、乳腺癌^[20]的转移与不良预后有密切关系。Nakayama等^[21]也提出nm23与肝癌转移有关。nm23基因产物主要表达于细胞浆, 细胞膜少量表达, 其数量的变化影响肿瘤细胞对周围组织及基质的附着能力, 从而影响癌转移过程。GPC3主要由

表 2 HCC组织中GPC3、VEGF、nm23及Ki-67的关系

| | GPC3 | | | | P值 | VEGF | | | | P值 | nm23 | | | | P值 |
|-------|------|---|----|-----|-------|------|---|----|-----|-------|------|---|----|-----|-------|
| | - | + | ++ | +++ | | - | + | ++ | +++ | | - | + | ++ | +++ | |
| Ki-67 | | | | | 0.000 | | | | | 0.009 | | | | | 0.518 |
| - | 8 | 2 | 0 | 2 | | 5 | 4 | 0 | 3 | | 0 | 5 | 4 | 3 | |
| + | 2 | 9 | 1 | 2 | | 0 | 9 | 3 | 2 | | 0 | 7 | 4 | 3 | |
| ++ | 5 | 1 | 12 | 4 | | 1 | 2 | 16 | 3 | | 2 | 6 | 8 | 6 | |
| +++ | 0 | 0 | 1 | 5 | | 1 | 1 | 2 | 2 | | 0 | 5 | 0 | 1 | |

GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; VEGF: 血管内皮生长因子; HCC: 肝细胞癌。

表 3 MTT检测细胞增殖活性 (mean ± SD)

| 分组 | 空白对照组 | 阴性对照组 | 实验组 | P值 | P值 |
|------|---------------|---------------|---------------|--------|-------|
| 24 h | 0.273 ± 0.027 | 0.252 ± 0.029 | 0.197 ± 0.032 | 6.195 | 0.004 |
| 48 h | 0.581 ± 0.016 | 0.565 ± 0.026 | 0.396 ± 0.027 | 96.239 | 0.000 |
| 72 h | 0.639 ± 0.018 | 0.603 ± 0.036 | 0.453 ± 0.025 | 65.318 | 0.000 |
| 96 h | 0.667 ± 0.022 | 0.655 ± 0.027 | 0.544 ± 0.029 | 33.731 | 0.000 |

癌细胞合成、分泌, 而本研究结果显示nm23蛋白主要定位于细胞浆, 这可能提示二者在调节肿瘤转移方面存在某种内在联系。但本研究显示, GPC3表达强度与nm23表达强度之间并无相关性, 故不能确切地证明GPC3和nm23在HCC中表达的相关性, 也说明二者在控制癌细胞转移方面可能不存在直接的相互调节。对于GPC3和nm23之间无直接相互作用调节HCC转移复发的现象, 可以用他们不同的生化机制来解释。GPC3过表达可致 β -catenin显著增高, 与MMP及增殖信号结合, 促进HCC发展^[22]。关于nm23的作用机制, 多数学者认为nm23蛋白可通过与GAP蛋白相互作用^[23], 从而调节细胞信号传递、细胞分化和转移等过程中发挥作用, 且与NDPK具有同源性, 可使NTP变成NDP。

增殖细胞核抗原Ki-67的表达被认为控制细胞的增殖周期, 利用Ki-67标记指数可以检测肿瘤细胞的增殖能力。其抗原表达仅分布在细胞核内, 被认为与有丝分裂密切相关, 能全面反映细胞群体的增殖活性^[24]。Ki-67在HCC中的表达情况还与预后有关^[25], 表达越高, 预后越差。实验证实, GPC3的表达强度与分化程度有关, GPC3在低分化HCC组的阳性率高于高分化HCC组的阳性率, 表明GPC3与肿瘤的恶性程度有关; 另外, 本实验通过检测GPC3在组织中的表达情况及细胞功能学实验的结果显示, GPC3在HCC中的表达强度与Ki-67有明显正相关关系,

GPC3高表达组Ki-67指数明显增高($P < 0.01$)。通过抑制GPC3基因在SMMC7721细胞系的表达情况后, 我们发现, 对肝细胞癌增殖具有明显抑制作用($P < 0.01$), 提示GPC3的过表达在肝细胞癌增殖过程中起直接促进作用。

肿瘤细胞的增殖、转移依赖肿瘤的血管新生过程。研究显示, 当越多的微血管在肿瘤组织内形成, 肿瘤细胞的增殖能力越强就越有可能进入血液循环^[26]。目前, VEGF为血管内皮细胞特异的标志物, 在肝细胞癌血管生成中起促进作用^[27]。本研究中VEGF的阳性率为87%(47/54), 提示有大量的新血管生成, 为快速生长的癌细胞提供足够的营养, 对癌细胞在血管中的转移起重要作用。本研究结果表明, GPC3在HCC中的表达与VEGF无相关性, 而Ki-67的表达水平与VEGF相关, 提示GPC3可能并不是直接影响VEGF促进血管生成, 导致肝癌细胞增殖、转移; 可能通过调节胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor-II, IGF2)^[28]、Wnt^[29]等信号通路来调节HCC细胞的增殖、分化、黏附和转移, 间接引起大量血管新生, 影响肝癌细胞的转移。因此, GPC3促进HCC的转移今后可能应更多从信号通路方面进行探讨。

原发性肝癌的致死率主要就在肝癌术后复发转移上, GPC3的过表达在HCC发生、发展及术后复发转移^[30]过程中具有重要作用, 其作为分子治疗的靶点^[31]在进入临床治疗阶段之前依然

同行评价

该论文通过组织标本检测与体外实验证明了GPC3与肝癌细胞增殖的关系, 对阐明GPC3在肝细胞癌生长中的作用提出了新证据。

需要更多基础及临床实验支持, 相信对GPC3的进一步研究能有助于我们对肝癌更深层的认识, 为肝癌的诊断、治疗提供更多手段。

4 参考文献

- Wang XY, Degos F, Dubois S, Tessitore S, Allegretta M, Guttman RD, Jothy S, Belghiti J, Bedossa P, Paradis V. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol* 2006; 37: 1435-1441 [PMID: 16949914 DOI: 10.1016/j.humpath.2006.05.016]
- Persico M, Perrotta S, Persico E, Terracciano L, Folgori A, Ruggeri L, Nicosia A, Vecchione R, Mura VL, Masarone M, Torella R. Hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels: biological peculiarities and update of the natural history of liver disease at 10 years. *J Viral Hepat* 2006; 13: 290-296 [PMID: 16637858 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00667.x]
- Hao XP, Willis JE, Pretlow TG, Rao JS, MacLennan GT, Talbot IC, Pretlow TP. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinomas and premalignant lesions. *Cancer Res* 2000; 60: 18-21 [PMID: 10646844]
- Llovet JM, Chen Y, Wurmbach E, Roayaie S, Fiel MI, Schwartz M, Thung SN, Khitrov G, Zhang W, Villanueva A, Battiston C, Mazzaferro V, Bruix J, Waxman S, Friedman SL. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis. *Gastroenterology* 2006; 131: 1758-1767 [PMID: 17087938 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.09.014]
- Sun CK, Chua MS, He J, So SK. Suppression of glypican 3 inhibits growth of hepatocellular carcinoma cells through up-regulation of TGF- β 2. *Neoplasia* 2011; 13: 735-747 [PMID: 21847365]
- Iglesias BV, Centeno G, Pascucci H, Ward F, Peters MG, Filmus J, Puricelli L, de Kier Joffé EB. Expression pattern of glypican-3 (GPC3) during human embryonic and fetal development. *Histol Histopathol* 2008; 23: 1333-1340 [PMID: 18785116]
- Baumhoer D, Tornillo L, Stadlmann S, Roncalli M, Diamantis EK, Terracciano LM. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4,387 tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 899-906 [PMID: 18480006 DOI: 10.1309/HQWP-WD50XHD2DW6]
- Kim H, Xu GL, Borczuk AC, Busch S, Filmus J, Capurro M, Brody JS, Lange J, D'Armiento JM, Rothman PB, Powell CA. The heparan sulfate proteoglycan GPC3 is a potential lung tumor suppressor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29: 694-701 [PMID: 12816733]
- Xiang YY, Ladedo V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. *Oncogene* 2001; 20: 7408-7412 [PMID: 11704870 DOI: 10.1038/sj.onc.1204925]
- Zhu Z, Friess H, Kleeff J, Wang L, Wirtz M, Zimmermann A, Korc M, Büchler MW. Glypican-3 expression is markedly decreased in human gastric cancer but not in esophageal cancer. *Am J Surg* 2002; 184: 78-83 [PMID: 12135726 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)00884-X]
- Abdul-Al HM, Makhoulf HR, Wang G, Goodman ZD. Glypican-3 expression in benign liver tissue with active hepatitis C: implications for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol* 2008; 39: 209-212 [PMID: 17949778 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.06.004]
- Ligato S, Mandich D, Cartun RW. Utility of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from other primary and metastatic lesions in FNA of the liver: an immunocytochemical study. *Mod Pathol* 2008; 21: 626-631 [PMID: 18264086 DOI: 10.1038/modpathol.2008.26]
- 杜经丽, 王玉兰, 石怀银, 郭爱桃, 韦立新. 肝细胞癌375例临床病理和免疫表型分析. *中华病理学杂志* 2012; 41: 309-313
- 陈斯聪, 简志祥, 陈伟, 郑江华, 陈志红. GPC3在原发性肝细胞性肝癌根治术后早期复发中的表达及意义. *实用医学杂志* 2010; 26: 1732-1734
- Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 1403-1407 [PMID: 19496787 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01206.x]
- Song HY, Liu YK, Feng JT, Cui JF, Dai Z, Zhang LJ, Feng JX, Shen HL, Tang ZY. Proteomic analysis on metastasis-associated proteins of human hepatocellular carcinoma tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 92-98 [PMID: 16261346 DOI: 10.1007/s00432-005-0044-x]
- de la Rosa A, Williams RL, Steeg PS. Nm23/ nucleoside diphosphate kinase: toward a structural and biochemical understanding of its biological functions. *Bioessays* 1995; 17: 53-62 [PMID: 7702594 DOI: 10.1002/bies.950170111]
- Radović S, Dorić M, Hukić A, Babić M, Kuskunović S, Spahović N. Immunohistochemical expression and significance of NM23 suppressor protein in primary gastric adenocarcinoma. *Bosn J Basic Med Sci* 2013; 13: 72-77 [PMID: 23725501]
- Jarrett SG, Novak M, Harris N, Merlino G, Słominski A, Kaetzel DM. NM23 deficiency promotes metastasis in a UV radiation-induced mouse model of human melanoma. *Clin Exp Metastasis* 2013; 30: 25-36 [PMID: 22699362 DOI: 10.1007/s10585-012-9495-z]
- Terasaki-Fukuzawa Y, Kijima H, Suto A, Takeshita T, Iezumi K, Sato S, Yoshida H, Sato T, Shimbori M, Shiina Y. Decreased nm23 expression, but not Ki-67 labeling index, is significantly correlated with lymph node metastasis of breast invasive ductal carcinoma. *Int J Mol Med* 2002; 9: 25-29 [PMID: 11744991 DOI: 10.3892/ijmm.9.1.25]
- Nakayama T, Ohtsuru A, Nakao K, Shima M, Nakata K, Watanabe K, Ishii N, Kimura N, Nagataki S. Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase, a homologue of the nm23 gene product. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1349-1354 [PMID: 1322996 DOI: 10.1093/jnci/84.17.1349]
- Akutsu N, Yamamoto H, Sasaki S, Taniguchi H, Arimura Y, Imai K, Shinomura Y. Association of glypican-3 expression with growth signaling molecules in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3521-3528 [PMID: 20653060 DOI: 10.3748/wjg.v16.i28.3521]

- 23 Zhu J, Tseng YH, Kantor JD, Rhodes CJ, Zetter BR, Moyers JS, Kahn CR. Interaction of the Ras-related protein associated with diabetes rad and the putative tumor metastasis suppressor NM23 provides a novel mechanism of GTPase regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 14911-14918 [PMID: 10611312 DOI: 10.1073/pnas.96.26.14911]
- 24 Pizem J, Marolt VF, Luzar B, Cör A. Proliferative and apoptotic activity in hepatocellular carcinoma and surrounding non-neoplastic liver tissue. *Pflugers Arch* 2001; 442: R174-R176 [PMID: 11678329]
- 25 Zheng Y, Wang L, Zhang JP, Yang JY, Zhao ZM, Zhang XY. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 339-344 [PMID: 20082479 DOI: 10.3748/wjg.v16.i3.339]
- 26 Yao DF, Zhu Y, Wu XH, Wu W, Qiu LW. [Clinical values of vascular endothelial growth factor expression and microvascular density analysis in liver cancer specimens]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 92-94 [PMID: 14980110]
- 27 Zhang L, Wang JN, Tang JM, Kong X, Yang JY, Zheng F, Guo LY, Huang YZ, Zhang L, Tian L, Cao SF, Tuo CH, Guo HL, Chen SY. VEGF is essential for the growth and migration of human hepatocellular carcinoma cells. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 5085-5093 [PMID: 22161247 DOI: 10.1007/s11033-011-1304-2]
- 28 Weichert J, Schröer A, Amari F, Siebert R, Caliebe A, Nagel I, Gillessen-Kaesbach G, Mohrmann I, Hellenbroich Y. A 1 Mb-sized microdeletion Xq26.2 encompassing the GPC3 gene in a fetus with Simpson-Golabi-Behmel syndrome Report, antenatal findings and review. *Eur J Med Genet* 2011; 54: 343-347 [PMID: 21362501]
- 29 De Cat B, Muyldermans SY, Coomans C, Degeest G, Vanderschueren B, Creemers J, Biemar F, Peers B, David G. Processing by proprotein convertases is required for glypican-3 modulation of cell survival, Wnt signaling, and gastrulation movements. *J Cell Biol* 2003; 163: 625-635 [PMID: 14610063 DOI: 10.1083/jcb.200302152]
- 30 姚敏, 杨君伶, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福. sI-CAM-1和GPC-3 mRNA对肝癌诊断与转移监测的临床价值. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1927-1932
- 31 Ishiguro T, Sugimoto M, Kinoshita Y, Miyazaki Y, Nakano K, Tsunoda H, Sugo I, Ohizumi I, Aburatani H, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Yamada-Okabe H. Anti-glypican 3 antibody as a potential antitumor agent for human liver cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 9832-9838 [PMID: 19047163 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1973]

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》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)

肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展

胡高裕, 黄赞松

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)素有“癌中之王”的称号, 病程短, 约80%的病例发现时已属中晚期, 无法接受根治性手术, 而免疫治疗可以调节机体的免疫功能, 达到减少或延缓HCC的发生发展、提高患者的生存质量及延长生存期的目的, 已成为医学界的研究热点。

胡高裕, 桂林医学院研究生学院 广西壮族自治区桂林市 541000

黄赞松, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

胡高裕, 在读硕士, 主要从事肝癌的基础与临床研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119

广西高校优秀人才基金资助项目, No. 桂教人20077029

广西卫生厅课题基金重点基金资助项目, No. 桂卫重200887

作者贡献分布: 本文综述由胡高裕完成; 黄赞松审核。

通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城东路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科。1019846481@qq.com

电话: 0776-2846532

收稿日期: 2014-03-06 修回日期: 2014-04-02

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma

Gao-Yu Hu, Zan-Song Huang

Gao-Yu Hu, Graduate College of Guilin Medical College, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Zan-Song Huang, Institute of Digestive Disease, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Higher Talents Funded Projects of Guangxi, No. 20077029; the Health Department Key Foundation of Guangxi, No. 200887

Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1019846481@qq.com

Received: 2014-03-06 Revised: 2014-04-02

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common malignant tumor as well as a big threat to human health. The occurrence, development and prognosis of HCC are closely relevant to the immune escape and immune function in HCC patients. HCC patients, especially those in the terminal stage of the disease, have impaired immune function, which leads to reduced quality of life and raised death rate. Since immunother-

apy can regulate the immune function to reduce recurrence and metastasis, improve the life quality and prolong survival, it has become an important part of comprehensive treatment for HCC. In this paper, we review the latest progress in research of immune escape mechanism and immunotherapy for primary HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Immunotherapy; Immune escape; Experimental research; Clinical application

Hu GY, Huang ZS. Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2116-2121
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2116>

摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是对人类健康威胁较大且常见的恶性肿瘤, 其发生、进展和转归与肿瘤细胞的免疫逃逸及机体免疫系统的功能密切相关。HCC患者, 尤其当病情进展至中晚期, 机体免疫功能低下, 致使患者生存质量降低, 死亡率升高。而免疫治疗可以调节机体的免疫功能, 达到减少HCC的复发转移、提高患者生存质量及延长生存期的目的, 已成为HCC综合治疗的重要组成部分。故本文就HCC的免疫逃逸机制、免疫治疗实验及其临床应用研究的概况及最新研究成果作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝细胞癌; 免疫治疗; 免疫逃逸; 实验研究; 临床应用

核心提示: 本文对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)免疫逃逸分子机制及其免疫治疗方面的概况和最新研究成果进行综述, 对HCC的免疫逃逸、免疫治疗实验及临床应用研究有一定价值。

■同行评议者

程树群, 副教授, 第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

胡高裕, 黄赞松. 肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2116-2121 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2116.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2116>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)素有“癌中之王”的称号, 病程短、治疗困难, 严重威胁着人类的生命健康^[1]. 据统计, 其病死率居全球所有肿瘤第3位^[2], 我国每年HCC发病约36万例、死亡约35万例^[3], 且有上升趋势. HCC主要与肝硬化、慢性乙型或丙型肝炎、黄曲霉毒素及酗酒等因素有关. 已有研究表明, HCC的发生、进展与复发和肿瘤细胞的免疫逃逸及机体免疫系统的功能密切相关^[4,5]. 目前手术切除仍为其最有效的根治方法^[6], 但大多数患者发现时病程已属中晚期, 常伴肝功能异常, 机体免疫功能低下, 只有不到30%的病例能接受手术治疗^[7]. 因此, HCC的免疫治疗已成为医学界的研究热点, 其独特之处在于他能增强机体的免疫功能确保患者顺利完成手术、介入、放疗等创伤性治疗并可激发对肿瘤的特异性免疫, 以达到延缓或减少肿瘤的复发与转移, 提高患者生存质量, 甚至治愈肿瘤的目的. 现就该领域的研究概况进行综述.

1 HCC的免疫逃逸机制

肝脏是机体的免疫特惠器官^[8], 拥有独特的免疫系统, 具备免疫监视功能, 能将偶然出现的肿瘤细胞作为异物加以清除. 但HCC在机体免疫系统打击下仍能发生、进展和转移, 说明其有独特的自我保护机制, 即通过抗原的表达异常, 代谢产物与细胞因子的异常分泌和肝癌细胞所处的免疫微环境发生改变等途径来逃避机体免疫系统的识别与攻击^[9], 发生肿瘤免疫逃逸.

1.1 分泌免疫抑制因子 肿瘤细胞可分泌转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)等抑制性细胞因子抑制机体抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)、T细胞的功能, 导致机体处于免疫效能低下或抑制状态, 从而在免疫应答的诱导和效应等多个环节上抑制宿主抗肿瘤免疫反应.

TGF- β 对肿瘤具有双重调控作用: 在肿瘤始发期, 可抑制细胞增殖、启动细胞分化或凋亡; 进展期则失去该作用, 而表现为抑制机体免疫

反应、刺激血管生成及诱导上皮-间充质转化等作用, 为肿瘤细胞增殖、侵袭及转移提供良好的微环境^[10-12]. TGF- β 1为TGF- β 的一个亚型, 是一种具有生物活性且在肝脏含量较高的多肽类细胞调节因子, 在正常肝组织中, 主要由间质细胞产生, 若其表达异常升高则常见于肝癌^[13]、结肠癌^[14]及胰腺癌^[15]等疾病, 其在肿瘤中主要参与诱导细胞凋亡, 抑制天然免疫及刺激调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)生成等活动而破坏机体的抗肿瘤免疫反应, 导致肿瘤的恶性进展^[16].

IL-10属Th2型细胞因子, 来源于单核巨噬细胞、Treg和肿瘤本身^[17], 可通过多种方式发挥免疫抑制作用, 促进肝癌细胞发生免疫逃逸: 如通过降低APC表面主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC II)类分子和CD80/86等共刺激分子的表达, 减弱APC的抗原提呈能力^[18]; 通过作用于初始CD4⁺ T细胞抑制Th1细胞的分泌, 进而影响Treg细胞的成熟与功能^[19]; 还可通过降低抗原提呈相关转运蛋白的表达, 间接使细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, CTL)处于免疫无能状态^[20]. 研究表明肿瘤细胞过量表达环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)分子, 也可促进肿瘤细胞的免疫逃逸^[21], 并与IL-10的表达量上升有关.

另有研究表明血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[22]、IL-6^[23]均与HCC的免疫逃逸有关.

1.2 抑制DC的分化和成熟、诱导DC凋亡 树突状细胞(dendritic cells, DC)是体内功能最强的专职性APC, 广泛分布于全身组织和脏器, 血中含量较少, 但能提呈抗原及诱导初始T细胞活化, 在肿瘤的免疫反应中发挥着极为重要的作用. 成熟DC因高表达MHC II/I类分子、CD80/86、ICAM-1等分子, 其摄取、处理抗原能力较弱, 而提呈抗原、启动免疫应答能力强. 研究发现, HCC患者中升高的AFP可使DC凋亡, 引起DC分泌的IL-12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)减少, 从而引起DC功能缺失^[24]. 邱双健等^[25]发现肝癌上清液与DC共培养可抑制DC的最终成熟, 与正常成熟的DC比较表现为, MHC I/II类分子及CD80/86等共刺激分子和CD1a的阳性率降低, 其刺激T细胞活化增殖的能力亦明显下降, 导致外周血中的DC抗原提呈功能发生障碍, 进而影响机体的免疫应答, 促进肿瘤的恶性进展.

■研究前沿

目前HCC免疫逃逸的分子机制取得较大进展, 多种免疫治疗方案已应用于临床并表现出一定的效果, 但其逃逸的确切机制及药物的作用机制亟待阐明.

■创新盘点

本文对HCC免疫逃逸机制及免疫治疗的概况和最新研究成果进行综述,内容全面并且新颖。

1.3 T细胞亚群数量的变化 T细胞源于骨髓的淋巴样干细胞,在胸腺中发育成熟,可分为CD4⁺、CD8⁺、Treg及CTL等细胞亚群。CD8⁺增多是导致宿主细胞免疫损害的基础,CD4⁺减少可导致恶性细胞发生免疫逃逸,因此CD4⁺与CD8⁺的比值可作为反映该损害的敏感指标^[26]。研究表明Treg可通过多种途径阻碍肿瘤免疫,该细胞数量增多与HCC的发生、侵袭及预后关系密切^[27,28]。CTL通常指表达TCRαβ CD8⁺ CTL细胞,主要通过穿孔素/颗粒酶、Fas/FasL两条途径对靶细胞(含肿瘤细胞)进行高效、特异地杀伤^[29],且不损害正常组织。张娇等^[30]研究发现,表达无功能Fas或低表达Fas的肝癌细胞可抵制Fas介导的凋亡并反击免疫细胞使T细胞凋亡,同时其表达的FasL也抑制了T细胞的免疫效能,从而逃避CTL的攻击,发生免疫逃逸。

1.4 无或弱抗原性瘤细胞存活 肿瘤抗原是指细胞恶变过程中出现的新抗原、肿瘤细胞异常表达的抗原物质的总称,能诱导机体产生抗肿瘤免疫反应。若肿瘤细胞表达的抗原与正常蛋白差别很小,或抗原性弱,则无法诱导机体产生足够强度的抗肿瘤免疫应答以清除肿瘤细胞。甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是HCC的相关抗原,在胎儿早期主要由肝脏合成,出生后合成明显受抑。当肝细胞恶变时,相关基因重新被激活,使该抗原重新合成以致血中AFP含量明显升高。但是,由于AFP曾在胚胎期出现过,宿主对其已形成免疫耐受,故抗原性很弱,难以引起宿主免疫系统对肿瘤细胞的有效杀伤^[31]。

1.5 干扰素-γ水平降低或其受体表达下调 干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)为II型干扰素,具有促进MHC分子表达和抗原提呈,诱导Th1、抑制Th2细胞分化等功能。已有研究表明, HCC患者体内IFN-γ水平降低可导致免疫逃逸的发生,但适量补给IFN-γ后,免疫逃逸现象并不能被逆转,肿瘤仍能恶性进展,这可能与分泌调节功能障碍^[32]或IFN-γ受体表达下调有关^[23]。IFN-γ在HCC演变过程中的作用较为复杂,肝癌细胞逃避IFN-γ抗肿瘤作用机制有待进一步研究。

1.6 肝癌细胞的“漏逸” “漏逸”是指由于癌细胞的生长速度超过了宿主的抗肿瘤免疫效应限度,致使机体不能对其进行有效地清除。

2 HCC免疫治疗的实验研究

2.1 瘤苗治疗 瘤苗治疗是将具有免疫原性的瘤

苗注入荷瘤宿主,以激活宿主的抗肿瘤特异性免疫反应,从而达到治疗肿瘤或预防复发的目的。常用于HCC治疗的疫苗有AFP多肽疫苗和DC疫苗等。Lan等^[33]将AFP和HSP70基因重组得到的DNA疫苗注入荷瘤小鼠体内,发现其能诱导出CTL的抗肿瘤效能,使荷瘤小鼠肿瘤消退和生存期延长,并且无明显不良反应。

2.2 细胞因子治疗 细胞因子治疗是指将具备抗肿瘤免疫活性的细胞因子注入患者体内,可产生肿瘤杀伤效应,从而取得一定的治疗效果。目前常用的细胞因子有IFN、TNF及粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)等。彭宝岗等^[34]将TNF-α或INF-γ直接注入人肝癌裸鼠肝内移植瘤体内,结果发现联合应用具有协同抗癌效果,用药后瘤体呈大片状坏死,血AFP浓度降低,小鼠生存期延长。郭银燕等^[35]将小鼠肝癌细胞株H22注入小鼠右腋下皮下构建移植瘤模型,根据其干预方式的不同分为H22-GM-CSF组、H22组及PBS对照组,然后应用流式细胞术(flow cytometry, FCM)和CCK-8法分别检测各组小鼠外周血T细胞亚群及脾细胞CTL的杀伤活性,结果显示H22-GM-CSF组小鼠外周血中CD8⁺ T的含量和CTL杀伤活性高于H22组及对照组,肿瘤体积小于其他两组,提示GM-CSF分泌可增强GM-CSF分泌型肝癌细胞疫苗的免疫效果,进而抑制肿瘤细胞的生长。

2.3 免疫细胞治疗 继淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cells, LAK)^[36]、肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)^[37]用于治疗肿瘤后,陆续发现了一些新的免疫效应细胞,近年研究较多的有:细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer, CIK)细胞、DC-CIK细胞等。李卿等^[38]将肝癌细胞株BEL-7402注入裸鼠右腋下皮下建立移植瘤模型,然后根据给予治疗措施的不同,分为DC-CIK组、索拉菲尼组、联合组及生理盐水对照组,结果显示,联合组对癌细胞的诱导凋亡率及杀伤率显著高于其他治疗组,显示出良好的应用前景。

2.4 中医药治疗 中药不仅可以减轻放化疗的毒副作用、增加化疗药物的敏感性,且在提高机体免疫功能、提高生活质量及延长生存期等方面疗效独特,已成为肿瘤研究领域的一大热点。肖顺汉等^[39]建立小鼠肝癌H22移植性肿瘤模型,然后给予黄芪多糖灌胃治疗,采用ELISA法检测小鼠血清中TNF-α、IL-2等细胞因子水平,结果

发现在剂量为50和100 mg/kg时, 其对荷瘤小鼠H22的抑瘤率分别为32.84%和45.09%且可提高脾、胸腺指数和血清中IL-2、TNF- α 的水平, 说明黄芪多糖能提高机体的免疫功能和抗肿瘤活性. 研究发现, 苦参碱联用顺铂(cisplatin, DDP)能抑制小鼠H22肝癌移植瘤的生长, 抑瘤率高达86.2%, 作用机制可能与其调节机体的免疫功能、促进肝癌细胞凋亡等有关^[40,41].

3 HCC免疫治疗的临床应用研究

在肿瘤的系统治疗中, 生物免疫治疗起到重要作用, 已有资料表明其对多种肿瘤有明显疗效, 近年来HCC免疫治疗的临床应用取得很大进展. 有研究^[42]发现源于HCC患者携带有AFP和IL-2基因的DC共转染能增强CTL的细胞毒性、显著增加IL-2和IFN- γ 的产量, 从而促进诱导机体的特异性抗肿瘤免疫, 为HCC提供了一种有前景的新型基因疗法. 研究显示, 基因重组牛痘病毒JX-594治疗晚期HCC效果显著, 可激活机体的免疫效应并能直接溶解肿瘤使之明显缩小^[43], 其II期临床试验显示实验组与对照组的中位生存期分别为14.1和6.7 mo, 无明显不良反应^[44]. 大量的研究表明免疫治疗与其他疗法联用治疗HCC效果更佳.

3.1 HCC手术前后应用免疫治疗 手术切除是目前根治HCC最有效的方法, 但对机体创伤较大且患者术后易发生复发和转移, 而免疫治疗在提高患者对手术的耐受力、改善生活质量、预防或延迟HCC的复发和转移及延长生存期等方面发挥着重要作用. 徐青等^[45]将103例确诊为HCC患者分为两组: 即采用胸腺肽 α 1+手术治疗的35例设为A组, 其余68例仅采用手术治疗设为B组, 用FCM和MTT比色法分别检测T细胞亚群变化及IL-2的活性, 结果显示A组患者术前和术后1、2 wk的CD4⁺/CD8⁺高于B组且A组的IL-2术后2 wk也增高, 这表明HCC围手术期应用胸腺肽 α 1治疗可提高患者围手术期的免疫功能.

3.2 与放化疗联合 放化疗联用免疫疗法治疗HCC不仅可减轻其不良反应, 还具有协同增效的作用. Hu等^[46]使用IFN- α 联合化疗试剂(包括5-FU、DDP等)治疗了76例行肝癌切除加癌栓取出术的HCC并门静脉癌栓患者, 其中29例使用联合治疗, 其他47例作为对照. 结果显示, 术后治疗组3年累积存活率及中位生存时间较对照组明显升高, 提示两者联合治疗有助于提高患

者的生存率. 熊墨年等^[47]将H22细胞注入小鼠右腋下皮下造模, 然后用益气消瘤方(由生晒参、黄芪、白术等组成)灌胃加环磷酰胺(cycophosphamide/cytosan, CTX)腹腔注射, 结果显示益气消瘤方对HCC或CTX造成的免疫抑制具有调节作用, 表现为T细胞活力及巨噬细胞吞噬指数的增高.

3.3 与局部治疗联用 肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)是HCC非手术治疗的首选方案, 可提高患者的3年生存率, 若合用免疫治疗, 效果更佳. Nakamoto等^[48]将以DC为基础的免疫治疗策略联合局部区域疗法用于13例经TACE治疗后的HCC患者, 结果显示其无复发存活率较对照组显著延长. 卢琳琳等^[49]收集了67例中晚期HCC住院患者, 将单用微波消融(percutaneous microwave coagulation therapy, PMCT)治疗的32例设为PMCT组, PMCT联合自体CIK细胞干预的35例患者设为联合治疗组, 结果显示患者AFP定量明显下降, 下降率分别为40.6%和65.7%, 且CD3⁺比例和CD4⁺/CD8⁺比值上升, 表明二者联用可改善患者免疫功能, 为不适合手术或其他疗法效果差的HCC患者提供了一种新且有效的治疗策略.

4 结论

多年来国内外对HCC免疫逃逸及治疗的研究可谓如火如荼, 目前其免疫逃逸的分子机制取得较大进展, 多种免疫治疗方案已应用于临床并表现出一定的效果, 尤其是在改善患者生存质量、延长生存期、降低复发率和死亡率等方面有着重要的意义, 与其他疗法联用效果更佳, 已成为HCC综合治疗的重要组成部分. 但仍然存在一些问题急需解决: (1)HCC发生、演变与复发的免疫逃逸确切机制亟待阐明; (2)HCC的免疫制剂较多, 但多数药物疗效局限, 且其作用机理尚不确切; (3)中药药物间相互配伍能产生协同效益甚至出现新的功用, 但目前的研究仅侧重于单味中药的经典机制, 对复方制剂的作用机理研究较少且其临床疗效缺乏统一判定标准, 不利于应用推广; (4)中医的个体化与西医的系统化治疗HCC研究还没有足够的技术支持, 应该加强中西医结合治疗该病的循证医学研究^[50]. 相信随着大规模随机对照实验研究的开展以及肿瘤免疫学和药理学的发展, 新的研究与开发有望进一步明确HCC的免疫逃逸机制, 提高

■应用要点

本文通过综述HCC免疫逃逸及免疫治疗的概况及进展, 对了解免疫逃逸的相关原理、免疫治疗方案的选择等方面有着非常重要的理论指导及临床应用价值.

■同行评价

本文选题有重要理论和实用价值, 为HCC免疫治疗方案的选择和进一步研究策略等方面提供了有意义的参考信息。

免疫治疗的效能与特异性, 从而使免疫治疗在临床上发挥更为重要的作用, 为HCC患者带来福音。

5 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
- 2 Livraghi T, Mäkisalo H, Line PD. Treatment options in hepatocellular carcinoma today. *Scand J Surg* 2011; 100: 22-29 [PMID: 21482502]
- 3 Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.11.002]
- 4 唐耘天, 唐步坚. 原发性肝癌免疫治疗的研究进展. 中国癌症防治杂志 2013; 5: 79-82
- 5 Willimsky G, Schmidt K, Loddenkemper C, Gellermann J, Blankenstein T. Virus-induced hepatocellular carcinomas cause antigen-specific local tolerance. *J Clin Invest* 2013; 123: 1032-1043 [PMID: 23454765 DOI: 10.1172/JCI64742]
- 6 Jarnagin WR. Management of small hepatocellular carcinoma: a review of transplantation, resection, and ablation. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1226-1233 [PMID: 20405327 DOI: 10.1245/s10434-010-0978-3]
- 7 Matar P, Alaniz L, Rozados V, Aquino JB, Malvicini M, Atorrasagasti C, Gidekel M, Silva M, Scharovsky OG, Mazzolini G. Immunotherapy for liver tumors: present status and future prospects. *J Biomed Sci* 2009; 16: 30 [PMID: 19272130 DOI: 10.1186/1423-0127-16-30]
- 8 Nemeth E, Baird AW, O'Farrelly C. Microanatomy of the liver immune system. *Semin Immunopathol* 2009; 31: 333-343 [PMID: 19639317 DOI: 10.1007/s00281-009-0173-4]
- 9 张晶. 黏附分子与肿瘤免疫逃逸. 实用肿瘤杂志 2004; 19: 449-452
- 10 Moore-Smith L, Pasche B. TGFBR1 signaling and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011; 16: 89-95 [PMID: 21461994 DOI: 10.1007/s10911-011-9216-2]
- 11 Zhong Z, Carroll KD, Policarpio D, Osborn C, Gregory M, Bassi R, Jimenez X, Prewett M, Liebisch G, Persaud K, Burtrum D, Wang S, Surguladze D, Ng S, Griffith H, Balderes P, Doody J, Schwartz JD, Youssoufian H, Rowinsky EK, Ludwig DL, Witte L, Zhu Z, Wu Y. Anti-transforming growth factor beta receptor II antibody has therapeutic efficacy against primary tumor growth and metastasis through multi-effects on cancer, stroma, and immune cells. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1191-1205 [PMID: 20145179 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1634]
- 12 Zakrzewski PK, Cygankiewicz AI, Mokrosiński J, Nowacka-Zawisza M, Semczuk A, Rechberger T, Krajewska WM. Expression of endoglin in primary endometrial cancer. *Oncology* 2011; 81: 243-250 [PMID: 22116456 DOI: 10.1159/000334240]
- 13 Mamiya T, Yamazaki K, Masugi Y, Mori T, Effendi K, Du W, Hibi T, Tanabe M, Ueda M, Takayama T, Sakamoto M. Reduced transforming growth factor-beta receptor II expression in hepatocellular carcinoma correlates with intrahepatic metastasis. *Lab Invest* 2010; 90: 1339-1345 [PMID: 20531292 DOI: 10.1038/labinvest.2010.105]
- 14 Liu XQ, Rajput A, Geng L, Ongchin M, Chaudhuri A, Wang J. Restoration of transforming growth factor-beta receptor II expression in colon cancer cells with microsatellite instability increases metastatic potential in vivo. *J Biol Chem* 2011; 286: 16082-16090 [PMID: 21454688 DOI: 10.1074/jbc.M111.221697]
- 15 Xu CC, Wu LM, Sun W, Zhang N, Chen WS, Fu XN. Effects of TGF- β signaling blockade on human A549 lung adenocarcinoma cell lines. *Mol Med Rep* 2011; 4: 1007-1015 [PMID: 21725601 DOI: 10.3892/mmr.2011.530]
- 16 Feng X, Li B, Ye H, Long D. Increased frequency of CD4+CD25(high)Foxp3+ regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2011; 59: 309-314 [PMID: 21633918 DOI: 10.1007/s00005-011-0127-0]
- 17 Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, Lehner F, Krüger C, Manns MP, Greten TF, Korangy F. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells. *Gastroenterology* 2008; 135: 234-243 [PMID: 18485901 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.020]
- 18 Wilke CM, Wei S, Wang L, Kryczek I, Kao J, Zou W. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon- γ . *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1529-1541 [PMID: 21918895 DOI: 10.1007/s00262-011-1104-5]
- 19 周琳, 周光炎, 路丽明. IL-10的双向免疫调节作用. 细胞与分子免疫学杂志 2012; 28: 1100-1102
- 20 Kurte M, López M, Aguirre A, Escobar A, Aguillón JC, Charo J, Larsen CG, Kiessling R, Salazar-Onfray F. A synthetic peptide homologous to functional domain of human IL-10 down-regulates expression of MHC class I and Transporter associated with Antigen Processing 1/2 in human melanoma cells. *J Immunol* 2004; 173: 1731-1737 [PMID: 15265902]
- 21 Mocellin S, Marincola FM, Young HA. Interleukin-10 and the immune response against cancer: a counterpoint. *J Leukoc Biol* 2005; 78: 1043-1051 [PMID: 16204623]
- 22 Nagaoka S, Yoshida T, Akiyoshi J, Akiba J, Hisamoto T, Yoshida Y, Abe M, Koga H, Toirimura T, Ueno T, Sata M. The ratio of serum placenta growth factor to soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 predicts the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 23: 1647-1654 [PMID: 20428821]
- 23 Ognjanovic S, Yuan JM, Chaptman AK, Fan Y, Yu MC. Genetic polymorphisms in the cytokine genes and risk of hepatocellular carcinoma in low-risk non-Asians of USA. *Carcinogenesis* 2009; 30: 758-762 [PMID: 19126646 DOI: 10.1093/carcin/bgn286]
- 24 邱双健. 树突状细胞与肝癌的免疫逃逸. 世界华人消化杂志 2005; 13: 429-431
- 25 邱双健, 叶胜龙, 吴志全, 樊嘉, 汤钊猷. 肝癌细胞上清液树突状细胞的抑制作用与NF-KB通路有关. 中华肝胆外科杂志 2004; 10: 558-561
- 26 Schmidt N, Neumann-Haefelin C, Thimme R. Cellular immune responses to hepatocellular carcinoma: lessons for immunotherapy. *Dig Dis* 2012; 30: 483-491 [PMID: 23108304 DOI: 10.1159/000341697]
- 27 Wu H, Chen P, Liao R, Li YW, Yi Y, Wang JX, Cai XY, He HW, Jin JJ, Cheng YF, Fan J, Sun J, Qiu SJ. Intratumoral regulatory T cells with higher prevalence and more suppressive activity in hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol*

- 2013; 28: 1555-1564 [PMID: 23517245 DOI: 10.1111/jgh.12202]
- 28 Qin LX. Inflammatory immune responses in tumor microenvironment and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Microenviron* 2012; 5: 203-209 [PMID: 22678823 DOI: 10.1007/s12307-012-0111-1]
- 29 Yang S, Haluska FG. Treatment of melanoma with 5-fluorouracil or dacarbazine in vitro sensitizes cells to antigen-specific CTL lysis through perforin/granzyme- and Fas-mediated pathways. *J Immunol* 2004; 172: 4599-4608 [PMID: 15034078]
- 30 张娇, 刘倩, 毛海婷, 孙琳. 肝癌细胞系Fas/FasL功能与免疫逃逸机制探讨. *山东大学学报(医学版)* 2006; 44: 244-247
- 31 蔡秀军, 沈柏用. 原发性肝癌免疫治疗进展. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 742-744
- 32 王拱辰, 施广霞. 肝细胞癌免疫逃逸机制的研究进展. *胃肠病学和肝病杂志* 2012; 21: 975-980
- 33 Lan YH, Li YG, Liang ZW, Chen M, Peng ML, Tang L, Hu HD, Ren H. A DNA vaccine against chimeric AFP enhanced by HSP70 suppresses growth of hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1009-1016 [PMID: 17186291]
- 34 彭宝岗, 何强, 梁力建, 周凡, 吕明德. 肿瘤坏死因子- α 联合干扰素- γ 治疗肝癌的实验研究. *中国病理生理杂志* 2005; 21: 1892-1895
- 35 郭银燕, 文剑, 张永臣, 杨永峰. GM-CSF分泌型肝癌疫苗对荷瘤鼠脾血细胞毒性T淋巴细胞杀伤活性的影响. *实用肝脏病杂志* 2013; 16: 335-337
- 36 Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Leitman S, Chang AE, Ettinghausen SE, Matory YL, Skibber JM, Shiloni E, Vetto JT. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 1485-1492 [PMID: 3903508]
- 37 Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, Simon P, Lotze MT, Yang JC, Seipp CA. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1988; 319: 1676-1680 [PMID: 3264384]
- 38 李卿, 王新利, 王杨, 隋承光. DC-CIK共培养细胞联合索拉非尼对肝癌细胞体内外杀伤效应. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2010; 17: 46-50
- 39 肖顺汉, 任美萍, 刘明华, 李蓉, 李茂. 黄芪多糖对荷瘤小鼠IL-2、IL-6、IL-12和TNF-A水平的影响. *四川生理科学杂志* 2009; 31: 7-8
- 40 黄宏思, 黄赞松, 黄卫彤, 黄衍强. 苦参碱与顺铂合用对小鼠肝癌移植瘤的影响. *时珍国医国药* 2008; 19: 2102-2103
- 41 向发良, 黄赞松. 苦参素抗肝癌作用研究. *医学综述* 2011; 17: 2992-2995
- 42 Yang JY, Li X, Gao L, Teng ZH, Liu WC. Co-transfection of dendritic cells with AFP and IL-2 genes enhances the induction of tumor antigen-specific antitumor immunity. *Exp Ther Med* 2012; 4: 655-660 [PMID: 23170121]
- 43 叶胜龙. 2013年肝癌领域新进展. *中华肝脏病杂志* 2014; 22: 2-4
- 44 Heo J, Reid T, Ruo L, Breitbach CJ, Rose S, Bloomston M, Cho M, Lim HY, Chung HC, Kim CW, Burke J, Lencioni R, Hickman T, Moon A, Lee YS, Kim MK, Daneshmand M, Dubois K, Longpre L, Ngo M, Rooney C, Bell JC, Rhee BG, Patt R, Hwang TH, Kirn DH. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med* 2013; 19: 329-336 [PMID: 23396206 DOI: 10.1038/nm.3089]
- 45 徐青, 李鹏, 薛平, 朱卫平, 陈瑞新, 于秀. 胸腺肽 α 1对原发性肝癌围手术期免疫功能的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2748-2751
- 46 Hu WJ, Liang LJ, Zhou Q, Peng BG, Yin XY, Li DM. [Efficacy of postoperative chemotherapy combined with immunotherapy for hepatocellular carcinoma with major portal vein tumor thrombus]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2007; 45: 1325-1327 [PMID: 18241566]
- 47 熊墨年, 彭丹明, 张进, 吴东风, 张瑾楠, 邓罗英, 刘雯. 益气消瘤方对H22荷瘤小鼠免疫调节作用的实验研究. *实用中西医结合临床* 2012; 12: 50-51
- 48 Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* 2011; 163: 165-177 [PMID: 21087443 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04246.x]
- 49 卢琳琳, 曹茜, 潘洋. 微波消融联合自体CIK细胞治疗中晚期肝癌的临床疗效分析. *中国慢性病预防与控制* 2013; 21: 353-355
- 50 黄赞松, 仇仪英. 中医药治疗原发性肝癌的研究现状. *时珍国医国药* 2012; 23: 2851-2853

编辑 田滢 电编 鲁亚静



体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展

赵志宇, 宋兵

■背景资料

心脏手术大多需要借助体外循环设备来完成,在体外循环心脏术中,由于血液动力学的改变,加之术前患者全身各脏器功能状态各异,导致术后患者出现各类并发症,其中消化系统并发症占据相当大比例,常见的包括麻痹性肠梗阻、应激性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血、急性胆囊炎、急性胰腺炎、急性肝功能不全等。上述并发症不但会延长术后患者住院时间,增加住院费用,而且更重要的是增加临床诊疗难度,甚至危及患者生命。因此本文将着重探讨近年来关于体外循环心脏术后患者胃肠道常见并发症的病因、危险因素、发病机制及论述相关诊疗措施。

■同行评议者

缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

赵志宇, 宋兵, 兰州大学第一医院心血管外科 甘肃省兰州市 730000

赵志宇, 在读硕士, 主要从事心血管外科的研究。

作者贡献分布: 本文综述由赵志宇完成; 宋兵审校。

通讯作者: 宋兵, 主任医师, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路1号, 兰州大学第一医院心血管外科。 abcsong@sina.com

电话: 0931-8624515

收稿日期: 2014-03-14 修回日期: 2014-04-09

接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-28

Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass

Zhi-Yu Zhao, Bing Song

Zhi-Yu Zhao, Bing Song, Department of Cardiovascular Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Bing Song, Chief Physician, Department of Cardiovascular Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, 1 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. abcsong@sina.com

Received: 2014-03-14 Revised: 2014-04-09

Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-28

Abstract

Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass include paralytic ileus, stress ulcer, acute ischemic colitis, gastrointestinal bleeding, acute cholecystitis, acute pancreatitis, acute hepatic failure and so on. Due to the lack of diagnostic tests with high specificity and sensitivity, the early diagnosis of these complications is difficult, which leads to a higher mortality rate. Therefore, accurately identifying the risk factors is important for early diagnosis and treatment. The purpose of this paper is to review the pathogenesis, risk factors, diagnosis and treatment of gastrointestinal complications after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cardiopulmonary bypass; Gastrointestinal complications; Research progress

Zhao ZY, Song B. Gastrointestinal complications following

cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2122-2127 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2122.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2122>

摘要

体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏术后消化系统并发症在临床工作中很常见,包括麻痹性肠梗阻、应激性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血、急性胆囊炎、急性胰腺炎、急性肝功能不全等。对这些并发症缺乏高灵敏性及特异性的诊查方法,早期诊断困难,导致患者病死率很高。所以如何正确识别这些并发症的高危因素,对早期诊断与及时治疗具有重要意义。本文着重探讨CPB术后胃肠道各种并发症的机制,危险因素,并对其相关诊疗策略目前的研究进展进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 体外循环; 胃肠道并发症; 研究进展

核心提示: 体外循环(cardiopulmonary bypass)后胃肠道并发症起病隐匿、发病复杂、诊断棘手、治疗困难。本文描述了其病因、病机、危险因素,总结近年来相关报道及研究,着重论述常见并发症的相关诊疗及预防措施。

赵志宇, 宋兵. 体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(15): 2122-2127 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2122.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2122>

0 引言

体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏手术过程中由于全身血液再分布,生理性搏动性血流消失,血液与体外循环管道接触产生大量炎症介质,从而使补体系统和激肽系统激活等原因,使得消化系统尤其是胃肠道遭受巨大手术打击,而胃肠道则是机体应激的中心器官之一^[1]。这种重要并发症在1957年由Berkowitz等^[2]首次报道,近年来国内外亦可见大量关于CPB心脏术后胃肠道并发症相关研究,包括麻痹性

肠梗阻、消化性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血等。CPB心脏术后并发症虽不常见, 有学者报道其发病率约0.5%-4.0%, 然而一旦发生则病死率高达26%-75%^[3]。此外, 由于心脏术后患者使用镇静剂、肌松剂、气管插管辅助呼吸等原因, 患者缺乏相关主诉, 造成临床上诊断和治疗的延误, 错过临床最佳诊治时机。因此正确认识CPB心脏术后胃肠道并发症的机制、危险因素及恰当、及时、合理的治疗措施显得至关重要。

1 CPB心脏术后胃肠道并发症的发病机制

目前为止, 引起CPB术后消化系并发症的原因很多, 但具体机制不甚清楚, 综合国内外各项相关研究认为有如下几点。

1.1 消化系统低血流量灌注 在CPB过程中, 大脑等重要器官灌注几乎维持不变, 由于生理性搏动性血流的消失, 使得腹腔脏器血流灌注较术前减少。在生理状态下, 胃肠道的血供为心输出量的20%-25%, 其血管床血液量约占全身总量的30%, 其中75%分布于肠道, 肠道是对缺血最敏感的器官, 当循环出现异常时, 其缺血发生的最早, 同时对缺氧高度敏感, 因此肠道对氧的需求量相比全身其他重要器官都要高得多^[4]。CPB过程中可以看做是“人为控制性休克”状态^[5], 期间血液重新分布, 以大脑为代表的重要脏器血流基本不变, 而腹腔脏器血流骤然减少, 加之CPB期间血液稀释, 肠道处于低氧、低压、低灌注状态。Desai在狗的实验中发现, 体外循环中狗的肝动脉血流减少约46%, 门静脉减少约44%^[6]。

CPB术中胃肠道低灌注的原因在各阶段也有所不同, 体外循环初期主要由低血压造成, 究其原因主要有血液稀释、非搏动性血流灌注、大量血液引流至体外、灌注指数低于正常心脏指数。然而之后由于交感-肾上腺素系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活, 释放大量的儿茶酚胺类物质和术中血管活性药物的应用, 以及全身各脏器血管儿茶酚胺类物质受体分布的差异性, 导致供应腹腔脏器血管收缩, 血管阻力升高, 使得胃肠道组织灌注量明显减少^[7]。上述原因造成胃肠黏膜缺血、缺氧, 无氧代谢增加, 乳酸等代谢产物堆积, 血管活性物质反应性降低, 从而加重微循环障碍, 形成恶性循环, 损害消化系黏膜黏液-碳酸氢盐屏障, 削弱抵抗酸性物质的能力, 加之缺血-再灌注损伤, 造成胃肠道黏膜的直接破坏^[8]。

1.2 炎症介质参与的损伤 在CPB过程中, 血液由

体内引流至体外, 与循环管道中塑料、金属等表面及气液界面接触激活各类炎症细胞, 释放大量的炎症介质参与消化系的损伤。其中最重要的包括以下3个系统: 激肽-激肽释放酶系统、凝血-纤溶系统、补体系统^[9]。在激肽-激肽释放酶系统中, 通过激活炎症细胞及细胞因子生成炎症介质, 如缓激肽, 导致血管通透性增加^[10], 胃肠道水肿, 促进炎症反应的发生。在纤溶旁路中, 纤溶酶降解纤维蛋白产生纤维蛋白降解产物(fibrin degradation products, FDP), 而FDP本身具有致炎作用, 通过干扰纤维蛋白的形成, 使血小板功能失调, 损伤血管内皮细胞^[9], 值得一提的是在低温下纤溶酶还能降解血小板黏附受体Gp I b及Gp II b, 导致血小板功能受损^[11]。CPB过程中, 补体通过三条途径激活, 产生许多中间产物, 值得关注的是C3a和C5a, 这两种补体激活产物能够刺激肥大细胞及嗜碱性粒细胞脱颗粒释放组胺等炎症介质, 而组胺能够刺激胃黏膜壁细胞释放H⁺损伤消化系黏膜, C5a本身作为趋化因子, 能够募集中性粒细胞聚集于胃肠道黏膜损伤区, 通过释放氧自由基、白介素、溶酶体酶进一步加重炎症反应及损伤^[9]。

1.3 各种栓子栓塞及血栓形成 CPB中, 栓塞部位并没有组织器官特异性, 尽管人工管路上安装有微栓滤器, 然而在血液里仍能发现栓子, 包括气体、脂肪滴、硅油、蛋白颗粒、钙化、血小板聚合物及人工材料脱落成分等。这些栓子随血液流动, 可栓塞不同部位的器官及组织, 如若栓塞肠系膜动脉, 可造成相应肠段缺血、缺氧、激活炎症细胞, 产生炎症反应, 如若栓塞不能及时解除甚至可造成缺血坏死^[7]。此外应当注意肠系膜静脉血栓风险, 体外循环心脏术后由于血细胞在人工管路中挤压破裂、炎症介质损伤、凝血-纤溶系统失调、血小板功能受损、血流动力学改变等因素, 肠系膜静脉内血液淤滞、血栓形成, 肠壁水肿, 亦可影响肠道血运, 危害其功能。

1.4 其他 CPB心脏术后胃肠道并发症的原因并不是单一、孤立的, 而是多元的、复杂的。术前患者消化系功能状态同样应受到重视。长期吸烟、酗酒者消化系微静脉收缩、血液淤滞、黏膜呈缺血性改变; 高血压患者CPB非搏动血流灌注情况下对于低血压耐受性降低, 更易发生胃肠道组织缺血、缺氧反应; 糖尿病患者因长期高血糖状态, 导致胃肠道蠕动功能减弱, 可使心脏手术的危险性和并发症明显增加; 老年心血

■ 研发前沿

体外循环心脏术后消化系统并发症往往起病隐匿。因此, 寻找灵敏度及特异性均良好的诊断方法显得至关重要。近年来随着影像学技术发展, 使得诸如缺血性肠炎等严重并发症的早期诊断成为可能。此外对于体外循环术后消化系统并发症的分子机制探索也成为近年来的研究热点。

■相关报道

有学者报道术前口服、术中及术后静脉注射埃索美拉唑可避免高胃酸对胃肠黏膜的损伤。另有研究表明,术中麻醉剂丙泊酚与七氟醚相比,丙泊酚对肠道的屏障功能具有保护作用。术后及早进食,服用对胃肠道具有保护作用的活菌,可预防胃肠道菌群失调,一定程度上降低肠黏膜通透性和细菌异位率。上述方法经过大量临床研究,通过术前、术中、术后三个层面对于体外循环术后消化系统并发症的预防提出了指导性策略。

管病患者消化系并发症较多见,可能与缺血代偿能力差有关;冠心病搭桥患者术前服用阿司匹林,使胃肠黏膜合成PGE障碍,肥大细胞及嗜碱性粒细胞脱颗粒释放组胺增加,导致胃酸分泌增多,加之胃肠黏膜黏液-碳酸氢盐屏障功能削弱,更易发生消化系溃疡^[8]。

2 危险因素

CPB后消化系并发症的危险因素是多方面的,而且大多数是能够避免的,围术期如何及时识别并处理危险因素具有重大意义。

2.1 术前危险因素 有学者研究表明患者年龄>70岁、低心排量、血肌酐>1.4 mg/dL、慢性阻塞性肺疾病、外周血管病、心房纤颤、心肌梗塞、术前是否服用抗凝药、是否有消化性溃疡病史等是CPB术后胃肠道并发症的高危因素,高血压和充血性心力衰竭患者对围手术期低血压耐受及代偿能力较正常人低^[12-15]。恶病质、慢性肾功能不全、左心功能不全、血流动力学紊乱等因素均会增加手术风险。手术方式如急诊手术、二次或多次手术、瓣膜手术、联合手术等也属于术前高危因素^[16]。

2.2 术中危险因素 CPB时间及主动脉阻断时间长,可导致乳酸等代谢产物堆积,成为术后胃肠道并发症的诱因^[3]。二次手术、急诊手术中出现急性心肌梗塞、心律失常、出血、术中低血压过程长、血管活性药物用量大、应用主动脉内球囊反搏、机械通气>24 h、术中失血过多并输血等因素也增加了术后消化系并发症的风险^[13,16-18]。

2.3 术后危险因素 患者长期卧床、术后长时间辅助呼吸、下肢缺血、脑血管疾病、二次开胸止血、急性肾功能衰竭、心律失常、术后低心排综合征等都会不同程度加重腹腔脏器损害,加重胃肠道并发症。

3 胃肠道并发症的诊断及防治策略

胃肠道并发症的出现将进一步加重循环系统及呼吸系统并发症,使得患者遭受更多病痛,延长住院时间,增加住院费用,给患者造成严重负担。因此如何能够早期注意高危因素,提高术中操作水平,察觉术后各项指标异常,探索特异性及灵敏度高的诊断方法,及时给予合理、有效治疗的治疗措施等,目前成为防治CPB术后消化系并发症的重要研究课题。

体外循环心脏术后消化系并发症虽不常

见,发病率约0.5%-4.0%,但病死率高,有报道达26%-75%^[3]。对于术前存在高危因素的患者,应积极改善心、肺功能,注意术前病史,既往有消化性溃疡病史者,给予组胺拮抗剂、质子泵抑制剂等保护胃肠黏膜。既往糖尿病者,术前注意控制血糖,并注意术中血糖水平的维持,以防术后胃肠道蠕动功能减低。饶丹等^[19]报道于术前7 d口服、术中及术后3 d静脉注射埃索美拉唑可有效提高胃黏膜的pH值,避免高胃酸对胃肠黏膜的损伤。研究发现术前预防性静脉滴注参附液能够有效减轻或抑制主动脉开放后胃黏膜pH值下降,改善肠道灌注和氧合,减轻内毒素血症及全身炎症反应^[20,21]。

胃肠道是机体应激反应的中心器官之一,若术前禁食时间长,肠道处于“饥饿”状态,可以导致胰岛素抵抗,同时增加胃肠道损伤因素,黑飞龙等^[1]发现术前糖预处理能够减轻机体的应激反应,降低术中及术后胰岛素抵抗,改善围CPB期糖代谢紊乱。血浆二胺氧化酶是人类和所有哺乳动物肠黏膜上层绒毛细胞胞质中具有高度活性的细胞内酶,当肠黏膜上皮细胞受到损伤后,二胺氧化酶释放增加,血浆二胺氧化酶浓度增高,二胺氧化酶水平的高低可特异性反映黏膜受损和修复程度;D-乳酸是肠道细菌代谢的终末产物,哺乳动物正常组织中不产生D-乳酸,而肠黏膜发生缺血再灌注损伤时肠道细菌大量繁殖,D-乳酸含量明显增加,因此监测血浆中D-乳酸水平可反映肠黏膜通透性,并间接反映肠黏膜损害情况,有研究发现乌司他定可降低CPB期间血浆二胺氧化酶、D-乳酸及内毒素浓度,对肠黏膜有一定保护作用^[4,22,23]。有研究显示CPB术前预先给予盐酸戊乙奎醚可降低CPB期间D-乳酸浓度,对胃肠黏膜同样具有保护作用^[24,25]。

另有研究表明,CPB期间损伤了肠道的屏障功能,术中麻醉剂丙泊酚与七氟醚相比,检测前者静脉血内毒素浓度低于后者,且差异具有统计学意义,说明丙泊酚对肠道的屏障功能具有保护作用^[26]。术后及早进食,服用对胃肠道具有保护作用的活菌,可预防胃肠道菌群失调,孙莹杰等^[27]报道术前给予大鼠服用双歧三联活菌可在一定程度上降低肠黏膜通透性和细菌异位率,改善大鼠CPB后肠道功能。

3.1 麻痹性肠梗阻 麻痹性肠梗阻是比较常见的胃肠道功能障碍,一般患者有进行性腹胀、腹痛,而机械通气或镇静状态下则以全腹胀气为唯一

表现, 通常在查体时发现, 其可能原因是手术创伤致腹腔内脏神经功能紊乱和肠道屏障功能受损致内毒素入血循环, 造成肠内容物不能正常运行. 由于肠道麻痹、积气、腹压增高, 可使膈肌上抬, 影响呼吸, 还可造成腹腔内血管压迫, 下腔静脉回流减少, 导致回心血量不足, 心动过速、血压降低. 麻痹性肠梗阻也常常作为其他消化系统功能障碍的早期表现, 应高度重视. 这一状态如得不到及时解除可进一步加重内脏缺血, 导致更严重的并发症, 如缺血性肠炎. 采用胃管、肛管排气减压及温盐水灌肠等常规治疗有时难以达到理想治疗效果. 有学者采用大剂量果导鼻饲、新斯的明足三里注射和持续腹部按摩可使大部分患者于24 h之内缓解. 国外有报道用结肠镜减压或盲肠造口手术治疗^[28]可获得理想效果^[29].

3.2 应激性溃疡、穿孔 应激性溃疡是CPB术后腹部常见并发症, CPB手术创伤、严重感染等诱因引起胃肠道黏膜缺血、缺氧和黏膜屏障功能损害是发病基础, 通常伴有出血、穿孔等. 多见于既往有消化性溃疡或肝硬化病史者; 高龄患者; 术中心肺转流时间长且有低血压过程者; 合并其他严重并发症者; 术后重症感染; 大剂量使用激素及非甾体类抗炎药史者^[30]. 研究表明CPB使得胃动素、胃泌素分泌明显增加, 而降钙素基因相关肽则显著减少^[1,31,32]. 胃肠道激素分泌的变化会影响胃酸分泌和胃肠道血流的调节, 加重黏膜缺血损害, 破坏黏膜屏障功能, 继而引起胃肠道损害. 术后溃疡穿孔的发生率约0.02%-0.08%, 多数患者术前有消化性溃疡病史^[33,34]. 主要临床表现为上腹部胀痛, 可伴有腹膜刺激征, 部分患者于术后常规拍摄胸片时发现膈下游离气体而确诊. 溃疡穿孔是绝对的手术适应症, 一旦确诊需急诊手术, 早期诊断、早期手术预后较好, 而延误手术时机则可导致病情恶化, 最终因全身多脏器功能衰竭死亡. 国外学者早期报道恶液质和手术时机的延误是影响患者术后生存的主要因素^[34].

3.3 消化系出血 消化系出血的发病基础为消化系黏膜损伤, 可表现为渗血或出血. 应激所致消化系黏膜病变是最常见的出血原因, CPB期间抗凝剂的使用也与术后出血有关^[8], CPB时间长、机械通气时间长亦可增加术后出血风险, 研究表明: 高龄、有溃疡病史、低心排及长时间血管活性药物支持都是术后胃肠出血的明确危险因素^[35]. 由于下消化道出血较少见^[3], 在

此不作赘述, 着重探讨上消化道出血. 上消化道包括食管、胃、十二指肠、空肠上段及胆道, 有报道显示心脏术后上消化道出血发病率为0.35%-0.3%^[33,36], 最常见为十二指肠溃疡、胃溃疡、急性出血性胃炎亦为常见原因^[35]. 上消化道出血常出现在术后1 wk内, 该症以呕血或胃管内抽出血性胃液为特征性表现, 黑便较少见. 有研究显示心脏术后胃肠道出血的死亡率为7%-75%^[34,37].

对于该症的处理, 判断病情至关重要. 一般出血、渗血可给予质子泵抑制剂、组胺受体拮抗剂、黏膜保护剂、禁食水、留置胃管减压、冰盐水冲洗胃腔(可加用去甲肾上腺素)、三腔双囊管压迫止血, 也可行内镜下出血部位钳夹、电凝、激光灼凝、注射或喷洒药物等方法止血. 对于出血不易自止者, 确定出血部位为后续治疗的前提, 常用静脉注射^{99m}Tc标记的红细胞, 行腹部扫描, 只要出血速度每分钟达0.05-0.1 mL, 核素就能聚集在血管溢出部位显像^[38]. 而选择性腹腔动脉造影不但可以精确判定出血部位、出血速度、评估出血量, 而且能够注射血管加压素或硬化剂等予以治疗^[38]. 若出血部位不确定、出血速度快、出血量大、出血难以通过内科或介入治疗控制, 或有持续性出血的证据, 行急诊手术止血则刻不容缓. 同时需要注意患者的一般情况、既往病史, 根据实验室检查、影像学检查等客观依据给予输血、补液、纠酸、维持水电解质平衡等对症支持治疗. 如出血量不大者可补充胶体液或输注新鲜冰冻血浆; 大量出血者难免输血; 既往消化性溃疡者围术期持续给予埃索美拉唑^[19]; 既往肝病者术前行X线钡餐造影明确是否食管静脉曲张, 注意补充维生素K等均可有效避免此类并发症的发生.

3.4 缺血性肠炎 有研究显示CPB术后缺血性肠炎发病率为0.02%-0.3%^[34,39], 但病死率极高, 约50%-95%^[40], 其中以发生于肠系膜动脉, 特别是肠系膜上动脉者多于肠系膜静脉^[41], 发病基础为肠系膜血管的血液循环障碍. 究其原因, 主要为CPB过程中肠系膜血管的血栓、栓塞、痉挛造成肠黏膜广泛缺血、缺氧、水肿, 而肠腔内压力增高、肠管扩张进一步加重肠道黏膜血液循环障碍, 形成恶性循环^[39], 因此缺血性肠炎可分为由痉挛因素导致的非梗阻性肠系膜血管循环障碍及由栓塞、血栓因素导致的梗阻性血管循环障碍^[3]. CPB术后由于麻醉剂、镇静剂、肌松剂及辅助呼吸的作用, 缺乏患者的主诉, 而且缺

■创新盘点

体外循环术后消化系统并发症种类繁多, 诊断及治疗措施复杂, 本文着重针对常见消化系统并发症从术前、术中、术后3个方面予以论述, 包括病因、危险因素、相关分子机制, 综合近几年来研究热点, 总结近年来诊疗经验及相关预防措施.

■应用要点

本文论述了体外循环心脏术后常见胃肠道并发症的病因、危险因素、分子机制、诊治方案,旨在提高临床医师意识,术前准确判断病情,提前做好预防措施,术中注意消化系统功能保护,术后加强监护,打断消化系统并发症的各个发病环节,一旦发生做到能够早发现、早诊断、早治疗。

血性肠炎缺乏特征性临床表现,使得早期诊断困难重重。偶有患者表现为停止自肛门排气、排便或血便,但严重的症状与轻微的体征不相称^[41],极易造成误诊,有研究显示该病误诊率可高达60%-90%^[42]。高龄、急诊手术、围术期低血压和外周血管疾病等都是缺血性肠炎的高危因素^[43,44]。下消化道出血伴白细胞增多症、高钾血症、不明原因的高乳酸血症等可提示肠缺血的发生,但其特异性不高,通常出现上述症状提示诊断延误且预后不佳^[45]。

血管造影可清晰显示肠系膜血管栓塞或痉挛的程度和部位,是诊断缺血性肠炎的“金标准”^[46],因该方法具有创伤性和高技术要求,难以广泛使用,而且该方法对肠系膜静脉血栓的诊断仍具有局限性^[43,44]。增强CT肠系膜血管三维重建可提高术前诊断率^[47]。实验室检查等辅助检查也具有提示作用,急诊超声往往可发现肠坏死的间接征象,如肠壁增厚、腹腔积液等。若患者能在发病6 h内接受及时治疗能够明显降低肠坏死的程度及病死率^[48],而发生肠坏死后及时手术治疗无疑是避免肠管进一步坏死以及降低病死率的重要手段。对于非梗阻性者,注意维护心功能,提高心输出量,增加组织灌注,避免肠系膜血管持续痉挛及缺血再灌注损伤,预防肠道细菌移位及内毒素释放加重肠系膜血管痉挛,注重合理使用血管活性药物。对于梗阻性原因导致的肠系膜血管循环障碍者,早期诊断后应立即手术治疗,开腹后应迅速探查病变肠段、血管,行病变肠管切除、取栓、血管成形术等,术中可应用荧光素和多普勒超声仪评价肠段灌注情况^[3],术毕注意胃肠减压、引流管放置、广谱抗生素的使用等。亦可通过介入方法行血管内支架置入术予以治疗。选择性肠系膜上动脉造影不但具有较高的诊断价值,而且可于插管处输注罂粟碱、妥拉苏林等血管扩张药物改善组织灌注^[41],在有条件的单位不失为一种良好的诊治措施。

4 结论

CPB心脏术后胃肠道并发症虽不常见,但因早期诊断困难,缺乏特征性临床表现病死率高,给临床诊治带来巨大困难。此外,这些并发症还能加重循环及呼吸系统并发症,增加住院费用,延长住院时间。因此如何能够正确识别高危因素,依据有限的辅助检查结果诊断病情,给予及时、恰当、合理的治疗策略具有重要意义。同时也对外科医生提出了巨大挑战。

5 参考文献

- 1 黑飞龙, 王泽锋, 崔勇丽, 周伯颐, 于坤, 龙村. 糖预处理对体外循环中胃肠激素和糖代谢的影响. 中国体外循环杂志 2010; 8: 103-105
- 2 Berkowitz D, Wagner BM, Uricchio JF. Acute peptic ulceration following cardiac surgery. *Ann Intern Med* 1957; 46: 1015-1023 [PMID: 13435651 DOI: 10.7326/0003-4819-46-6-1015]
- 3 秦春妮, 黑飞龙. 体外循环心脏术后消化系统并发症的防治进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1318-1322
- 4 于建设. 体外循环对肠黏膜屏障功能影响的研究进展. 内蒙古医学院学报 2012; 34: 163-166
- 5 Tofukuji M, Stahl GL, Metais C, Tomita M, Agah A, Bianchi C, Fink MP, Sellke FW. Mesenteric dysfunction after cardiopulmonary bypass: role of complement C5a. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 799-807 [PMID: 10750764 DOI: 10.1016/S0003-4975(99)01408-3]
- 6 Desai JB, Mathie RT, Taylor KM. The effect of normothermic cardiopulmonary bypass on hepatic blood flow in the dog. *Life Support System* 1986; 1: 245-253 [DOI:10.1177/026765918600100403]
- 7 龙村. 体外循环对消化系统的影响. 国外医学: 麻醉学与复苏分册 1998; 19: 170-172
- 8 龙村. 体外循环学. 第1版. 北京: 人民军医出版社 2004: 171-177
- 9 陈劲进, 肖颖彬. 体外循环后全身炎症反应. 免疫学杂志 2002; 18: 218-220
- 10 Colman RW. Biologic activities of the contact factors in vivo--potentiation of hypotension, inflammation, and fibrinolysis, and inhibition of cell adhesion, angiogenesis and thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1568-1577 [PMID: 10613636]
- 11 Huang H, Ding W, Su Z, Zhang W. Mechanism of the preserving effect of aprotinin on platelet function and its use in cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 11-18 [PMID: 7686594]
- 12 Mangi AA, Christison-Lagay ER, Torchiana DF, Warshaw AL, Berger DL. Gastrointestinal complications in patients undergoing heart operation: an analysis of 8709 consecutive cardiac surgical patients. *Ann Surg* 2005; 241: 895-901; discussion 901-904 [PMID: 15912039 DOI: 10.1097/01.sla.0000164173.05762.32]
- 13 Andersson B, Nilsson J, Brandt J, Höglund P, Andersson R. Gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Br J Surg* 2005; 92: 326-333 [PMID: 15672438 DOI: 10.1002/bjs.4823]
- 14 Vohra HA, Farid S, Bahrami T, Gaer JA. Predictors of survival after gastrointestinal complications in bypass grafting. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2011; 19: 27-32 [PMID: 21357314 DOI: 10.1177/0218492310394803]
- 15 Filsoofi F, Rahmanian PB, Castillo JG, Scurlock C, Legnani PE, Adams DH. Predictors and outcome of gastrointestinal complications in patients undergoing cardiac surgery. *Ann Surg* 2007; 246: 323-329 [PMID: 17667513 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3180603010]
- 16 Plestis KA, Gold JP. Importance of blood pressure regulation in maintaining adequate tissue perfusion during cardiopulmonary bypass. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 170-175 [PMID: 11494208 DOI: 10.1053/stcs.2001.24071]
- 17 Velissaris T, Tang A, Murray M, El-Minshawy A, Hett D, Ohri S. A prospective randomized study to evaluate splanchnic hypoxia during beating-heart and conventional coronary revascularization. *Eur J*

- Cardiothorac Surg* 2003; 23: 917-924; discussion 924 [PMID: 12829067]
- 18 Rodriguez F, Nguyen TC, Galanko JA, Morton J. Gastrointestinal complications after coronary artery bypass grafting: a national study of morbidity and mortality predictors. *J Am Coll Surg* 2007; 205: 741-747 [PMID: 18035256 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.07.003]
- 19 饶丹, 张勤斌, 王熾, 黄圆琴, 罗能贞, 陈绪发. 埃索美拉唑对体外循环心脏手术应激性溃疡保护作用的临床观察. *心肺血管病杂志* 2011; 30: 17-19
- 20 詹丽英, 夏中元, 夏芳, 顾家珍, 刘先义, 余金甫. 参附注射液对体外循环期间胃肠道及全身炎症反应的影响. *中国临床医学* 2005; 12: 735-737
- 21 詹丽英, 夏中元, 夏芳, 刘先义. 参附注射液对体外循环期间胃肠灌注及氧合的影响. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 2814-2816
- 22 商宏伟, 肖颖彬, 陈林, 刘梅. 体外循环对大鼠肠黏膜屏障功能的影响. *中华胸心血管外科杂志* 2005; 21: 108-110
- 23 周绪锋. 乌司他定对体外循环期间肠黏膜的保护. *江西医药* 2013; 48: 145-146, 150
- 24 孙莹杰, 陈卫民, 曹惠鹏, 张铁铮, 周锦, 姚婧. 盐酸戊乙奎醚对围体外循环期大鼠肠黏膜屏障功能的影响. *中华麻醉学杂志* 2007; 27: 1097-1099
- 25 孙莹杰, 张丽丽, 宋丹丹, 刁玉刚, 张铁铮. 盐酸戊乙奎醚对围体外循环期患者血浆肠型脂肪酸结合蛋白和D-乳酸浓度的影响. *中国体外循环杂志* 2011; 9: 78-81
- 26 于建设, 解雅英, 吕亮亮. 丙泊酚与七氟醚对体外循环期间肠道屏障功能影响的比较. *麻醉与监护论坛* 2012; 19: 455-456
- 27 孙莹杰, 曹惠鹏, 张铁铮, 陈卫民. 益生菌对体外循环后大鼠肠黏膜通透性和细菌易位的影响. *沈阳部队医药* 2010; 23: 224-227
- 28 Simić O, Strathausen S, Hess W, Ostermeyer J. Incidence and prognosis of abdominal complications after cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Surg* 1999; 7: 419-424 [PMID: 10430524 DOI: 10.1016/S0967-2109(99)00008-3]
- 29 董国华, 景华, 李德闻, 李忠东, 胡小南, 罗立国, 钱建军, 许飏, 申翼, 顾卫东. 体外循环术后消化系统功能障碍的临床分析. *中国医师杂志* 2004; 6: 1498-1500
- 30 申林, 何德沛. 26例心脏直视手术后应激性溃疡的防治. *重庆医学* 2000; 29: 21-24
- 31 黑飞龙, 龙村, 孙桂民. 体外循环内心直视手术中胃肠激素的变化. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 375
- 32 徐鹏, 易定华. 兔体外循环对胃泌素及其受体的影响. *第四军医大学学报* 2000; 21: 502-504
- 33 Huddy SP, Joyce WP, Pepper JR. Gastrointestinal complications in 4473 patients who underwent cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Surg* 1991; 78: 293-296 [PMID: 2021841 DOI: 10.1002/bjs.1800780309]
- 34 Christensen JT, Schmuziger M, Maurice J, Simonet F, Velebit V. Postoperative visceral hypotension the common cause for gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 42: 152-157 [PMID: 7940485 DOI: 10.1055/s-2007-1016478]
- 35 钟前进, 王建军, 肖颖彬. 腹部并发症与体外循环心脏手术. *第三军医大学学报* 2005; 27: 1301-1302
- 36 Zacharias A, Schwann TA, Parenteau GL, Riordan CJ, Durham SJ, Engoren M, Fenn-Buderer N, Habib RH. Predictors of gastrointestinal complications in cardiac surgery. *Tex Heart Inst J* 2000; 27: 93-99 [PMID: 10928493]
- 37 Mierdl S, Meininger D, Dogan S, Aybek T, Wimmer-Greinecker G, Lischke V, Kessler P. Abdominal complications after cardiac surgery. *Ann Acad Med Singapore* 2001; 30: 245-249 [PMID: 11455736]
- 38 吴在德, 吴肇汉, 潘承恩. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 564-570
- 39 Huwer H, Winning J, Straub U, Isringhaus H, Kalweit G. Clinically diagnosed nonocclusive mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass: retrospective study. *Vascular* 2004; 12: 114-120 [PMID: 15248641 DOI: 10.2310/6670.2004.20769]
- 40 Wan S, Arifi AA, Chan CS, Ng CS, Wan IY, Lee TW, Yim AP. Is hyperamylasemia after cardiac surgery due to cardiopulmonary bypass? *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2002; 10: 115-118 [PMID: 12079932 DOI: 10.1177/021849230201000205]
- 41 吴在德, 吴肇汉. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 460-461
- 42 Vokurka J, Olejnik J, Jedlicka V, Vesely M, Ciernik J, Paseka T. Acute mesenteric ischemia. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1349-1352 [PMID: 18795686]
- 43 Berland T, Oldenburg WA. Acute mesenteric ischemia. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 341-346 [PMID: 18625147 DOI: 10.1007/s11894-008-0065-0]
- 44 Menon NJ, Amin AM, Mohammed A, Hamilton G. Acute mesenteric ischaemia. *Acta Chir Belg* 2005; 105: 344-354 [PMID: 16184714]
- 45 Allen KB, Salam AA, Lumsden AB. Acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass. *J Vasc Surg* 1992; 16: 391-395; discussion 391-395 [PMID: 1522641]
- 46 Garofalo M, Borioni R, Nardi P, Turani F, Bertoldo F, Forlani S, Pellegrino A, Chiariello L. Early diagnosis of acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2002; 43: 455-459 [PMID: 12124551]
- 47 Lee SS, Ha HK, Park SH, Choi EK, Kim AY, Kim JC, Han DJ. Usefulness of computed tomography in differentiating transmural infarction from nontransmural ischemia of the small intestine in patients with acute mesenteric venous thrombosis. *J Comput Assist Tomogr* 2008; 32: 730-737 [PMID: 18830102]
- 48 Acosta-Merida MA, Marchena-Gomez J, Hemmersbach-Miller M, Roque-Castellano C, Hernandez-Romero JM. Identification of risk factors for perioperative mortality in acute mesenteric ischemia. *World J Surg* 2006; 30: 1579-1585 [PMID: 16865320 DOI: 10.1007/s00268-005-0560-5]

■同行评价

本文综述了体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展,具有一定的临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠癌的表观遗传学

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元

■背景资料

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 其发生是基因突变和表观遗传学改变逐渐积累、共同作用的结果。且表观遗传学的作用比基因突变的作用更大。表观遗传学主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控。

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元, 河北医科大学第二医院消化内科
河北省石家庄市 050000

作者贡献分布: 本文综述由剧宏燕与柴秀坤完成; 白文元审校。

通讯作者: 白文元, 教授, 主任医师, 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内科。

wenyuanbai@medmail.com.cn

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-04-02

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Epigenetics of colorectal cancer

Hong-Yan Ju, Xiu-Kun Chai, Wen-Yuan Bai

Hong-Yan Ju, Xiu-Kun Chai, Wen-Yuan Bai, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Wen-Yuan Bai, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. wenyuanbai@medmail.com.cn

Received: 2014-03-19 Revised: 2014-04-02

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

Colorectal cancer is a common type of gastrointestinal cancer with high incidence. It is generally considered that colorectal cancer develops through a multistep process that results from the progressive accumulation of mutations and epigenetic changes. The genes in colorectal cancer are more frequently affected by altered epigenetics than by mutations. In this review, we will discuss epigenetic changes of colorectal cancer, aiming to provide new ideas for the prevention, diagnosis, treatment and prognosis of this malignancy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; DNA methylation; Histone modification; Chromatin remodeling; Non-coding RNA regulation

Ju HY, Chai XK, Bai WY. Epigenetics of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2128-2133 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2128.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2128>

摘要

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 他的发生是基因突变和表观遗传学改变逐渐积累、共同作用的结果。且表观遗传学的作用比基因突变的作用更大。本文论述了结直肠癌中表观遗传学的研究进展, 为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供新的思路。

© 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; DNA甲基化; 组蛋白修饰; 染色质重塑; 非编码RNA调控

核心提示: 表观遗传学的改变可以作为结直肠癌发生的分子机制的驱动力, 与基因突变一起促使正常结肠黏膜发展为结直肠癌, 且表观遗传学的改变具有可逆性和可调控性, 为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路。

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元. 结直肠癌的表观遗传学. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2128-2133 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2128.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2128>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 并且随着人们生活方式及饮食结构的改变, 结直肠癌的发病率也呈逐年上升的趋势。在世界癌症研究基金会报告(WCRF/AICR 2007)^[1]中, 由于饮食习惯的变化, 大肠癌的发病率居恶性肿瘤的第3位, 其死亡率在全世界排名第2位^[2], 已严重威胁到人类的健康。所谓表观遗传学, 是指不涉及DNA序列的改变, 但基因表达发生可遗传的变化。主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控。本文就结直肠癌在表观遗传学方面的研究进展作一综述。

1 DNA甲基化与结直肠癌

DNA甲基化是目前研究较多的表观遗传修饰方式之一, 特别是在肿瘤领域。DNA甲基化是

■同行评议者

刘宝瑞, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心; 宋新明, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院胃肠外科

指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下, 将S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体转移至胞嘧啶的5位碳原子上, 生成5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC). DNA甲基转移酶主要作用于CG二核苷酸序列, 即CpG, 而CpG二核苷酸是DNA甲基化发生的主要位点. 人们通常将基因组中富含CpG的一段DNA称为CpG岛, 其GC含量>50%, 为长度大于200-500个碱基的序列^[3]. 在肿瘤中基因启动子区的CpG岛易发生异常甲基化, 且与抑制转录有关^[4]. 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)是近年来新发现的一种表观遗传修饰, 被称为DNA的第6种碱基^[5]. hmC是通过10-11易位(ten-eleven translocation, TET)家族的酶氧化5mC产生, 其在肿瘤组织中低水平存在, 可能是对肿瘤组织中DNA甲基化起一定阻碍作用^[6].

结直肠癌的表观遗传学改变最早是在30年前由Feinberg和Vogelstein^[7]提出的, 他们发现, 与正常结直肠组织相比, 癌组织中存在大量的5-甲基胞嘧啶的缺失. 前已经证实基因启动子区发生的异常甲基化参与细胞凋亡、肿瘤转移及侵袭、细胞周期调控、信号转导通路和耐药基因等导致结直肠癌的发生. *DNRB*是一种新的候选抑癌基因, 其在结直肠癌组织中的甲基化率较正常组织明显升高, 而mRNA水平明显降低^[8]. Yan等^[9]的研究证实结直肠癌组织中启动区*DACH1*的甲基化程度增高, 且与肿瘤的分化程度、分期及转移有关. 1999年, Toyota等^[10]观察结直肠癌高甲基化基因的频率, 发现有独特的分子发病机制, 将他们称之为CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP), 且20%的结直肠癌为CIMP肿瘤. CIMP肿瘤常来源于增生性息肉或平坦型锯齿状息肉^[11]. 也有一些学者认为CIMP是结直肠锯齿状病变中的特征性改变^[12]. 目前CIMP肿瘤的根本原因尚不清楚, 但与吸烟、营养状况、体型和活动量有一定关系^[13]. Li等^[14]的研究发现, 在结直肠癌组织中, 5hmC的含量明显降低, 而在SW620和HCT116结直肠癌细胞系中几乎检测不到5hmC. 研究结果提示5hmC可能在结直肠癌的发生、发展中起一定阻碍作用.

2 组蛋白修饰与结直肠癌

在哺乳动物细胞中, 核小体是染色质的基本单位, 他由4个核心组蛋白(H3, H4, H2A, H2B)和外面包裹的DNA组成. 核心组蛋白N端尾部可以发生各种修饰, 包括: 乙酰化、甲基化、磷酸化、

泛素化、瓜氨酸化和ADP-核糖基化^[15]. 这些修饰的组合构成了所谓的“组蛋白密码”, 决定了染色质构象和基因表达水平. 在这种几种修饰中, 乙酰化和甲基化是目前研究最多的组蛋白修饰方式. 组蛋白尾部赖氨酸残基上的组蛋白乙酰化是可逆的, 由组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)进行调控. 和组蛋白乙酰化一样, 组蛋白甲基化现在认为也是一个可逆的过程^[15,16]. 组蛋白的甲基化主要由组蛋白甲基酶(histone methyltransferase, HMTases)和组蛋白去甲基酶(histone demethylase, HDMS)调控, 他们分别在特异性位点进行组蛋白甲基化和去甲基化. 迄今为止, 已经确定超过二十个赖氨酸和精氨酸HMTases. 每个HMTases或是单独作用或与其他HMTases共同作用, 催化组蛋白特异性位点甲基化.

目前研究与结直肠癌发生、发展较多的是组蛋白乙酰化和甲基化修饰. 其中组蛋白去HDAC在大肠癌的发生、发展中发挥着重要的作用. 很多I类HDAC在结直肠癌中都表达上调, 在结直肠癌标本中HDAC1占36.4%, HDAC2占57.9%, HDAC3占72.9%, 而高HDAC的表达与结直肠癌患者生存率的降低相关联^[17]. 缩脲环肽FK228是一种新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 已被美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于皮肤T淋巴瘤的临床试验^[18]. 徐东波等^[19]通过对FK228对结肠癌细胞HCT-116的作用研究发现FK228可以在体外明显的抑制HCT-116细胞的生长, 且比5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)的毒性及不良反应小. 同时, Fk228可与其他药物联合应用, 对肿瘤的抑制作用更明显^[20,21]. 在各种实体瘤包括结直肠癌中PRC蛋白EZH2是一种组蛋白甲基酶(histone methyltransferase, HMTase), 他在肿瘤组织总表达增高^[22]. 目前认为EZH2与肿瘤抑癌基因的沉默相关, 包括: INK4B-ARF-INK4A、E-cadherin、p57 KIP2和p27蛋白^[23], BRCA1^[24]和肾上腺素能受体 β_2 ^[25]. SUV39H1是一种专门使异染色质中H3K9发生甲基化的HMTase. 在219例结直肠癌组织中有54例能够检测SUV39H1的高表达. 更有趣的是, 在这些标本中, SUV39H1 mRNA水平和DNMT1 mRNA水平呈有显著相关, 表明H3K9甲基化与DNA甲基化在大肠癌细胞的病理生理条件下存在的潜在协调关系^[26]. 总之, 这些研究表明, HMTase的表达失调是结直肠

■研发前沿

本文重点从表观遗传学中的DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面与结直肠癌的研究进展进行综述, 阐明最新发现的结直肠癌可能发病机制. 结直肠癌发生、发展中的很多相关机制还未完全明确, 包括与饮食、环境的关系等问题亟待研究.

■相关报道

国内牛朝等在《表观遗传学在结直肠癌中的应用研究现状和进展》一文中介绍了表观遗传学中DNA甲基化、组蛋白修饰与结直肠癌发病机制的关系,为临床诊断、治疗、预后有很好的指导意义。

癌发生、发展的一个重要因素。

3 染色质重塑与结直肠癌

染色质重塑(chromatin remodeling)是DNA与组蛋白在空间结构上的改变,从而使反式作用因子如转录因子等能与基因启动子区的顺式作用元件更易结合,启动转录过程。介导染色质重塑的机制主要有两类结构:一类是组蛋白修饰复合物,一类是ATP依赖型染色质重塑复合体^[27-29]。组蛋白修饰复合物主要是对组蛋白N-末端尾部的共价修饰;ATP依赖型染色质重塑复合体则是利用ATP水解的能量改变染色质的包装状态。

染色质重塑可以调控基因的表达,一旦出错,可引起肿瘤的发生和发展。染色质解旋酶DNA结合蛋白(chromodomain helicase DNA binding, CHD)家族属于SWI2/SNF2相关的ATP酶超家族,广泛存在于真核生物,他含有染色质调节域、类SWI2/SNF2ATP酶/解旋酶域和CpG结合区。CHD基因的突变或缺失常常引起肿瘤的发生。研究证明,很多人类的恶性肿瘤常发生在1号染色体短臂3区6带(1p36)。2007年, Bagchi等^[30]运用染色体基因工程技术构建了1p36增益和缺失小鼠模型,证明CHD5是一种重要的抑癌基因。国外学者在人神经母细胞瘤、肝癌、乳腺癌、结肠癌的研究中均发现CHD5表达下降,提示CHD5有抑制肿瘤的作用。赵蕊等^[31]通过构建重组慢病毒载体TREAutoR3-CHD5感染结直肠癌细胞系LOVO,证实CHD5能抑制结直肠癌细胞系的增殖。DelBove等^[32]证实BRG1和SNF5/INI1染色质重组复合物在人类结直肠癌细胞系中具有肿瘤抑制作用。Jones等^[33]在对多种恶性肿瘤中ARID1A突变引起染色质重塑的研究中发现结直肠癌的比例最高,大约10%的结直肠癌中可以检测到ARID1A染色质重塑。

4 非编码RNAs调控

人类基因组的DNA能转录为RNA的约占93%,其中能编码蛋白质的仅占2%,余下98%均为非编码RNA^[34]。非编码RNA分为两大类:短链非编码RNA和长链非编码RNA(lncRNA),其中短链非编码RNA包括微小RNA(microRNA)和其他小于200 nt的NcRNA;长链非编码长度从200 nt到100000 nt不等^[35]。下面就microRNA和lncRNA作一介绍。

4.1 microRNA microRNA是一类长度约为22 nt的非编码小单链RNA。miRNA主要在转录后

水平参与基因的负向调控。miRNA参与调节超过30%的mRNA,通过与mRNA上不同miRNA位点的结合,阻碍其翻译或完全降解mRNA^[36]。miRNA在细胞分化,发展,增殖和凋亡中发挥着重要的作用。miRNA的发现彻底颠覆了基因和蛋白表达之间的线性关系的普遍看法。目前认为miRNA为肿瘤抑癌基因或癌基因,miRNA的失调是人类癌症的一个共同特征。具体地说,相比于正常组织,肿瘤组织中miRNA的表达普遍下调,这表明一些miRNA在某些肿瘤中表现为抑癌基因。虽然在肿瘤中miRNA表达改变的确切机制尚不清楚,目前的研究已经证实肿瘤影响着包括调节miRNA水平在内的很多机制。最近的研究表明,影响蛋白质加工和miRNA成熟的基因突变也可以导致miRNA表达整体的减少^[37]。另外,表观遗传学的改变,包括DNA异常甲基化和组蛋白修饰,可以导致miRNA在肿瘤中表达失调。

目前miRNA在结直肠癌中研究比较多,他在结直肠癌的异常高表达或低表达进而调控相应靶基因发挥其致癌或抑癌作用。研究已经证实miR-143和miR-145在多种肿瘤中低表达,包括结直肠癌。miR-143和miR-145与结直肠癌的关系报道最早是2003年Michael等^[38]证实的miR-143和miR-145在结直肠癌组织较正常组织中表达降低。miR-143和miR-145通过作用于不同的靶基因发挥抑癌作用。miR-143可以下调KRAS蛋白的表达^[39]、可以降低核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)活性、细胞外信号调节蛋白激酶5(extracellular-regulated kinase 5, ERK5)、Bcl-2的表达水平^[40]。miR-143也可阻断结直肠癌细胞的TLR2信号通路^[41]。miR-145可以影响FLI1和DF45蛋白的表达水平^[42]。Liu等^[43]在恢复结直肠癌细胞系中miRNA-195的表达后,其能明显的抑制肿瘤生长。miR-31的上调可以抑制SATB2的表达进而促进结直肠癌细胞增殖、转移,表明miR-31在结直肠癌的预后和治疗方面有潜在的应用价值^[44]。研究发现,血液和粪便中存在大量的miRNA,且可以以稳定的形式存在^[45]。王静等^[46]联合检测结直肠癌和结直肠腺瘤患者血浆和粪便中的miRNA-92a-1水平,发现其敏感度分别高达88.3%和82.6%,其有可能成为结直肠癌筛查和早期诊断的潜在指标。

4.2 LncRNA LncRNA是长度>200 nt,没有明确的开放阅读框架,不编码蛋白质分子的一类

RNA. LncRNA由RNA聚合酶II合成, 位于细胞核或细胞质内^[47,48]. LncRNA以往被认为是基因转录过程中的随机产物, 也有人称之为“噪音”. 其来源的多样性决定了其功能的多样性^[49]. LncRNA参与了基因表达调控、基因组印记、染色质修饰等. 目前的研究已经证实LncRNAs与人类的多种疾病有关, 很多种癌症中LncRNAs的表达也是异常的, 这包括乳腺癌^[50]、结肠癌^[51]、前列腺癌^[52]、肝细胞癌^[53-55]、白血病和黑色素瘤^[56]等. LncRNA可以作为原癌基因、抑癌基因、转录干扰和选择性剪接在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用. 虽然LncRNA在肿瘤中表达失调的确切机制尚不完全清楚, 目前许多研究已经证实了一部分LncRNA发挥作用的机制. 例如: lncRNA Linc-P21在P53途径中能阻遏阻遏RNA/DNA结合蛋白hnRNP与染色质的结合^[57]. SPRY4-IT1在人类黑色素瘤中的表达明显上调, 其影响细胞动力学, 在人黑色素瘤的分子病因学起重要作用^[56]. LncRNA除了在癌症领域的异常表达外, 研究发现在心脏疾病、阿尔茨海默氏病、牛皮癣、脊髓小脑性共济失调型8和脆性X综合征中LncRNA的表达也是失调的.

目前关于LncRNA与结直肠癌的文章很少. H19是发现的最早与肿瘤相关的LncRNAs, 是胰岛素样生长因子2(Igf2)的印迹基因的产物. Tian等^[58]运用亚硫酸氢盐分析了81例结直肠癌患者在IGF2/H19的DMR第六CTCF结合位点的DNA甲基化状态, 发现LncRNA H19的异常甲基化可以导致IGF2/H19印迹区域的消失. 位于染色体12q13.13的LncRNA HOTAIR在结直肠癌组织表达水平高于癌旁组织, 且与存在肝转移密切相关, 提示HOTAIR的高表达相对预后较差^[51]. 肺腺癌转移相关转录本l(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1)CRC转移中起着举足轻重的作用. Xu等^[59]对MALAT-1的5个片段进行分析, 发现MALAT-1的3'端(6918 NT-8441 NT)在细胞增殖、迁移和侵袭的生物学过程发挥重要作用.

5 结论

过去20年的研究发现, 表观遗传学在癌症发病机制中的作用越来越重要. 表观遗传学的改变可以作为结直肠癌发生的分子机制的驱动力, 与基因突变一起促使正常结肠黏膜发展为结直肠癌, 而且表观遗传学的改变要比基因突变的影响更大. 更为重要的是, 表观遗传学的改变

具有可逆性和可调控性, 这就为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路. 然而, 目前表观遗传学的研究还存在很多挑战, 其在结直肠癌发生、发展中的很多相关机制还未完全明确, 今后还应进一步研究表观遗传学改变与基因表达、环境之间的关系, 对早期诊断, 早期治疗及提高结直肠癌患者的生存率具有非常重要的意义.

6 参考文献

- 1 Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 253-256 [PMID: 18452640 DOI: 10.1017/S002966510800712X]
- 2 Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461 DOI: 10.3322/caac.20121]
- 3 Gardiner-Garden M, Frommer M. CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 1987; 196: 261-282 [PMID: 3656447]
- 4 Hinoue T, Weisenberger DJ, Lange CP, Shen H, Byun HM, Van Den Berg D, Malik S, Pan F, Nouchmeh H, van Dijk CM, Tollenaar RA, Laird PW. Genome-scale analysis of aberrant DNA methylation in colorectal cancer. *Genome Res* 2012; 22: 271-282 [PMID: 21659424 DOI: 10.1101/gr.117523.110]
- 5 Münzel M, Globisch D, Carell T. 5-Hydroxymethylcytosine, the sixth base of the genome. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50: 6460-6468 [PMID: 21688365 DOI: 10.1002/anie.201101547]
- 6 王学静, 黄庆, 黄君富, 府伟灵. 表观遗传学新视点-DNA羟甲基化. *生命科学* 2012; 24: 521-525
- 7 Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 1983; 301: 89-92 [PMID: 6185846]
- 8 Chen C, Wang L, Liao Q, Huang Y, Ye H, Chen F, Xu L, Ye M, Duan S. Hypermethylation of EDNRB promoter contributes to the risk of colorectal cancer. *Diagn Pathol* 2013; 8: 199 [PMID: 24326135 DOI: 10.1186/1746-1596-8-199]
- 9 Yan W, Wu K, Herman JG, Brock MV, Fuks F, Yang L, Zhu H, Li Y, Yang Y, Guo M. Epigenetic regulation of DACH1, a novel Wnt signaling component in colorectal cancer. *Epigenetics* 2013; 8: 1373-1383 [PMID: 24149323 DOI: 10.4161/epi.26781]
- 10 Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 8681-8686 [PMID: 10411935]
- 11 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]
- 12 Tuppurainen K, Mäkinen JM, Junttila O, Liakka A, Kyllönen AP, Tuominen H, Karttunen TJ, Mäkinen MJ. Morphology and microsatellite instability in sporadic serrated and non-serrated colorectal can-

■创新盘点

本文主要从DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面系统介绍了结直肠癌与表观遗传学的关系, 论述详细, 应用性强. 文章中涉及了近年来新提出的一些概念, 可以为结直肠癌的发病机制研究提供新思路.

■应用要点

本文章深刻阐述了结直肠癌在DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面的研究进展。由于表观遗传学的改变具有可逆性和可调控性,为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路。

- cer. *J Pathol* 2005; 207: 285-294 [PMID: 16177963]
- 13 Limsui D, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, Laird PW, Lynch CF, Anderson KE, French AJ, Haile RW, Harnack LJ, Potter JD, Slager SL, Smyrk TC, Thibodeau SN, Cerhan JR, Limburg PJ. Cigarette smoking and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 1012-1022 [PMID: 20587792 DOI: 10.1093/jnci/djq201]
- 14 Li W, Liu M. Distribution of 5-hydroxymethylcytosine in different human tissues. *J Nucleic Acids* 2011; 2011: 870726 [PMID: 21772996 DOI: 10.4061/2011/870726]
- 15 Nakazawa T, Kondo T, Ma D, Niu D, Mochizuki K, Kawasaki T, Yamane T, Iino H, Fujii H, Katoh R. Global histone modification of histone H3 in colorectal cancer and its precursor lesions. *Hum Pathol* 2012; 43: 834-842 [PMID: 21917293 DOI: 10.1016/j.humpath.2011.07.009]
- 16 Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 2011; 21: 381-395 [PMID: 21321607 DOI: 10.1038/cr.2011.22]
- 17 Ashktorab H, Belgrave K, Hosseinkhah F, Brim H, Nouraie M, Takkikto M, Hewitt S, Lee EL, Dashwood RH, Smoot D. Global histone H4 acetylation and HDAC2 expression in colon adenoma and carcinoma. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2109-2117 [PMID: 19057998 DOI: 10.1007/s10620-008-0601-7]
- 18 李蕾, 王朴. FK228的抗肿瘤作用机制及临床研究进展. *中国新药杂志* 2007; 16: 21-25
- 19 徐东波, 望运玲, 岳源, 武双婵, 丁虹. 新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂FK228对人结直肠癌细胞HCT-116的体外抑制作用. *中华肿瘤杂志* 2013; 35: 814-818
- 20 Wilson AJ, Lalani AS, Wass E, Saskowski J, Khabele D. Romidepsin (FK228) combined with cisplatin stimulates DNA damage-induced cell death in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2012; 127: 579-586 [PMID: 23010348 DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.09.016]
- 21 Cooper SJ, von Roemeling CA, Kang KH, Marlow LA, Grebe SK, Menefee ME, Tun HW, Colon-Otero G, Perez EA, Copland JA. Reexpression of tumor suppressor, sFRP1, leads to antitumor synergy of combined HDAC and methyltransferase inhibitors in chemoresistant cancers. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2105-2115 [PMID: 22826467 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0873]
- 22 Bracken AP, Helin K. Polycomb group proteins: navigators of lineage pathways led astray in cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 773-784 [PMID: 19851313 DOI: 10.1038/nrc2736]
- 23 Gonzalez ME, Li X, Toy K, DuPrie M, Ventura AC, Banerjee M, Ljungman M, Merajver SD, Kleer CG. Downregulation of EZH2 decreases growth of estrogen receptor-negative invasive breast carcinoma and requires BRCA1. *Oncogene* 2009; 28: 843-853 [PMID: 19079346 DOI: 10.1038/onc.2008.433]
- 24 Yu J, Cao Q, Mehra R, Laxman B, Yu J, Tomlins SA, Creighton CJ, Dhanasekaran SM, Shen R, Chen G, Morris DS, Marquez VE, Shah RB, Ghosh D, Varambally S, Chinnaiyan AM. Integrative genomics analysis reveals silencing of beta-adrenergic signaling by polycomb in prostate cancer. *Cancer Cell* 2007; 12: 419-431 [PMID: 17996646]
- 25 Natarajan TG, Kallakury BV, Sheehan CE, Bartlett MB, Ganesan N, Preet A, Ross JS, Fitzgerald KT. Epigenetic regulator MLL2 shows altered expression in cancer cell lines and tumors from human breast and colon. *Cancer Cell Int* 2010; 10: 13 [PMID: 20433758 DOI: 10.1186/1475-2867-10-13]
- 26 Tiwari VK, McGarvey KM, Licchesi JD, Ohm JE, Herman JG, Schübeler D, Baylin SB. PcG proteins, DNA methylation, and gene repression by chromatin looping. *PLoS Biol* 2008; 6: 2911-2927 [PMID: 19053175 DOI: 10.1371/journal.pbio.0060306]
- 27 Lorch Y, Maier-Davis B, Kornberg RD. Mechanism of chromatin remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 3458-3462 [PMID: 20142505 DOI: 10.1073/pnas.1000398107]
- 28 薛开先. 染色质组织化和组蛋白修饰. *国际遗传学杂志* 2009; 32: 326-320
- 29 Persson J, Ekwall K. Chd1 remodelers maintain open chromatin and regulate the epigenetics of differentiation. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1316-1323 [PMID: 20211173 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.029]
- 30 Bagchi A, Papazoglu C, Wu Y, Capurso D, Brodt M, Francis D, Bredel M, Vogel H, Mills AA. CHD5 is a tumor suppressor at human 1p36. *Cell* 2007; 128: 459-475 [PMID: 17289567]
- 31 赵蕊, 吕静野, 严启滔, 张宝, 郑文岭, 马文丽. CHD5基因慢病毒载体的构建及在结直肠癌细胞中的表达. *基础医学与临床* 2013; 33: 418-422
- 32 DelBove J, Rosson G, Strobeck M, Chen J, Archer TK, Wang W, Knudsen ES, Weissman BE. Identification of a core member of the SWI/SNF complex, BAF155/SMARCC1, as a human tumor suppressor gene. *Epigenetics* 2011; 6: 1444-1453 [PMID: 22139574 DOI: 10.4161/epi.6.12.18492]
- 33 Jones S, Li M, Parsons DW, Zhang X, Wesseling J, Kristel P, Schmidt MK, Markowitz S, Yan H, Bigner D, Hruban RH, Eshleman JR, Iacobuzio-Donahue CA, Goggins M, Maitra A, Malek SN, Powell S, Vogelstein B, Kinzler KW, Velculescu VE, Papadopoulos N. Somatic mutations in the chromatin remodeling gene ARID1A occur in several tumor types. *Hum Mutat* 2012; 33: 100-103 [PMID: 22009941 DOI: 10.1002/humu.21633]
- 34 Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth? *Hum Mol Genet* 2010; 19: R162-R168 [PMID: 20798109 DOI: 10.1093/hmg/ddq362]
- 35 Costa FF. Non-coding RNAs: Meet thy masters. *Bioessays* 2010; 32: 599-608 [PMID: 20544733 DOI: 10.1002/bies.200900112]
- 36 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]
- 37 Melo SA, Moutinho C, Ropero S, Calin GA, Rossi S, Spizzo R, Fernandez AF, Davalos V, Villanueva A, Montoya G, Yamamoto H, Schwartz S, Esteller M. A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells. *Cancer Cell* 2010; 18: 303-315 [PMID: 20951941]
- 38 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]
- 39 Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392 [PMID: 19137007 DOI: 10.1038/onc.2008.474]
- 40 Borralho PM, Simões AE, Gomes SE, Lima RT, Car-

- valho T, Ferreira DM, Vasconcelos MH, Castro RE, Rodrigues CM. miR-143 overexpression impairs growth of human colon carcinoma xenografts in mice with induction of apoptosis and inhibition of proliferation. *PLoS One* 2011; 6: e23787 [PMID: 21901135 DOI: 10.1371/journal.pone.0023787]
- 41 Guo H, Chen Y, Hu X, Qian G, Ge S, Zhang J. The regulation of Toll-like receptor 2 by miR-143 suppresses the invasion and migration of a subset of human colorectal carcinoma cells. *Mol Cancer* 2013; 12: 77 [PMID: 23866094 DOI: 10.1186/1476-4598-12-77]
- 42 Zhang J, Guo H, Zhang H, Wang H, Qian G, Fan X, Hoffman AR, Hu JF, Ge S. Putative tumor suppressor miR-145 inhibits colon cancer cell growth by targeting oncogene Friend leukemia virus integration 1 gene. *Cancer* 2011; 117: 86-95 [PMID: 20737575 DOI: 10.1002/cncr.25522]
- 43 Liu L, Chen L, Xu Y, Li R, Du X. microRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 400: 236-240 [PMID: 20727858 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.08.046]
- 44 Yang MH, Yu J, Chen N, Wang XY, Liu XY, Wang S, Ding YQ. Elevated microRNA-31 expression regulates colorectal cancer progression by repressing its target gene SATB2. *PLoS One* 2013; 8: e85353 [PMID: 24386467 DOI: 10.1371/journal.pone.0085353]
- 45 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]
- 46 王静, 张金平, 桂银莉, 李建生. 人血浆及粪便中微小RNA-92a-1表达水平在结直肠肿瘤筛查中的意义. *中华消化杂志* 2012; 32: 834-837
- 47 谢海伟, 陈仿军, 朱斌, 曹刚, 金磊, 周国志, 吕进, 曹秀峰. 长链非编码RNA SPRY4-I T1在食管鳞癌中的表达及对细胞生长的影响. *中国肿瘤临床* 2013; 40: 1011-1015
- 48 Liao Q, Liu C, Yuan X, Kang S, Miao R, Xiao H, Zhao G, Luo H, Bu D, Zhao H, Skogerboe G, Wu Z, Zhao Y. Large-scale prediction of long non-coding RNA functions in a coding-non-coding gene co-expression network. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 3864-3878 [PMID: 21247874 DOI: 10.1093/nar/gkq1348]
- 49 Yu LH, Li N, Cheng SQ. The progress on long non-coding RNA function. *Chinese Journal of Cell Biology* 2010; 32: 350-356
- 50 Li Y, Sasaki H. Genomic imprinting in mammals: its life cycle, molecular mechanisms and reprogramming. *Cell Res* 2011; 21: 466-473 [PMID: 21283132 DOI: 10.1038/cr.2011.15]
- 51 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]
- 52 Chung S, Nakagawa H, Uemura M, Piao L, Ashikawa K, Hosono N, Takata R, Akamatsu S, Kawaguchi T, Morizono T, Tsunoda T, Daigo Y, Matsuda K, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. *Cancer Sci* 2011; 102: 245-252 [PMID: 20874843 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01737.x]
- 53 Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1243-1250 [PMID: 21327457 DOI: 10.1245/s10434-011-1581-y]
- 54 Yang F, Zhang L, Huo XS, Yuan JH, Xu D, Yuan SX, Zhu N, Zhou WP, Yang GS, Wang YZ, Shang JL, Gao CF, Zhang FR, Wang F, Sun SH. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology* 2011; 54: 1679-1689 [PMID: 21769904 DOI: 10.1002/hep.24563]
- 55 Lai MC, Yang Z, Zhou L, Zhu QQ, Xie HY, Zhang F, Wu LM, Chen LM, Zheng SS. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Med Oncol* 2012; 29: 1810-1816 [PMID: 21678027 DOI: 10.1007/s12032-011-0004-z]
- 56 Khaitan D, Dinger ME, Mazar J, Crawford J, Smith MA, Mattick JS, Perera RJ. The melanoma-upregulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion. *Cancer Res* 2011; 71: 3852-3862 [PMID: 21558391 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4460]
- 57 Huarte M, Guttman M, Feldser D, Garber M, Koziol MJ, Kenzelmann-Broz D, Khalil AM, Zuk O, Amit I, Rabani M, Attardi LD, Regev A, Lander ES, Jacks T, Rinn JL. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell* 2010; 142: 409-419 [PMID: 20673990 DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.040]
- 58 Tian F, Tang Z, Song G, Pan Y, He B, Bao Q, Wang S. Loss of imprinting of IGF2 correlates with hypomethylation of the H19 differentially methylated region in the tumor tissue of colorectal cancer patients. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1536-1540 [PMID: 22427002 DOI: 10.3892/mmr.2012.833]
- 59 Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *Int J Oncol* 2011; 39: 169-175 [PMID: 21503572 DOI: 10.3892/ijo.2011.1007]

■同行评价

本文对结直肠癌的基础研究有一定的帮助, 对临床治疗有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响

刘丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟

■背景资料

ERK1/2通路是调控细胞增殖的重要途径, 细胞增殖由细胞周期实现, 在药物抑制肿瘤细胞生长的研究中, 明确ERK1/2通路与细胞周期的关系有利于发现药物的作用机制及指导临床的用药。

刘丹, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟, 齐齐哈尔医学院基础医学院 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

迟大鹏, 上海中医药大学附属岳阳医院神经外科 上海市 200437

刘丹, 主要从事细胞生物学和医学遗传学的教学和研究。

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 1253179

齐齐哈尔医学院科研基金资助项目

黑龙江省教育厅大学生创新训练基金资助项目, No.

201311230026

作者贡献分布: 课题由刘丹、岳丽玲及于海涛设计; 研究过程由刘丹、赵忠新、迟大鹏、王钰粟及王秀华操作; 研究方法由王玉指导; 数据分析由梅庆步完成; 本论文写作由刘丹、陈萍、郑立红及王钰粟完成。

通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎大街333号, 齐齐哈尔医学院基础医学院。

7896078_cn@sina.com

电话: 0452-2663174

收稿日期: 2014-03-28 修回日期: 2014-04-15

接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells

Dan Liu, Zhong-Xin Zhao, Da-Peng Chi, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Ping Chen, Li-Hong Zheng, Xiu-Hua Wang, Yu-Su Wang

Dan Liu, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Ping Chen, Li-Hong Zheng, Xiu-Hua Wang, Yu-Su Wang, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China
Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jian Hua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Da-Peng Chi, Department of Neurosurgery, Yueyang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Supported by: the Science and Technology Research Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 12531792; the Research Project of Qiqihar Medical University; the Students' Innovative Training Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 201311230026

Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, 333 Bukui North Street, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078_cn@sina.com

Received: 2014-03-28 Revised: 2014-04-15

Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

Abstract

AIM: To investigate the role of the extracellular regulated protein kinases (ERK)1/2 pathway in genistein and 5-fluorouracil (5-FU)-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells.

METHODS: The MTS method was used to assay cell proliferation. Cell cycle was detected by flow cytometry. The protein expression of total ERK1/2 and phospho-ERK1/2 was detected by Western blot.

RESULTS: Genistein and 5-FU, alone or in combination, inhibited proliferation of MHCC97-L cells. Genistein induced an S-phase arrest and slightly inhibited the expression of phospho-ERK1/2. ERK1/2 inhibitor could promote the inhibition of MHCC97-L cells by genistein, but had no significant effect on S-phase arrest. 5-FU alone or in combination with genistein arrested the cells in S phase and significantly activated ERK1/2. ERK1/2 inhibitor increased genistein and 5-FU-induced growth inhibition of MHCC97-L cells and S-phase arrest.

CONCLUSION: Genistein and 5-FU inhibit the proliferation of liver cancer cells by arresting the cell cycle. Inhibition of the ERK1/2 pathway can resist genistein-induced S phase arrest in liver cancer cells, but promote S phase arrest induced by 5-FU alone or in combination with genistein.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Regulated protein kinases 1/2; Genistein; 5-Fluorouracil; Hepatocellular carcinoma; Cell cycle

Liu D, Zhao ZX, Chi DP, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Chen P, Zheng LH, Wang XH, Wang YS. Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2134-2139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2134.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2134>

摘要

目的: 探讨染料木黄酮(Genistein, Gen)与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)诱导人肝癌MHCC97-L细胞周期阻滞与细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2信号通路的关系。

方法: MTS法检测细胞增殖; 流式细胞术检测细胞周期; Western blot检测总ERK1/2和磷酸化ERK1/2蛋白表达。

结果: Gen与5-FU单用及联用均能抑制肝癌MHCC97-L细胞增殖; Gen诱导细胞S期阻滞, 少量抑制ERK1/2磷酸化, ERK1/2抑制剂可促进Gen对MHCC97-L细胞的生长抑制作用, 而对S期阻滞无明显影响; 5-FU单用和二者联用组均阻滞S期细胞, 并显著激活ERK1/2磷酸化, ERK1/2抑制剂可促进两组药物对MHCC97-L细胞的生长抑制和诱导S期阻滞作用。

结论: Gen与5-FU单用及联用均可通过阻滞细胞周期来发挥抗肝癌细胞增殖的作用; 抑制ERK1/2通路可抵抗Gen诱导的肝癌细胞S期阻滞, 而促进5-FU单用和二者联用组诱导肝癌细胞S期阻滞。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 细胞外信号调节激酶; 染料木黄酮; 氟尿嘧啶; 肝癌; 细胞周期

核心提示: 在本研究结果中, 同时看到不同药物可以通过激活或抑制细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2磷酸化发挥抗肝癌细胞生长的生物学效应, 不同的刺激因素及ERK1/2与其他信号途径的相互作用等都可能成为ERK1/2调控细胞周期的复杂因素。

刘丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰莹. ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2134-2139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2134.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2134>

0 引言

细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的一个重要亚族, 是调节细胞生长、发育及增殖的信号网络核心, 遵循MAPKs的三级酶促级联反应, 即刺激因素→MAPKKK→MAPKK→

MAPK, 在ERKs传递途径中, MEK1/2作为MAPKK. PD98059是MEK1/2特异性抑制剂, 他可通过抑制MEK1/2的活性来抑制ERK1/2的磷酸化和激活, 从而发挥阻断ERK1/2信号通路的作用. 染料木黄酮(Genistein, Gen)为天然异黄酮物质, 具有多种生物学活性, 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)为消化系肿瘤常用的化疗药物, 两者联合有可能成为临床预防和治疗肿瘤的可行性方法, 但其机制尚未明确. 本研究在前期结果^[1]的基础上, 以人肝癌细胞MHCC97-L为模型, 探讨Gen与5-FU诱导肝癌细胞周期阻滞与ERK1/2信号通路的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌MHCC97-L细胞购自复旦大学肝癌研究所. Gen(Sigma); 5-FU(天津金耀氨基酸有限公司); PD98059、MTS(Promega); 优级胎牛血清(Hyclone); 胰蛋白酶、DMSO(Amresco); DMEM高糖培养基(Gibco); 细胞周期检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); ERK1/2 polyclonal antibody、Phospho-ERK1/2 polyclonal antibody(Immunoway); β -actin(武汉博士德生物工程有限公司); 哺乳动物蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、一步法快速WB(HRP)试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司); 蛋白Marker(MBI); ECL超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司); NC膜(Pall); 胶片(富士); 余为进口分装或国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97-L细胞用含10%FBS的DMEM高糖培养液置于37℃、5%CO₂培养箱中培养, 隔1 d换液, 细胞贴壁生长, 待满瓶底时, 用胰酶消化, 吹打成单细胞, 分瓶传代。

1.2.2 实验分组: 实验分为对照组、Gen组(80 μ mol/L)、5-FU组(40 μ mol/L)、PD98059组(50 μ mol/L)、Gen+5-FU组(80 μ mol/L+40 μ mol/L)、PD98059+Gen组(50 μ mol/L+80 μ mol/L)、PD98059+5-FU组(50 μ mol/L+40 μ mol/L)、PD98059+Gen+5-FU组(50 μ mol/L+80 μ mol/L+40 μ mol/L), 后三组为阻断ERK1/2的药物组(PD98059预处理1 h后, 再加入联合的其他药物)。

1.2.3 MTS: 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以 6×10^3 个/孔细胞浓度接种于96孔板, 每孔100 μ L细胞悬液, 每组设4个复孔, 培养24 h后换液, 分别加入不同处理因素的培养液200 μ L, 培养48 h后, 加入MTS, 每孔10 μ L, 继续孵育2 h, 于自动

■研究前沿

Genistein与化疗药物联合阻滞肿瘤细胞周期与ERK1/2通路相关性的可能成为评价药物联合可行性和有效性的指标。

■ 相关报道

激活ERK途径可以促进细胞生长,但有时也可以抑制细胞增殖,因细胞种类、类型及其在不同环境中激活的机制而异。某些化疗药物可以通过激活ERK通路,阻滞肿瘤细胞周期。ERK通路对肝癌细胞增殖效应取决于ERK活化的水平,ERK活性在一定范围内可刺激肝癌细胞增殖,低于此范围不能刺激细胞增殖,高于此范围,可致细胞周期停滞而抑制细胞增殖。

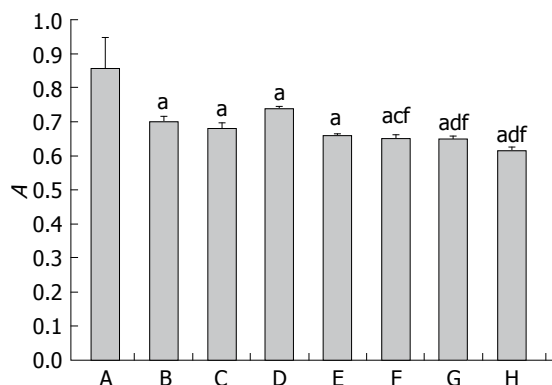


图1 各组细胞在48 h的吸光度(A)值。A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组。^a $P<0.05$ vs 对照组, ^{acf} $P<0.05$ vs 未加PD98059的对应药物组, ^{adf} $P<0.01$ vs 未加PD98059的对应药物组, ^a $P<0.01$ vs PD98059组。

酶标仪490 nm处测定每孔的吸光度(A)值, 实验重复3次, 计算抑制率(inhibition ratio, IR), $IR(\%) = (1 - \text{药物组}A\text{值}/\text{对照组}A\text{值}) \times 100\%$ 。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期: 将处于对数生长期的MHCC97-L细胞以 1×10^5 个/孔细胞浓度接种于12孔板中, 每孔1 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后换液, 加入不同处理因素的培养液, 培养48 h后, 胰酶消化, 收集细胞, PBS(预冷)洗涤细胞1次, 加入1 mL 70 mL/L乙醇(预冷), 4 °C固定12-24 h, 收集细胞, PBS(预冷)重悬细胞1次, 加入PI工作液500 μ L, 37 °C避光温浴30 min, 流式细胞仪在激发波长488 nm波长处检测红色荧光, 以MODIFIT软件分析细胞DNA含量及光散射分析, 实验重复3次。

1.2.5 Western blot检测总ERK1/2(t-ERK1/2)及磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)的蛋白表达: 抽提细胞蛋白, 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以 3×10^5 个/孔细胞浓度接种于6孔板中, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后换液, 加入不同处理因素的培养液, 培养48 h后, PBS(预冷)洗涤细胞2次, 冰上加入400 μ L的蛋白抽提试剂(裂解液与蛋白酶抑制剂的混合物), 冰上用枪头小心吹打贴壁细胞, 将裂解液转移至EP管中, 冰上孵育30 min, 4 °C 14000 g离心10 min, 小心转移上清液至新EP管中, 并记录各组转移体积。BCA蛋白定量, 采用微孔检测法, 将稀释好的A-G组BSA标准品和待测蛋白样品(稀释10倍)各25 μ L分别加入96孔板, 每组设3个复孔, 加入200 μ L BCA工作液, 混匀后, 37 °C孵育30 min, 冷却至室温后, 于自动酶标仪检测570 nm的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算待测样品的蛋白浓

度, 用5 \times 上样缓冲液和细胞裂解液稀释, 调整待测样品蛋白浓度为2 μ g/ μ L, 100 °C加热5 min, 冷却后混匀, -20 °C保存。取各组样品15 mL(30 μ g)上样, 经SDS-PAGE电泳分离蛋白样品后, 转移至NC膜上, 封闭液封闭10 min, 再用抗体反应液处理后的一抗4 °C孵育过夜, 经洗涤3次(每次5 min)后, 进行ECL发光, 显影, 定影, 用Photoshop13.0软件分析胶片泳带, 靶蛋白表达量用相对比率来表示。

统计学处理 数据用mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 两组间均数比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTS 检测48 h各药物组抑制肝癌细胞增殖情况 各药物组均能明显抑制细胞生长($P<0.05$)(图1)。同时, PD98059、Gen、PD98059+Gen、5-FU、PD98059+5-FU、Gen+5-FU、PD98059+Gen+5-FU各组对肝癌细胞的抑制率分别为13.68%、18.01%、23.86%、20.58%、24.44%、22.92%、27.95%, PD98059预处理1 h的药物组抑制率均明显高于对应单药抑制率, 明显低于对应单药抑制率的叠加, 说明Gen、5-FU、Gen+5-FU发挥抗MHCC97-L细胞增殖作用需要ERK通路介导, 但不是唯一机制, 抑制ERK通路可促进三者对MHCC97-L细胞的抗增殖作用。

2.2 细胞周期 Gen组G₀/G₁期细胞减少, S期细胞增多, 阻滞S期; 5-FU组S期细胞明显增多, G₂/M期细胞明显减少, 阻滞S期; PD98059组S期细胞增多, G₂/M期细胞减少, 阻滞S期; Gen+5-FU组5-FU拮抗Gen对G₀/G₁期的减少, 二者对S期阻滞的协同作用不明显, 阻滞S期(图2)。

阻断ERK的Gen组与PD98059和Gen单用比较, 其G₀/G₁期细胞较PD98059组减少、较Gen组增多, 阻断ERK后的Gen仍可推动G₁期向S期转化, 但未达到本身单药水平, 说明抑制ERK通路可拮抗Gen对MHCC97-L细胞G₀/G₁期的减少作用, 而三者对S期阻滞无明显变化($P>0.05$), 又说明Gen诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路密切相关; 阻断ERK的5-FU组与PD98059和5-FU单用比较, 其对S期细胞阻滞完全, G₂/M期为0, 表明5-FU诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路相关, 但存在其他机制, 且抑制ERK通路可促进5-FU对MHCC97-L细胞S期阻滞的增加和G₂/M期的减少; 阻断ERK的Gen+5-FU组,

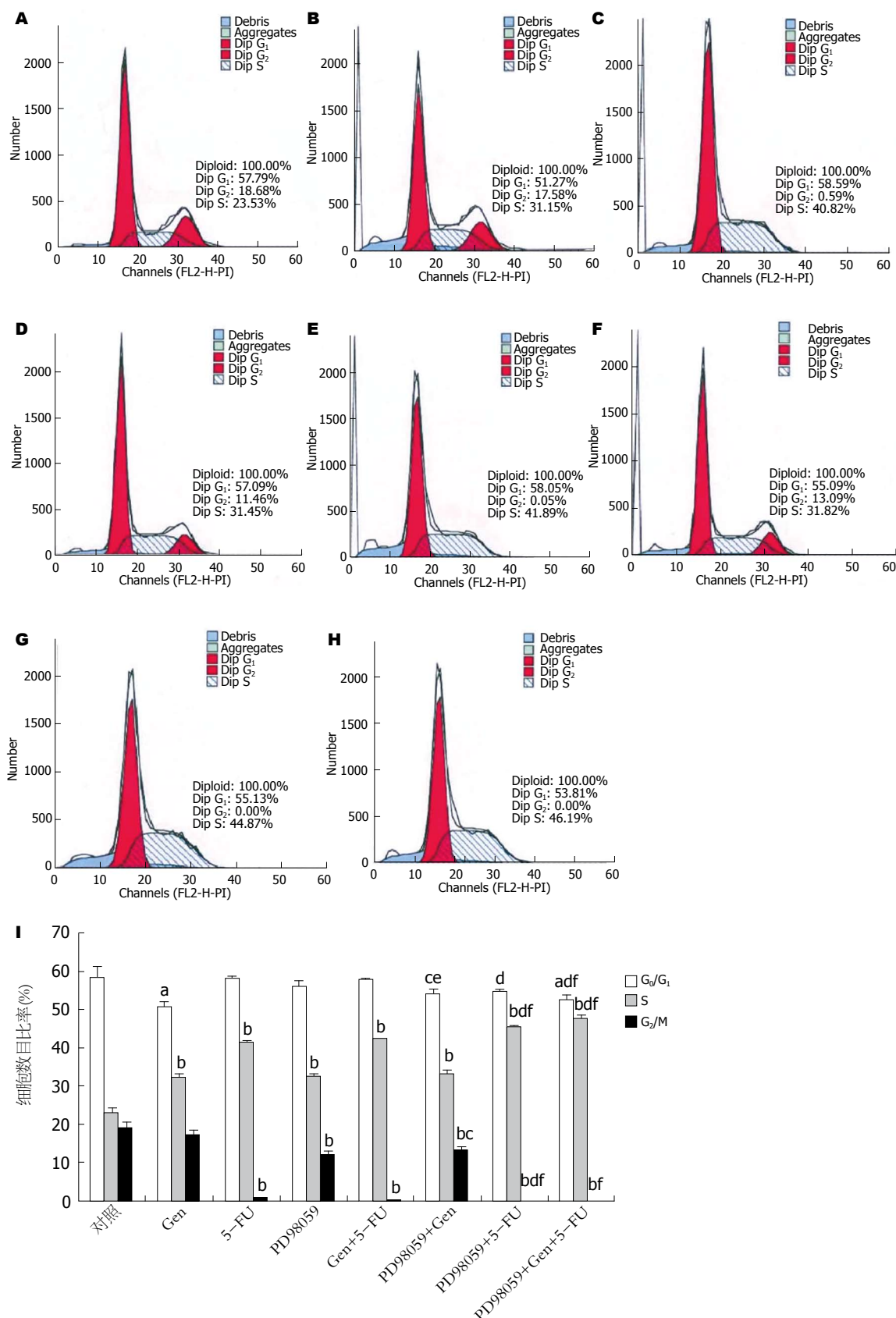


图 2 各组细胞的细胞周期. A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组; I: 各组细胞的细胞周期分布柱状图. ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照组, ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs 未加PD98059的对应药物组, ^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ vs PD98059组.

■应用要点

Genistein是天然异黄酮物质, 5-FU是消化系统肿瘤常用的化疗药物, 二者联合有可能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 降低肿瘤细胞耐药性的产生, 减少化疗药物的剂量, 从而减轻患者的不良反应。

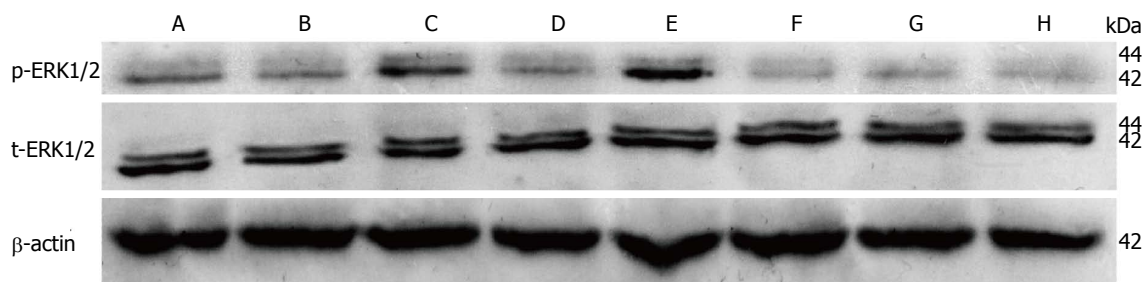


图3 各组细胞的t-ERK1/2和p-ERK1/2蛋白表达。A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组。Gen: 染料木黄酮; 5-FU: 5-氟尿嘧啶; ERK: 细胞外调节蛋白激酶。

PD98059能增加Gen+5-FU对G₀/G₁期细胞的减少作用, 也致S期细胞完全阻滞, G₂/M期为0, 既推动G₁期向S期转化, 又完全阻滞S期, 提示Gen+5-FU组诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路有关, 仍存在其他机制, 且抑制ERK通路可促进Gen+5-FU对MHCC97-L细胞G₀/G₁期和G₂/M期的减少作用(图2)。

2.3 Western blot 各组t-ERK1/2的相对表达量差异不明显, p-ERK1/2的相对表达量由高到低依次为Gen+5-FU、5-FU、对照组、Gen、PD98059、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059+Gen+5-FU, 提示5-FU和Gen+5-FU作用48 h后, 仍可显著激活MHCC97-L细胞ERK1/2活性, 而Gen作用48 h后, p-ERK1/2仅小幅度减少, 应用阻断剂的药物组ERK1/2活性进一步被抑制(图3)。

3 讨论

ERK1/2信号通路被视为肿瘤治疗的新靶点^[2-5], 他是调控细胞增殖的重要途径, 细胞增殖由细胞周期实现, 很多药物通过影响肿瘤细胞周期分布而致肿瘤细胞凋亡、坏死和自噬。Ma等^[6]证明在体内外, Gen能明显抑制肝癌细胞生长和血管生成, 抑制Akt的活化和NF-κB的活性, 进而抑制cyclin D1等与NF-κB相关基因产物的表达, 而cyclin D是细胞G₁/S期转化所必需的细胞周期蛋白^[7], 抑制cyclin D可导致细胞G₀/G₁期阻滞。Gu等^[8]通过体外实验提出, Gen可抑制肝癌MHCC97-H细胞的增殖、粘附与侵袭, 诱导细胞凋亡, 并呈浓度依赖, G₀/G₁期细胞阻滞, S期细胞减少。肝癌MHCC97-H和MHCC97-L细胞属于同源不同转移潜能的两个细胞系, 前者转移率高, 后者转移率低。本实验结果显示, Gen通过增加G₁/S期转化来诱导S期阻滞, S期阻滞可能由Gen少量降低ERK1/2活性来实现, 抑制ERK1/2通路可抵抗Genistein诱导的肝癌细胞S期阻滞。

一般认为, 激活ERK途径可以促进细胞生

长, 但有时也可以抑制细胞增殖, 因细胞种类、类型及其在不同环境中激活的机制而异^[9-11]。Shen等^[12]证明化疗药物(阿霉素)可以激活ERK通路。Lee等^[13]在研究佛波酯诱导人红白血病K562细胞分化时, 发现cyclin D1表达增加和cyclin B1表达降低是ERK活性持续上升的结果。Chen等^[14]报道, 硒代胱氨酸可通过激活ERK1/2来诱导S期阻滞, 促进人乳腺癌MCF-7细胞凋亡。Tsukada等^[15]发现, ERK通路对肝癌HepG2细胞增殖效应取决于ERK活化的水平, ERK活性在一定范围内可刺激肝癌细胞增殖, 低于此范围不能刺激细胞增殖, 高于此范围, 可致细胞周期停滞而抑制细胞增殖。本实验结果显示, 5-FU通过阻止S/G₂转化来实现S期阻滞, S期阻滞部分由5-FU显著激活ERK1/2活性来实现; Gen与5-FU联用(同时加药)抑制肝癌MHCC97-L细胞增殖主要以5-FU的作用为主, 在抗增殖作用中Gen和5-FU有协同作用, 但5-FU能拮抗Gen的S期阻滞; 联用后所致的p-ERK1/2相对表达量最高与S期阻滞有关; 抑制ERK1/2通路可促进5-FU单用和二者联用组诱导肝癌细胞S期阻滞。在Gen+5-FU、5-FU与Gen组中, 存在着一种趋势, 即p-ERK1/2相对表达量与抗MHCC97-L细胞生长抑制率、S期细胞阻滞和G₂/M期细胞减少依次由高到低(或由多到少)呈正相关。

总之, 本研究结果中, 同时看到不同药物可以通过激活或抑制ERK1/2磷酸化发挥抗肝癌细胞生长的生物学效应, Gen与5-FU单用及联用均可通过阻滞细胞周期来发挥抗肝癌细胞增殖的作用。不同的刺激因素及ERK1/2与其他信号途径的相互作用等都可能成为ERK1/2调控细胞周期的复杂因素, 这些因素也在不断的变化以达到某种平衡, 仍有待于深入探索与研究。

4 参考文献

- 1 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞

- MHCC97-L的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2474-2478
- 2 Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291-3310 [PMID: 17496923]
- 3 Wong KK. Recent developments in anti-cancer agents targeting the Ras/Raf/ MEK/ERK pathway. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2009; 4: 28-35 [PMID: 19149686]
- 4 Deng LF, Wang YH, Jia QA, Ren ZG, Shen HJ, Sun XJ, Li JH. [Anti-proliferation effect of sorafenib in combination with 5-FU for hepatocellular carcinoma in vitro: antagonistic performance and mechanism]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 845-849 [PMID: 24331695 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.11.011]
- 5 Guégan JP, Frémin C, Baffet G. The MAPK MEK1/2-ERK1/2 Pathway and Its Implication in Hepatocyte Cell Cycle Control. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 328372 [PMID: 23133759 DOI: 10.1155/2012/328372]
- 6 Ma Y, Wang J, Liu L, Zhu H, Chen X, Pan S, Sun X, Jiang H. Genistein potentiates the effect of arsenic trioxide against human hepatocellular carcinoma: role of Akt and nuclear factor- κ B. *Cancer Lett* 2011; 301: 75-84 [PMID: 21078540 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.022.]
- 7 陈誉华. 医学细胞生物学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 311
- 8 Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibitory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957 [PMID: 19842228]
- 9 Chang F, Steelman LS, Shelton JG, Lee JT, Navolanic PM, Blalock WL, Franklin R, McCubrey JA. Regulation of cell cycle progression and apoptosis by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway (Review). *Int J Oncol* 2003; 22: 469-480 [PMID: 12579299]
- 10 Hu H, Jiang C, Li G, Lü J. PKB/AKT and ERK regulation of caspase-mediated apoptosis by methylseleninic acid in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1374-1381 [PMID: 15845651]
- 11 Cagnol S, Chambard JC. ERK and cell death: mechanisms of ERK-induced cell death--apoptosis, autophagy and senescence. *FEBS J* 2010; 277: 2-21 [PMID: 19843174 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009]
- 12 Shen H, Xu W, Luo W, Zhou L, Yong W, Chen F, Wu C, Chen Q, Han X. Upregulation of mdrl gene is related to activation of the MAPK/ERK signal transduction pathway and YB-1 nuclear translocation in B-cell lymphoma. *Exp Hematol* 2011; 39: 558-569 [PMID: 21300134 DOI: 10.1016/j.exphem.2011.01.013]
- 13 Lee CH, Yun HJ, Kang HS, Kim HD. ERK/MAPK pathway is required for changes of cyclin D1 and B1 during phorbol 12-myristate 13-acetate-induced differentiation of K562 cells. *IUBMB Life* 1999; 48: 585-591 [PMID: 10683762]
- 14 Chen T, Wong YS. Selenocystine induces S-phase arrest and apoptosis in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by modulating ERK and Akt phosphorylation. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 10574-10581 [PMID: 18959417 DOI: 10.1021/jf802125t]
- 15 Tsukada Y, Miyazawa K, Kitamura N. High intensity ERK signal mediates hepatocyte growth factor-induced proliferation inhibition of the human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *J Biol Chem* 2001; 276: 40968-40976 [PMID: 11533045]

■同行评价

本文选题新颖, 实验方法科学, 结论可信. 为肝癌治疗提供了新的思路.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



人*Cdc25C*基因克隆及其原核表达载体的构建与表达

卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣

■背景资料

细胞周期蛋白 *Cdc25C* 是一个新的肿瘤相关抗原候选基因。前期初步研究表明 *Cdc25C* 有望成为新的肿瘤标志物。为进一步了解其与肿瘤发生、发展和预后的关系, 非常有必要利用基因工程的方法重组表达肿瘤相关抗原 *Cdc25C*。

卓少元, 钟卫干, 广西中医药大学生物化学与分子生物学教研室 广西壮族自治区南宁市 530001

陈承晓, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

卓少元, 副教授, 主要从事肝癌的中医药防治研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160264

肝脏保护与再生调节北京市重点实验室基金资助项目, No. 2011-2

作者贡献分布: 此项目由莫发荣设计; 质粒构建由卓少元完成; 蛋白表达由陈承晓完成; 实验过程由钟卫干、农蔚霞、黄天明及马步国协助完成; 本论文写作由卓少元与莫发荣完成。

通讯作者: 莫发荣, 副教授, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室。

farong.mo@rwth-aachen.de

电话: 0771-5358577

收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-21

接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-28

Cloning and prokaryotic expression of human *Cdc25C*

Shao-Yuan Zhuo, Cheng-Xiao Chen, Wei-Gan Zhong, Wei-Xia Nong, Tian-Ming Huang, Bu-Guo Ma, Fa-Rong Mo

Shao-Yuan Zhuo, Wei-Gan Zhong, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Cheng-Xiao Chen, Wei-Xia Nong, Tian-Ming Huang, Bu-Guo Ma, Fa-Rong Mo, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160264; and the Beijing Municipal Laboratory of Liver Protection and Regulation of Regeneration, No. 2011-2

Correspondence to: Fa-Rong Mo, Associate Professor, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. farong.mo@rwth-aachen.de

Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-21

Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To clone the human *Cdc25C* gene and construct a recombinant prokaryotic system to express this protein.

METHODS: Total RNA were isolated from human hepatocellular carcinoma Bel-7404 cells and reverse transcribed, and the resulting cDNA was used as a template to amplify the human *Cdc25C*

gene by RT-PCR. The amplified PCR product was cloned into pMD18-T and pET-32a(+) vectors and sequenced. Next, pET-32a(+)-*Cdc25C* was transformed into chemically competent *E. coli* strains, including BL21 (DE3), BL21 (DE3) pLysS and Transetta (DE3), to express the protein after induction with 0.25 mmol/L IPTG and ArtMedia™ protein expression, respectively. The fusion protein was identified by Coomassie staining and mass spectrometry analysis.

RESULTS: The *Cdc25C* gene and pMD18-T-*Cdc25C* and pET-32a(+)-*Cdc25C* vectors were obtained successfully. Three strains of *E. coli* which harbored the recombinant plasmid could express the TRx-His-*Cdc25C* fusion protein. The expressed protein was identical to the *Cdc25C* protein as revealed by Coomassie staining and mass spectrometry.

CONCLUSION: The recombinant protein of tumor-associated antigen *Cdc25C* has been successfully obtained.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tumor-associated antigen; Human *Cdc25C*; Prokaryotic expression

Zhuo SY, Chen CX, Zhong WG, Nong WX, Huang TM, Ma BG, Mo FR. Cloning and prokaryotic expression of human *Cdc25C*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2140-2144 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2140>

摘要

目的: 构建人*Cdc25C*基因的克隆载体和原核表达载体, 并诱导其在大肠杆菌中表达。

方法: 从人肝癌细胞株Bel-7404中提取总RNA, 经RT-PCR法扩增人*Cdc25C* cDNA后, 将其正确插入克隆载体pMD18-T和表达载体pET-32a(+), 并转化至BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3)三种感受态大肠杆菌中, 分别采用0.25 mmol/L IPTG和

■同行评议者

李家平, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院肿瘤介入科

ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达培养基诱导表达, 并对纯化的融合蛋白进行考马斯亮蓝染色和质谱分析鉴定。

结果: 成功扩增了*Cdc25C*基因, 并获得pMD18-T-*Cdc25C*克隆载体和pET-32a(+)-*Cdc25C*表达载体; 重组质粒在BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transtetta(DE3)三种感受态大肠杆菌中均诱导表达出TRx-His-*Cdc25C*融合蛋白; 考马斯亮蓝染色和蛋白质谱分析结果显示基因重组蛋白与目的蛋白相符。

结论: 获得肿瘤相关抗原*Cdc25C*重组蛋白, 为后续研究奠定基础。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肿瘤相关抗原; 人*Cdc25C*; 原核表达

核心提示: 本文从肝癌cDNA文库成功扩增了肝癌相关抗原*Cdc25C*基因, 并正确插入pMD18-T克隆载体和pET-32a(+)表达载体。原核表达出TRx-His-*Cdc25C*融合蛋白, 经蛋白质谱分析显示与目的蛋白相符。

卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣. 人*Cdc25C*基因克隆及其原核表达载体的构建与表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2140-2144 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2140>

0 引言

Cdc25C(cell division cyclin 25 homolog C)是一种细胞分裂周期蛋白质, 在真核生物细胞有丝分裂中起重要调节作用, 其编码的M期诱导因子磷酸酶3(M-phase inducer phosphatase 3), 与G₂/M期检测点关键调控分子*Cdc2/cyclin B*结合、互相活化, 控制着细胞进入有丝分裂的最后关卡^[1]。初步的研究发现细胞周期蛋白*Cdc25C*是一个肿瘤相关抗原候选基因(GenBank登录号为NM001790)^[2]。该候选基因属于CT抗原, 在正常组织局限表达而在肿瘤组织高水平表达。我们前期的RT-PCR检测结果显示, *Cdc25C*高表达于肝细胞癌(16/30)、膀胱癌(11/15)、肺癌(6/12)、乳腺癌(7/14)和结肠癌(22/31); 在肾癌(2/12)和胃癌(4/15)中低表达; 在非白血性白血病(0/13)中无表达。表明一些肿瘤患者的*Cdc25C*蛋白质具有了免疫原性, 有望成为新的肿瘤标志物^[3]。为了进一步了解*Cdc25C*在不同组织中的表达谱及其引起机体免疫反应的情况, 我们克隆了人*Cdc25C*基因

(NM_001790.4)的全长, 将其构建在pET-32a(+)-原核表达载体上, 成功诱导了*Cdc25C*的融合蛋白并进行了蛋白质谱鉴定, 为深入研究*Cdc25C*在肿瘤的发病、诊断和临床免疫治疗奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株Bel-7404(广西医科大学组织学与胚胎学教研室保存), DMEM培养基、胎牛血清(加拿大WISENT生物技术有限公司), RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司), 逆转录试剂盒、PCR试剂盒、限制性内切酶*BamH* I和*Xho* I(加拿大MBI Fermentas公司), 胶回收试剂盒、质粒DNA提取试剂盒(杭州博日科技有限公司), pMD18-T vector(大连宝生物工程有限公司), 感受态大肠杆菌DH5α、BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transtetta(DE3), 及ArtMedia™ Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基(北京全式金生物), 引物合成、基因测序(上海英骏生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 人肝癌细胞Bel-7404总RNA提取: 冻存的肝癌细胞株Bel-7404复苏后, 于含10%胎牛血清的DMEM培养基, 37℃、5%CO₂及饱和湿度的条件下培养48 h, 收集细胞。计数后按照试剂盒说明书进行总RNA的提取。以紫外分光光度法确定RNA的含量和纯度。

1.2.2 RT-PCR扩增并回收*Cdc25C*的cDNA片段: 采用MBI Fermentas逆转录试剂盒及其方法, 对抽提的肝癌细胞总RNA进行逆转录。以所得cDNA为模板, 用特异性引物Forward-5'CGGGATCC ATGTCTACGGAAGTCTTCTCATC-3'(含*BamH* I酶切位点)、Reverse-5'CCGCTCGAGTTAT CATGGGCTCATGTCCTTCACC-3'(含*Xho* I酶切位点), 对*Cdc25C*基因进行扩增。PCR扩增条件: 94℃ 3 min预变性, 94℃ 30 s、55℃ 30 s、72℃ 2 min, 35个循环, 最后72℃延伸5 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳鉴定后用胶回收试剂盒回收DNA片段。

1.2.3 克隆载体pMD18-T-*Cdc25C*的构建和序列测定: 将PCR扩增产物和pMD18-T载体分别用*BamH* I、*Xho* I双酶切2 h后, 电泳切胶回收, 经T4连接酶16℃连接12 h后转化至感受态大肠杆菌DH5α, 筛选阳性克隆, 送往上海英骏生物技术有限公司, 测序验证重组克隆中插入序列是否与要求相一致。

1.2.4 表达载体pET-32a(+)-*Cdc25C*的构建和序

■ 研发前沿

肿瘤免疫治疗的靶点和毒性作用与传统治疗措施没有重叠, 免疫效应细胞一旦被激活, 能通过特异识别肿瘤相关抗原杀死和破坏肿瘤细胞, 有效清除微转移灶, 预防肿瘤复发。要进行肿瘤的免疫治疗, 首先需要确定免疫治疗的有效靶点。

■ 相关报道

范忠义等从乳腺文库中扩增 *Cdc25C* 基因, 原核表达出人 GST-*Cdc25C* 融合蛋白用于细胞周期蛋白调控机制的研究; 张鹏等克隆了 MCF-7 细胞的 *Cdc25C* 全长基因, 得到了有磷酸酶活性的 GST-*Cdc25C* 融合蛋白。

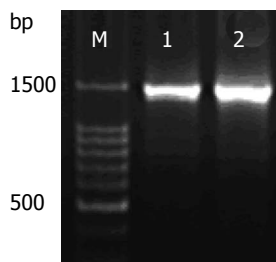
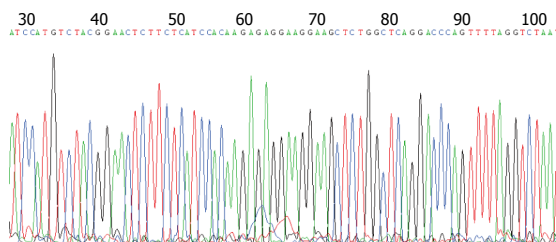


图1 *Cdc25C* 基因编码区PCR扩增。M: DNA marker(DL 1500); 1-2: *Cdc25C* 基因编码区RT-PCR扩增产物。



Homo sapiens cell division cycle 25C (CDC25C), transcript variant 1, mRNA
Sequence ID: gi56731625.1refNM_001790.4 Length: 2191 Number of Matches: 1

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|------------------|--------|---------------|------------|-----------|
| 1514 bits (1678) | 0.0 | 885/894 (99%) | 8/894 (0%) | Plus/Plus |

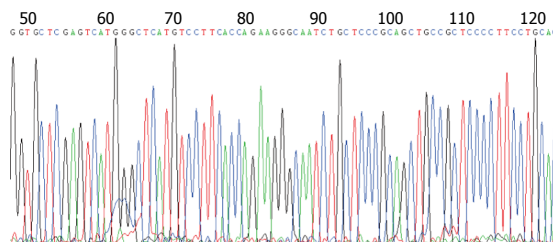
Range 1: 320 to 1210 GenBank Graphics

| | | | |
|-------|-----|---|-----|
| Query | 30 | CCATGCTCTACGAACTCTTCTCATCCACAGAGAGGAGGAAGTCTGGCTCAGGACCCA | 89 |
| Sbjct | 320 | CCATGCTCTACGAACTCTTCTCATCCACAGAGAGGAGGAAGTCTGGCTCAGGACCCA | 379 |
| Query | 90 | GTTTATGCTCTAATCAAGGAAATGTTAACTGCTCTGGAGAGACACTTCCTTTA | 149 |
| Sbjct | 380 | GTTTATGCTCTAATCAAGGAAATGTTAACTGCTCTGGAGAGACACTTCCTTTA | 439 |
| Query | 150 | CCGCTCTGTCAGATGTCCTAGAACTCCAGTGGGCAAAATTTCTTGGTGAATCTGCAACC | 209 |
| Sbjct | 440 | CCGCTCTGTCAGATGTCCTAGAACTCCAGTGGGCAAAATTTCTTGGTGAATCTGCAACC | 499 |

图2 pMD18-T-*Cdc25C* 阳性重组质粒测序与BLAST比对结果(部分)。

列测定: 将测序正确的pMD18-T-*Cdc25C* 重组表达质粒和pET-32a(+)载体分别用 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切2 h后, 电泳切胶回收 *Cdc25C* DNA 和 pET-32a(+)载体大片段, 经T4连接酶16 °C连接12 h后转化至感受态大肠杆菌 *DH5α*, 筛选阳性克隆, 送往上海英骏生物技术有限公司, 测序验证重组克隆插入片段的序列信息。

1.2.5 *Cdc25C* 蛋白的诱导表达及鉴定: 取测序正确的pET-32a(+)-*Cdc25C* 重组表达质粒, 分别转化至BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transtetta(DE3)感受态细胞, 接种于3 mL Amp⁺的LB培养液中, 37 °C恒温摇床振荡培养至A600约为0.8; 分别采用0.25 mmol/L IPTG和ArtMediaTM Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基两种方法进行诱导。其中IPTG方法采用1.5 mL菌液加0.7 μL 0.5 mol/L IPTG, 培养5 h; AM3方法则加入ArtMediaTM Protein Expression自动诱导表达培养基50 μL-1 mL, 培养12 h。诱导的蛋白经纯化后, 以10% SDS-PAGE胶电泳, 考马斯亮蓝染色观察, 并用ABI4700质谱仪进行蛋白质谱分析。



Homo sapiens cell division cycle 25C (CDC25C), transcript variant 1, mRNA
Sequence ID: gi56731625.1refNM_001790.4 Length: 2191 Number of Matches: 1

| Score | Expect | Identities | Gaps | Strand |
|------------------|--------|---------------|------------|------------|
| 1512 bits (1676) | 0.0 | 861/864 (99%) | 1/864 (0%) | Plus/Minus |

Range 1: 881 to 1743 GenBank Graphics

| | | | |
|-------|------|--|------|
| Query | 58 | TCATGGGCTCATGCTCTTACACAGAGGCAATCTGCTCCGACGCTCCGCTCCCTTC | 117 |
| Sbjct | 1743 | TCATGGGCTCATGCTCTTACACAGAGGCAATCTGCTCCGACGCTCCGCTCCCTTC | 1684 |
| Query | 118 | CTGCACITTTGCTCTGCTTCCGACACTCAGCACTCAGTCTTGTGGCTGATGATGAT | 177 |
| Sbjct | 1683 | CTGCACITTTGCTCTGCTTCCGACACTCAGCACTCAGTCTTGTGGCTGATGATGAT | 1624 |
| Query | 178 | AGGGCAGTAGCTCTGTTGGTTCACAGTTCATATATCTCGAAAGAGTCTCTGTAGCC | 237 |
| Sbjct | 1623 | AGGGCAGTAGCTCTGTTGGTTCACAGTTCATATATCTCGAAAGAGTCTCTGTAGCC | 1564 |

图3 pET-32a(+)-*Cdc25C* 阳性重组质粒测序与BLAST比对结果(部分)。

2 结果

2.1 人 *Cdc25C* 基因的扩增 以人肝癌细胞 Bel-7404 总RNA为模板对 *Cdc25C* 基因编码区进行RT-PCR扩增, 琼脂糖凝胶电泳显示的扩增条带与预期PCR产物片段大小1442 bp接近(图1)。

2.2 人 *Cdc25C* 克隆载体与表达载体的构建 pMD18-T-*Cdc25C* 阳性重组质粒经测序及BLAST比对, 发现重组克隆中插入序列与要求完全一致(部分测序与比对结果如图2, 图中BLAST比对显示序列一致度为99%是由所测序列800 bp以后的区段造成的, 为技术原因, 专门对后面区段进行测序即显示与原序列一致性, 下同), 表明 *Cdc25C* cDNA在PCR扩增过程中并未发生变异。而pET-32a(+)-*Cdc25C* 重组质粒经测序验证后, 克隆插入片段的序列信息也与目的基因相一致, 说明重组表达质粒构建成功(部分测序与比对结果如图3)。

2.3 TRx-His-*Cdc25C* 融合蛋白诱导表达及鉴定 大肠杆菌BL21(DE3)、Transtetta(DE3)和BL21(DE3)pLysS经原核表达载体pET-32a(+)-*Cdc25C* 转化, 在37 °C, 0.25 mmol/L IPTG诱导5 h条件下均有TRx-His-*Cdc25C* 融合蛋白(TRx-His相对分子质量约20 kDa, *Cdc25C* 相对分子质量约53 kDa)明显表达(图4)。与此同时, 利用50 μL-1 mL ArtMediaTM Protein Expression自动诱导表达培养基培养12 h, 也均能诱导pET-32a(+)-*Cdc25C* 转化菌株表达TRx-His-*Cdc25C* 融合蛋白(图5)。将蛋白从SDS-PAGE胶切下后进行MALDI-TOF-TOF MS/MS分析, 通过肽段同源性分析证实为 *Cdc25C*。图6为 *Cdc25C* 蛋白全长氨基酸序列, 红色的肽段是质谱分析与 *Cdc25C* 完全匹

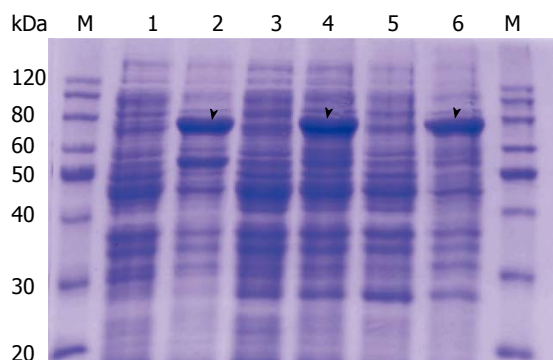


图 4 pET-32a(+)-Cdc25C重组质粒IPTG小量诱导表达. 图中箭头所指为TRx-His-Cdc25C融合蛋白. M: ProteinRuler™ II Marker; 1: 未诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 2: IPTG诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 3: 未诱导的Transtetta(DE3)菌体蛋白; 4: IPTG诱导的Transtetta(DE3)菌体蛋白; 5: 未诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白; 6: IPTG诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白.

配的部分.

3 讨论

Cdc25基因是被Wickramasinghe等鉴别出来的^[4], 可分为A、B、C 3种亚型. Cdc25A表达增加可促进G₁/S及G₂/M检测点之间的转变; Cdc25B和Cdc25C在控制进入M期和G₂/M检测点具有重要的作用^[5]. 有研究资料表明3种Cdc25亚型在G₁/S、G₂/M转变和M期中都有作用, 他们协同启动细胞进入S期和调控G₂/M的转变^[6]. Cdc25C基因存在5种剪切体, 定位于染色体5q31, 由14个外显子和14个内含子组成, 全长约2115 bp, 其cDNA的开放阅读框架由1419个核苷酸组成, 编码473个氨基酸, 分子量约为53.23 kDa^[3,7]. 在对Cdc25的研究过程中, 许多研究者逐渐认为细胞周期调节物可能是一种潜在的癌症治疗靶物质.

肿瘤最重要的特征是细胞的恶性增殖. 细胞周期调控机制的失活, 特别是G₁/S和G₂/M检测点的失活, 在细胞癌变过程中起着至关重要的作用^[8,9]. 越来越多的证据表明Cdc25C的过度表达会导致细胞周期G₂/M检测点失活, 进而引发细胞的恶性增殖^[3]. 通过抑制Cdc25C的表达或上调Cdc25C蛋白的降解途径可以有效抗肿瘤细胞增殖, 甚至诱发细胞凋亡^[10-12]. 作为参与G₂/M检测点调控的关键分子之一, Cdc25C或其剪接体已被发现在前列腺癌、结肠癌、乳腺癌和女阴鳞状细胞癌等多种恶性肿瘤组织或细胞株中过度表达^[13-16]. 因肿瘤发生与G₂/M检测点应答相关, 故推测Cdc25C磷酸酶也可以作为肿瘤治疗的有效靶点. 在以后的研究中可以合成Cdc25C

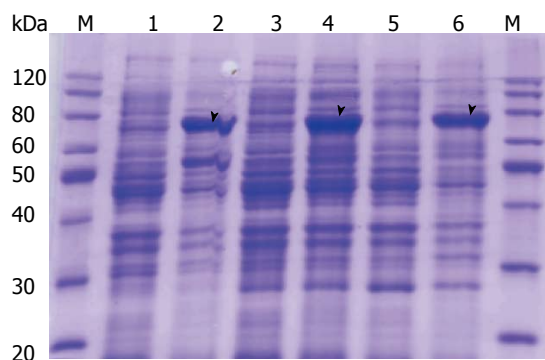


图 5 pET-32a(+)-Cdc25C重组质粒在ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达. 图中箭头所指为TRx-His-Cdc25C融合蛋白. M: ProteinRuler™ II Marker; 1: 未诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 2: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 3: 未诱导的Transtetta(DE3)菌体蛋白; 4: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的Transtetta(DE3)菌体蛋白; 5: 未诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白; 6: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白.

磷酸酶小分子抑制剂, 通过抑制Cdc25C磷酸酶寻找新奇的细胞周期抗癌靶点^[17].

目前国内对外对Cdc25C的研究, 主要侧重于研究其作为细胞周期调控因子的分子结构, 生物特性和作用机制. 而将Cdc25C作为肿瘤相关抗原的研究非常有限. 为进一步了解Cdc25C在不同组织中的表达谱, 能否有效地引起机体免疫应答, 以及其与肿瘤发生、发展和预后的关系, 非常有必要利用基因工程的方法重组表达Cdc25C. 本研究在成功构建人Cdc25C基因(NM_001790.4)全长的克隆载体和原核表达载体基础上, 分别采用小剂量IPTG和ArtMedia™ Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基两种方法, 在3种大肠杆菌BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transtetta(DE3)中均成功诱导表达出Cdc25C的融合蛋白. 这为今后研究Cdc25C在细胞中的功能及其与肿瘤细胞恶性增殖的关系, 进一步开展抗体血清学检测、抗体制备及其相关的研究, 以及开发Cdc25C全蛋白抗原疫苗和肽表位疫苗等奠定了实验基础.

4 参考文献

- 1 Perdiguero E, Nebreda AR. Regulation of Cdc25C activity during the meiotic G₂/M transition. *Cell Cycle* 2004; 3: 733-737 [PMID: 15136768 DOI: 10.4161/cc.3.6.906]
- 2 Wang X, Zhao H, Xu Q, Jin W, Liu C, Zhang H, Huang Z, Zhang X, Zhang Y, Xin D, Simpson AJ, Old LJ, Na Y, Zhao Y, Chen W. HPTaa database-potential target genes for clinical diagnosis and immunotherapy of human carcinoma. *Nucleic Acids*

■创新盘点

具有地方特色, 针对广西高发癌进行, 从肝癌细胞株提取总RNA逆转录为cDNA后重组表达Cdc25C. 首次将其作为肝癌相关抗原, 为下一步研究做准备.

■同行评价
本文具有一定的
实验意义。

1 mstelfsstr eegssgsgps frsnrkmln llerdtsft vcpdvprtpv gkfgdsani
61 silsggtprk dldslssg eitatqltts addldetghld ssglqevhla gmnhdqhlmk
121 cspaqlcst pngldgrhrk rdmcsssan kendngnlvd semkylgspi ttvpkldknp
181 nlgedqaeei sdelfmefslk dqeakvsrsq lyrspsmpen lnrprlkqve kfkndtipdk
241 vkkkyfsggg klrkgldlkk tvslcditit qmleedsnqq hligdfskvc alptvsgkhq
301 dlkyvnptev aallsgkfqq liekfvidc rypyeylggh iqgalnlysq eelfnfflkk
361 pivpldtqkr iivfhcefs sergprmcrc lreedrslnq ypalyypely ilkgyrdff
421 peymelcepq sycpmhhdh ktellrcrsq skvqegerql reqiallvkd msp

图 6 Cdc25C蛋白全长氨基酸序列。图中红色的区域表示通过质谱法测序匹配的肽。

- Res 2006; 34: D607-D612 [PMID: 16381942 DOI: 10.1093/nar/gkj082]
- 3 莫发荣. 细胞周期蛋白Cdc25C的研究. 生命的化学 2010; 30: 889-892
 - 4 Wickramasinghe D, Becker S, Ernst MK, Resnick JL, Centanni JM, Tessarollo L, Grabel LB, Donovan PJ. Two CDC25 homologues are differentially expressed during mouse development. *Development* 1995; 121: 2047-2056 [PMID: 7635051]
 - 5 Nilsson I, Hoffmann I. Cell cycle regulation by the Cdc25 phosphatase family. *Prog Cell Cycle Res* 2000; 4: 107-114 [PMID: 10740819 DOI: 10.1007/978-1-4615-4253-7_10]
 - 6 Boutros R, Dozier C, Ducommun B. The when and wheres of CDC25 phosphatases. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18: 185-191 [PMID: 16488126 DOI: 10.1016/j.ceb.2006.02.003]
 - 7 张晖, 陈秋生. 细胞周期调控因子Cdc25的研究进展. 中国兽医科学 2008; 38: 447-450
 - 8 Kawabe T. G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 513-519 [PMID: 15078995]
 - 9 Chen T, Stephens PA, Middleton FK, Curtin NJ. Targeting the S and G2 checkpoint to treat cancer. *Drug Discov Today* 2012; 17: 194-202 [PMID: 22192883 DOI: 10.1016/j.drudis.2011.12.009]
 - 10 凌晖, 苏琦, 廖前进, 唐海林, 曾希. Cdc25C cyclin B1在二烯丙基二硫化物诱导人胃癌BGC823细胞G2/M期阻滞中的作用. 中国肿瘤临床 2008; 35: 1299-1302
 - 11 Chou YW, Zhang L, Muniyan S, Ahmad H, Kumar S, Alam SM, Lin MF. Androgens upregulate Cdc25C protein by inhibiting its proteasomal and lysosomal degradation pathways. *PLoS One* 2013; 8: e61934 [PMID: 23637932 DOI: 10.1371/journal.pone.0061934]
 - 12 Lo YH, Lin IL, Lin CF, Hsu CC, Yang SH, Lin SR, Wu MJ. Novel acyclic enediynes inhibit Cyclin A and Cdc25C expression and induce apoptosis phenomenon to show potent antitumor proliferation. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 4528-4536 [PMID: 17485212 DOI: 10.1016/j.bmc.2007.04.024]
 - 13 Ozen M, Ittmann M. Increased expression and activity of CDC25C phosphatase and an alternatively spliced variant in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4701-4706 [PMID: 16000564 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2551]
 - 14 Hernández S, Bessa X, Beà S, Hernández L, Nadal A, Mallofré C, Muntane J, Castells A, Fernández PL, Cardesa A, Campo E. Differential expression of cdc25 cell-cycle-activating phosphatases in human colorectal carcinoma. *Lab Invest* 2001; 81: 465-473 [PMID: 11304565 DOI: 10.1038/labinvest.3780254]
 - 15 Albert H, Santos S, Battaglia E, Brito M, Monteiro C, Bagrel D. Differential expression of CDC25 phosphatases splice variants in human breast cancer cells. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 1707-1714 [PMID: 21675940 DOI: 10.1515/CCLM.2011.635]
 - 16 Wang Z, Trope CG, Flørenes VA, Suo Z, Nesland JM, Holm R. Overexpression of CDC25B, CDC25C and phospho-CDC25C (Ser216) in vulvar squamous cell carcinomas are associated with malignant features and aggressive cancer phenotypes. *BMC Cancer* 2010; 10: 233 [PMID: 20500813 DOI: 10.1186/1471-2407-10-233]
 - 17 Garuti L, Roberti M, Pizzirani D. Synthetic small molecule Cdc25 phosphatases inhibitors. *Curr Med Chem* 2008; 15: 573-580 [PMID: 18336271 DOI: 10.2174/092986708783769722]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值

刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵娴

刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 河北医科大学第四医院CT室 河北省石家庄市 050021

邵娴, 石家庄市妇产医院麻醉科 河北省石家庄市 050021

刘辉, 主管技师, 主要从事磁共振检查技术, 磁共振扩散成像在肿瘤方面的应用, 尤其是在肿瘤治疗后的疗效评估方面的应用。

河北省2013年医学科学研究重点课题计划基金资助项目, No. 20130244

作者贡献分布: 此课题由刘辉与时高峰设计; 时高峰对课题中出现的问题进行指导; 研究过程由刘辉、李如迅、贾丽涛及翟英敏共同完成; 数据分析由刘辉与邵娴共同完成; 本论文写作由刘辉完成。

通讯作者: 邵娴, 主治医师, 050021, 河北省石家庄市中山路160号, 石家庄市妇产医院. liujiayi20080219@126.com

电话: 0311-66696238

收稿日期: 2014-03-02 修回日期: 2014-04-08

接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-28

Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Ying-Min Zhai, Xian Shao

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Ying-Min Zhai, Department of CT, Hebei Tumor Hospital, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China

Xian Shao, Shijiazhuang Maternity Hospital, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China

Supported by: the 2013 Medical Scientific Research Key Project of Hebei Province, No. 20130244

Correspondence to: Xian Shao, Attending Physician, Shijiazhuang Maternity Hospital, 160 Zhongshan Road, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China. liujiayi20080219@126.com

Received: 2014-03-02 Revised: 2014-04-08

Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the relevance between apparent diffusion coefficient (ADC) values and the living status of patients with esophageal carcinoma using magnetic resonance diffusion-weighted imaging (MR-DWI).

METHODS: Eighty-eight patients with esophageal cancer who underwent radiotherapy from March 2010 to March 2011 were included. MR-

DWI imaging was performed in the 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th, and 6th week during radiotherapy and the 1st week after radiotherapy, and ADC values were calculated. After radiotherapy, the patients were followed once every six months until March, 2013. The correlation between the patients' living status after radiotherapy and the ADC values was analyzed.

RESULTS: The ADC had significant difference between before and after radiotherapy ($P < 0.01$). From the 4th week, the correlation between ADC values and the patients' living status became significant ($P < 0.05$). The correlation was even more significant between the 6th week during radiotherapy and the 1st week after radiotherapy ($P < 0.01$). The correlation increased gradually from the 4th week during radiotherapy to the 1st week after radiotherapy. The smaller the average ADC values, the poorer the survival.

CONCLUSION: The correlation between the patients' living status and the ADC values during radiotherapy has statistical significance, and ADC values can be used to assess the prognosis of esophageal cancer patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; DWI; Radiotherapy; ADC values

Liu H, Shi GF, Li RX, Jia LT, Zhai YM, Shao X. Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2145-2149 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2145.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2145>

摘要

目的: 利用磁共振扩散加权成像技术, 来观察食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间表现扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值的相关性。

■背景资料

我国是食管癌的高发国家。放射治疗已成为中晚期食管癌主要治疗手段之一。但是如何评价食管癌患者经过放射治疗后的远期生存状态, 是临床上面临的关键问题。本文利用磁共振扩散成像技术来早期评价食管癌放射治疗后远期的生存状态。

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研究前沿

目前研究集中在磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)对于肿瘤的发现、术前分级方面,少有应用于放疗的报道,难点在于对于食管癌放疗效果的早期评估。

方法: 收集2010-03/2011-03放射治疗的食管癌患者88例,分别于放疗开始第1、2、3、4、5、6周以及放疗后1 wk行磁共振常规及扩散扫描,测量并计算ADC值。放射治疗结束后,每半年对食管癌患者随访一次,最终随访日期为2013-03。统计食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间ADC值的相关性。

结果: 食管癌放射治疗前后ADC值存在显著性差异($P<0.01$)。食管癌患者放射治疗期间第4周开始ADC值和生存状态呈现出在0.05水平上的显著相关性。放疗期间第6周和放疗后1 wk的ADC与生存状态在0.01的水平上呈现显著相关性。并且,生存状态与第4、5、6周、放疗后1 wk ADC的相关性逐渐增强。放射治疗的食管癌患者7 wk ADC值数据的平均值越小时,患者生存的几率越小。

结论: 食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间ADC值有显著的相关性,并且可以通过监测患者治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; 扩散加权成像; 放疗; ADC值

核心提示: 食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值有显著的相关性,并且可以通过监测患者治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后。

刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵娴. 磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2145-2149 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2145.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2145>

0 引言

我国是食管癌的高发国家^[1]。放射治疗已成为中晚期食管癌主要治疗手段之一。但是如何评价食管癌患者经过放射治疗后的远期生存状态,是临床上面临的关键问题。如今随着磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)技术的应用^[2],使我们的视野从单纯的形态学改变到功能代谢方面的改变。为我们评价放射治疗后的远期生存状态提供了一种新的思路。本研究对88例经放射治疗的食管癌患者进行随访研究,以探讨放射治疗期间表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值与放射治疗后生存

状态相关性的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 本课题收集我院2010-03/2011-03采用放射治疗的食管癌患者88例,男51例,女37例,病例的选取标准:(1)该组患者放射治疗前均取得食管癌病理;(2)该组患者放射治疗前都进行食管造影检查;(3)该组患者磁共振检查前都进行体温测量,未发现体温异常;(4)该组患者放射治疗过程中未使用化疗相关的药物。放疗结束后对所收集病例每半年进行随访,最终随访为2013-03。随访要求:(1)询问生存状态;(2)询问目前一般情况,比如进食是流食、半流食、还是普食;(3)询问近期是否复查,以及有无咳嗽、发热等症状;(4)如果患者已经死亡,需要了解该患者的死因及死亡时间。至2013-03本组病例中,存活患者42例用'0'表示,死亡患者44例用'1'表示。本组病例中1例非癌症死亡,2例失访。

1.2 方法

1.2.1 扫描时间及扫描前准备: 所有食管癌患者放射治疗时间为6 wk,分别于每周初行磁共振扫描。第1周所得磁共振图像为放疗前。并于放射治疗结束后1 wk,也就是第7周行磁共振扫描,所得图像为放疗后。患者行磁共振检查前4-6 h禁食、水。进入扫描室前,告知患者扫描过程及注意事项,并且训练患者呼吸。进入扫描室后采取仰卧位双手抱头,放置体部线圈及呼吸、心电图门控。采用西门子Avanto超导型磁共振扫描仪进行检查。

1.2.2 影像的采集: T1横断面(2D-FLASH): TR/TE = (100/4.7)ms; 翻转角为70度; FOV 400 mm × 350 mm; 矩阵256 × 256; AVERAGE 1; 层厚4 mm; 层间距0.8 mm。T2横断面(2D-TSE): TR/TE = (1600/72)ms; 翻转角为150度; FOV 400 mm × 350 mm; 矩阵384 × 256; AVERAGE 2; 层厚4 mm; 层间距0.8 mm。扩散横断面: TR/TE = (6800/70)ms; FOV 400 mm × 350 mm; 矩阵128 × 128; AVERAGE 8; 层厚3 mm; 层间距0 mm; 扩散敏感因子(b值0、800 s/mm²)。

1.2.3 放疗: 患者采用真空体膜固定,行磁共振及增强CT扫描,扫描范围包括颈部及胸部,应用Pinnacle 8.0c治疗计划系统对所得图像进行分析,由放射和放疗科医师共同对大体肿瘤体积、临床靶体积及计划靶体积进行勾画。勾画原则:(1)结合增强CT图像及磁共振扩散加权图像,并结合食管镜检结果勾画大体肿瘤体积;(2)

■相关报道

国内相关报道,有关于DWI在消化系统肿瘤术前分级以及淋巴结转移方面的报道,有关于DWI在肿瘤放射治疗靶区勾画方面的应用报道,未见DWI在食管癌放疗疗效评估方面的报道。

表 1 所测ADC值与生存状态('1')的相关性

| | 第1周 | 第2周 | 第3周 | 第4周 | 第5周 | 第6周 | 放疗后1 wk |
|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| r值 | -0.063 | -0.216 | -0.217 | -0.334 | -0.341 | -0.508 | -0.629 |
| P值 | 0.586 | 0.200 | 0.196 | 0.047 | 0.049 | 0.004 | 0.000 |

ADC: 表观扩散系数; '1': 死亡病例。

表 2 7 wk ADC的均值与生存状态的相关性

| B | S.E. | Wals | df | Sig. | Exp(B) |
|--------|-------|-------|----|-------|---------|
| -2.161 | 0.983 | 4.831 | 1 | 0.028 | 0.115 |
| 4.621 | 2.109 | 4.799 | 1 | 0.028 | 101.609 |

ADC: 表观扩散系数。

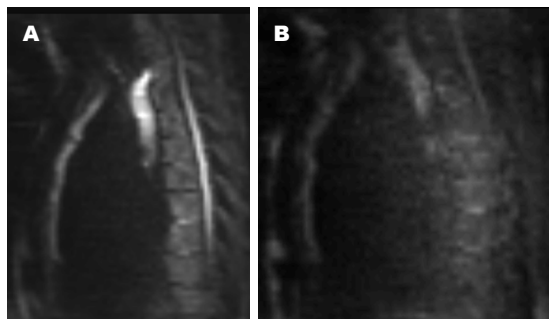


图 1 食管癌放疗前及放疗后扩散加权图像表现。A: 食管癌放疗前表现; B: 食管癌放疗后表现。

将大体肿瘤体积前后左右各外扩0.5 cm, 上下各外扩2.0 cm来确定临床靶体积; 将临床靶体积前后左右各外扩0.5 cm, 上下各外扩1.0 cm来确定计划靶体积; (3)对应像脊髓、心脏这样的危险器官所确定的照射剂量不得超过器官自身的耐受剂量。靶区每日照射1次, 每周照射5次, 总照射次数为27-35次, 每次照射剂量为180-200 cGy。

1.2.4 扩散图像ADC值的测量: 由两位具有多年工作经验的放射科医师对图像进行评价, 将所得扩散图像通过影像后处理工作站自动拟合成ADC图。选择显示肿瘤最大、最清楚的层面作为感兴趣区, 对于同一患者, 每幅ADC图感兴趣区选择尽量在同一区域, 以平扫及DWI作为参照。每个兴趣区测量3个ADC值。感兴趣区的选择要注意避开肿瘤坏死、肿瘤内钙化、血管、周围正常组织等。

统计学处理 本研究应用SPSS19.0统计软件进行数据处理, 所用到的统计方法有显著性差异分析法、相关性分析法、Logistic回归分析法。在对食道癌放疗前后ADC值是否具有

显著差异性的分析中, 用显著性差异法进行比较, $P < 0.05$ 为通过检验; 在判断所测ADC值与生存状态是否相关的分析中, 用到了相关性分析法, 检测水准 $P < 0.05$ 判断为显著相关; 在判断ADC值均值与患者生存几率的关系中, 用到了Logistic回归分析, 检测水准为 $P < 0.05$ 为通过检验, 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管癌放疗前后ADC值的比较 放疗治疗前后食管癌病变ADC值分别为 $1.49 \text{ mm}^2/\text{s}$ 、 $2.47 \text{ mm}^2/\text{s}$, $P = 0.001 (P < 0.05)$ 存在显著性差异。食管癌扩散加权图像表现如图1。

2.2 所测ADC值与生存状态的相关性分析 从第4周开始, ADC值与生存状态呈现显著相关性关系($P < 0.05$), 并且从第4周开始, 相关性越来越强。相关系数为负, 说明ADC值越大, 生存状态越背离于'1', 即患者越趋向于存活(表1)。

2.3 7周ADC的均值与生存状态的相关性分析 以7周ADC的均值为自变量, 生存状态为因变量建立Logistic模型, 模型显示患者7 wk ADC数据的平均值越小时, 患者生存的几率越小($P = 0.028 < 0.05$, 表2)。

3 讨论

3.1 扩散加权成像的相关知识 扩散成像是目前应用于临床的检查方法中, 惟一可以测量人体内水分子扩散运动的方法。扩散运动反应的是微观分子的运动变化, 间接反应组织的空间变化及病理变化, 能够早期反应出组织间的细微差异。但是人体一些生理性的运动以及温度、

■创新盘点

本研究首先发现食管癌放疗前后表观扩散系数有显著性差异, 所以表观扩散系数可以作为评价食管癌放疗效果的指标, 并且从第四周开始测得的表观扩散系数与患者的生存状态相关性逐渐增强。

■应用要点

通过测量食管癌放疗期间的表现扩散系数,可以对放疗的效果,以及患者远期生存状态进行评价。为是否增加其他方法的治疗提供早期依据,从而延长患者生存期。

血流灌注等因素都会影响扩散图像。因此我们用ADC值来评价扩散成像的结果^[3]。

b值的选择对DWI图像及ADC值的测量至关重要。较小b值时,主要反应的是组织的灌注变化,不能真实的反应水分子的扩散情况。较大b值时,扩散加权较大,对扩散更加敏感,但同时也增加了信号的衰减,图像更容易变形,模糊。不同脏器或组织自身的水分子所处的周围环境不尽相同、扩散特点不同,所以并不是某一种b值适合于所有的脏器。曾治民等^[4]研究发现b = 600 s/mm²时对于肺癌的显示效果最佳。张晓鹏等^[5]研究发现b = 1000 s/mm²时对于胃癌的显示效果最佳。郭雪梅等^[6]认为b = 800 s/mm²时,对于前列腺肿瘤的诊断有很高的准确性。本研究选用b = 800 s/mm²所得到的扩散图像可以清晰的显示食管癌病灶。

3.2 扩散加权成像对肿瘤显示方面的应用 肿瘤细胞与正常组织细胞的不同主要表现在,肿瘤细胞增殖较正常细胞活跃,细胞的数量增加。并且肿瘤细胞形态发生异常,表现为多型性。导致细胞外间隙变小,从而阻碍了水分子的自由扩散运动,扩散图像上表现为信号的增高。张连华等^[7]的研究显示DWI诊断膀胱癌的敏感度、特异度和准确度分别为92.3%、75.0%和90.4%。李莉等^[8]的研究显示DWI诊断恶性肿瘤及全身转移的敏感度分别为96.6%和69.1%,特异度均为53.5%,准确度为88.1%和66.1%。罗宁斌等^[9]的研究显示磁共振扩散成像对乳腺癌淋巴结转移诊断具有重要的价值。陆军等^[10]的研究显示,在肺癌放疗肿瘤靶区勾画过程中应用DWI技术并配合常规扫描,可明确判断肿瘤勾画范围的占63.3%。本研究食管癌在扩散图像上表现为高信号,能够很好地区分肿瘤和正常组织。

3.3 扩散加权成像对肿瘤治疗疗效评估方面的应用价值 恶性肿瘤在接受有效治疗后,由于肿瘤细胞的坏死和凋亡,致使细胞的数量减少、密度减低,细胞间隙增大,水分子扩散状态重新变得自由,在扩散图像上往往表现为信号降低以及ADC值的升高。高影等^[11]研究显示乳腺癌新辅助化疗前ADC值为0.98 mm²/s±0.16 mm²/s、化疗后为1.22 mm²/s±0.26 mm²/s,表明ADC值可以作为新辅助化疗早期评价指标。田霞等^[12]研究表明肺癌脑转移瘤放疗前后瘤灶实质区ADC值差异显著,ADC值有助于肺癌脑转移瘤放疗前后疗效评估。聂翔等^[13]研究发现鼻咽癌放疗前后病变

ADC值有显著差异,并且放疗前ADC值与体积消退百分比呈负相关,扩散加权成像可以早起预测肿瘤治疗效果。马霄虹等^[14]研究发现扩散加权成像通过反映细胞密度或肿瘤血管密度可以早期判断肝癌介入治疗的效果,该方法早于肿瘤形态学的变化。张丽芝等^[15]的研究发现扩散加权成像可以无创并准确的评价乳腺浸润性导管癌新辅助化疗的治疗效果。

本研究通过对放射治疗的食管癌病例随访发现食管癌患者放射治疗期间第4周开始ADC值和生存状态呈现出在0.05水平上的显著相关性。研究表明食管癌患者放射治疗至少需要3 wk以上才能发挥治疗作用,而3 wk以内的治疗对患者生存率的贡献不大。放疗期间第6周和放疗后1 wk的ADC与生存状态在0.01的水平上呈现显著相关性。并且,生存状态与第4、5、6周、放疗后1 wk ADC的相关性在逐渐增强。表明患者在放射治疗半程到全程的过程中是进行性获益。另外放射治疗的食管癌患者7 wk ADC值数据的平均值越小时,患者生存的几率越小。表明ADC值越小残存肿瘤细胞越多,反之治疗效果越好,为后续治疗提供依据。本研究最长随访时间为3年,今后的研究中会进一步对该组患者进行随访,以期能达到五年甚至更长的随访时间,故这方面有待进一步研究。

总之,食管癌放射治疗前后ADC值存在显著性差异,说明治疗方案有效,并且可以根据ADC值来判断患者的治疗效果。放射治疗期间ADC值与食管癌患者的远期生存状态有明显的相关性,并且可以通过监测患者的治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后。必将有广泛的临床应用前景和价值。

4 参考文献

- 1 曾红梅,郑荣寿,张思维,邹小农,李霓,代珍,陈万青. 中国食管癌发病趋势分析和预测. 中华预防医学杂志 2012; 46: 593-597
- 2 党荣广,韩春. 弥散加权成像技术在食管癌精确放疗中的应用价值. 国际肿瘤学杂志 2012; 39: 41-44
- 3 毛瑜,陈韵彬. 磁共振弥散加权成像在肝脏疾病中的临床应用. 实用放射学杂志 2008; 24: 126-128
- 4 曾治民,廖琴,蔡婧,刘安文. 磁共振扩散加权成像及ADC值测量对非小细胞肺癌肺门纵隔淋巴结的鉴别诊断价值. 中国肿瘤临床 2012; 39: 706-710
- 5 张晓鹏,唐磊,孙应实,李洁,曹崑. 胃癌MR扩散加权成像扩散敏感因子的选择及其与常规序列的对照研究. 中华放射学杂志 2007; 41: 1339-1343
- 6 郭雪梅,王霄英,吴冰,蒋学祥. 前列腺外周带癌扩散加权成像诊断标准. 中国医学影像技术 2009; 25: 1235-1238
- 7 张连华,朱寅杰,薄隽杰,刘东明,黄翼然. 磁共振扩散

- 加权成像在膀胱肿瘤诊断中的应用价值. 肿瘤 2012; 32: 1025-1029
- 8 李莉, 任转琴, 陈涛, 张雷, 李静, 苟晓光, 李杨. 大范围扩散加权成像和全身一体化MRI在恶性肿瘤及全身转移诊断中的应用. 实用放射学杂志 2010; 26: 1661-1665
- 9 罗宁斌, 苏丹柯, 刘丽东, 金观桥, 朱旭娜, 谢东. 弥散加权成像对乳腺癌腋窝淋巴结转移的诊断价值. 实用放射学杂志 2012; 28: 1549-1552, 1568
- 10 陆军, 赵海涛, 朱勇, 石梅, 魏丽春, 薛莹. 磁共振成像在肺癌放疗肿瘤区确认中的价值. 医疗卫生装备 2010; 31: 76-77, 80
- 11 高影, 程流泉, 刘梅, 张艳君, 王建东, 郑一琼, 李捷, 李席如. MRI对局部进展期乳腺癌新辅助化疗早期疗效评价. 中国医学影像学杂志 2012; 20: 321-324
- 12 田霞, 陆紫微, 孙琪, 谢道海. MRI在肺癌脑转移瘤诊断和放疗疗效判定中的价值. 中国血液流变学杂志 2012; 22: 152-155
- 13 聂翔, 李金高. 鼻咽癌磁共振弥散加权成像与放疗疗效的相关性研究. 实用癌症杂志 2011; 26: 627-629
- 14 马霄虹, 周纯武. MR扩散加权及灌注成像对肝癌介入治疗疗效的研究进展. 国际医学放射学杂志 2013; 36: 344-348
- 15 张丽芝, 曾涵江, 黄子星, 余建群. MRI扩散加权成像对乳腺浸润性导管癌新辅助化疗效果的评价. 中国普外基础与临床杂志 2013; 20: 88-91

■同行评价

本文有一定的创新性和科学性, 对临床工作有意义, 具有可读性.

编辑 郭鹏 电编 都珍珍



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。

多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果

谢英姿, 张茂华

■背景资料

随着现代生活水平的提高,我国糖尿病患者数正呈逐年上升的趋势,而糖尿病胃轻瘫作为其消化系统慢性并发症之一,也随之增多,严重影响患者的生活质量。在诊治上西医治疗存在一定局限性,中西医结合治疗糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)前景是诱人的。

谢英姿, 张茂华, 浙江省台州市中心医院中西医结合科 浙江省台州市 318000

谢英姿, 主治医师, 主要从事中西医结合内科糖尿病代谢综合征的研究。

作者贡献分布: 谢英姿与张茂华对此文所作贡献均等; 此课题由张茂华设计; 研究过程由谢英姿与张茂华操作完成, 数据分析由谢英姿完成; 本论文写作由谢英姿与张茂华共同完成。

通讯作者: 谢英姿, 主治医师, 318000, 浙江省台州市经济开发区东海大道999号, 浙江省台州市中心医院中西医结合科。

xieyz@enzemed.com

电话: 13586079793

收稿日期: 2014-04-11 修回日期: 2014-04-29

接受日期: 2014-04-30 在线出版日期: 2014-05-28

Hewefang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis

Ying-Zi Xie, Mao-Hua Zhang

Ying-Zi Xie, Mao-Hua Zhang, Department of Integrated TCM & Western Medicine, Taizhou Central Hospital, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Ying-Zi Xie, Attending Physician, Department of Integrated TCM and Western Medicine, Taizhou Central Hospital, 999 Donghai Road, Economic Development Zones, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. xieyz@enzemed.com

Received: 2014-04-11 Revised: 2014-04-29

Accepted: 2014-04-30 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of Hewefang combined with domperidone in the treatment of diabetic gastroparesis (DGP).

METHODS: One hundred and twenty patients with DGP were divided into a Hewefang group, a domperidone group and a combination treatment group, which were treated with Hewefang alone, domperidone alone, and Hewefang combined with domperidone, respectively. The clinical effects and symptom score between pre-treatment and post-treatment, as well as adverse reactions and recurrence rate were compared between different groups.

RESULTS: The total response rate in the com-

bination treatment group was significantly higher than those in the Hewefang group and domperidone group (82.50% vs 60.00%, 50.00%, $P < 0.05$). The symptom scores after treatment were significantly lower than those before treatment for all the three groups (9.82 ± 5.86 vs 12.28 ± 5.46 , 10.26 ± 4.84 vs 12.19 ± 5.50 , 5.99 ± 3.63 vs 12.45 ± 4.99 , $P < 0.05$). The symptom score in the combination treatment group was significantly lower than those in the Hewefang group and domperidone group (5.99 ± 3.63 vs 9.82 ± 5.86 , 10.26 ± 4.84 , $P < 0.05$). Only 2 cases in the domperidone group developed slight dizziness and abdominal pain, which spontaneously resolved in a short time. There was no significant difference in the incidence of adverse reactions among the three groups (0.00% vs 5.00% vs 0.00%, $P > 0.05$). The recurrence rate in the combination treatment group was significantly lower than those in the Hewefang group and domperidone group (15.00% vs 45.00%, 52.50%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Hewefang combined with domperidone can improve the symptom score in patients with DGP, with a lower recurrence rate and better curative effect than either drug alone.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hewefang; Domperidone; Diabetic gastroparesis; Clinical effect

Xie YZ, Zhang MH. Hewefang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2150-2154 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2150.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2150>

摘要

目的: 探讨和胃方联合多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)的临床疗效。

方法: 按照随机数字表法将我院收治的120例

■同行评议者

杨钦河, 教授, 暨南大学医学院中医系

DGP患者均分为和胃方组、多潘立酮组和联合组, 和胃方组给予和胃方治疗, 多潘立酮组给予多潘立酮治疗, 联合组给予和胃方+多潘立酮治疗, 比较3组患者临床疗效、治疗前后症状评分改善情况、用药后不良反应以及复发率。

结果: 联合组患者治疗总有效率显著高于和胃方组及多潘立酮组(82.50% vs 60.00%)、(82.50% vs 50.00%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 3组患者治疗后症状评分均显著下降, 与治疗前比较(9.82 ± 5.86 vs 12.28 ± 5.46)、(10.26 ± 4.84 vs 12.19 ± 5.50)、(5.99 ± 3.63 vs 12.45 ± 4.99), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 联合组患者治疗后症状评分显著低于和胃方组及多潘立酮组(5.99 ± 3.63 vs 9.82 ± 5.86)、(5.99 ± 3.63 vs 10.26 ± 4.84), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 仅多潘立酮组患者用药后发生2例轻微头晕、腹痛, 短时间内自行消失, 3组患者用药后不良反应发生率比较(0.00% vs 5.00% vs 0.00%), 差异无统计学意义($P>0.05$); 联合组患者治疗后8周复发率明显低于和胃方组和多潘立酮组(15.00% vs 45.00%)、(15.00% vs 52.50%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 和胃方联合多潘立酮能够显著改善DGP患者临床症状, 无不良反应, 复发率也较低, 较单独用药临床疗效更佳。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 和胃方; 多潘立酮; 糖尿病胃轻瘫; 疗效

核心提示: 本研究中使用自拟和胃方作为基础方治疗, 方中陈皮可破滞气、益脾胃, 木香有行脾胃大肠之气滞、止痛的效果, 枳壳能行气除痞、消积导滞, 香附则可疏肝解郁、行气散结之功, 紫苏梗能宽中行气止痛, 5药均为治疗胃失和降、脾运化失健、痞满等症的常用胃动力中药, 再加鸡内金以健脾消食。诸药合用共奏行气除痞、健脾养胃、消积化滞之功效。

谢英姿, 张茂华. 多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2150-2154
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2150.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2150>

0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的常见并发症, 属于不伴有机械性梗阻的胃动力障碍。DGP临床发病

率较高, 约占DM的50%-75%, 患者主要表现为厌食、呕吐、恶心、腹胀、早饱等症状, 影响正常生活和血糖波动预测, 影响糖尿病血糖控制, 甚至继发器官病变^[1]。因此, 积极预防和治疗DGP是DM治疗过程中的重要环节。我院采用和胃方联合多潘立酮治疗DGP取得了令人满意的临床效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2013-01/2014-01我院收治的120例DGP患者作为研究对象。所有患者均符合中华医学会糖尿病学分会发布的《中国糖尿病诊治指南简介》^[2]中DM西医诊断标准、《内科疾病诊断标准(第二版)》^[3]中DGP西医诊断标准和《中药新药临床研究指导原则》^[4]中痞满证的中医诊断标准、全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材《中医内科学(第九版)》^[5]DGP中医诊断标准。患者DM病程均在5年以上, 胃排空症状持续3 mo以上。排除入选前1 mo内服用镇静剂、胆碱能拮抗剂、抑酸剂、促动力药物及其他可对本研究结果产生影响药物的患者; 近期血糖控制效果不佳, 出现糖尿病急性并发症者; 对本研究使用药物过敏者; 有腹部手术史者; 严重脏器功能不全或有消化性疾病者。按照随机数字表法将120例患者均分为和胃方组、多潘立酮组和联合组, 3组患者在性别、年龄、病程及症状评分等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。所有患者均签署知情同意书, 愿意配合为期8 wk随访。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 3组患者均给予综合干预, 包括(1)饮食控制: 控制脂肪胆固醇摄入量, 补充维生素、钙和铁, 增加磷的摄入, 少食多餐, 使摄入的糖分平均分配, 禁食糖果、糕点, 多吃粗纤维含量较高的糙米、面、蔬菜等; (2)糖尿病健康教育: 指导患者掌握糖尿病相关病理知识, 明确糖尿病是一个长期治疗的过程, 提高患者对血糖控制的重视程度, 提高患者对治疗的依从性; (3)血糖控制: 口服降糖药或胰岛素注射治疗, 将血糖稳定控制在较好水平, 即空腹血糖不超过8 mmol/L, 餐后2 h血糖不超过10 mmol/L, 糖化血红蛋白不超过7.0 g/L^[6]。合并其他疾病者可给予对症治疗。和胃方组患者给予中药自拟和胃方辨证治疗, 基本方: 陈皮、木香、枳壳、香附、紫苏梗、鸡内金各10 g。肝胃不和者予柴胡、白芍、佛手、黄连等加减; 脾胃湿热者予白花蛇

■ 研发前沿

近年来糖尿病发病率迅速增加, DGP的发病率也不断增加, 迫切需要借助现代研究手段, 采用多学科协作研究对其发病机制进行更深入的临床和实验研究, 通过将新技术新方法逐步运用在治疗DGP研究中, 从而寻找出治疗DGP的最佳途径。

■相关报道

研究表明西医治疗只是在控制血糖的基础上应用促胃动力药,疗效虽然得到大家一致认可,但有一定的不良反应发生,中医药无论是辨证论治,还是固定方剂加减治疗DGP都具有一定的临床疗效,与西药相比,优势疗效显著。

表 1 两组患者临床资料比较 ($n = 40$)

| 分组 | 性别 n (%) | | 平均年龄(岁) | 平均病程(年) | 症状评分(分) |
|-------|------------|-----------|--------------|--------------|--------------|
| | 男 | 女 | | | |
| 和胃方组 | 21(52.50) | 19(47.50) | 52.82 ± 8.13 | 12.11 ± 3.71 | 12.28 ± 5.46 |
| 多潘立酮组 | 22(55.00) | 18(45.00) | 53.57 ± 8.76 | 11.79 ± 3.51 | 12.19 ± 5.50 |
| 联合组 | 20(50.00) | 20(50.00) | 53.22 ± 8.59 | 11.95 ± 2.82 | 12.45 ± 4.99 |

舌草、藿香、佩兰、白英等加减;脾胃虚弱者予茯苓、白术、党参等加减;胃阴不足者予沙参、麦冬、天花粉、石斛等加减;瘀积者加丹参、莪术等^[7]。1剂/d,水煎至100 mL,混匀后餐后30 min温服,2次/d,连续治疗4 wk。多潘立酮组患者给予多潘立酮治疗,10 mg/次,3次/d,分别于三餐前30 min口服,连续治疗4 wk。联合组患者给予和胃方联合多潘立酮治疗,用药剂量和方法与前两组相同,治疗时间也为4 wk。注意治疗期间禁止服用其他治疗DGP的药物以及可对研究结果产生影响的促动力药物,忌食辛辣、肥腻食物,避免风寒和劳累。

1.2.2 观察指标: 3组患者治疗4 wk后观察临床疗效,比较治疗前后症状评分改善情况、用药后不良反应以及随访8 wk复发率。症状评分参照《中药新药临床研究指导原则》对患者脘腹胀满、上腹疼痛、早饱、恶心呕吐、嗝气、反酸、大便改变等主要临床症状进行症状量化评分,每种症状0-3分,分值越高症状越严重。脘腹胀满: 0分: 无腹胀感; 1分: 轻微胀满,偶尔发作,1 h内减轻或消失,不影响正常工作和休息; 2分: 胀满明显,但可忍受,偶尔发作,1-3 h内较为严重,影响正常工作和休息; 3分: 胀满明显,难以忍受,持续不止,3 h内不能好转,常需服理气消导药缓解。上腹疼痛: 0分: 无腹痛感; 1分: 轻微疼痛,偶尔发作,1 h内减轻或消失,不影响正常工作和休息; 2分: 疼痛可以忍受,发作频繁,1-3 h内较为严重,影响正常工作和休息; 3分: 疼痛难以忍受,持续不止,3 h内仍不能好转,常需服止痛药缓解。早饱: 0分: 无早饱症状,食量正常; 1分: 偶尔发生早饱,不影响正常食量; 2分: 早饱时有发作,进食量减少1/3; 3分: 早饱严重,进食量减少1/2。恶心呕吐: 0分: 无恶心呕吐症状; 1分: 偶有恶心; 2分: 时有恶心,偶有呕吐; 3分: 频频恶心,有时呕吐。嗝气: 0分: 无嗝气; 1分: 嗝气次数<4次/d; 2分: 嗝气次数5-10次/d; 3分: 嗝气次数>10次/d。反酸: 0分: 无反酸; 偶有反酸; 2分:

时有反酸; 3分: 频频反酸。大便改变: 0分: 大便正常; 1分: 大便质改变,便塘或便干,次数未变; 2分: 1-2次/d,或2-3 d/次; 3分: ≥3次/d,或>3 d/次。疗效评价标准: 治愈: 临床症状和体征完全消失,症状评分下降95%以上; 显效: 临床症状和体征基本消失,症状评分下降70%-94%; 有效: 临床症状和体征有所改善,症状评分下降30%-69%; 无效: 临床症状和体征无改善,症状评分下降30%以下或有所升高^[8]。总有效 = 治愈+显效+有效。DGP复发判断标准: 症状评分较治疗4 wk下降50%以上。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析,用mean±SD表示计量资料,采用 t 检验,用百分比表示计数资料,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者临床疗效比较 联合组患者治疗总有效率显著高于和胃方组及多潘立酮组,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 和胃方组总有效率略高于多潘立酮组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.2 3组患者治疗前后症状评分改善情况比较 3组患者治疗后症状评分均显著下降,与治疗前比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 联合组患者治疗后症状评分显著低于和胃方组及多潘立酮组,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 和胃方组治疗后症状评分略低于多潘立酮组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.3 3组患者用药后不良反应及复发率比较 仅多潘立酮组患者用药后发生2例轻微头晕、腹痛,短时间内自行消失,3组患者用药后不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$); 联合组患者治疗后8 wk复发率明显低于和胃方组和多潘立酮组,差异具有统计学意义($P < 0.05$); 和胃方组复发率略低于多潘立酮组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)(表4)。

表 2 3组患者临床疗效比较 ($n = 40, n(\%)$)

| 分组 | 治愈 | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效 |
|-------|----------|----------|-----------|------------------------|-------------------------|
| 和胃方组 | 1(2.50) | 3(7.50) | 20(50.00) | 16(40.00) | 24(60.00) |
| 多潘立酮组 | 1(2.50) | 2(5.00) | 17(42.50) | 20(50.00) | 20(50.00) |
| 联合组 | 7(17.50) | 5(12.50) | 21(52.50) | 7(17.50) ^{ac} | 33(82.50) ^{ac} |

^a $P < 0.05$ vs 和胃方组; ^c $P < 0.05$ vs 多潘立酮组。

表 3 3组患者治疗前后症状评分改善情况比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 分)

| 分组 | 治疗前 | 治疗后 |
|-------|------------------|--------------------------------|
| 和胃方组 | 12.28 \pm 5.46 | 9.82 \pm 5.86 ^a |
| 多潘立酮组 | 12.19 \pm 5.50 | 10.26 \pm 4.84 ^a |
| 联合组 | 12.45 \pm 4.99 | 5.99 \pm 3.63 ^{abc} |

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 和胃方组; ^b $P < 0.05$ vs 多潘立酮组。

表 4 3组患者用药后不良反应及复发率比较 ($n = 40$, mean \pm SD, 分)

| 分组 | 不良反应 | 复发 |
|-------|---------|------------------------|
| 和胃方组 | 0(0.00) | 18(45.00) |
| 多潘立酮组 | 2(5.00) | 21(52.50) |
| 联合组 | 0(0.00) | 6(15.00) ^{ac} |

^a $P < 0.05$ vs 和胃方组; ^c $P < 0.05$ vs 多潘立酮组。

3 讨论

DGP是以胃排空延迟为主要特征的DM并发症,患者无典型胃肠道器质性病变,临床主要表现为脘腹胀满、上腹疼痛、早饱、恶心呕吐、嗝气、反酸、大便改变等^[9]。DGP的主要发病原因为DM患者血糖控制不佳高血糖引起胃肠动力障碍,主要表现为平滑肌收缩力下降、胃蠕动减弱,胃窦张力下降、胃排空延迟和幽门收缩时间延长^[9]。

传统中医学认为DGP属“痞满”“噎气”等范畴,尤其着眼于胀满症状,一般以“痞满证”论治^[10]。该病的中医病机为肝气郁滞、脾气不运、胃失和降、积滞内停,临床治疗以疏肝理气、运脾和胃为主^[11]。本研究中使用自拟和胃方作为基础方治疗,方中陈皮可破滞气、益脾胃,木香有行脾胃大肠之气滞、止痛的效果,枳壳能行气除痞、消积导滞,香附则可疏肝解郁、行气散结之功^[12],紫苏梗能宽中行气止痛,5药均为治疗胃失和降、脾运化失健、痞满等症的常用胃动力中药,再加鸡内金以健脾消食。诸药合用共奏行气除痞、健脾养胃、消积化滞之功效。现代药理学研究表明陈皮中挥发油、黄酮类为主要成分,挥发油中的D-柠檬烯和黄酮中的橙皮苷具有促进胃排空和肠推进作用。临床实践应用结果表明,陈皮具有调节消化系统功能和预防胃肠道疾病的作用,还具有抗休克、抗氧化、抗菌、抗过敏等多重药效^[13]。木

香的主要成分也为挥发油,相关文献报道指出,木香煎剂对胃排空及肠推进功能均有促进作用,且呈现剂量依赖性,尤其表现在促胃动力效果上。枳壳主要成分也为挥发油和黄酮类,对人体胃肠平滑肌具有兴奋作用、对离体平滑肌具有抑制作用,促胃动力效果良好。香附现代药理学研究表明,其具有解热镇痛、解痉、保护胃黏膜、降血糖、促进离体脂肪组织分解等药理活性^[14]。诸药联合能够有效改善DGP患者胃壁微循环和胃肠神经病变,促进平滑肌收缩力增强和消化液分泌,从而有效改善患者临床症状。

多潘立酮是西医常用促胃动力剂,能够直接作用于胃肠壁,增强食管下部括约肌张力和胃蠕动、促进胃排空、协调胃与十二指肠运动,有效预防胃食管反流的发生,解除胃动力障碍,且多潘立酮对脑内多巴胺受体无抑制作用,因此用药后不会发生精神、神经不良反应,安全性较高^[15]。本研究结果显示,单用中药或西药,DGP患者症状评分均有明显改善,总有效率分别为60%和50%,表明二者在治疗DGP上均有确切疗效,但从相关指标上来看,中药效果略优于西药。分析原因主要为中药辨证治疗能够达到标本兼治之效果,较西药治疗效果更佳。联合组患者临床疗效、症状评分改善情况均明显优于单用药组患者,治疗后8 wk复发率也显著下降,表明中药和西药能够相互促进,增强临床疗效。

总之,和胃方联合多潘立酮能够显著改善DGP患者临床症状,无不良反应,复发率也较低,

■创新盘点

中西医结合治疗疗效确切,西医常规治疗的基础上,给以中药汤剂治疗,通过辨证论治,对症治疗,疗效确切。

■同行评价

本研究探讨和胃方联合多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫的临床疗效,有一定的参考价值。

是治疗DGP的首选方式。

4 参考文献

- 1 刘云, 孙岩, 薛绮萍, 李建民. 糖尿病胃轻瘫的诊断及发病机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 290-293
- 2 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病诊治指南简介. 中国全科医学 2013; 10: 545
- 3 贝政平, 蔡映云, 主编. 内科疾病诊断标准. 第2版. 北京: 科学出版社, 2007: 171-179
- 4 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 161-163
- 5 吴勉华, 王新月, 主编. 中医内科学. 第九版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 59-69
- 6 Harberson J, Thomas RM, Harbison SP, Parkman HP. Gastric neuromuscular pathology in gastroparesis: analysis of full-thickness antral biopsies. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 359-370 [PMID: 19997975 DOI: 10.1007/s10620-009-1071-2]
- 7 曾文林. 中医药辨证论治糖尿病胃轻瘫. 湖北中医杂志 2013; 35: 27-28
- 8 李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 仝小林. 糖尿病胃轻瘫

临床疗效的评价方式. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3198-3203

- 9 Olausson EA, Brock C, Drewes AM, Grundin H, Isaksson M, Stotzer P, Abrahamsson H, Attvall S, Simrén M. Measurement of gastric emptying by radiopaque markers in patients with diabetes: correlation with scintigraphy and upper gastrointestinal symptoms. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e224-e232 [PMID: 23316944 DOI: 10.1111/nmo.12075]
- 10 逢冰, 顾彦冬. 糖尿病胃轻瘫的中医治疗进展. 中国临床医生 2013; 41: 21-23
- 11 李君玲, 田佳星. 糖尿病胃轻瘫中医病机及分型的研究进展. 环球中医药 2013; 6: 222-225
- 12 尚莹莹, 黄天生, 肖定洪. 糖尿病胃轻瘫中医理论及临床研究进展. 中医研究 2013; 26: 75-77
- 13 张友平. 糖尿病胃轻瘫中医辨证分型治疗的疗效观察. 临床合理用药杂志 2013; 6: 77-78
- 14 陈明, 曹泽伟. 胃动汤对糖尿病胃轻瘫患者胃动素胃泌素的影响. 天津中医药 2013; 30: 142-144
- 15 王超. 甲钴胺联合多潘立酮治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效观察. 中国药房 2013; 24: 2258-2260

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用

朱 伦, 杨少芳, 余 算, 郑阿迈, 徐荣伟

朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟, 浙江省乐清市第三人民医院检验科 浙江省乐清市 325600

朱伦, 主管技师, 主要从事临床检验医学的研究.

作者贡献分布: 朱伦负责论文研究的设计和论文写作; 杨少芳负责资料收集; 余算与郑阿迈负责实验研究; 徐荣伟负责文章的审核、校对以及论文写作指导.

通讯作者: 朱伦, 主管检验师, 325600, 浙江省乐清市乐柳市前市街335号, 乐清第三人民医院检验科.

yanghuaiy4238@126.com

收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-15

接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer

Lun Zhu, Shao-Fang Yang, Suan Yu, A-Mai Zheng, Rong-Wei Xu

Lun Zhu, Shao-Fang Yang, Suan Yu, A-Mai Zheng, Rong-Wei Xu, the Third People's Hospital of Yueqing City, Leqing 325600, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Lun Zhu, the Third People's Hospital of Yueqing City, 335 Qianshi Street, Leqing 325600, Zhejiang Province, China. yanghuaiy4238@126.com

Received: 2014-03-12 Revised: 2014-04-15

Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the significance of serum miR-21 detection for non-invasive diagnosis of gastric cancer and evaluation of surgery results.

METHODS: Serum samples from normal medical personnel, patients with antral ulcers, those with gastric inflammatory polyps, those with intestinal metaplasia, and those with gastric cancer were collected, and fluorescence quantitative PCR was used to detect miR-21 expression in the above serum samples and matched gastric tissues.

RESULTS: Serum miR-21 levels had a positive correlation with those in gastric tissues in all the subjects ($r = 0.826$, $P < 0.001$). Serum levels of miR-21 were significantly higher in patients with gastric cancer than in normal controls. Postoperative serum levels of miR-21 were significantly lower than preoperative levels in gastric cancer

patients ($t = 0.511$, $P = 0.030$). Serum miR-21 levels differed significantly among the five groups of subjects ($\chi^2 = 10.841$, $P = 0.028$).

CONCLUSION: Detection of serum miR-21 is helpful for noninvasive diagnosis of gastric cancer and evaluation of surgical effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Quantitative PCR; Gastric cancer; MiR-21; Non-invasive diagnosis

Zhu L, Yang SF, Yu S, Zheng AM. Xu RW. Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2155-2158 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2155.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2155>

摘要

目的: 探讨miR-21对胃癌无创性诊断以及对手术效果的评判.

方法: 选取5类人员胃肠消化系统样本血清, 通过荧光定量PCR方法对miR-21表达情况进行检测, 对照分析正常体检人员和胃窦溃疡患者、胃窦炎性息肉患者、肠上皮化生人员以及胃癌患者的血清样本中分别与配对的胃组织miR-21表达情况.

结果: 通过对照分析, 不同人员的血清中miR-21含量分别和配对的胃肠组织中表达的量具有正相关性($r = 0.826$, $P < 0.001$). 经过检测, 和正常对照组进行比较, miR-21在胃癌患者的血清中含量出现明显升高, 且术后, 血清中miR-21的含量和手术之前比较降低明显($t = 0.511$, $P = 0.030$). 另外, miR-21在五组研究对象的血清中含量具有明显差异, 具有统计学意义($\chi^2 = 10.841$, $P = 0.028$).

结论: 通过分析, 利用检测血清中miR-21含量变化, 可以无创性的诊断胃癌, 并通过miR-21含量变化对手术的效果进行评价, 临床上具有重要意义.

■背景资料

临床上, 对于胃癌的诊断, 一般通过胃镜检查以及病理学分析等, 但是耐受性较差. 而无创性诊断应用广泛的是利用血清肿瘤标志物, 但灵敏性较低, 特异性不强. 研究发现, miRNA中miR-21在胃癌肿瘤组织中表达具有特异性, 且血清中表达水平和组织中表达水平具有正相关性. 当前, 关于miR-21等miRNA在胃癌诊断以及手术效果评价中的应用, 在国内外已开展了广泛的临床研究, 取得了理想的临床效果. 因此, 使用miR-21对胃癌诊断以及手术效果进行评价是一种较为科学、高效的诊断途径.

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

■研发前沿

通过研究血清中miR-21表达水平和肿瘤组织中miR-21表达水平的相关性,分析利用检测血清中miR-21来诊断胃癌或评价手术效果利用价值,将能够为胃癌诊断提供临床参考。寻求高效、安全的诊断方法,有效降低患者检测痛苦以及诊断费用,且大大提高确诊率。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 荧光定量PCR法; 胃癌; MiR-21; 无创性诊断

核心提示: 微小RNA(miRNA)在一些恶性肿瘤的靶基因中发挥重要作用,对于胃癌患者,肿瘤组织中有一定的miR-21的表达,而血清中miR-21的表达水平和肿瘤组织中表达水平具有相关性。因此,通过对血清中miR-21含量进行测定,对无创性诊断胃癌具有重要意义。

朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟. 荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2155-2158 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2155.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2155>

0 引言

当前,社会发展速度不断提升,人们生活节奏加快,胃肠疾病发病率不断攀升,因胃黏膜的上皮细胞发生恶性肿瘤变化而引起胃癌患者越来越多,约占胃部恶性肿瘤的96%左右。临床上,对于胃癌的诊断一直把胃镜检查 and 病理学分析诊断作为诊断标准,但存在患者耐受性差等缺点。临床上,引入微小RNA后,为无创性恶性肿瘤诊断开辟了新路径。微小RNA,即miRNAs,在多种生物体细胞中普遍存在,属于内源性且为非编码的RNA微小分子,一般只有20个左右的核苷酸组成,只占到全部基因的五分之一,但mRNA通过剪切或者抑制翻译对生物体的许多生理过程进行调控,在生物体细胞的凋亡、脂肪的代谢、神经元的发育以及细胞分化、激素分泌等过程中扮演重要角色^[1,2]。其中被发现最早且应用较为广泛的miRNA是miR-21,对许多胃部、肺部、膀胱的恶性肿瘤的靶基因中发挥着重要的作用^[3-5]。国外研究^[6]发现在人体的血清中miRNAs的含量具有一定的稳定性,但由于疾病种类和病程变化,相关器官组织和血清中miRNAs水平会有一定的差异。我院通过荧光定量PCR方法探讨人体血清和配对组织中的miR-21含量变化,对胃癌患者进行无创性诊断,并探讨在评价手术效果方面的作用,取得令人满意的效果,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-06我院收治的30例胃癌患者,患者均未接受放化疗等手段治疗,其中男性患者22例,女性患者8例,患者年龄40-65岁,平均年龄为53.8岁±5.1岁。分别采集患者术

前和术后3 mo的外周血,取部分癌组织,同时切取癌组织5 cm外的正常组织。作为对照,选择同期的接受消化系统体检的正常人员共26例,平均年龄为51.2岁±6.5岁;选取胃溃疡患者24例,平均年龄为52.8岁±3.6岁;选取炎性息肉19例患者,平均年龄为53.5岁±4.8岁;选择肠上皮化生22例患者,平均年龄54.5岁±5.2岁。以上对照病例经诊断证实,经患者及亲属同意,以上对照组人员均切取胃窦组织和外周血接受检测。全部组织标本有效浸入到保护液中保护RNA,在4℃的环境下过夜后,拿出放入-80℃环境保存。外周血经过离心之后,将血清加入到EP管中,同样在-80℃环境中保存,等待检测。

1.2 方法

1.2.1 提取RNA: 从组织中提取mRNAs, mRNAs提取试剂盒由诺伦生物医药公司生产,从每份约50 mg标本组织中正确提取出miRNAs;从血清中提取总RNA,从约200 μL的血清中成功提取出总RNA。

1.2.2 检测miR-21: 检测方法为荧光定量PCR法,利用两步法对miR-21进行检测,通过利用诺伦生物医药公司生产的试剂盒对RNA进行反转录,然后开展荧光定量PCR。对目的miRNAs使用一般通用的反转录条件进行转录。荧光定量PCR仪为美国AB公司生产的7500Fast型实施PCR反应。条件要求为: 3 min 94℃, 94℃ 20 s, 62℃ 40 s, 循环40次。

统计学处理 利用SPSS17.0统计包对数据进行统计学分析。利用多个独立的样本比较五组标本的血清和配对组织内miR-21的含量水平差异,采用Spearman秩相关对血清中的miR-21含量和配对组织标本中含量水平的相关性进行分析,配对资料利用t检验分析胃癌患者术前与术后的血清中miRNAs水平的差异,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5组血清及配对组织中miR-21含量比较 通过对照分析实验数据,不同人员的血清中miR-21含量分别和配对的胃肠组织中表达的量差异不具有统计学意义(P>0.05)。但是正常对照组和胃癌组进行比较,miR-21在胃癌患者血清中含量升高明显,具有统计学意义(P<0.05)(表1)。

2.2 miR-21在血清中及在相应配对组织中表达量关系 通过分析,血清中微小RNA中miR-21的含量水平和配对的组织中含量表达量有相关

■相关报道

目前,国内外关于miR-21在胃癌诊断以及胃癌手术效果评价价值已有大量报道,均充分肯定了miR-21的准确性和高效性。miR-21在胃癌诊断以及胃癌手术效果评价方面具有较高的临床价值。

表 1 5组血清及配对组织中miR-21的含量比较 (fmol/L)

| 分组 | n | 血清中miR-21水平 | 配对组织中miR-21水平 |
|-------------|----|-------------|---------------|
| 正常对照组 | 26 | 2.54 ± 0.45 | 2.18 ± 0.32 |
| 溃疡组 | 24 | 2.67 ± 0.69 | 3.52 ± 0.41 |
| 炎性息肉组 | 19 | 3.03 ± 0.74 | 3.74 ± 1.05 |
| 肠上皮化生组 | 22 | 2.98 ± 1.52 | 3.44 ± 0.77 |
| 胃癌组 | 30 | 6.01 ± 0.79 | 5.94 ± 1.01 |
| (正常组与胃癌组)t值 | | 9.811 | 10.117 |
| (正常组与胃癌组)P值 | | <0.05 | <0.05 |

性。且胃癌组患者miR-21水平和其余组别相比较, 不论是血清中还是配对组织中表达水平明显升高, 且差异具有统计学意义, 说明检测血清miR-21水平对于诊断胃癌具有实际意义。

2.3 胃癌患者手术前后miR-21表达情况 胃癌患者在术前和术后的血清miR-21表达含量相比较显著不同, 血清中术后miR-21含量为45.88 fmol/L ± 9.29 fmol/L, 术前含量为54.32 fmol/L ± 10.79 fmol/L, 相比降低较为明显($t = 0.511, P = 0.030$)。

3 讨论

在当前全球发现的恶性肿瘤中, 胃癌是死亡率最高的几种疾病之一, 对于胃癌的临床诊断金标准是通过胃镜进行检查, 虽然诊断准确率最高, 但是侵入性的操作使患者感到极大的不便。因此, 难以以常规检查形式开展胃癌筛查, 且通过影像检查对于胃癌早期症状以及发现微小病灶存在着局限性。而利用传统的检测血清中肿瘤标志物变化是一种伤害性较小的方法, 但普遍存在敏感性以及特异性较差等缺点, 临床上对胃癌的诊断率较低。因此, 寻求一种对胃癌敏感性较强且具有特异性的检测方法, 对患者依从性和耐受性要求较低的检查方法, 对早发现、早治疗胃癌, 减低死亡率意义重大。

国内外文献^[7,8]资料显示, 检测和肿瘤相关miRNAs已经收到医学界的广泛关注, miRNAs研究也被逐步引入到胃癌诊断领域, 研究资料^[9,10]证实miR-21在胃癌的组织中具有相对较高的含量。但是需要切取患者的胃黏膜样本, 不仅需要利用内镜侵入性观察, 有的需要手术获取组织, 对于患者来说创伤大, 同时, 胃癌组织的获取包含的细胞数目不同, 对于组织miRNAs情况只能开展相对的定量计算, 真正应用于临床具有较大难度。而本研究则是研究通过获取血清中的miRNAs来进行诊断, 效果较为优良。不

仅容易获取标本, 而且血清中miRNAs具有稳定性, 耐酶能力强, 经过反复的冻融以及酸碱环境对血清中miRNAs影响不大, 便于开展绝对定量的检测^[6,11]。根据国外文献^[12]介绍: 对胃癌患者实施根治手术之后1 mo, 患者的血清中miR-21含量出现下降。另外, 有研究^[13]认为胃癌患者血清中miR-21含量水平相比较良性胃部疾病普遍较高, 但正常人员和胃肠良性疾病患者的血清中关于miR-21含量关系不具有明显差异。

通过实验分析, 显示血清中的miR-21水平与配对的组织标本中含量水平具有一致性, 且含量水平根据患者病情的变化, 表明研究血清miRNAs诊断胃癌具有可行性。通过对五组人员的血清miRNAs情况开展分析, 显示正常组和胃癌组两者在血清中miR-21表达水平差异具有统计学意义($P < 0.01$), 证明临床上对诊断胃癌和评价手术疗效时, 利用血清miR-21可以成为新生物标志物。研究中还发现, 正常组和良性胃肠疾病患者在血清中miR-21含量水平差异不明显, 说明血清miR-21对良性病变没有区分度, 对于诊断良性胃病变价值不大。

作为一种新的肿瘤标志物, 检测血清中的miRNAs广泛运用于临床, 仍有较多问题需要研究解决: 一是miRNAs有限, 由于miRNAs调节能力较为广泛, 不仅已知的miRNAs有限, 且对其功能的了解程度也有限, 需要继续深化研究。二是血清中出现miRNAs机制尚不够明确。有的研究^[8,14]认为是凋亡细胞的主动释放, 有的认为是循环细胞的裂解而产生, miRNAs进入到血液之后和蛋白质共同形成颗粒, 这些外切酶颗粒被内吞至受体细胞, 包被被去除, 从而释放miRNAs, 发挥出其生物学的作用。以上结论有待实验进一步证实。三是患者血清的miRNAs变化和胃癌没有特异性^[15], miR-21对于多种恶性肿瘤患者的血清中水平平均差异明显。单一miRNA特

■创新盘点

使用血清miR-21对胃癌诊断以及胃癌手术效果评价, 并将其胃癌肿瘤组织miR-21表达水平进行对比, 同时, 设置正常组和良性胃肠疾病对照组, 以从更加科学、合理的角度评价miR-21临床应用优势, 对临床上无创性胃癌诊断以及对手术效果评价有较高临床意义。

■应用要点

以血清中miR-21表达水平检测为主要检查手段, 对胃癌诊断以及胃癌手术效果评价价值进行分析, 并着重分析血清中miR-21临床诊断价值, 并设置正常组和良性胃肠疾病对照。

同行评价

本文给临床医生在早期诊断胃癌以及判断预后提供了一条新的途径,具有一定临床指导意义。

异性较弱。

总之,随着认识深入,相信血清中miRNAs将在诊断胃癌和评价术后效果方面发挥出应用的价值。

参考文献

- Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21-24 [PMID: 15652478 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.031]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]
- Zhang BG, Li JF, Yu BQ, Zhu ZG, Liu BY, Yan M. microRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN. *Oncol Rep* 2012; 27: 1019-1026 [PMID: 22267008 DOI: 10.3892/or.2012.1645]
- Gao W, Xu J, Liu L, Shen H, Zeng H, Shu Y. A systematic-analysis of predicted miR-21 targets identifies a signature for lung cancer. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 21-28 [PMID: 22244963 DOI: 10.1016/j.biopha.2011.09.004]
- Zhou H, Guo JM, Lou YR, Zhang XJ, Zhong FD, Jiang Z, Cheng J, Xiao BX. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 709-717 [PMID: 20349219 DOI: 10.1007/s00109-010-0617-2]
- 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]
- Zhou LY, Lin SR, Li Y, Geng QM, Ding SG, Meng LM, Sun XN, Wang JT, Xu ZJ, Guo HL, Li CG, Cui RL. The intrinsic fluorescence spectrum of dilute gastric juice as a novel diagnostic tool for gastric cancer. *J Dig Dis* 2011; 12: 279-285 [PMID: 21791022 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00507.x]
- Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, Banham AH, Pezzella F, Boultonwood J, Wainscoat JS, Hatton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 672-675 [PMID: 18318758 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x]
- Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]
- Yang Q, Jie Z, Cao H, Greenlee AR, Yang C, Zou F, Jiang Y. Low-level expression of let-7a in gastric cancer and its involvement in tumorigenesis by targeting RAB40C. *Carcinogenesis* 2011; 32: 713-722 [PMID: 21349817 DOI: 10.1093/carcin/bgr035]
- 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]
- Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102: 1174-1179 [PMID: 20234369 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605608]
- Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945 DOI: 10.1038/nrc1997]
- El-Hefnawy T, Raja S, Kelly L, Bigbee WL, Kirkwood JM, Luketich JD, Godfrey TE. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. *Clin Chem* 2004; 50: 564-573 [PMID: 14718398 DOI: 10.1373/clinchem.2003.028506]
- Miki K. Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-Helicobacter pylori IgG antibody and serum pepsinogen levels - "ABC method". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 405-414 [PMID: 21785258 DOI: 10.2183/pjab.87.405]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



聚乙二醇干扰素 α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例

刘方军, 刘智慧

刘方军, 刘智慧, 中国人民解放军第89医院感染病科 山东省潍坊市 261021

刘方军, 副主任医师, 主要从事传染病的临床工作。

作者贡献分布: 此课题由刘方军设计; 由刘方军与刘智慧共同组织实施; 本论文写作由刘方军完成。

通讯作者: 刘方军, 副主任医师, 261021, 山东省潍坊市北宫西街256号, 中国人民解放军第89医院感染病科。

liufangjun89@163.com

收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-03

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

PEG-IFN- α -2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B

Fang-Jun Liu, Zhi-Hui Liu

Fang-Jun Liu, Zhi-Hui Liu, Department of Infectious Diseases, 89th Hospital of Chinese PLA, Weifang 261021, Shandong Province, China

Correspondence to: Fang-Jun Liu, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, 89th Hospital of Chinese PLA, 256 Beigongxi Street, Weifang 261021, Shandong Province, China. liufangjun89@163.com

Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-03

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the clinical effect of PEG-IFN- α -2a combined with Liuweiwuling tablets in the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B (CHB).

METHODS: Seventy-five HBeAg positive CHB patients were randomly divided into either a treatment group ($n = 38$) or a control group ($n = 37$). The treatment group was treated with PEG-IFN- α -2a 180 μ g (s.c., once a week) and Liuweiwuling tablets, while the control group was treated with glycyrrhizinate capsules on the basis of PEG-IFN- α -2a treatment. The treatment lasted 24 wk in both groups.

RESULTS: After 24 wk of treatment, the values of ALT, AST and TBIL in the treatment group (24.9 U/L \pm 16.6 U/L, 21.2 U/L \pm 16.5 U/L and

18.1 μ mol/L \pm 10.1 μ mol/L) were significantly lower than those in the control group (44.7 U/L \pm 19.7 U/L, 49.1 U/L \pm 20.5 U/L and 27.2 μ mol/L \pm 17.4 μ mol/L) ($P < 0.05$ for all). No obvious adverse reactions were observed in either group during the treatment.

CONCLUSION: PEG-IFN- α -2a combined with Liuweiwuling tablets can improve the liver function, and the efficacy of PEG-IFN- α -2a for suppressing HBV replication is not affected.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: PEG-IFN- α -2a; Liuweiwuling tablets; Chronic Hepatitis B

Liu FJ, Liu ZH. PEG-IFN- α -2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2159-2162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2159.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2159>

摘要

目的: 探讨PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的临床疗效。

方法: 选择75例HBeAg阳性的CHB患者, 随机分为观察组(38例)和对照组(37例), 观察组给予PEG-IFN- α -2a 180 μ g, 皮下注射1次/wk, 同时服用六味五灵片2.0 g, 3次/d。对照组给予PEG-IFN- α -2a 180 μ g皮下注射1次/wk, 同时服用甘草酸二胺胶囊, 疗程均为24 wk。

结果: 治疗24 wk后, 观察组丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)和总胆红素(total bilirubin, TBIL)值分别为24.9 U/L \pm 16.6 U/L, 21.2 U/L \pm 16.5 U/L和18.1 μ mol/L \pm 10.1 μ mol/L均显著低于对照组(44.7 U/L \pm 19.7U/L、49.1 U/L \pm 20.5 U/L和27.2 μ mol/L

■背景资料

慢性乙型肝炎的治疗是目前临床上棘手问题。治疗的原则包括抗病毒、改善肝功能、调节免疫、抗纤维化及抗炎等。临床已证实PEG-IFN- α -2a对E抗原阳性慢性乙型肝炎具有良好抗病毒及免疫调节作用, 对E抗原转阴或抗原有抗体转换、HBV DNA转阴有良好作用, 是慢性乙型肝炎治疗的一线药物。六味五灵片具有抗肝细胞损害、免疫调节作用、抑制病毒复制等作用。

■同行评议者

汤静, 主管药师, 上海交通大学附属第一人民医院药学部

■研发前沿

各国指南都推荐PEG-IFN- α -2a为慢性乙型肝炎的一线抗病毒药物。III期注册临床试验结果显示,经过1年的PEG-IFN- α -2a治疗,HBsAg阳性慢性乙型肝炎患者的病毒学应答率还不十分理想,HBsAg血清学转换率在30%左右,但发生HBsAg血清学转换的患者有50%-90%可维持持久应答。

$\pm 17.4 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$), 差异均具有显著性意义。治疗过程中, 两组患者均未见明显不良反应。

结论: PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片可以有效地改善肝功能, 同时不影响PEG-IFN- α -2a抑制乙型肝炎病毒复制的作用, 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: 聚乙二醇干扰素 α -2a; 六味五灵片; 慢性乙型肝炎

核心提示: 本研究采用PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片治疗乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性慢性乙型肝炎38例, 治疗24 wk后患者的临床症状、肝功能生化指标丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase)及总胆红素(total bilirubin)均有明显好转, 且乙型肝炎病毒DNA及HBeAg低于检测值下限的比率与对照组相当, 表明六味五灵片不影响PEG-IFN- α -2a的抗病毒疗效, 且两药合用还能获得更高的肝功能复常率, 可能与六味五灵片均具有良好免疫调节、保肝抗炎作用有关, 值得临床应用。

刘方军, 刘智慧. 聚乙二醇干扰素 α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2159-2162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2159.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2159>

0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗是目前临床上棘手问题。治疗的原则包括抗病毒、改善肝功能、调节免疫、抗纤维化及抗炎等^[1]。临床已证实PEG-IFN- α -2a对E抗原阳性CHB具有良好抗病毒及免疫调节作用, 对E抗原转阴或抗原抗体转换、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA转阴有良好作用, 是CHB治疗的一线药物。六味五灵片具有抗肝细胞损害、免疫调节作用、抑制病毒复制等作用。2010-10/2013-10中国人民解放军第89医院感染病科采用PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片治疗E抗原阳性CHB取得了良好疗效, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-10/2013-10中国人民解放军第89医院感染病科门诊或住院的CHB患者75

例, 男性48例, 女性27例; 年龄18-35岁, 平均年龄 27.2 ± 5.9 岁。病程1-16年。患者HBsAg阳性, HBV DNA $\geq 1 \times 10^5$ IU/mL。诊断均符合2010年发布的CHB防治指南的标准^[1], 排除其他肝炎病毒重叠感染、妊娠及哺乳期妇女、合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、未控制的糖尿病、甲状腺疾病、既往有精神病史者。无PEG-IFN- α -2a治疗禁忌证。按就诊时间先后顺序, 将75例患者随机分为观察组38例和对照组37例。两组患者病情、平均年龄、肝功能情况以及HBV DNA水平比较, 无显著性差异, 具可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 给予观察组患者PEG-IFN- α -2a(商品名: 派罗欣, 上海罗氏制药有限公司)180 μg 皮下注射, 1次/wk, 同时给予六味五灵片(山东世博金都药业有限公司)2.0 g口服, 3次/d; 给予对照组患者PEG-IFN- α -2a 180 μg 皮下注射, 1次/wk, 同时服用甘草酸二胺胶囊(甘利欣, 江苏正大天晴药业股份有限公司)150 mg, 3次/d, 两组患者疗程均为24 wk。

1.2.2 检测: 采用日立7600全自动生化分析仪及配套试剂检测肝肾功能; 采用美国ABI7000荧光定量PCR仪检测HBV DNA(试剂盒购自深圳市匹基生物工程股份有限公司, 检测灵敏度 < 500 copies/mL, 即检测灵敏度 < 89 IU/mL); 采用ELISA法检测血清乙型肝炎病毒标志物(上海科华生物工程股份有限公司)。

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件进行数据分析, 采用 t 检验分析肝功能变化情况, 采用 χ^2 检验分析治疗后血清HBV DNA和乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)转阴情况。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前及治疗后肝功能ALT、AST、TBIL变化情况 治疗前, 两组患者肝功能数值比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗24 wk后, 两组患者丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)及总胆红素(total bilirubin, TBIL)均明显下降, 且观察组下降幅度明显优于对照组, 两组差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者治疗后血清HBV DNA和HBeAg转阴情况 治疗24 wk后, 两组患者HBV DNA及HBeAg低于检测下限的比率比较, 差异无统计

表 1 两组患者治疗前及治疗后肝功能变化比较 (mean \pm SD)

| | <i>n</i> | ALT(U/L) | AST(U/L) | TBIL(μ mol/L) |
|----------|----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 观察组 | 38 | | | |
| 治疗前 | | 355.2 \pm 190.5 | 193.6 \pm 73.1 | 29.1 \pm 18.0 |
| 治疗后24 wk | | 24.9 \pm 16.6 ^a | 21.2 \pm 16.5 ^a | 18.1 \pm 10.1 ^a |
| 对照组 | 37 | | | |
| 治疗前 | | 346.1 \pm 188.9 | 184.8 \pm 87.2 | 28.3 \pm 18.2 |
| 治疗后24 wk | | 44.7 \pm 19.7 | 49.1 \pm 20.5 | 27.2 \pm 17.4 |

^a $P < 0.05$ vs 对照组治疗后24 wk. ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素.

表 2 两组患者治疗前后HBV DNA及HBeAg低于检测下限的比率 *n*(%)

| | <i>n</i> | HBV DNA低于检测下限的比率 | HBeAg低于检测下限的比率 |
|------------|----------|------------------|----------------|
| 观察组 | 38 | 13(65.8) | 26(31.6) |
| 对照组 | 37 | 19(48.6) | 31(15.9) |
| χ^2 | | 2.253 | 2.426 |
| <i>P</i> 值 | | 0.133 | 0.119 |

HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎e抗原.

学意义($P > 0.05$)(表2).

2.3 不良反应 两组患者治疗初期多数发热, 白细胞减少, 均经对症治疗后好转, 未影响治疗. 对照组1例甲状腺功能轻微减退, 需口服甲状腺素片治疗.

3 讨论

CHB是一种严重的进展性疾病, 在我国CHB是肝硬化的重要病因, 严重危害我国人民的健康水平^[2]. 近几年, 随着对CHB发病机制特别是免疫机制的深入研究, 认为CHB的发病与血液和肝组织中的HBV持续存在并不断复制有关, 机体免疫损伤和进行性肝脏炎症是造成肝脏损害的原因.

现代医学认为HBV侵袭是本病的主要原因, 免疫功能紊乱、低下是发病的关键, 肝组织损伤、微循环障碍是本病的基本病理变化^[3]. 抗病毒治疗是目前治疗HBeAg阳性CHB患者的主要方法, 其目的是使HBV由复制活跃状态转化为非复制状态, 病毒抗原出现血清学转换, 阻止肝脏疾病的进一步恶化^[4]. PEG-IFN- α -2a通过产生抗病毒蛋白的直接抗病毒作用和免疫调节的间接抗病毒作用以达到抑制病毒复制的同时, 使机体产生对病毒的免疫控制^[5,6].

各国指南都推荐PEG-IFN- α -2a为CHB的一线抗病毒药物. III期注册临床试验结果显示, 经

过1年的PEG-IFN- α -2a治疗, HBeAg阳性CHB患者的病毒学应答率还不十分理想, HBeAg血清学转换率在30%左右, 但发生HBeAg血清学转换的患者有50%-90%可维持持久应答^[6,7]. 此外, Ouzan等^[8]通过对10例HBeAg阳性乙型肝炎患者长达96 wk的跟踪治疗得出: 通过加用PEG-IFN- α -2a, 有6例患者目前已停止服用核苷酸类似物进行治疗.

依据中医学理论与现代医学理论相结合研制的六味五灵片是在五味子的基础上科学组方, 运用中药君臣佐使, 加入灵芝孢子粉、连翘、莪术、苣荬菜、女贞子组成, 除具有保肝降酶、修复肝细胞、抗肝纤维化外^[6,7], 还有抑制病毒复制, 双向调节免疫功能. 而对正常免疫无明显影响^[8,9], 可能与诱导内生性干扰素有关^[10-14]. 此外, 安纪红等^[15]通过对430例慢性乙型肝炎肝纤维化患者的临床观察得出: 六味五灵片能快速消除或环节肝病患者的临床症状和体征, 并能促使慢性肝组织损伤的程度显著改善和逆转, 促进沉积于肝内的结缔组织降解与重吸收, 从而阻止CHB向肝纤维化的进展.

本研究采用PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性CHB 38例, 治疗24 wk后患者的临床症状、肝功能生化指标ALT、AST、TBIL均有明显好转, 且HBV DNA及HBeAg低于检测值下限的比率与对照组相当, 表明六味五灵

■相关报道

Ouzan等通过对10例HBeAg阳性乙型肝炎患者长达96 wk的跟踪治疗得出: 通过加用PEG-IFN- α -2a, 有6例患者目前已停止服用核苷酸类似物进行治疗.

■同行评价

本研究探讨PEG-IFN- α -2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床疗效,设计合理,研究具有临床实际意义。

片不影响PEG-IFN- α -2a的抗病毒疗效,且两药合用还能获得更高的肝功能复常率,可能与六味五灵片均具有良好免疫调节、保肝抗炎作用有关,值得临床应用。本研究的临床观察时间尚短,观察的例数有限,其远期疗效尚有待进一步观察。

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 肝脏 2011; 16: 2-16
- 2 拉米夫定临床应用专家组. 2004年拉米夫定临床应用专家共识. 中华肝病杂志 2004; 12: 425-428
- 3 王洪坤, 韩景献. 慢性肝炎的病因学说及其辩证论治最新概论. 中华中医药学刊 2007; 25: 334-337
- 4 朱月永, 董菁, 陈攸涛, 陈靖, 江家骥. 聚乙二醇干扰素治疗乙型肝炎病毒e抗原阳性慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒表面抗原消失的相关因素. 中华传染病杂志 2011; 29: 553-557
- 5 Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, Mahachai V, Chao YC, Tanwandee T, Chutaputti A, Chang WY, Zahm FE, Pluck N. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2003; 10: 298-305 [PMID: 12823597]
- 6 Mahdavi M, Amirrasouli H, Alavian SM, Behnava B, Kazerouni F, Keshvari M, Namaki S, Gholami Fesharaki M, Rahimipour H, Mohammadzade J, Zohrehbandian F, Mahdavi-pour F. Impact of pegylated interferon-alfa-2a on perforin level in patients with chronic hepatitis B; preliminary study. *Hepat Mon* 2013; 13: e11903 [PMID: 24348645]
- 7 窦晓光. 慢性乙型肝炎初始单药或联合抗病毒治疗疗效和安全性比较. 病毒性肝炎论坛 2010; 8: 5-8
- 8 Ouzan D, Pénaranda G, Joly H, Khiri H, Pironti A, Halfon P. Add-on peg-interferon leads to loss of HBsAg in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis and HBV DNA fully suppressed by long-term nucleotide analogs. *J Clin Virol* 2013; 58: 713-717 [PMID: 24183313]
- 9 李晖, 杨晓冬, 李晓林, 田德英. 六味五灵片治疗非酒精性脂肪性肝病31例. 中西医结合肝病杂志 2011; 21: 178-179
- 10 赵松峰, 阚全程. 六味五灵片对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用. 中国药理学报 2011; 27: 872-875
- 11 陈卫国. 六味五灵片联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎临床疗效观察. 中国肝病杂志(电子版) 2011; 3: 12-14
- 12 金虹. 六味五灵片联合HD-91-II型肝病治疗仪治疗慢性肝病肝纤维化的临床研究. 医学信息(上旬刊) 2010; 23: 4559-4560
- 13 修丹, 宋凯. 六味五灵片联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎肝纤维化76例. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 53-54
- 14 荣义辉, 董政, 米冰. 六味五灵片治疗酒精性肝炎的疗效观察. 传染病信息 2009; 22: 107-109
- 15 安纪红, 倪文, 乔杰. 中药治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的疗效观察及生存质量研究. 中华肝病杂志 2014; 22: 30-32

编辑 田滢 电编 鲁亚静



TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083

程双平, 医师, 主要从事慢性肝病的诊断和治疗。

作者贡献分布: 本文的撰写由程双平完成; 资料的收集整理、患者随访由薛红利完成; 课题的设计由曾维政与蒋明德完成; 手术的操作由秦建平完成。

通讯作者: 曾维政, 教授, 主任医师, 610083, 四川省成都市金牛区天回路蓉都大道270号, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科, 4776652@qq.com

电话: 028-86571145

收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-01

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases

Shuang-Ping Cheng, Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng, Jian-Ping Qin, Ming-De Jiang

Shuang-Ping Cheng, Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng, Jian-Ping Qin, Ming-De Jiang, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Correspondence to: Wei-Zheng Zeng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, 270 Rongdu Dadao, Tianhui Road, Jinniu District, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. 4776652@qq.com

Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-01

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) in treating gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Four hundred liver cirrhosis patients with portal hypertension were divided into either a TIPS group ($n = 232$) or a control group ($n = 168$). The demographic data of patients, liver function, gastrointestinal bleeding, and the quality of life, were investigated and analyzed. The follow-up period was 6 mo.

RESULTS: The main cause of cirrhosis was hepatitis B virus infection. There were more men than women. The average age of onset was about 50 years, and the majority of patients had

Child-Pugh B disease. The percentage of patients without bleeding or with only one episode of bleeding in the TIPS group was significantly higher than that in the control group (15.5% vs 31.5%, $P < 0.05$), while the proportion patients with three or more episodes of bleeding was lower than that in the control group (10.8% vs 18.5%, $P < 0.05$). There were no statistically significant differences between the two groups in liver function parameters (ALB: 26.38 ± 4.87 vs 26.79 ± 6.28 ; PALB: 81.82 ± 23.76 vs 82.04 ± 18.67 ; $P > 0.05$). The SF-36 scale survey showed that there were no significant differences in the indexes of energy (64.8 ± 8.12 vs 61.2 ± 7.28) or physical aspects (74.5 ± 9.39 vs 69.1 ± 9.75) between 6 mo after operation and preoperation in the TIPS group, while the rest indicators at 6 mo after operation in the TIPS group differed significantly from those in the control group and those in the TIPS group before operation ($P < 0.05$). All indexes in the CLDQ questionnaire at 6 mo after operation in the TIPS group differed significantly from those in the control group and those in the TIPS group before operation ($P < 0.05$).

CONCLUSION: TIPS can obviously reduce the episode of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis and improve the quality of life, and the surgery itself has no effect on the liver function of patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Transjugular intrahepatic portosystemic shunt; Liver cirrhosis; Gastrointestinal bleeding

Cheng SP, Xue HL, Zeng WZ, Qin JP, Jiang MD. TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2163-2168 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2163>

摘要

目的: 探讨经颈内静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt,

■背景资料

终末期肝硬化患者多死于其并发症,特别是门脉高压所致消化系出血,是严重危及患者生命的并发症,及时有效的预防和控制消化道出血对患者的预后和生存有极大的影响。

■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

■ 研发前沿

经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化并发门脉高压症伴食道胃底曲张静脉破裂所致的上消化道出血的有效方法,该治疗方法已得到广泛的认可和临床应用。肝硬化患者的生活质量已被认为是慢性肝病自然病史的重要方面和评价治疗效果的重要手段。

TIPS)治疗肝硬化消化系出血的临床疗效。

方法: 肝硬化并发门脉高压患者400例,分为TIPS组(232例)和对照组(168例),统计患者基本的情况,监测肝功能、出血情况,并进行生活质量调查分析,随访期为6 mo。

结果: 本组资料显示随访肝硬化患者的病因以乙型肝炎病毒感染为主,男性多于女性,平均发病年龄为50岁左右,多数为Child-Pugh B级;TIPS组患者无出血及出血1次的比例明显高于对照组(15.5% vs 31.5%, $P<0.05$),而出血3次及以上的比例低于对照组(10.8% vs 18.5%, $P<0.05$);两组患者肝功能差异无统计学意义[白蛋白(albumin, ALB)26.38 g/L \pm 4.87 g/L vs 26.79 g/L \pm 6.28 g/L; 前白蛋白(prealbumin, PALB)81.82 mg/L \pm 23.76 mg/L vs 82.04 mg/L \pm 18.67 mg/L; $P>0.05$]; SF-36量表调查术后6 mo与术前比较TIPS组患者在精力(64.8 \pm 8.12 vs 61.2 \pm 7.28)和体能方面(74.5 \pm 9.39 vs 69.1 \pm 9.75)的指标差异无统计学意义,其余各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义($P<0.05$); CLDQ问卷术后6 mo TIPS组患者各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: TIPS术可明显减少肝硬化患者消化系出血的次数,提高患者的生活质量,手术本身对患者肝功能无影响。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 经颈内静脉肝内门体分流术; 肝硬化; 消化系出血

核心提示: 本文证实经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt)手术治疗肝硬化消化道出血可减少患者消化系出血的次数,对预防或者减少门脉高压所致消化系出血效果明显,且本项技术操作对患者的肝功能无明显影响;患者的生存质量较术前及对对照组有明显改善。

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德. TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2163-2168
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2163>

0 引言

终末期肝硬化患者多死于其并发症,特别是门脉高压所致消化系出血,是严重危及患者生命

的并发症。目前,经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化并发门脉高压症伴食道胃底曲张静脉破裂所致的上消化道出血的有效方法。该治疗方法作为一种微创手术,已得到广泛的认可和临床应用,该方法安全,并发症少,患者耐受性好,临床疗效肯定。本研究通过对肝硬化患者TIPS手术治疗后进行随访观察,对患者消化系出血、肝功能以及生存质量等进行分析,以期指导临床治疗。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-04/2013-09我科收治肝硬化并行TIPS手术治疗患者232例,均有消化系出血病史,胃镜提示食管或/和胃底有中-重度或重度静脉曲张;同时选择同期我科收治的肝硬化患者168例作为对照组,胃镜提示食管或/和胃底有中-重度或重度静脉曲张,该组患者的治疗包括保肝、抗病毒、止血、输血、内镜下套扎或组织胶注射等对症治疗。所有肝硬化患者均符合诊断标准;排除标准:肝脏或其他脏器肿瘤,严重并发症。本研究治疗均经患者知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 TIPS术: 参照文献[1-4]主要步骤为:经皮右侧股动脉穿刺,造影剂总量30 mL, 8 mL/s,作正侧位间接门脉造影;右侧颈内静脉通道的建立,选右肝静脉或肝段下腔静脉穿刺点;穿刺肝内门静脉分支;正、侧位直接门脉造影,测压;用8 mm/60 mm球囊扩张分流道,置入10 mm/60-80 mm进口金属支架,再正侧位造影,测压。

1.2.2 随访及观察指标: 所有患者治疗结束时间即为随访开始时间,随访6 mo,定期复查患者肝功能、凝血、胃镜、B超等检查,随访期间观察治疗后患者的临床症状包括纳差、消化系出血、腹胀、乏力及体征包括腹水、下肢水肿等的情况。对所有患者在入组时及随访结束时以面对面或电话随访的形式对患者进行SF-36普适性量表^[5]及慢性肝病问卷(chronic liver disease questionnaire, CLDQ)^[6]的调查。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析。计量资料以mean \pm SD表示,采用重复测量资料数据的方差分析和多元方差分析;两样本均数的比较采用 t 检验;两样本率的比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 患者基本情况

| 一般情况 | 对照组 | TIPS组 |
|--------------|--------------|--------------|
| 性别 | | |
| 男性 | 123 | 176 |
| 女性 | 45 | 56 |
| 年龄(岁) | 49.71 ± 8.29 | 50.34 ± 6.58 |
| 病因 | | |
| 乙型肝炎 | 98 | 141 |
| 丙型肝炎 | 24 | 38 |
| 酒精肝 | 28 | 32 |
| 其他 | 18 | 21 |
| Child-Pugh分级 | | |
| A | 43 | 73 |
| B | 92 | 133 |
| C | 33 | 26 |

表 2 TIPS治疗前后肝功能相关指标比较 (mean ± SD)

| 项目/分组 | TIPS组 | 对照组 |
|------------|---------------|---------------|
| ALB(g/L) | | |
| 术前 | 25.67 ± 4.86 | 26.79 ± 6.28 |
| 术后1 mo | 24.29 ± 5.67 | |
| 术后6 mo | 26.38 ± 4.87 | |
| PALB(mg/L) | | |
| 术前 | 82.54 ± 20.24 | 82.04 ± 18.67 |
| 术后1 mo | 85.54 ± 23.64 | |
| 术后6 mo | 81.82 ± 23.76 | |

TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术; ALB: 白蛋白; PALB: 前白蛋白。

2 结果

2.1 患者基本资料特点 本研究统计我科肝硬化共计400例(表1), TIPS组232例, 对照组168例, 男性明显多于女性, 比例约为3:1, 平均年龄约50岁; 病因方面, 以乙型病毒感染引起的肝硬化为主要原因, 占59.7%, 丙型病毒感染引起的肝硬化占15.5%, 酒精性肝硬化占15%, 这与我国是乙型肝炎大国有一定的关系, 但是随着生活水平的提高, 酒精性肝硬化以及非酒精性脂肪性肝硬化呈上升趋势。从Child-Pugh分级的情况看, 肝硬化患者中B级患者比例较大, 这与在我国发现肝硬化的方式有一定的关系, 大部分患者都是在有一定的临床表现如腹水、下肢水肿、皮肤黄染、腹胀等的时候到医院就诊发现已经是肝硬化, 相信随着医疗水平的提高以及社会医疗保险制度的不断完善, 会有更多的患者在较早期的时候发现肝硬化, 这样就为其提供了较早的治疗机会。

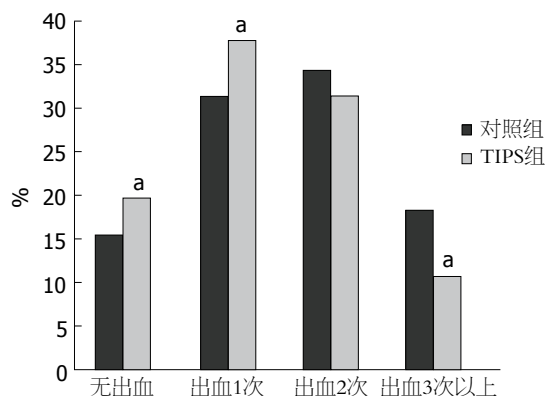


图 1 随访期间患者消化道出血次数比较. * $P < 0.05$ vs 对照组. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术。

2.2 随访期内患者消化系出血情况 在随访期内密切观察患者消化系出血的情况, 记录出血住院的次数统计并进行比较, 结果如图1。从表可知, TIPS组患者无出血(19.8%)及出血1次(37.9%)的比例明显高于对照组(15.5% vs 31.5%)($P < 0.05$), 而出血3次及以上的比例(10.8%)低于对照组(18.5%)($P < 0.05$), 也就是说经过TIPS手术治疗后患者的出血次数较对照组有所减少。由此可见, TIPS术对于食管/胃底重度静脉曲张患者消化系出血的治疗效果明显, 可明显减少患者消化系出血的发生。

2.3 肝功能 经TIPS治疗后的患者, 在TIPS治疗后1和6 mo检测患者肝功能等, 与术前相关指标进行统计学比较; 对照组患者在随访期内多次复查的相关指标取平均作为对照(表2)。经过统计分析, 两组差异无统计学意义。由此可见, TIPS手术操作对于患者的肝功能无影响。

2.4 生存质量比较 患者的生活质量采用SF-36量表和CLDQ问卷进行测定和比较。SF-36量表^[8]包括36个选项, 共8个维度, 分别是体能(physical function, PF)、体能影响(role physical, RP)、身体疼痛(body pain, BP)、一般健康(general health, GH)、精力(vitality, VT)、社会活动(social function, SF)、精神影响(role emotional, RE)和心理健康(mental health, MH), 每个维度按照1-8编号, 每个维度中的问题按照a、b、c……编号。量表的每个问题得分, 都根据答案选项得出, 即为原始分, 反映同一维度的各个问题得分之和, 即为该维度原始分数(粗分), 分数越高表示生活质量越高。采用极差变换法按照公式: 标准分 = $[100 \times (\text{原始分数} - \text{最低可能得分}) / (\text{最高可能得分} - \text{最低可能得分})]$ 。将各领域的原始分数变换为0-100内取值的标准分, 以便进行比较(表3)。

■ 相关报道

大量临床的研究证实TIPS术可治疗门脉高压引起的食道、胃底静脉曲张破裂所致出血, 同时降低门静脉压, 术后静脉曲张再出血率降低。对于TIPS术后肝硬化患者的生活质量研究报道较少。

■创新盘点

本文应用SF-36量表和CLDQ来观察患者TIPS手术治疗肝硬化消化道出血,有一定的新意和临床意义。

表 3 SF-36各维度计分(粗分)方法

| 类别 | 最终记分合计值 | 可能的最高分与最低分数 | 粗分的变动范围 |
|------|-------------------|-------------|---------|
| 体能 | 1a+1b+...+1j | 10, 30 | 20 |
| 体能影响 | 2a+2b+2c+2d | 4, 8 | 4 |
| 身体疼痛 | 3a+3b | 2, 12 | 10 |
| 一般健康 | 4a+4b+4c+4d+4e+4f | 6, 30 | 24 |
| 精力 | 5a+5b+5c+5d | 4, 24 | 20 |
| 社会活动 | 6a+6b | 2, 10 | 8 |
| 精神影响 | 7a+7b+7c | 3, 6 | 3 |
| 心理健康 | 8a+8b+8c+8d+8e | 5, 30 | 25 |

表 4 患者SF-36量表调查情况 (mean ± SD)

| | 对照组 | | TIPS组 | | |
|------|--------------|--------------------------|--------------|--------------------------|---------------------------|
| | 入组时 | 随访结束 | 术前 | 术后1 mo | 术后6 mo |
| 体能 | 70.2 ± 14.35 | 72.2 ± 14.41 | 66.9 ± 10.64 | 69.1 ± 9.75 | 74.5 ± 9.39 |
| 体能影响 | 71.2 ± 9.21 | 72.2 ± 10.54 | 67.9 ± 13.18 | 71.2 ± 8.46 | 73.9 ± 8.69 |
| 身体疼痛 | 58.2 ± 7.46 | 60.2 ± 8.97 | 56.6 ± 8.59 | 61.2 ± 6.43 | 65.4 ± 8.46 ^a |
| 一般健康 | 57.4 ± 8.82 | 64.8 ± 9.66 ^c | 58.4 ± 9.34 | 64.7 ± 8.12 | 70.7 ± 11.42 ^a |
| 精力 | 54.5 ± 5.37 | 55.1 ± 8.82 | 56.2 ± 10.18 | 61.2 ± 7.28 | 64.8 ± 8.12 |
| 社会活动 | 51.2 ± 7.34 | 58.1 ± 5.24 ^c | 52.5 ± 8.15 | 58.2 ± 6.67 | 67.3 ± 6.98 ^a |
| 精神影响 | 41.2 ± 5.25 | 46.8 ± 8.46 ^c | 41.8 ± 6.34 | 48.3 ± 5.64 ^a | 56.5 ± 5.22 ^a |
| 心理健康 | 41.4 ± 5.34 | 47.2 ± 6.48 ^c | 42.8 ± 8.32 | 48.6 ± 6.34 ^a | 57.2 ± 6.67 ^a |

^a $P < 0.05$ vs 对照组和术前; ^c $P < 0.05$ vs 入组时. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术。

表 5 患者CLDQ问卷调查情况 (mean ± SD)

| | 对照组 | | TIPS组 | | |
|------|-------------|--------------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| | 入组时 | 随访结束 | 术前 | 术后1 mo | 术后6 mo |
| 腹部症状 | 13.2 ± 3.42 | 13.7 ± 2.55 | 13.4 ± 2.36 | 13.8 ± 1.87 | 14.9 ± 3.65 ^{ac} |
| 乏力 | 18.4 ± 4.26 | 19.5 ± 4.19 | 19.1 ± 3.62 | 21.6 ± 3.38 | 24.7 ± 4.02 ^{ac} |
| 全身症状 | 23.4 ± 3.75 | 25.4 ± 4.42 ^a | 24.0 ± 4.64 | 26.9 ± 4.35 | 29.7 ± 2.87 ^{ac} |
| 活动 | 11.4 ± 2.64 | 12.7 ± 2.97 | 12.2 ± 2.82 | 14.2 ± 1.97 | 15.2 ± 3.21 ^{ac} |
| 情感功能 | 33.5 ± 3.19 | 36.6 ± 3.26 ^a | 33.7 ± 3.19 | 36.3 ± 3.25 ^{ac} | 39.2 ± 3.31 ^{ac} |
| 焦虑 | 21.6 ± 4.14 | 22.5 ± 2.31 | 21.3 ± 3.38 | 23.5 ± 3.75 | 26.5 ± 3.42 ^{ac} |

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 术前; ^a $P < 0.05$ vs 入组时. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术。

CLDQ是我国第一个针对慢性肝病的生活质量问卷,分为6个维度:腹部症状(AS)(总分21)、乏力(FA)(总分35)、全身症状(SS)(总分35)、活动(AC)(总分21)、情感功能(EF)(总分56)、焦虑(WO)(总分35)。每个问题按1-7分7级评分,分数越高表示生活质量越高。调查患者近2 wk的上述经历。

对TIPS组患者在术前、术后1和6 mo进行SF-36量表和CLDQ问卷调查,对照组在入组

时及随访结束时进行,采用面对面或者电话随访的方式进行。按照上述方法计算并统计患者得分情况如下表,并进行统计学分析。对于SF-36量表(表4),术后6 mo TIPS组患者在精力和体能方面的指标差异无统计学意义,其余各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义;对照组患者在一般健康、社会活动、精神影响、心理健康等方面与入组时比较差异有统计学意义。对于CLDQ问卷(表5),术后6 mo TIPS组

患者各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义; 对照组患者在全身症状、情感功能等方面与入组时比较差异有统计学意义. 由此可见, TIPS治疗后患者的一般健康和心理等很多方面都有明显改善.

3 讨论

门静脉高压症是肝硬化的合并症, 临床症状一般表现为脾肿大、门脉胃黏膜病变、食管胃底静脉曲张、脾功能亢进、腹水等, 门脉高压所致的食道、胃底静脉曲张破裂出血是最危急的并发症, 居各种上消化道出血原因之首, 初次出血的死亡率约为45%-50%, 患者一旦发生食道静脉曲张破裂出血, 首次出血后未采取任何预防性措施者其1-2年复发出血的危险性约为60%, 复发出血死亡率可达30%-40%. 另经内镜治疗者仍有12%-30%的失败率, 对年龄大、肝功能差(尤其是C级)、大量腹水不能耐受手术的急诊出血患者, 若行TIPS术均有好疗效^[7-9]. 2008年世界胃肠组织关于食管静脉曲张的临床指南中建议对于Child-Pugh C级患者需慎行TIPS术, 本研究中Child-Pugh C级患者26例(11.2%), 对于此类患者在行其他治疗方式均无效的情况下, 我们选择了行TIPS术, 均达到了止血的目的, 治疗效果明显, 安全性好.

大量临床的研究证实^[1,2,10,11]TIPS术可治疗门脉高压引起的食道、胃底静脉曲张破裂所致出血, 同时降低门静脉压, 术后静脉曲张再出血率降低. 本组研究资料显示, TIPS术患者无出血及出血1次的比例明显高于对照组($P<0.05$), 达57.7%; 而出血3次及以上的比例低于对照组($P<0.05$); 可见经TIPS手术治疗后患者的出血次数较对照组明显减少, TIPS术对于食管/胃底重度静脉曲张患者消化系出血的治疗效果明显, 可明显减少患者消化系出血的发生. 同时检测患者的肝功能, 术后6 mo与术前及对照组相关指标进行统计学比较, 差异无统计学意义, TIPS手术操作本身对患者的肝功能无影响.

慢性肝病已经成为一个社会健康的主要问题, 由于现有药物缺乏特异性以及治疗和认识进入误区, 患者不但经历生理、心理、生活和经济的痛苦, 在环境和精神上也备受困扰, 对人们健康危害极为严重. 生活质量已被认为是慢性肝病自然病史的重要方面和评价治疗效果的重要手段^[12]. 多项研究证实^[13,14]SF-36在中国人群中的信度和效度是可以接受的, 适用于我国

慢性乙型肝炎患者的生存质量的测定. Younossi等^[6]学者编制的CLDQ是国际上较为认可的一份用于慢性肝病患者的生存质量测量的量表之一, 其在中国慢性乙型肝炎患者中已经过了不同学者的试用^[15,16], 证实了用于慢性乙型肝炎患者生存质量评价的信度和效度. 本研究结合SF-36和CLDQ问卷对慢性肝硬化的生活质量进行了测定. 对于SF-36量表, 对照组患者行内科保守治疗后患者的一般健康、社会活动、精神影响、心理健康等方面有一定的改善; 行TIPS手术治疗的患者的, 在术后6 mo精力和体能方面的指标与对照组及术前比较差异无统计学意义, 在一般健康、身体疼痛、社会活动、精神影响、心理健康等方面改善明显. 对于CLDQ问卷, 对照组患者在全身症状、情感功能等方面有所改善; 术后6 mo TIPS组患者6个维度与对照组及术前比较差异有统计学意义. 可见行TIPS治疗后患者的一般健康、社会活动、精神影响、腹部症状、全身症状等方面较对照组有所改善.

本研究结果显示, 肝硬化的病因以乙型肝炎病毒感染为主, 男性多于女性, 平均发病年龄为50岁左右, 多数为Child-Pugh B级患者; 经TIPS手术治疗后能减少患者消化系出血的次数, TIPS术对预防或者减少门脉高压所致消化系出血效果明显, 且本项技术操作对患者的肝功能无明显影响; 患者的生存质量较术前及对照组有明显改善.

4 参考文献

- 1 褚建国, 孙晓, 黄鹤, 徐晓明, 扑龙松, 吕春燕, 孙鹏, 杨淑慧, 刘姝英. 经肝段下腔静脉入路经颈静脉肝内门体分流术的适应证及解剖基础. 介入放射学杂志 2004; 13: 15-18
- 2 张金山, 王茂强, 杨立, 邢冲冲, 于森, 崔志鹏, 黄英才, 张正友, 高育敏. 经颈静脉途径肝内门体分流术. 中华医学杂志 1994; 74: 150-152
- 3 李麟荪, 主编. 临床介入治疗学. 南京: 江苏科学技术出版社, 1994: 328-340
- 4 秦建平, 蒋明德, 曾维政, 邓旦, 徐辉, 吴晓玲, 汪庆华, 顾明. 经颈内静脉肝内门体分流术治疗肝硬化门脉高压症56例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1420-1424
- 5 Spiro A, Bossé R. Relations between health-related quality of life and well-being: the gerontologist's new clothes? *Int J Aging Hum Dev* 2000; 50: 297-318 [PMID: 11087109]
- 6 Younossi ZM, Guyatt G, Kiwi M, Boparai N, King D. Development of a disease specific questionnaire to measure health related quality of life in patients with chronic liver disease. *Gut* 1999; 45: 295-300 [PMID: 10403745 DOI: 10.1136/gut.45.2.295]
- 7 Sauer P, Hansmann J, Richter GM, Stremmel W, Stiehl A. Endoscopic variceal ligation plus propranolol vs. transjugular intrahepatic portosystemic shunt: a long-term randomized trial. *Endosco-*

■应用要点

本文对TIPS治疗后肝硬化消化系出血患者232例进行随访, 从患者一般情况、肝功能、消化系出血情况、生活质量等方面进行统计分析, 为TIPS治疗肝硬化消化道出血起指导意义, 为TIPS在临床中的应用提供临床资料.

■同行评价

本文应用SF-36量表和CLDQ来观察患者TIPS手术治疗肝硬化消化系统出血,有一定的新意和临床意义.

- py 2002; 34: 690-697 [PMID: 12195325 DOI: 10.1055/s-2002-33565]
- 8 Chalasani N, Kahi C, Francois F, Pinto A, Marathe A, Bini EJ, Pandya P, Sitaraman S, Shen J. Improved patient survival after acute variceal bleeding: a multicenter, cohort study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 653-659 [PMID: 12650802 DOI: 10.1016/S0002-9270(02)06016-1]
- 9 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢. TIPSS和EVS治疗食道静脉曲张破裂出血的临床分析. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1659-1660
- 10 Khan S, Tudur Smith C, Williamson P, Sutton R. Portosystemic shunts versus endoscopic therapy for variceal rebleeding in patients with cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD000553 [PMID: 17054131 DOI: 10.1002/14651858.CD000553.pub2]
- 11 Rösch J, Keller FS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: present status, comparison with endoscopic therapy and shunt surgery, and future perspectives. *World J Surg* 2001; 25: 337-345; discussion 345-346 [PMID: 11343189]
- 12 Bayliss MS. Methods in outcomes research in hepatology: definitions and domains of quality of life. *Hepatology* 1999; 29: 3S-6S [PMID: 10386074]
- 13 潘华平. SF-36量表在慢性乙型肝炎患者生存质量中的应用研究. *中华全科医学* 2010; 8: 152-153
- 14 刘朝杰, 李宁秀, 任晓晖, 李俊, 张骏, 孙丁. 36条目简明量表在中国人群中的适用性研究. *华西医科大学报* 2001; 32: 39-42
- 15 聂勇战, 张金霞, 李新华, 宋汉歌, 樊代明. 慢性肝病患者健康相关生存质量的量表评价. *现代康复* 2001; 5: 18-19
- 16 吴创鸿, 邓启文, 纪晓抒, 阎郎明. 慢性肝病问卷在慢性乙型肝炎患者中的试用. *中国临床心理学杂志* 2003; 11: 60-62

编辑 田滢 电编 鲁亚静



三维重建技术在精准肝切除中的临床应用

王松平, 李建生, 马金良, 英卫东, 葛勇胜, 余继海

王松平, 李建生, 马金良, 英卫东, 葛勇胜, 余继海, 安徽医科大学附属省立医院肝胆外科 肝胆胰外科安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001

王松平, 主要从事肝胆外科疾病诊断与治疗学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81172364

安徽高校省级自然科学研究重点基金资助项目, No.

KJ2011A171

安徽省科技计划基金资助项目, No. 11010402163

作者贡献分布: 王松平、李建生、马金良、英卫东、葛勇胜及余继海对此文所作贡献均等; 此课题由王松平、李建生、马金良、英卫东、葛勇胜及余继海设计; 研究过程由王松平、李建生、马金良、英卫东、葛勇胜及余继海操作完成; 数据分析由王松平完成; 本论文写作由王松平完成。

通讯作者: 李建生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属省立医院肝胆外科。

lijiansheng1953@163.com

收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-03-30

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy

Song-Ping Wang, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu

Song-Ping Wang, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu, Department of Hepatic Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81172364; Key Project of Natural Science Foundation for Universities in Anhui, No. KJ2011A171; Science and Technology Program of Anhui Province, No.11010402163

Correspondence to: Jian-Sheng Li, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. lijiansheng1953@163.com
Received: 2014-03-11 Revised: 2014-03-30

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy for primary liver cancer.

METHODS: 3D virtual surgical planning system (IQQA-Liver) can be applied clinically to precise hepatectomy. Fifty-three patients with primary liver cancer who did not undergo three-dimensional reconstruction (group A) and 39 who underwent three-dimensional reconstruction

(group B) were included. The design, planning and implementation of the operation were based on the traditional two-dimensional image data in group A. Intraoperative and postoperative conditions such as operative time, blood loss and complications were analyzed and compared with those in group B. In group B, two-dimensional and three-dimensional measures were used to measure total liver volume and pre-cut volume, and the operation was performed based on preoperative assessments using three-dimensional reconstruction technology.

RESULTS: The rate of complications in group B was lower than that in group A, but there was no significant difference. The results of precision hepatectomy based on three-dimensional reconstruction data were not worse than those on two-dimensional preoperative data. No significant difference ($t = 1.985$, $P > 0.05$) was found in the resected liver volume calculated based on three-dimensional reconstruction data and on two-dimensional reconstruction data.

CONCLUSION: Three-dimensional reconstruction can help achieve the goals of certainty, predictability and controllability of precise hepatectomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key words: Three-dimensional reconstruction; Primary liver cancer; Precise liver resection

Wang SP, Li JS, Ma JL, Jia WD, Ge YS, Yu JH. Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2169-2174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2169.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2169>

摘要

目的: 探讨三维重建技术在精准肝切除治疗原发性肝癌中的临床应用价值。

方法: 我院引进3D虚拟手术规划系统(IQQA-

■背景资料

利用精准肝切除手术治疗原发性肝癌成为当前该领域临床治疗的首选。随着计算机技术在医学的广泛应用, 三维重建技术应运而生, 它的大力发展和临床应用为减少术后肝功能衰竭、确保肝切除手术安全性和精确性提供了保证。但是学术界对其实际临床价值是否显著优于传统二维术前规划, 仍然存在争议。

■同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

■研发前沿

如何利用三维技术在治疗原发性肝癌中行精准肝切除术,探讨三维重建技术在临床实践中的应用价值,即三维技术是否明显优于传统二维术前的规划。

Liver),可临床应用于精准肝切除。本研究分别收集并统计了应用三维重建技术治疗原发性肝癌前手术临床资料53例,应用后临床资料39例,作为A、B两组。A组的手术是医院在引进三维重建技术之前实施的,手术设计、规划和具体实施是基于传统的二维影像资料。本研究统计和分析了A组术中、术后情况诸如手术时间、出血量、并发症等,并与B组相关数据比较;B组分别应用二维和三维方法测量肝脏总体积、预切除体积等,并根据三维重建技术术前评估得出的切除方式进行手术。

结果: (1)根据对A、B两组术后并发症情况分析,B组术后并发症情况少于A组,但无明显差异,说明实施三维重建技术行精准肝切除术至少不会比二维术前规划结果差;(2)B组二维计算的切除肝体积和三维计算的数据无显著差异($t = 1.985, P > 0.05$)。

结论: 三维重建技术可以实现精准肝切除术确定性、预见性和可控性的目标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 三维重建技术; 原发性肝癌; 精准肝切除

核心提示: 实施三维重建技术行精准肝切除术,术后并发症,诸如胸腔积液胆漏、肺部感染、伤口感染等以及术中实际情况如术中出血量和手术时间等出现的概率少于传统二维规划,并且二维计算的切除肝体积和三维计算的数据无显著差异。

王松平, 李建生, 马金良, 英卫东, 葛勇胜, 余继海. 三维重建技术在精准肝切除中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2169-2174 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2169.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2169>

0 引言

原发性肝癌(primary liver cancer)是指在肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤,其患者一般已进入肝硬化阶段^[1]。尽管科学研究已证实,肝脏移植是治疗原发性肝癌的最理想方案^[2,3],但是肝脏供源的短缺以及高昂的手术成本等因素严重制约了其在临床的实际应用。肝移植术发展的桎梏给治疗原发性肝癌的另一大重要技术-肝切除术,提供了良好的发展契机^[4]。根据董家鸿提出的精准肝切除概念,精确的术前评估、计算残肝体积和残肝储备功能是避免术后肝功能衰竭,提高术后生存率,最终保证手术成

功的重要助力。但如何在精准计算切除肿瘤的体积和尽可能地保留剩余肝组织二者之间进行有效的选择,是临床应用的两难问题^[5]。传统的二维断层MRI、CT等影像扫描,以及肝功能的半定量检查评估并不能对病灶的解剖定位、肝内脉管结构的毗邻关系以及残肝体积等提供精准量化的立体构象分析,术中超声虽然在一定程度上提高了肝切除的精准性,但在离断肝实质时仍旧无法从不同方位定位。因此,能够提供更加精确的剩余肝脏体积和虚拟仿真肝切除手术的三维重建技术应运而生,他的大力发展和临床应用为减少术后肝功能衰竭、确保肝切除手术安全性和精确性提供了保证^[6]。

本研究参照相关标准收集并统计了我院应用三维重建技术前行肝切除术的原发性肝癌患者手术临床资料53例,应用后资料39例,作为A、B两组。本研究仅对A组术中、术后情况诸如手术时间、出血量、并发症等进行统计分析,并与B组相关数据对比;B组则分别应用二维和三维测量肝脏总体积、预切除体积等,并根据三维重建技术术前评估得出的切除方式行肝切除术。其中B组病患三维重建技术是在传统二维影像数据的基础上进行,显示病灶以及肝内各管道的立体构象,并进行量化分析,模拟实施肝切除术,根据实时得出的残肝体积计算剩余肝脏的储备功能,选择最佳方案进行手术。通过两组手术结果的对比、验证,探讨、评价三维重建技术在精准肝切除治疗原发性肝癌中的临床应用价值,以及对二维手术规划的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入本研究的原发性肝癌患者共计92例,其中男69例,女23例;肝细胞癌77例,肝内胆管细胞癌15例;应用三维重建技术前实施手术的53例,应用后实施的39例。92例病患年龄跨度大致是40-60岁,平均年龄46岁。本研究排除不同影响因素可能对手术结果产生的影响,其中肝功能严重受损、病灶过大、切除后剩余肝脏不能良好代偿(剩余肝脏体积不足标准肝脏体积的30%)从而很可能导致急性肝功能衰竭的肝癌患者剔除研究样本^[7]。

此外,考虑到多发病灶的出现是疾病晚期的证据,单个肿瘤的患者5年生存率可达57%,而3个或更多肿瘤患者仅为26%这一因素,同时也为突出二维和三维的手术规划效果,本研究全部选择了单一病灶的患者^[8]。患者术前肝功能均为

Child-Pugh A级^[9], 无明显门静脉高压征象, 吲哚靛绿染色剂15 min滞留率<10%。

1.2 方法

1.2.1 肝脏三维重建: 首先, 对B组39例患者以多层螺旋CT行上腹部平扫和三期增强扫描, 层厚1.25-1.50 mm, 将B组获得的二维图像按顺序导入美国EDDA公司的计算机辅助手术规划系统进行三维重建, 并在此基础上进行虚拟手术的规划。其次, 系统自动根据肝脏静脉期全部影像轮廓将其从周围脏器中提取出来, 操作者可以适当手工分割, 系统会实时生成肝脏的相关信息, 包括病灶信息、肝内管道的空间分布、管径、长度、变异、肿瘤与肝脏管道结构的毗邻关系、剩余肝脏的血管结构和拟切断的重要血管结构等。最后, 根据肝区分割功能对肝脏进行分段, 完成B组所有病患的三维重建, 构建清晰的三维立体透视影像。

1.2.2 肝脏体积测算: B组首先基于二维断层影像和患者的身高、体质量等基本信息计算肝脏体积和评估残肝体积。然后在二维图像的基础上重建三维立体影像, 根据不同的虚拟切割方式, 系统自动得出肿瘤体积、预切除肝脏体积、肝段体积、剩余肝脏中的缺血、淤血体积等数据, 选择最佳的手术方式, 通过比较B组不同手术规划的手术结果, 比较三维和二维手术规划的情况以及三维手术术前规划与三维实际手术结果的相关性。

1.2.3 手术设计: A组为应用三维重建技术前53例符合条件的样本。查阅、收集历史资料, 包括手术时间、术中出血量^[10]以及术后并发症随访记录结果。B组基于三维重建技术的手术规划行肝切除术, 记录术中实际手术时间、出血量等情况, 并术后随访12 mo, 平均随访10 mo, 记录并发症结果并与A组对比研究。B组的二维手术规划只在二维影像资料的基础上, 确定目标病灶的边界, 根据肝区或肝段间隙的标志性结构在二维影像上划定拟切除线, 根据体质量、身高确定必要的切除范围和要保留的体积以及肝实质离断层面。

此外, B组通过三维重建技术, 明确病灶与肝脏内各管道的关系, 参考全肝体积、肿瘤体积等二维数据, 确定需切除的目标病灶累及的病变肝组织及病灶切除后结构和功能可能会遭到损毁的非病变肝组织, 可以模拟多种手术切除方案。对于正常肝实质, 剩余具有功能的肝脏体积要求大于标准肝脏体积的30%; 对于存在明

表 1 二维和三维方式下的肝切除体积

| 测量方式 | 切除部分体积(cm ³) | 剩余肝脏体积/全肝体积(%) |
|------|--------------------------|----------------|
| 二维 | 532 ± 229 | 59.60 ± 12.11 |
| 三维 | 568 ± 245 | 58.34 ± 11.25 |
| 术后实际 | 574 ± 238 | 60.08 ± 12.07 |

显纤维化或肝硬化的患者, 其剩余具有功能的肝脏体积要求大于标准肝脏体积的40%。因此, 在必要切除范围和必需保留范围之间的肝脏可切除范围的基础上, 考虑足够的无肿瘤切边缘, 最大程度地保留功能性肝组织。并结合各种可选择手术方式的难度、风险和安全性, 选择最佳的虚拟手术切除方案。利用软件中的空间切割工具, 顺沿缺乏脉管结构的区段间隙, 进行虚拟切割, 并自动得出预切除肝脏体积、剩余肝脏体积、肝段体积、剩余肝脏中的缺血、淤血体积等各项数据。在此基础上, 将其应用于B组39例患者, 将三维方法切除肝脏体积结果和二维结果相对照, 分析相关性和差异性。

统计学处理 本文应用SPSS12.0统计软件进行分析。三维方法切除肝脏体积与二维方法切除肝脏体积之间的差异分析采用配对 t 检验, 两者之间的相关性采用Pearson相关分析, 误差率的比较采用 r 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体积测量 B组内, 二维方法计算的预切除肝脏体积与采用三维方法计算的结果比较, 差异无统计学意义($t = 1.985$, $P>0.05$)。三维方法计算切除肝脏体积与术后实际切除肝脏质量统计学中具有相关性($r = 0.999$, $P<0.05$)(表1)。

2.2 临床手术 A组是我院引进三维重建技术前, 按照二维手术规划的结果实施的53例肝切除样本。通过查阅历史资料统计术后并发症等情况。B组样本39例, 按照三维重建技术手术规划最佳方案行精准肝切除术。对B组39例患者术后随访12 mo, 平均随访10 mo。两组术后并发症统计包括术中死亡率、有无术后肝功能损害、切口感染、胸腔积液等^[11], 统计结果如表2。

结果显示, A组出现8例胸腔积液、1例胆漏、3例肺部感染、1例肝功能衰竭。53例样本中37例获得随访统计结果, 肿瘤复发率40.5%, 1年生存率78.3%。B组3例病患术后出现并发症, 经保守治疗痊愈。39例样本中35例获得随访结

■创新盘点

首先, 本研究通过查阅、收集利用三维重建技术前即利用传统二维手术规划并行肝切除术的患者手术时间、术中出血量以及术后并发症等随访记录资料, 并与利用三维重建技术术前规划和术中切除的患者资料对比研究。其次, 选取利用三维重建技术后的病患资料, 术前分别利用二维和三维计算预切除肝脏体积, 分析三维与传统二维技术的优劣。

应用要点

医学应该充分利用当前科学技术的飞速发展所带来的契机。在临床实践中,更多借助三维技术行精准肝切除术,根据预后风险分析在保证切缘安全的基础上避免过多的肝组织切除,使患者达到最小创伤侵袭、最大脏器保护和最佳康复效果,而不必过多依赖医生的经验和主观判断。

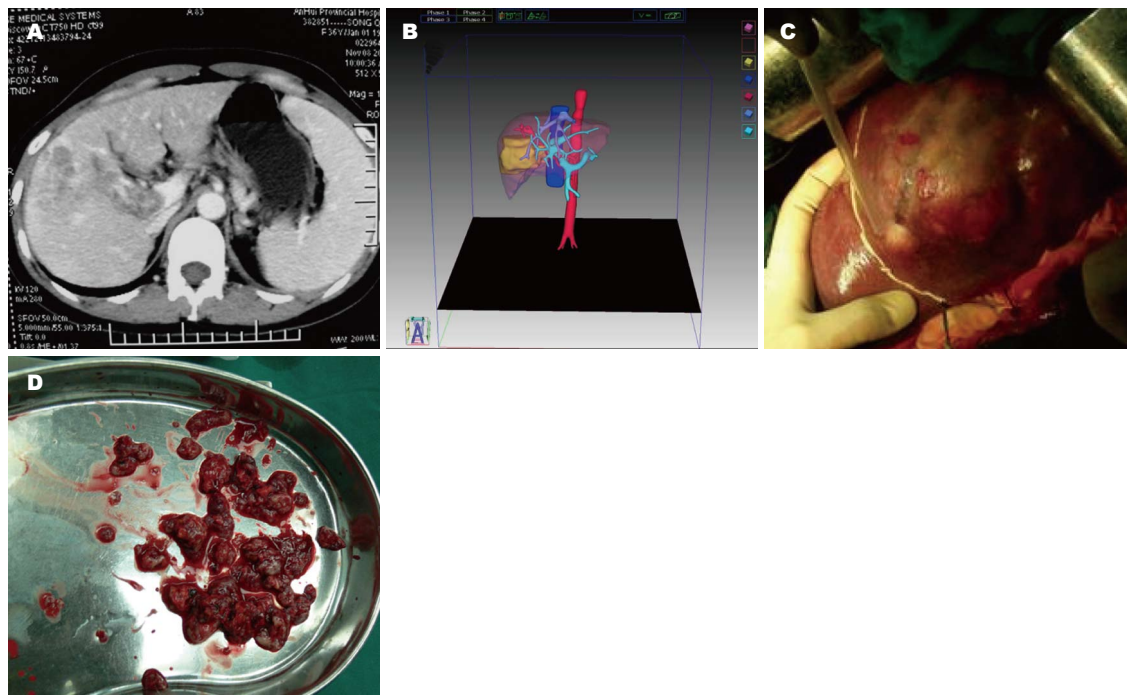


图1 肝中叶肿瘤精准切除影像资料。A: 术前CT检查; B: 三维重建显示病灶体积以及病灶与肝静脉、门静脉之间的关系; C: 术中病灶位置; D: 术中取出癌栓。

表2 术后并发症情况统计表

| 术后并发症 | A组 | | B组 | |
|-------|--------------|------|--------------|-----|
| | n | % | n | % |
| n | 53 | 39.0 | | |
| 胸腔积液 | 8 | 15.1 | 3 | 7.7 |
| 胆漏 | 1 | 1.9 | 0 | 0.0 |
| 肺部感染 | 3 | 5.7 | 1 | 2.6 |
| 切口感染 | 2 | 3.8 | 1 | 2.6 |
| 肝功能衰竭 | 1 | 1.9 | 0 | 0.0 |
| 肿瘤复发率 | 40.5%(15/37) | | 8.6%(3/35) | |
| 1年生存率 | 78.3%(29/37) | | 91.4%(32/35) | |

果,肿瘤复发率8.6%,1年生存率91.4%。B组术后并发症发生的概率基本小于A组,但是差异并不明显。92例样本量的对比结果显示,利用三维重建技术术前规划,术后并发症出现的概率低于二维术前规划,但无明显差异。

此外, B组20例手术患者术中平均出血约330 mL,平均术后住院天数8 d,平均手术时间193 min,未实施肝门阻断。A组手术患者术中平均出血约431 mL,平均术后住院10 d,平均手术时间125 min,实施肝门阻断,平均阻断时间19 min(表3)两组术中出血量、手术时间以及术后住院天数等参数无明显差异。实施三维重建技术行精准肝切除术至少不会比二维术前规划结果差。

表3 其他术中、术后基本情况统计一览表

| 其他术中以及术后基本情况 | A组(应用三维技术前) | B组(应用三维技术后) |
|--------------|-------------|-------------|
| 平均出血量(mL) | 431 | 330 |
| 平均术后住院天数(d) | 10 | 8 |
| 平均手术时间(min) | 125 | 193 |
| 肝门阻断 | | |
| 是否肝门阻断 | 是 | 否 |
| 平均阻断时间(min) | 19 | 0 |

2.3 两例患者术前三维重建评估结果及手术规划 这里选取了B组中二维和三维评估结果有所不同的两个病例进行研究。

病例1, 男, 年龄51岁, 肝细胞癌。根据二维影像评估结果显示, 肿瘤为单一病灶, 位于肝中叶, 拟从肿瘤部位进行局部切除手术, 但由于病灶切缘不清, 应用三维重建技术后, 采用虚拟手术模拟多种切除方式, 病灶位于第八段, 由第八段背侧支供血, 为充分切除肿瘤, 拟行解剖性八段切除术并门静脉切开放取栓, 并保证剩余肝脏体积能够达到正常肝储备功能, 手术采用该方案并取得了成功(图1)。

病例2, 男, 年龄48岁, 为巨块型肿瘤, 肿瘤位于右半肝, 拟行右三区切除术, 但计算的剩余肝脏体积仅为498 mL, 功能肝切除率过大, 二

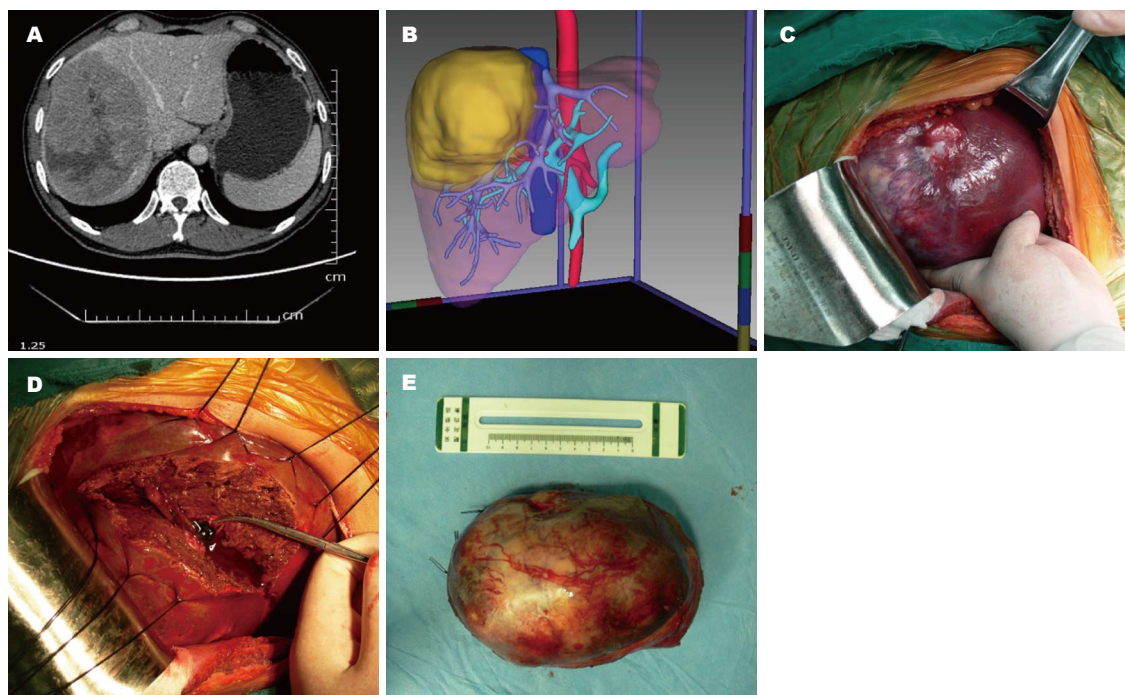


图2 右肝巨块型肿瘤精准切除影像资料。A: 术前CT检查; B: 三维重建显示病灶体积以及病灶与肝静脉、门静脉之间的关系; C: 术中病灶位置; D: 术中切除肿瘤后创面; E: 术中实际切除标本。

■同行评价

本文选题简明而有特色, 研究方法和技术较系统, 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国消化系外科临床和基础研究的先进水平。

维手术设计规划结果是不宜行肝切除术。而根据二维影像重建的三维模型中显示病灶位于肝脏的Ⅶ、Ⅷ段, 部分Ⅴ、Ⅵ段, 无病灶区的左半肝和剩余Ⅴ、Ⅵ段的总体积占标准肝脏体积的62.5%, 可实现正常代偿。因此, 在三维手术规划下改行精准Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ段局部切除, 手术取得成功(图2)。

3 讨论

本研究结果证实, 利用二维方法计算的预切除肝脏体积与采用三维方法计算的结果比较, 差异无统计学意义($t = 1.985$, $P > 0.05$); 三维方法计算切除肝脏体积与术后实际切除肝脏质量统计学中具有相关性($r = 0.999$, $P < 0.05$); 在三维术前规划的结果实施手术无论是手术时间、术中出血量还是术后并发症出现的概率都好于在二维规划基础上实施的手术结果, 但是结果没有太大差异。但是在实际临床应用中, 三维重建技术在治疗原发性肝癌中的优势非常明显。三维图像视觉立体、直观、形态逼真, 免去了外科医生根据二维CT图像在脑海中进行复杂图像综合和空间想象过程。通过系统自带的透明化处理, 可以从多角度旋转观察肿瘤的大小、定位、数目, 病灶累及范围和邻近脉管的毗邻关系等^[12,13]。通过对图像的处理, 实时计算模拟切除的肝脏体积、残肝体积, 根据预后风险分析在保证切

缘安全的基础上避免过多的肝组织切除^[14]。对不同方案进行比较, 筛选出最佳方案, 应用于临床。这种基于三维重建技术的术前评估和规划能够最大限度地减少不必要的组织损伤, 控制术中出血, 使患者达到最小创伤侵袭、最大脏器保护和最佳康复效果^[15]。但是由于时间、资源和能力等因素制约, 本研究还存在很多不足, 所选取的样本量也比较有限, 不能完全排除偶然因素的影响, 也不能完全代表所有可能的结果。本研究仅仅是提供一种见解和想法, 希望对后来的研究有所启示。

4 参考文献

- 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除-21世纪肝脏外科新理念. 中华外科杂志 2009; 47: 1601-1605
- 董家鸿. 肝细胞癌治疗理念与策略的转变. 中华消化外科杂志 2009; 8: 85-87
- 樊嘉, 吴志全, 汤钊猷, 马曾辰, 周信达, 林芷英, 叶胜龙, 周俭, 邱双健, 钦伦秀, 叶青海. 不同治疗模式对不能切除的肝癌二期手术预后的影响. 中华外科杂志 2001; 39: 745-748
- Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 16-22 [PMID: 15754094 DOI: 10.1007/s00534-004-0965-9]
- Garcea G, Ong SL, Maddern GJ. Predicting liver failure following major hepatectomy. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 798-806 [PMID: 19303376 DOI: 10.1016/j.dld.2009.01.015]

- 6 王正. 数字化时代的医学革命. 中国数字医学 2009; 4: 8-11
- 7 Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 2007; 356: 1545-1559 [PMID: 17429086 DOI: 10.1056/NEJMra065156]
- 8 Farges O, Belghiti J, Kianmanesh R, Regimbeau JM, Santoro R, Vilgrain V, Denys A, Sauvanet A. Portal vein embolization before right hepatectomy: prospective clinical trial. *Ann Surg* 2003; 237: 208-217 [PMID: 12560779 DOI: 10.1097/01.SLA.0000048447.16651.7B]
- 9 Belghiti J, Regimbeau JM, Durand F, Kianmanesh AR, Dondero F, Terris B, Sauvanet A, Farges O, Degos F. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 41-46 [PMID: 11941981]
- 10 Nagino M, Kamiya J, Arai T, Nishio H, Ebata T, Nimura Y. "Anatomic" right hepatic trisectionectomy (extended right hepatectomy) with caudate lobectomy for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 28-32 [PMID: 16371733 DOI: 10.1097/01.sla.0000193604.72436.63]
- 11 许戈良, 蒯卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟. 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌 53例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1824-1828
- 12 Yamanaka J, Saito S, Fujimoto J. Impact of preoperative planning using virtual segmental volumetry on liver resection for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 2007; 31: 1249-1255 [PMID: 17440774 DOI: 10.1007/s00268-007-9020-8]
- 13 Saito S, Yamanaka J, Miura K, Nakao N, Nagao T, Sugimoto T, Hirano T, Kuroda N, Iimuro Y, Fujimoto J. A novel 3D hepatectomy simulation based on liver circulation: application to liver resection and transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1297-1304 [PMID: 15846773 DOI: 10.1002/hep.20684]
- 14 Lang H, Radtke A, Hindennach M, Schroeder T, Frühauf NR, Malagó M, Bourquain H, Peitgen HO, Oldhafer KJ, Broelsch CE. Impact of virtual tumor resection and computer-assisted risk analysis on operation planning and intraoperative strategy in major hepatic resection. *Arch Surg* 2005; 140: 629-638; discussion 638 [PMID: 16027326 DOI: 10.1001/archsurg.140.7.629]
- 15 董家鸿, 黄志强. 倡导精准肝脏外科 重现普罗米修斯神话. 中华消化外科杂志 2010; 9: 4-5

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素

仇奕然, 张海燕

仇奕然, 南方医科大学 广东省广州市 510515

仇奕然, 张海燕, 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的研究。

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, 江苏省启东市紫薇中路458号, 启东市中医院普外科. jinjin9387@126.com

电话: 0513-83251941

收稿日期: 2014-04-10 修回日期: 2014-05-04

接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-05-28

Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang

Yi-Ran Qiu, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong 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, 456 Ziwei Middle Road, Qidong 226200, Jiangsu Province, China. jinjin9387@126.com

Received: 2014-04-10 Revised: 2014-05-04

Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy.

METHODS: A retrospective analysis of 830 inpatients patients who underwent laparoscopic cholecystectomy from January 2008 to December 2012 at our hospital was performed, of whom 80 developed myocardial infarction. Univariate analysis was employed to screen factors significantly influencing the development of myocardial infarction. Multivariate Logistic regression analysis was performed to analyze the independent risk factors associated with the onset of myocardial infarction.

RESULTS: Univariate analysis demonstrated that factors significantly influencing the development of myocardial infarction included total

cholesterol (TC) ($1.7 \text{ mmol/L} \pm 0.6 \text{ mmol/L}$ vs $1.8 \text{ mmol/L} \pm 0.8 \text{ mmol/L}$), low-density lipoprotein (LDL) ($2.9 \text{ mmol/L} \pm 0.6 \text{ mmol/L}$ vs $2.4 \text{ mmol/L} \pm 0.7 \text{ mmol/L}$), advanced age (57.5% vs 33.7%), recent episodes of angina above grade II (21.3% vs 8.1%), no blood glucose control (42.5% vs 18.3%), cardiac dysfunction (NYHA II-IV) (13.8% vs 3.5%), dehydration (11.3% vs 2.9%), severe inflammatory response (45.0% vs 22.7%), infection (23.8% vs 12.5%) and no cardiological consultation (7.5% vs 26.3%) ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that LDL, advanced age, recent episodes of angina above grade II, no blood glucose control, severe inflammatory response, infection and no cardiological consultation were independent risk factors.

CONCLUSION: LDL, recent episodes of angina above grade II, no blood sugar control, advanced age, severe inflammatory response, infection and no cardiological consultations are independent risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Gallbladder; Myocardial infarction

Qiu YR, Zhang HY. Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2175-2178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2175.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2175>

摘要

目的: 讨论腹腔镜下行胆囊切除术患者发生心肌梗死的危险因素, 并对相关危险因素进行统计学分析。

方法: 回顾性分析2008-01/2012-12在我院普外科住院行腹腔镜下胆囊切除术的830例患者的临床资料, 其中有80例患者发生心肌梗死, 将其作为心肌梗死组。对可能引起心肌梗死的因素采用单因素分析, 筛选出发生心肌梗死

■背景资料

腹腔镜胆囊切除术由于创伤小、恢复快, 在临床开展较为广泛, 但是仍有部分腹腔镜下胆囊切除术患者发生心肌梗死, 存在发生冠心病的危险因素。由于专业的局限性, 忽视了对此类危险因素的干预, 导致并发症增加, 影响患者的生活质量。目前国内外针对腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素研究较少。

■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科

■研究前沿

目前,胆囊疾病手术治疗多选用腹腔镜胆囊切除术,相比传统手术具有出血少、并发症少等优点。但由于此类病人多需要禁食、水,术前较早停用抗凝药等,都有可能

导致心肌梗死的发生。

的影响因素,并对相关危险因素进行多因素Logistic回归分析。

结果:总胆固醇(total cholesterol, TC)($1.7 \text{ mmol/L} \pm 0.6 \text{ mmol/L}$ vs $1.8 \text{ mmol/L} \pm 0.8 \text{ mmol/L}$)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)($2.9 \text{ mmol/L} \pm 0.6 \text{ mmol/L}$ vs $2.4 \text{ mmol/L} \pm 0.7 \text{ mmol/L}$)、高龄(57.5% vs 33.7%)、II级以上心绞痛(21.3% vs 8.1%)、血糖是否控制(42.5% vs 18.3%)、NYHA III-IV级心功能不全(13.8% vs 3.5%)、重度脱水(11.3% vs 2.9%)、重度炎症反应(45.0% vs 22.7%)、感染(23.8% vs 12.5%)及发病前是否心内科会诊(7.5% vs 26.3%)等10项指标两组差异具有统计学意义($P < 0.05$)。多因素Logistic回归分析显示LDL、II级以上心绞痛、血糖未控制、感染、高龄、重度炎症反应、未请心内科会诊与发生心肌梗死相关($P < 0.05$)。是腹腔镜下胆囊切除患者发生心肌梗死的独立影响因素。

结论:腹腔镜下胆囊切除术患者住院期间LDL、II级以上心绞痛、血糖未控制、高龄、炎症反应、感染及未请心内科会诊为MI发生的危险因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜; 胆囊; 心肌梗死

核心提示: 本研究显示高龄与心肌梗死的发病高度相关。社会老龄化导致高龄人口越来越多,高龄会导致冠脉弹性减弱,对外界刺激、应激反应过于敏感,导致急性心肌缺血,引发心肌梗死。

仇奕然, 张海燕. 腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2175-2178
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2175.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2175>

0 引言

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是指因冠状动脉闭塞,血流中断,导致心肌局部坏死^[1]。心肌梗死由于事发突然,病情进展迅速,往往给患者造成严重后果,严重影响患者的生活质量^[2]。腹腔镜胆囊切除术由于创伤小、恢复快,在临床开展较为广泛,但是仍有部分腹腔镜下胆囊切除术患者发生心肌梗死,存在发生冠心病的危险因素^[3]。由于专业的局限性,忽视了对此类危险因素的干预,导致并发心肌梗死,给治疗增加难度,影响患者的生活质量^[4]。目前国内外针对

腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素研究较少,本研究拟针对住院期间发生心肌梗死的因素进行分析,从而给临床预防术后发生心肌梗死提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-12在我院普外科住院行腹腔镜下胆囊切除术患者830例,其中男性540例,女性290例。其中80例发生心肌梗死。根据住院期间是否发生心肌梗死,分为非心肌梗死组(UnMI组)750例;心肌梗死组(MI组)80例。心肌梗死的诊断标准参照《美国心脏病学院和美国心脏学会新的不稳定性心绞痛/非ST段抬高性心肌梗死的诊断和治疗指南解读》^[5]执行。

1.2 方法 查阅患者的一般情况、疾病发作情况、相关辅助检查、心内科会诊记录等,对患者相关数据进行统计分析。制定相关判定标准:(1)年龄 ≥ 70 岁,判定为高龄;(2)心绞痛发作水平,根据加拿大心血管学会心绞痛分级分为I-IV级;(3)恶性心律失常:包括能够支持患者出现频发室早、室速的心电图或心电监护等;(4)炎症反应:根据C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)测定值判定炎症反应的轻重。CRP $< 2 \text{ mg/L}$ 判定为无炎症反应; $2 \text{ mg/L} \leq \text{CRP} < 4 \text{ mg/L}$ 判定为存在轻度炎症反应; CRP $\geq 4 \text{ mg/L}$ 判定为存在重度炎症反应。

统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行统计分析,结果数据正态分布资料用mean \pm SD表示,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用 t 检验。心肌梗死的相关因素分析首先进行单因素分析,再进行多因素Logistic回归分析得出MI的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素分析 对可能导致心肌梗死的相关因素进行单因素分析(表1),结果提示总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高龄、II级以上心绞痛、血糖是否控制、NYHA III-IV级心功能不全、重度脱水、重度炎症反应、感染及发病前是否心内科会诊等10项指标两组差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 多因素分析 将与心肌梗死发生的相关因素进行多因素Logistic回归分析,结果显示LDL、II级以上心绞痛、血糖未控制、感染、高龄、重度炎症反应、未请心内科会诊与发生心肌梗

表 1 心肌梗死发生相关因素的单因素分析 $n(\%)$

| 相关因素 | MI组 | UnMI组 | χ^2 或 t 值 | P 值 |
|--------------|-------------|------------|------------------|-------|
| n | 80 | 750 | | |
| 性别 | | | | |
| 男性 | 46(57.5) | 457(60.9) | 0.357 | >0.05 |
| 女性 | 34(42.5) | 293(39.1) | | |
| 吸烟 | 36(45.0) | 368(49.1) | 0.479 | >0.05 |
| 合并高血压 | 32(40.0) | 267(35.6) | 0.607 | >0.05 |
| 合并糖尿病 | 29(36.3) | 233(31.1) | 0.899 | >0.05 |
| 高龄患者 | 46(57.5) | 253(33.7) | 17.717 | <0.05 |
| 心绞痛 | | | | |
| II级以下 | 13(16.3) | 83(11.1) | 1.900 | >0.05 |
| II级以上 | 17(21.3) | 61(8.1) | 14.607 | <0.05 |
| 恶性心律失常 | 11(13.8) | 38(5.1) | 8.311 | <0.05 |
| 血糖未控制 | 34(42.5) | 137(18.3) | 25.952 | <0.05 |
| 心功能 | | | | |
| NYHA II级 | 7(8.7) | 93(12.4) | 0.909 | >0.05 |
| NYHA III级 | 8(10.0) | 20(2.7) | 9.783 | <0.05 |
| NYHA IV级 | 3(3.8) | 6(0.8) | 3.437 | <0.05 |
| 脱水程度 | | | | |
| 轻度 | 5(6.25) | 43(5.7) | 2.063 | >0.05 |
| 中度 | 2(2.5) | 27(3.6) | 2.575 | >0.05 |
| 重度 | 9(11.3) | 22(2.9) | 11.689 | <0.05 |
| 炎症反应 | | | | |
| 轻度 | 21(26.3) | 232(30.9) | 1.357 | >0.05 |
| 重度 | 36(45.0) | 170(22.7) | 59.668 | <0.05 |
| 感染 | | | | |
| 有 | 19(23.8) | 94(12.5) | 7.733 | <0.05 |
| 无 | 61(76.3) | 656(87.5) | | |
| 心内科会诊 | 6(7.5) | 197(26.3) | 13.799 | <0.05 |
| 年龄(岁) | 38.9 ± 11.2 | 41.1 ± 9.3 | 1.969 | >0.05 |
| 体质量(kg) | 72.4 ± 6.9 | 73.1 ± 7.2 | 0.830 | >0.05 |
| TC(mmol/L) | 5.1 ± 0.7 | 4.8 ± 0.6 | 4.180 | <0.05 |
| TG(mmol/L) | 1.7 ± 0.6 | 1.8 ± 0.8 | 1.085 | >0.05 |
| LDL(mmol/L) | 2.9 ± 0.6 | 2.4 ± 0.7 | 6.151 | <0.05 |
| 空腹血糖(mmol/L) | 6.3 ± 1.2 | 5.3 ± 0.9 | 9.115 | <0.05 |

■ 相关报道

国内有研究报道, 高龄患者的痛阈提高, 同时多合并其他系统疾病, 往往会导致急性心肌梗死发生的可能, 死亡率极高。

死相关($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

随着人们生活节奏的加快, 胆囊疾病的患者越来越多, 呈逐年上升趋势, 若不及时治疗往往导致严重并发症^[6]。目前, 胆囊疾病手术治疗多选用腹腔镜胆囊切除术, 相比传统手术具有出血少、并发症少等优点^[7,8]。但由于此类病人多需要禁食、水, 术前较早停用抗凝药等, 都有可能导导致心肌梗死的发生。为此本研究将相关因素进行分析, 得出导致患者发生心肌梗死的危险因素。

本研究显示高龄与心肌梗死的发病高度相

关。社会老龄化导致高龄人口越来越多, 高龄会导致冠脉弹性减弱, 对外界刺激、应激反应过于敏感, 导致急性心肌缺血, 引发心肌梗死^[9]。国内有研究报道, 高龄患者的痛阈提高, 同时多合并其他系统疾病, 往往会导致急性心肌梗死发生的可能, 死亡率极高。

LDL是体内胆固醇转运的重要蛋白, 与体内物质氧化应激有关, LDL水平过高易导致动脉粥样硬化^[10,11]。CRP是人体炎症反应的重要因子, 同时对导致动脉粥样硬化也发生作用, 已有研究证实, 参考患者体内LDL及CRP水平对于评估患者发生MI风险具有显著作用^[12]。在本研究中, MI组患者中的LDL和CRP水平较对照组显著增

■同行评价

本研究内容实用, 可对同行起到一定警示作用。

表 2 多因素Logistic回归分析结果

| 相关因素 | B | SE | Wald | Sig | Exp(B) | 95%CI |
|----------|--------|-------|---------|-------|--------|-------------|
| LDL | 0.718 | 0.333 | 4.655 | 0.031 | 2.051 | 1.068-3.939 |
| II级以上心绞痛 | 0.828 | 0.350 | 5.589 | 0.018 | 2.288 | 1.152-4.544 |
| 血糖未控制 | 1.061 | 0.337 | 768.977 | 0.001 | 2.889 | 1.491-5.597 |
| 重度炎症反应 | 1.484 | 0.200 | 55.061 | 0.000 | 4.412 | 2.981-6.529 |
| 是否请心内科会诊 | -0.801 | 0.254 | 9.950 | 0.002 | 0.449 | 0.273-0.738 |
| 感染 | 0.876 | 0.422 | 4.298 | 0.038 | 2.401 | 1.049-5.496 |
| 高龄 | 0.536 | 0.258 | 4.336 | 0.037 | 1.711 | 1.032-2.833 |

高, 同时发现LDL和CRP与MI具有高度的相关性, 为明确的危险因素。因此对于围手术期患者应当及时监测并控制LDL水平及炎症反应, 减少MI发生的风险。

高血糖与心血管疾病密切相关。高血糖主要是通过自由基诱导体内氧化应激反应, 导致斑块破裂, 从而通过诱导、加剧炎症反应, 加重血管内皮功能损伤^[13,14]。本研究发现MI组血糖未控制率(42.5%)远远大于非心肌梗死组(18.3%), 提示手术应激会导致患者高血糖的发生, 诱发心肌梗死。近期的心绞痛多与体内不稳定斑块有关, 斑块脱落致急性血栓形成, 梗死发生。围手术期心动过速、高血压等可导致血管应激性痉挛, 心肌供血不足; 术后促凝血物质增加、血小板反应性增强等均成为危险因素^[15]。本研究结果要求临床医师了解患者心绞痛发生情况, 及时请心内科会诊, 指导抗血小板聚集、抗凝、调脂等治疗。

总之, 腹腔镜胆囊切除患者发生心肌梗死的原因较多, 但首先应以预防为主, 及时、准确发现导致心肌梗死的危险因素, 包括减少全身炎症反应、控制血压和血糖、保证有效循环血量等, 避免诱导发生心肌梗死的因素, 及时请心内科专业医师指导治疗方案是防止发生心肌梗死的有效措施。

4 参考文献

- 1 邱曼, 孙乐标. 急性心肌梗死患者生化指标的变化与心肌梗死范围的研究. 重庆医学 2012; 41: 2765-2767
- 2 刘梅颜, 贾玫. 心肌梗死定义修订的解读及思考. 中华检验医学杂志 2013; 36: 485-488
- 3 朱斌, 张展志, 张能维, 宫轲, 路夷平, 王岩, 阿民布, 李凯, 王桐生. 急性胆囊炎“延期”腹腔镜胆囊切除的手术技巧及并发症预防. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 820-822

- 4 Badaoui A, Malherbe V, Rosiere A, De Ronde T. ERCP by laparoscopic transgastric access and cholecystectomy at the same time in a patient with gastric bypass who was seen with choledocholithiasis. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 212-214 [PMID: 19748611 DOI: 10.1016/j.gie.2009.06.031]
- 5 马礼坤. 美国心脏病学院和美国心脏学会新的不稳定心绞痛/非ST段抬高性心肌梗死的诊断和治疗指南解读. 临床内科杂志 2007; 24: 808-810
- 6 李静静, 何小东, 武岍, 刘卫, 洪涛. 胆囊切除对消化系统的远期影响. 中华普通外科杂志 2013; 28: 484-486
- 7 王清茂, 顾思平, 蔡晓东, 游志远, 林宗棋. 腹腔镜下困难胆囊切除的类型与手术技巧. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2011; (4): 453-455
- 8 彭毅, 何立锐, 钟立明, 吴汉明. 应用传统腹腔镜器械行经脐单Trocar胆囊切除的体会. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2011; (4): 439-442
- 9 彭云珠, 郭涛, 郑圆圆, 杨萍, 华宝桐, 潘家华, 赵玲. 急性心肌梗死患者血脂改变及其对预后的影响分析. 重庆医学 2012; 41: 1601-1603
- 10 Armitage J, Bowman L, Wallendszus K, Bulbulia R, Rahimi K, Haynes R, Parish S, Peto R, Collins R. Intensive lowering of LDL cholesterol with 80 mg versus 20 mg simvastatin daily in 12,064 survivors of myocardial infarction: a double-blind randomised trial. *Lancet* 2010; 376: 1658-1669 [PMID: 21067805 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60310-8]
- 11 Napoleão P, Selas M, Freixo C, Carmo MM, Viegas-Crespo AM, Ferreira RC, Pinheiro T. T lymphocytes alterations are associated with oxidized LDL, troponin T, white blood cells and C-reactive protein during acute myocardial infarction. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013; 55: 349-358 [PMID: 24361942 DOI: 10.3233/CH-121644]
- 12 郑翔, 方志成, 周昌娥, 熊鹏, 刘伯毅, 陈黎, 黄云飞. 乌司他丁对心肌梗死后心肌的保护作用. 中华急诊医学杂志 2011; 20: 842-844
- 13 王梅, 王春梅, 王成钢, 艾辉, 朱小玲. 血糖水平与急性前壁心肌梗死患者冠状动脉介入术后心功能的关系. 中华实用诊断与治疗杂志 2013; 27: 654-656
- 14 田晓芳, 崔明霞, 杨士伟, 周玉杰. 血糖异常、细胞死亡与心肌梗死. 中华老年多器官疾病杂志 2013; 12: 279-282
- 15 李毓萍, 王慧宇, 刘颖萍, 李卫, 赵晓宁. 多普勒超声评价不同年龄段急性心肌梗死患者颈动脉粥样硬化的临床研究. 中华老年心脑血管病杂志 2011; 13: 966-969

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较

李 忠, 马荣强

李忠, 武警后勤学院附属医院普外科 天津市 300162
马荣强, 西京医院消化二科 陕西省西安市 710032
李忠, 主治医师, 主要从事胃肠外科的研究。
作者贡献分布: 本文由李忠与马荣强共同完成。
通讯作者: 李忠, 主治医师, 300162, 天津市河东区成林路220号, 武警后勤学院附属医院普外科. blacben@163.com
收稿日期: 2014-02-08 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy

Zhong Li, Rong-Qiang Ma

Zhong Li, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Armed Police Logistics College, Tianjin 300162, China

Rong-Qiang Ma, No. 2 Department of Digestive Diseases, Xijing Hospital, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Zhong Li, Attending Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Armed Police Logistics College, 220 Chenglin Road, Hedong District, Tianjin 300162, China. blacben@163.com

Received: 2014-02-08 Revised: 2014-04-02

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy.

METHODS: Eighty patients who underwent pancreaticoduodenectomy from January 2013 to December 2013 at our hospital were randomly and equally divided into two groups: A and B. Group A was given enteral nutrition combined with parenteral nutrition postoperatively, while group B was given total parenteral nutrition. The clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: Before treatment, patients between

the two groups had comparable white blood cell count, serum albumin and transferrin ($P > 0.05$ for all). After treatment, white blood cell count, serum albumin and transferrin were significantly improved in both groups, but there were no significant differences between the two groups ($P > 0.05$ for all). The hospital stay and treatment costs were significantly lower in group A than in group B [$33.41 \text{ d} \pm 11.82 \text{ d}$ vs $39.73 \text{ d} \pm 13.72 \text{ d}$, (6.36 ± 1.21) ten thousand Yuan vs (8.93 ± 2.14) ten thousand Yuan, $P < 0.05$ for both]. There was no significant difference in the rate of postoperative complications (12.5% vs 15.0%, $P > 0.05$). Before treatment, the two groups showed no significant difference in body weight ($P > 0.05$). After treatment, body weight increased significantly in group A ($P < 0.05$). The times to recovery of bowel sounds, exhaust and defecation were significantly better in group A than in group B ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Both enteral nutrition combined with parenteral nutrition and total parenteral nutrition have good clinical efficacy in patients after pancreaticoduodenectomy, with the former having lower costs without increasing the risk of postoperative complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreaticoduodenectomy; Nutritional support; Enteral nutrition combined with parenteral nutrition; Total parenteral nutrition; Clinical efficacy

Li Z, Ma RQ. Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2179-2182
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2179.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2179>

摘要

目的: 比较临床中胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效。

■背景资料

营养支持是胰十二指肠切除术后治疗的一个重要环节, 对改善患者术后状况具有明显的优势。临床中营养支持的方式比较多, 肠内与肠外营养支持是临床中常见的方法。本研究重点分析胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效, 从而更好地为患者治疗提供帮助。

■同行评议者

郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室; 夏敏, 教授, 中山大学北校区公共卫生学院

■研究前沿

本研究重点阐述胰十二指肠切除术后营养支持方式,就目前临床中常见的肠内外联合营养与完全胃肠外营养方式进行对比分析,主要观察患者白细胞计数、血清白蛋白、转铁蛋白、住院时间和治疗费用以及术后并发症。

方法:选取2013-01/2013-12于我院行胰十二指肠切除术的手术患者80例为研究对象,将其按照随机数字法分为A组和B组,各40例。A组患者给予肠内外联合营养支持, B组患者给予完全胃肠外营养支持,观察两组的应用效果。

结果:治疗前, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白比较差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗后, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白较治疗前有明显的改善, 但是治疗后组间数据比较无统计学意义($P>0.05$); A组患者住院时间和治疗费用均明显的低于B组患者, 比较差异无统计学意义($33.41 \text{ d} \pm 11.82 \text{ d}$ vs $39.73 \text{ d} \pm 13.72 \text{ d}$, $6.36 \text{ 万元} \pm 1.21 \text{ 万元}$ vs $8.93 \text{ 万元} \pm 2.14 \text{ 万元}$, $P<0.05$); 两组患者术后并发症发生率比较差异无统计学意义(12.5% vs 15.0% , $P>0.05$)。治疗前, 两组患者的体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗后, A组患者体质量明显高于B组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。A组患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间均明显改善, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论:临床中对于胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:胰十二指肠切除术; 营养支持; 肠内外联合营养; 完全胃肠外营养; 临床疗效

核心提示:胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 有效地纠正患者的营养状况, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 更值得临床中应用与推广。

李忠, 马荣强. 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2179-2182 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2179>

0 引言

胰十二指肠切除术是治疗胰头癌和壶腹部癌和十二指肠乳头癌的常见术式, 在临床中具有较高的应用价值^[1]。但该手术实施过程中涉及脏器较多, 且吻合状况比较复杂, 容易改变患者正常胃肠功能, 经常出现胰痿和胃瘫等并发症^[2]。而

营养支持是胰十二指肠切除术后治疗的一个重要环节, 对改善患者术后状况具有明显的优势^[3]。如何选取合理的营养支持方式是临床医师研究的重点, 本文重点探讨胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效, 为临床医师提供参考, 具体分析如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2013-12在武警后勤学院附属医院行胰十二指肠切除术手术患者80例为研究对象, 将其按照随机数字法分为A组和B组, 各40例。A组男性患者22例, 女性患者18例, 年龄为38-77岁, 平均年龄为56.3岁 \pm 4.2岁, 胰头癌患者10例, 壶腹部癌患者10例, 十二指肠乳头癌15例, 胆总管下段癌5例。B组男性患者20例, 女性患者20例, 年龄为35-79岁, 平均年龄为58.4岁 \pm 3.6岁, 胰头癌患者12例, 壶腹部癌患者10例, 十二指肠乳头癌14例, 胆总管下段癌4例。A组和B组患者性别、年龄及疾病类型等资料比较无明显统计学差异($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗:本研究肠内营养主要采取含有短肽和短链脂肪酸营养液进行营养支持, 采取瑞素和百普力以及安素等肠内营养制剂, 采取经留置空肠营养管方法, 给予泵持续输注^[4]。术后给予静脉补液, 待患者肠胃功能恢复之后采取空肠营养管进行肠内营养输注。首先, 给予12.5 kcal/(kg·d)热量, 0.1 g/(kg·d)氮量, 给予双倍糖盐水进行稀释处理, 且滴注速度控制在50.0 mL/h以内, 所需的剩余热量均由肠外营养支持。患者在营养支持后无胃肠道反应之后, 可在第2天开始逐渐增加肠内营养支持量和滴速, 直到全量: 35.0 kcal/(kg·d)热量, 0.2 g/(kg·d)氮量, 且逐渐减少肠外量。A组患者给予肠内外联合营养支持, B组患者给予完全胃肠外营养支持, 两组患者的每日摄入总热量均相同, 均为1800 kcal, 两组患者均连续治疗1 wk, 进行疗效观察^[5]。

1.2.2 观察指标:(1)白细胞计数; (2)血清白蛋白; (3)转铁蛋白; (4)住院时间; (5)治疗费用; (6)并发症观察; (7)体质量变化; (8)肠蠕动恢复时间; (9)排气时间; (10)排便时间。

统计学处理 此次研究的数据资料均采用SPSS19.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean \pm SD进行表示, 独立样本采取 t 进行检验, 计数资料采取 χ^2 进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 A组和B组患者治疗前后白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白变化比较 ($n = 40$, mean \pm SD)

| 分组 | 时间 | 白细胞计数($\times 10^9/L$) | 血清白蛋白(g/L) | 转铁蛋白(mg/dL) |
|----|-----|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| A组 | 治疗前 | 6.32 \pm 1.26 | 37.3 \pm 2.53 | 227.21 \pm 23.12 |
| | 治疗后 | 7.12 \pm 1.34 ^a | 35.2 \pm 1.51 ^a | 159.32 \pm 12.76 ^a |
| B组 | 治疗前 | 6.21 \pm 1.31 | 38.1 \pm 2.66 | 238.31 \pm 22.72 |
| | 治疗后 | 7.03 \pm 1.62 ^c | 34.88 \pm 1.62 ^c | 149.73 \pm 13.25 ^c |

^a $P < 0.05$ vs A组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs B组治疗前。表 2 A组和B组患者住院时间和治疗费用对比分析 ($n = 40$, mean \pm SD)

| 分组 | 住院时间(d) | 治疗费用(万元) |
|-------|-------------------|-----------------|
| A组 | 33.41 \pm 11.82 | 6.36 \pm 1.21 |
| B组 | 39.73 \pm 13.72 | 8.93 \pm 2.14 |
| t 值 | 24.1627 | 8.3536 |
| P 值 | <0.05 | <0.05 |

表 4 A组和B组治疗前后体质量变化比较 ($n = 40$, mean \pm SD, kg)

| 分组 | 治疗前 | 治疗后 |
|-------|----------------|----------------|
| A组 | 55.3 \pm 4.5 | 57.3 \pm 4.8 |
| B组 | 54.8 \pm 4.7 | 55.7 \pm 4.5 |
| t 值 | 0.5613 | 6.0242 |
| P 值 | >0.05 | <0.05 |

表 3 A组和B组术后并发症发生率比较 ($n = 40$, $n(\%)$)

| 分组 | 胆漏 | 胰漏 | 切口感染 | 胃瘫 | 并发症发生率(%) |
|----------|--------|--------|--------|--------|-----------|
| A组 | 1(2.5) | 2(5.0) | 1(2.5) | 1(2.5) | 12.5 |
| B组 | 2(5.0) | 1(2.5) | 2(5.0) | 1(2.5) | 15.0 |
| χ^2 | 0.27 | 0.27 | 0.27 | 0.15 | 0.35 |
| P 值 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

表 5 A组和B组肠蠕动恢复时间和排气、排便时间比较 ($n = 40$, mean \pm SD, d)

| 分组 | 排便时间 | 肛门排气时间 | 胃肠道功能恢复时间 |
|-------|---------------|---------------|---------------|
| A组 | 3.6 \pm 2.2 | 2.0 \pm 0.6 | 1.1 \pm 0.1 |
| B组 | 4.5 \pm 2.2 | 3.8 \pm 1.4 | 3.5 \pm 0.5 |
| t 值 | 6.2175 | 5.8342 | 7.0254 |
| P 值 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

2 结果

2.1 两组患者治疗前后白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白的变化 治疗前, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白较治疗前有明显的改善, 但是治疗后组间数据比较无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者住院时间和治疗费用的比较 A组患者住院时间和治疗费用均明显低于B组患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 并发症 A组患者术后并发症发生率为12.5%, B组术后并发症发生率为15.0%, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.4 患者体质量比较 治疗前两组的体质量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后A组患者体质量明显高于B组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表4)。

2.5 患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间比较 A组患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间

均明显的早于B组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表5)。

3 讨论

胰十二指肠切除术是临床中常见手术方法之一, 具有较高的应用价值, 而术后营养支持治疗是其重要的一个部分, 对患者的术后康复具有重要的影响, 如何有效地选择营养支持方式是医师关注的重点^[6]。

营养支持方式主要分为肠外营养支持和肠内营养支持以及二者联合营养支持^[7,8]。胃肠外营养支持是临床中常见的营养支持方式, 这种方法能够为患者补充充足的能量, 但是存在营养不全面的情况发生^[9]。随着临床治疗水平的不断提高, 肠内营养支持逐渐地得到临床中应用, 这种支持方式符合生理要求, 且营养补充也比较全面, 价格也比较低廉, 操作也简单, 受到临床医师的高度重视^[10]。同时, 肠内营养支持能够有效地降低术后患者血液内毒素的含量, 尤其

■创新盘点

本研究重点是对临床中主流的营养支持方式进行对比分析, 得出肠内外联合的营养支持方式与完全肠外营养支持效果比较相似, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用。

■同行评价

本文科学性强, 具有一定临床指导意义。

是对于含有纤维素的肠内营养支持, 一般能够有效地增加内脏组织器官的血流量, 较好地保护患者肠道黏膜, 并加快其胃肠功能的恢复, 促进其伤口的快速愈合^[11,12]。

本研究结果可知, 胰十二指肠切除术后给予肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且缩短患者治疗时间, 且不增加术后并发症的风险。肠内外联合营养支持治疗能够全面补充患者所需能量, 并且减轻患者机体免疫代谢反应, 较好改善患者预后, 从而更好促进患者伤口的愈合, 进一步的缩短住院治疗时间^[13,14]。同时, 联合营养支持能够更好被小肠吸收, 从而避免营养摄入不足, 提高治疗效果^[15]。由于肠内治疗费用低, 总体治疗费用也降低。同时, 能够有效改善患者营养状况, 尽早恢复其肠蠕动恢复时间和排气、排便时间, 便于患者术后胃肠功能的恢复。

总之, 胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗能够有效降低治疗费用和住院治疗时间, 不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用与推广。

4 参考文献

- 徐军辉, 丁佑铭, 汪斌, 付海峰, 徐彦哲. 胰十二指肠切除术后早期营养支持治疗方式的比较. 肠外与肠内营养 2013; 20: 228-2301
- 石悦, 张佳林, 葛春林, 王凤山, 刘树荣, 李晓航, 刘永锋. 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养支持的临床疗效观察. 辽宁医学杂志 2012; 26: 165-167
- 陈一伟, 夏兆立. 两种不同营养支持方式在胰十二指肠切除术后早期的对照分析. 航空航天医学杂志 2013; 24: 676-677
- Kirkland LL, Kashiwagi DT, Brantley S, Scheurer D, Varkey P. Nutrition in the hospitalized patient. *J Hosp Med* 2013; 8: 52-58 [PMID: 23065968]
- 吴耀禄, 李晓勇, 梅乐园, 袁泉. 胰十二指肠切除术后早期肠内外联合营养支持临床探讨. 陕西医学杂志 2008; 37: 370-371
- 李勇, 周林, 谭群亚, 赵凯, 严斌, 胡魁. 早期肠内营养对胰十二指肠切除术后发生感染的影响分析. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 1351-1353
- Zhu B, Geng L, Ma YG, Zhang YJ, Wu MC. Combined invagination and duct-to-mucosa techniques with modifications: a new method of pancreatico-jejunal anastomosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 422-427 [PMID: 21813393]
- 何庆玲. 胰十二指肠切除术后肠内营养支持的观察与护理. 中国医学创新 2012; 9: 55-56
- 戴伟钢, 董文广. 胰十二指肠切除术后胃肠功能的改变. 消化肿瘤杂志(电子版) 2011; 3: 255-259
- Heverhagen AE, Dietzel K, Waldmann J, Langer P, Fendrich V, Bartsch DK. Harmonic scalpel versus conventional dissection technique in pylorus-preserving partial duodenopancreatectomy. *Dig Surg* 2012; 29: 420-425 [PMID: 23234869]
- 冯志强, 黄志强. 胰十二指肠切除术后营养支持策略探讨. 中华普通外科杂志 2008; 23: 393-396
- Iqbal N, Lovegrove RE, Tilney HS, Abraham AT, Bhattacharya S, Tekkis PP, Kocher HM. A comparison of pancreaticoduodenectomy with pylorus preserving pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis of 2822 patients. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 1237-1245 [PMID: 18242943]
- 张群. 肠内、肠外营养对胃大部切除术后患者胃肠激素及胃动力的影响. 上海: 第十届全国临床营养支持学术会议, 2006
- Diener MK, Fitzmaurice C, Schwarzer G, Seiler CM, Antes G, Knaebel HP, Büchler MW. Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) versus pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (5): CD006053 [PMID: 21563148]
- 彭俊生, 陈实. 胰十二指肠切除术的围手术期处理-基于并发症防治的液体管理与营养支持. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 1025-1027

编辑 田滢 电编 鲁亚静



慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院胆胰外科 肝胆胰安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001

杨骥, 在读硕士, 主要从事胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 杨骥与林先盛负责文献检索、文献质量评价、提取资料集及论文撰写; 刘臣海、谢放及李瑞阳负责论文的数据分析及文献审核; 黄强教授负责论文的审阅及修改。

通讯作者: 黄强, 教授, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽省立医院普外科, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院胆胰外科, 肝胆胰安徽省重点实验室, hq-sohu@sohu.com

收稿日期: 2014-01-28 修回日期: 2014-03-19

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepato-Biliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Qiang Huang, Professor, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepato-Biliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. hq-sohu@sohu.com

Received: 2014-01-28 Revised: 2014-03-19

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To compare the long-term clinical outcomes and complications between endoscopic and surgical treatment of chronic pancreatitis.

METHODS: An electronic search of Medline, EMBASE, Science Direct, Springer link, CBM, CNKI, Wan fang and VIP databases (before December 21, 2013) was performed to retrieve the articles reporting endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis. The quality of the included trials was assessed according to the inclusive and exclusive criteria, and the data were extracted and analyzed using RevMan 5.2.7 software.

RESULTS: A total of 5 articles involving 393

chronic pancreatitis patients were included in the analysis, including 4 English articles and 1 Chinese article. The meta-analysis showed that the patients undergoing surgical treatment had higher rates of pain relief and complete pain relief ($P < 0.05$), but there were no significant differences in the rate of partial relief, incidence of diabetes at 1, 3, and 5 years after treatment, the incidence of complications, or endocrine and exocrine functions of the pancreas ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Surgical treatment is associated with better quality of life than endoscopic treatment. Due to the traumatic risk of surgery, endoscopic treatment is safe, and can be the first choice for treatment of chronic pancreatitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic pancreatitis; Endotherapy; Surgery; Pain relief; Complications; Meta-analysis

Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY. Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2183-2189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2183.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2183>

摘要

目的: 通过循证医学的方法来探讨慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)手术治疗和内镜治疗的疗效比较。

方法: 计算机检索在2013-12-31前在Medline、EMBASE、Science Direct、Springer link、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发表关于CP手术和内镜治疗疗效比较的文献, 按纳入排除标准由2位研究者独立进行文献筛选、资料提取和方法学质量评价后, 采用RevMan 5.2.7软件进行Meta分析。

结果: 共纳入5篇研究, 其中包含4篇英文文献, 1篇中文文献, 共包含CP患者393例, Meta分析结果显示: 手术组术后的疼痛的总体缓解率以及完全缓解率高于内镜组, 两组的差异具有

■背景资料

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis)是指由于各种原因引起的胰腺组织和功能的不可逆性的慢性炎症性疾病, 其诊断与治疗目前仍有争议, 手术治疗和内镜治疗各有不同点。目前暂无治疗方法的选择的相关的系统性研究。

■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■ 研发前沿

由于目前尚无文献系统性地探讨慢性胰腺炎的手术治疗与内镜治疗疗效的选择,因此本文应用系统评价方法来探讨慢性胰腺炎的诊断和治疗方法的选择。

统计学意义($P<0.05$),而手术组和内镜组术后的疼痛的局部缓解率(术后症状减轻)的差异无统计学意义($P>0.05$),手术组和内镜组的随访1、3、5年的糖尿病发生率、并发症的发生率、术后远期的胰腺内外分泌功能的障碍的差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 外科手术术后的远期生存质量高于内镜组,但由于创伤性风险较大,内镜治疗较为安全,可以作为CP治疗的一线首选治疗手段。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性胰腺炎; 内镜治疗; 外科手术治疗; 疼痛缓解; 并发症; 系统评价

核心提示: 内镜治疗相对于外科手术治疗较为安全,并发症较少,可以作为慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)治疗的一线治疗手段。对于诊断明确的CP患者,在无相关内镜操作禁忌症情况下,内镜治疗是一线首选治疗手段。

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳. 慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2183-2189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2183.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2183>

0 引言

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)是指由于各种原因引起的胰腺组织和功能的不可逆性的慢性炎症性疾病,主要的病理特征为胰腺腺泡萎缩,破坏和间质的纤维化。在临床上的表现为反复发作的上腹部疼痛,合并或者不合并胰腺的内或者外分泌功能不全,并可伴有胰腺实质钙化,胰管扩张、梗阻和胰管结石和胰腺假性囊肿形成等,我国的发病率为13/10万,近年来有逐渐增加的趋势^[1-5],根据目前对CP发病机制以及诊断的认识,目前常用的治疗方法有手术治疗(surgery)和内镜介入治疗(endoscopic treatment or endoscopy or endotherapy),但目前的研究多为单独研究CP的内镜治疗或外科手术治疗^[6-8],尚很少有文献同时报道内镜治疗和手术治疗疗效的比较以及治疗方法的选择,本文采用循证医学系统评价的方法,以期评价CP手术治疗和内镜治疗的疗效的比较。

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索在2013-12-31前在Medline、EMBASE、Science Direct、Springer link、CBM、

中国知网、万方以及维普数据库公开发表的文献,并手工检索国内相关医学杂志。检索策略:按照Cochrane协作网手册要求制定检索策略,中文检索词“慢性胰腺炎”、“内镜介入治疗”、“外科手术治疗”以及英文检索词“CP or chronic pancreatitis or pancreatitis”、“endoscopic therapy”、“endoscopic”、“endoscopy”、“surgery”、“surgical therapy”。并对以上检索词采用不同策略检索,并追查已经纳入文献或者综述文献的参考文献以尽可能全面收集资料。

1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: (1)纳入研究应是2013-12-31前公开发表研究的中文或者英文文献,对象应由明确诊断CP诊断标准,如纳入文献为前瞻性研究,则需有明确的纳入标准(年龄18-70岁之间、有明确的影像学确诊CP的证据、表现为疼痛且Melzack评分^[9]>3分、病程>5年、内科保守治疗无效),如研究为回顾性研究,则诊断根据ERCP所见以及手术中和术后病理为诊断标准; (2)纳入文献应为CP和(或)CP合并相关疾病如胰管梗阻、胆管梗阻等的手术治疗和内镜治疗疗效对比的文献; (3)文献设计应为前瞻性或者回顾性对照研究、队列研究; (4)原始文献应提供能评价手术治疗和内镜治疗疗效的原始数据(或可计算出)如疼痛缓解率(pain relief)、术后并发症(post-interventional complications)发生率、生存率以及死亡率(mortality)等,连续性变量应给出均数(mean)和标准差(SD); (5)对相同单位或者有重复研究对象的文献,如随访时间不同,本文视为不同文献,予以纳入,另外如随访时间相同,则选取质量较高的文献。

1.2.2 排除标准: (1)未交待随访时间或者失访例数过多; (2)方法学交代不健全的研究,资料不全的研究,重复发表或重复利用数据的研究取其中之一,其他的不予纳入; (3)文献中未给出相关变量或指标说明或评价手术组和内镜组疗效的区别; (4)试验设计缺乏严格对照的文献、综述文献、个案报道等不予以纳入。

1.2.3 文献筛选及资料提取: 由2位研究者独立阅读文献进行筛选,整个筛选过程采用盲法。先独立阅读所获文献的题目及摘要,剔除明显不符合纳入标准的文献,再对可能符合纳入标准的文献阅读全文,以确定该文献是否真正符合纳入标准。对筛选过程中有分歧而难以确定是否

表 1 纳入文献一般资料

| 研究 | 国家地区 | 总病例数(<i>n</i>) | 内镜组(<i>n</i>) | 手术组(<i>n</i>) | 随访时间 |
|--|------|------------------|-----------------|-----------------|-----------|
| Dite等 ^[11] , 2003 | 捷克 | 140 | 64 | 76 | 5年 |
| Cahen等 ^[12] , 2007 ¹ | 荷兰 | 39 | 19 | 20 | 2年 |
| Hong等 ^[13] , 2011 | 中国山东 | 62 | 27 | 35 | 5年 |
| Cahen等 ^[14] , 2011 ¹ | 荷兰 | 39 | 19 | 20 | 5年 |
| 王伟等 ^[15] , 2009 | 中国上海 | 113 | 84 | 29 | 12-112 mo |
| 合计 | - | 393 | 213 | 180 | - |

¹纳入研究对象相同, 但随访时间不同, 按照纳入排除标准, 本文视为不同文献。

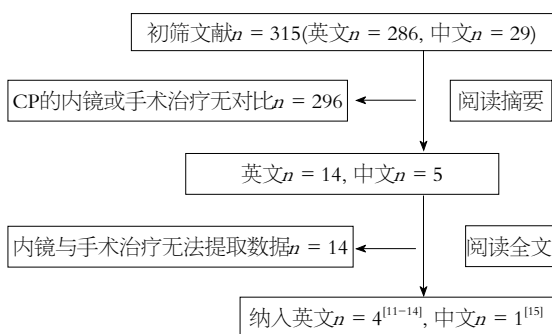


图 1 文献筛选流程图. CP: 慢性胰腺炎。

纳入的文献通过讨论或由第3个研究者决定其是否纳入。2位研究人员独立地对符合纳入标准的试验进行资料提取, 填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 缺乏的资料通过于临床试验人的通讯作者联系予以补充。

1.2.4 文献质量评估: 由于CP的病例较少, 相对缺乏随机对照研究, 本文研究参考非随机对照研究法评估(Minor质量评估)^[10]。具体评分标准有: (1)选题: 是否明确及具有代表性, 选择病例是否来自多中心, 前期准备是否充分, 结果得到的方式; (2)病例组和对照组在设计和分析上是否具有可比性, 重点是否突出, 暴露情况; (3)结果: 是否随机, 随访时间是否大于6 mo, 失访情况等12项, 满分24分进行评价。

统计学处理 本文采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2.7软件进行统计学分析。显著性水平设定为 $P = 0.05$, 用 I^2 评估异质性大小, $I^2 < 25\%$ 提示有轻度异质性, I^2 在25%和75%之间提示中度异质性, $I^2 > 75\%$ 以上则提示明显异质性, 若存在异质性则进行亚组分析或者敏感性分析。二项分类资料计算相对危险度(relative risk, RR)为合并统计量, 连续变量资料计算加权均数差(weighted mean difference, WMD)为合并统计量。统计结果用95%可信区间(confidence interval,

CI)表示, 以漏斗图(funnel plot model)判断发表偏倚。纳入研究进行异质性检验, 异质性检验 $P > 0.05$ 时表示各研究间无明显异质性, 此时合并分析采用固定效应模型(fixed effects model), 否则采用随机效应模型(random effects model)。

2 结果

2.1 文献筛选及纳入文献特点 由2位研究者独立进行文献筛选和质量评价, 以不同检索策略在数据库检索, 共检索相关文献315篇, 其中英文文献286篇, 中文文献29篇, 经2位研究者阅读摘要全文后, 剩余英文14篇, 中文5篇, 最终在严格按照纳入排除标准, 纳入本研究文献5篇^[11-15], 所有纳入文献的病例对象均为CP患者, 其中前瞻性随机对照研究1篇, 其余文献均为回顾性研究。具体的文献筛选过程如图1, 纳入文献基本情况如表1。本文纳入研究病例数为393例, 其中行内镜治疗数为213例, 行外科手术180例。

2.2 纳入文献质量评价 根据Minor质量评分标准, 严格按照标准对纳入的5篇研究进行评分, 评分均在18分以上, 扣分原因主要为未明确交待盲法原则, 随访时间不确定, 或实验前期准备不充分。

2.3 CP内镜组和手术组远期疗效对比

2.3.1 内镜组和手术组疼痛缓解比较: 本组共纳入的5篇文献均有内镜组和手术组疼痛缓解的比较, 其中Cahen等^[12]的随访时间为2年, 其余的疼痛缓解率的随访时间均包含5年(60 mo), 共有4篇文献纳入缓解率的比较, 其中内镜组191例, 手术组155例。合并分析前异质性检验($P = 0.87$, $I^2 = 0\%$), 组间异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后缓解率差异有统计学意义($P < 0.00001$), 且手术组术后缓解率高于内镜组。漏斗图显示基本上对称, 无明显偏倚, 具体的森林图和漏斗图如图2, 3。

■ 相关报道

以往认为, 慢性胰腺炎的手术治疗与内镜治疗的指征不同, 但是近年来由于内镜技术的发展, 相当手术指征的病例也可以通过内镜操作完成, 本文即对两种方法的选择问题做个初步探讨。

■创新盘点

本文采用系统评价的方法将慢性胰腺炎的两大主要治疗方法进行综合评价,为临床的治疗方法的选择提供建议。

表 2 纳入研究术后随访的症状以及远期并发症情况

| 研究 | 分组 | 并发症 |
|-------------------------------|-----|--|
| Díte等 ^[11] , 2003 | 内镜组 | 1、3、5年糖尿病发生率分别为6.2%、10.9%、18.7%,总发生率35.9% |
| | 手术组 | 1、3、5年糖尿病发生率分别为15.8%、13.1%、14.5%,总发生率43.4% |
| Cahen等 ^[12] , 2007 | 内镜组 | 随访2年并发症58%;死亡率5% |
| | 手术组 | 随访2年并发症35%;死亡率0% |
| Hong等 ^[13] , 2011 | 内镜组 | 远期胰腺内分泌恶化11%;胰腺外分泌功能恶化7% |
| | 手术组 | 远期胰腺内分泌恶化26%;胰腺外分泌功能恶化7% |
| Cahen等 ^[14] , 2011 | 内镜组 | 远期胰腺外分泌功能不足或恶化63%;远期胰腺内分泌功能恶化25% |
| | 手术组 | 远期胰腺外分泌功能不足或恶化73%;远期胰腺内分泌功能恶化27% |
| 王伟等 ^[15] , 2009 | 内镜组 | 3例死亡,并发症(胰腺炎,胆管炎)发生率12.9% |
| | 手术组 | 1例死亡,无并发症(胰腺炎,胆管炎)发生 |

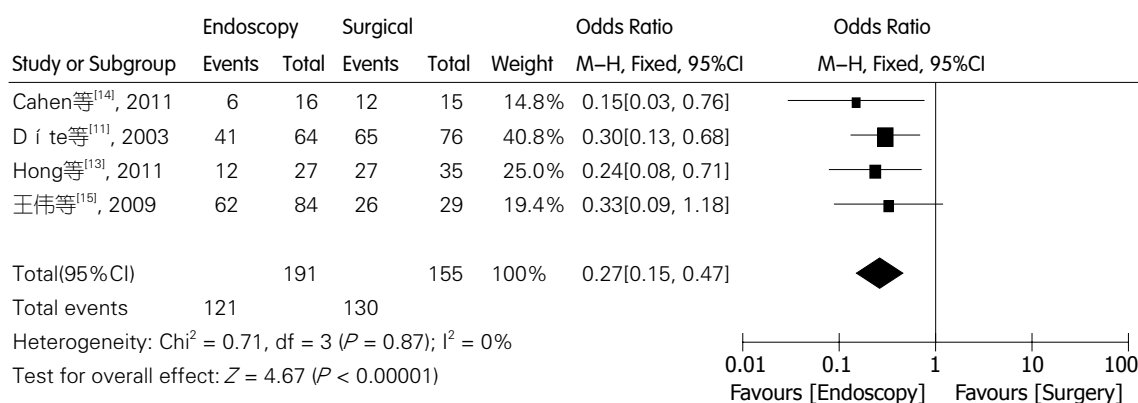


图 2 内镜组与手术组疼痛缓解率比较的森林图。

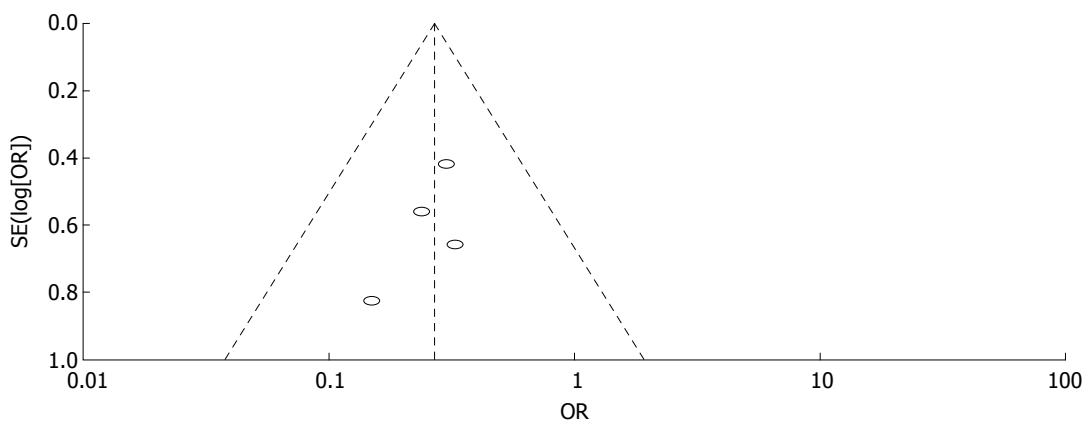
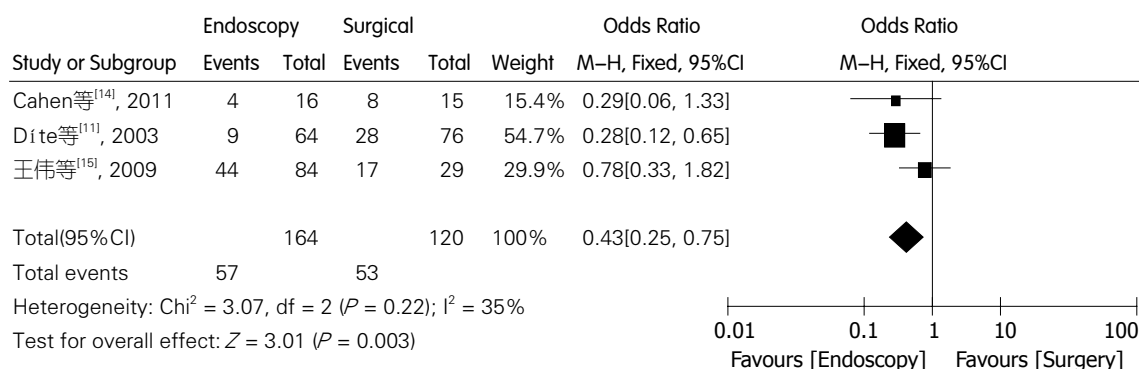


图 3 内镜组与手术组疼痛缓解率比较的漏斗图。

2.3.2 内镜组和手术组疼痛完全缓解比较: 本组共纳入文献3篇, 其中内镜组164例, 手术组120例。合并分析前异质性检验($P = 0.22$, $I^2 = 35\%$), 组间之间的异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后完全缓解率差异有统计学意义($P < 0.003$), 且手术组术后完全缓解率高于内镜组。具体的森林图如图4。

2.3.3 内镜组和手术组疼痛局部缓解比较: 本组共纳入文献3篇, 其中内镜组164例, 手术组120例。合并分析前异质性检验($P = 0.46$, $I^2 = 0\%$), 组间之间的异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后局部缓解率差异无统计学意义($P = 0.47$), 说明术后局部缓解率在两组之间无明显差异。具体的森林图如图5。



■应用要点

本研究提示, 今后对于慢性胰腺炎的治疗方法的选择应综合考虑患者一般情况, 实施个体化治疗方案。

图 4 内镜组与手术组疼痛完全缓解率比较的森林图。

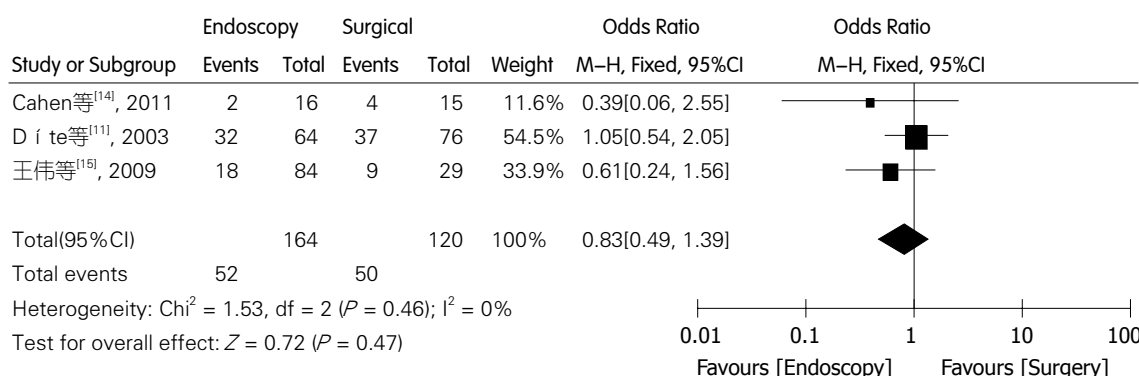


图 5 内镜组与手术组疼痛局部缓解率比较的森林图。

2.4 内镜组及手术组术后并发症以及远期随访的比较 由于各研究的术后随访的间期、随访的项目不同以及并发症的比较的不同, 本研究无法对各文献的术后随访的症状和并发症行综合性的系统评价, 本研究遂列举各研究的随访期间的症状和远期的并发症(表2)。由表2可知, 各纳入研究的内镜组和手术组的远期随访主要为糖尿病、胰腺的内外分泌功能障碍以及生存死亡率。

3 结论

3.1 CP治疗方法 随着CP的诊断方法提高, CP的发生率逐年上升^[1-5], CP的临床表现为反复的上腹部疼痛和(或)胰腺的内外分泌功能不全或障碍, 且随着疾病的进展, 胰腺的内外分泌功能会逐渐恶化, 如不及时处理, 预后较差, 临床上CP的治疗较难, 常见的治疗方法主要包括内镜下微创治疗、体外震波碎石治疗(extracorporeal shock wave lithotripsy, ESWL)、外科手术治疗、药物治疗^[16,17]。内镜治疗主要是在十二指肠镜下乳头括约肌的切开、扩张胰管、和胰管的支架置入以及胰管取石等^[18], 常见的外科手术的

手术方式为引流术和切除术, 引流术包括胰尾切除、胰管切开+胰腺空肠吻合术(Duval法)、胰尾+脾切除术等; 切除术包括胰十二指肠切除术(Whipple术), 保留十二指肠的胰头切除术(duodenum preserving pancreatic head resection, DPPHR)等^[19,20], 目前药物治疗主要是针对于胰腺内外分泌功能不全的替代治疗, 如胰酶制剂等。但目前对于CP的治疗方法的选择仍有很多争议, 且目前的研究多是对CP的单个治疗方法的。本文即对采用循证医学的方法对CP的手术治疗和内镜治疗进行综合的系统评价。

3.2 CP内镜治疗与手术治疗的疗效比较 本文选择治疗后5年的随访症状缓解率作为比较内镜治疗和外科手术, 本Meta分析的结果显示: 手术组术后的疼痛的总体缓解率以及完全缓解率高于内镜组, 两组的差异具有统计学意义($P < 0.05$), 而手术组和内镜组术后的疼痛的局部缓解率(术后症状减轻)的差异无统计学意义($P > 0.05$), 与相关研究相似^[21]。由于各研究的随访症状以及并发症的比较指标不同, 我们总结的结果显示: 手术组和内镜组的随访1、3、5年的糖尿病发生率, 并发症的发生率, 术后远期的

■同行评价

该文通过循证医学的方法来探讨慢性胰腺炎手术治疗和内镜治疗的疗效比较,有一定科学意义和临床价值。数据处理方法得当,分析比较透彻,结论有一定的指导意义。

胰腺内外分泌功能的障碍的差异无统计学意义($P>0.05$)。从本Meta分析我们得出,术后远期的生存质量(随访5年)手术组大于内镜组,这可能是因为外科手术的原则^[1]是:手术治疗的原则是用尽可能简单的术式缓解疼痛、控制并发症、延缓胰腺炎症进展和保护内、外分泌功能。而内镜下治疗仅可解决CP的胰管内结石、取石、解除胰管的梗阻以及狭窄或扩张等,并不能达到根本性的解除作用,因此内镜治疗是需要重复多次的,多次重复的内镜治疗可能会影响患者的生存质量。所以内镜治疗组的术后的远期生存质量(随访5年)低于外科手术组。而对比手术组和内镜组的术后的并发症以及远期随访疗效的差异无统计学意义,这主要是由于内镜操作和外科手术均是缓解患者的疼痛,而无法改变CP的胰腺组织和胰腺的内外分泌功能的不可逆性损伤^[19]。因此内镜组和手术组的随访症状和并发症等指标无差异($P>0.05$)。

总之,本研究从循证医学角度分析得出的结论:外科手术术后的远期生存质量高于内镜组,但是由于外科手术时开放性手术,并且外科手术术后容易产生致命的并发症^[22-25]如胰漏、胃排空障碍、出血等。相比下内镜治疗较为安全,并发症较少^[26-28],且属于微创操作,可重复等,因此可以作为CP治疗的一线治疗手段。但需要提出的是在内镜下操作难度较大、并且症状无明显缓解,或怀疑合并癌变等,外科手术治疗仍是重要治疗手段。因此,对于诊断明确的CP患者,在无相关内镜操作禁忌症情况下,内镜治疗是一线首选治疗手段。

3.3 本文的不足 Meta分析作为一种观察性研究,有一定的局限性,本文的偏倚主要有:(1)本文纳入的文献中仅有前瞻性对照研究1篇,其余文献均为回顾性研究,回顾性的研究可能存在对疗效的评价过高而低估并发症以及随访的并发症,这可能影响试验结果;(2)由于本文的研究数据多数是由随访获得的,因此随访方法的不同以及失访的存在会影响试验结果;(3)由于纳入不同国家地区的研究,因此纳入研究的研究对象的差异不可避免,存在选择偏倚,参加对象的人群特征如发病率等不同,因而影响试验结果;(4)语言选择的偏倚即由于只是检索了公开发表的中文/英文文献,可能存在文献收录的不完整,因而影响试验结果。基于上述不足,因此今后仍需多中心、大样本、前瞻性随机对照的高质量的关于CP的手术治疗和内镜治疗的疗效比较的研究。

4 参考文献

- 1 中华胰腺病杂志编委会, 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胰腺炎诊治指南(2012, 上海). 中华消化内镜杂志 2012; 29: 301-303
- 2 Lieb JG, Palma DT, Garvan CW, Leblanc JK, Romagnuolo J, Farrell JJ, Savides TJ, Eloubeidi MA, Draganov PV, Forsmark CE, Wagh MS. Intraobserver agreement among endosonographers for endoscopic ultrasound features of chronic pancreatitis: a blinded multicenter study. *Pancreas* 2011; 40: 177-180 [PMID: 21178649 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182016a25]
- 3 Rösch T, Daniel S, Scholz M, Huibregtse K, Smits M, Schneider T, Ell C, Haber G, Riemann JF, Jakobs R, Hintze R, Adler A, Neuhaus H, Zavoral M, Zavada F, Schusdziarra V, Soehendra N. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: a multicenter study of 1000 patients with long-term follow-up. *Endoscopy* 2002; 34: 765-771 [PMID: 12244496 DOI: 10.1055/s-2002-34256]
- 4 Witt H, Apte MV, Keim V, Wilson JS. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology* 2007; 132: 1557-1573 [PMID: 17466744 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.001]
- 5 Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahon MJ. Chronic pancreatitis. *Lancet* 2011; 377: 1184-1197 [PMID: 21397320 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61852-1]
- 6 Sasahira N, Tada M, Isayama H, Hirano K, Nakai Y, Yamamoto N, Tsujino T, Toda N, Komatsu Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Outcomes after clearance of pancreatic stones with or without pancreatic stenting. *J Gastroenterol* 2007; 42: 63-69 [PMID: 17322995 DOI: 10.1007/s00535-006-1972-1]
- 7 Weber A, Schneider J, Neu B, Meining A, Born P, Schmid RM, Prinz C. Endoscopic stent therapy for patients with chronic pancreatitis: results from a prospective follow-up study. *Pancreas* 2007; 34: 287-294 [PMID: 17414050 DOI: 10.1097/mpa.0b013e3180325ba6]
- 8 Chiang KC, Yeh CN, Hsu JT, Chen HM, Chen HY, Hwang TL, Jan YY, Chen MF. Pancreaticoduodenectomy versus Frey's procedure for chronic pancreatitis: preliminary data on outcome and pancreatic function. *Surg Today* 2007; 37: 961-966 [PMID: 17952526 DOI: 10.1007/s00595-007-3539-z]
- 9 Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975; 1: 277-299 [PMID: 1235985 DOI: 10.1016/0304-3959(75)90044-5]
- 10 Slim K, Nini E, Forestier D, Kwiatkowski F, Panis Y, Chipponi J. Methodological index for non-randomized studies (minors): development and validation of a new instrument. *ANZ J Surg* 2003; 73: 712-716 [PMID: 12956787 DOI: 10.1046/j.1445-2197.2003.02748.x]
- 11 Díte P, Ruzicka M, Zboril V, Novotný I. A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis. *Endoscopy* 2003; 35: 553-558 [PMID: 12822088 DOI: 10.1055/s-2003-40237]
- 12 Cahen DL, Gouma DJ, Nio Y, Rauws EA, Boermeester MA, Busch OR, Stoker J, Laméris JS, Dijkgraaf MG, Huibregtse K, Bruno MJ. Endoscopic versus surgical drainage of the pancreatic duct in chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 2007; 356: 676-684

- [PMID: 17301298 DOI: 10.1056/NEJMoa060610]
- 13 Hong J, Wang J, Keleman AM, Imagawa DK, Xu K, Wang W, Liu E, Niu W, Wang J, Sun Q, Wang J, Peng C, Zhao W, Niu J. Endoscopic versus surgical treatment of downstream pancreatic duct stones in chronic pancreatitis. *Am Surg* 2011; 77: 1531-1538 [PMID: 22196670]
 - 14 Cahen DL, Gouma DJ, Laramée P, Nio Y, Rauws EA, Boermeester MA, Busch OR, Fockens P, Kuipers EJ, Pereira SP, Wonderling D, Dijkgraaf MG, Bruno MJ. Long-term outcomes of endoscopic vs surgical drainage of the pancreatic duct in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1690-1695 [PMID: 21843494 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.049]
 - 15 王伟, 廖专, 李兆申, 邹多武, 金震东, 金刚, 胡先贵, 陈洁, 刘岩, 王洛伟, 施新岗, 刘枫, 湛先保, 杜奕奇, 董元航, 孔祥毓, 孙振兴. 慢性胰腺炎胰管结石的内镜介入与手术治疗. *中华肝胆外科杂志* 2009; 15: 502-505
 - 16 叶博, 胡良峰, 廖专, 孙涛, 刘牧云, 孙畅, 邹文斌, 辛磊, 邹多武, 金震东, 杜奕奇, 湛先保, 王东, 胡先贵, 金钢, 邵成浩, 郑建明, 陆建平, 李兆申. 2180例慢性胰腺炎临床特征及治疗模式变迁分析. *中华消化内镜杂志* 2013; 30: 10-14
 - 17 许元鸿, 郭克建. 慢性胰腺炎诊治的进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3257-3260
 - 18 Dumonceau JM, Delhaye M, Tringali A, Dominguez-Munoz JE, Poley JW, Arvanitaki M, Costamagna G, Costea F, Devière J, Eisendrath P, Lakhtakia S, Reddy N, Fockens P, Ponchon T, Bruno M. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy* 2012; 44: 784-800 [PMID: 22752888 DOI: 10.1055/s-0032-1309840]
 - 19 Wani NA, Parray FQ, Wani MA. Is any surgical procedure ideal for chronic pancreatitis? *Int J Surg* 2007; 5: 45-56 [PMID: 17386915 DOI: 10.1016/j.ijsu.2006.01.011]
 - 20 Neal CP, Dennison AR, Garcea G. Surgical therapy in chronic pancreatitis. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2012; 58: 377-400 [PMID: 23207614]
 - 21 Ahmed Ali U, Pahlplatz JM, Nealon WH, van Goor H, Gooszen HG, Boermeester MA. Endoscopic or surgical intervention for painful obstructive chronic pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; (1): CD007884 [PMID: 22258975 DOI: 10.1002/14651858.CD007884.pub2]
 - 22 Connor S, Alexakis N, Raraty MG, Ghaneh P, Evans J, Hughes M, Garvey CJ, Sutton R, Neoptolemos JP. Early and late complications after pancreatic necrosectomy. *Surgery* 2005; 137: 499-505 [PMID: 15855920 DOI: 10.1016/j.surg.2005.01.003]
 - 23 DeOliveira ML, Winter JM, Schafer M, Cunningham SC, Cameron JL, Yeo CJ, Clavien PA. Assessment of complications after pancreatic surgery: A novel grading system applied to 633 patients undergoing pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg* 2006; 244: 931-937; discussion 931-937; [PMID: 17122618 DOI: 10.1097/01.sla.0000246856.03918.9a]
 - 24 Ito T, Otsuki M, Itoi T, Shimosegawa T, Funakoshi A, Shiratori K, Naruse S, Kuroda Y. Pancreatic diabetes in a follow-up survey of chronic pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2007; 42: 291-297 [PMID: 17464458 DOI: 10.1007/s00535-006-1996-6]
 - 25 Kleeff J, Diener MK, Z'graggen K, Hinz U, Wagner M, Bachmann J, Zehetner J, Müller MW, Friess H, Büchler MW. Distal pancreatectomy: risk factors for surgical failure in 302 consecutive cases. *Ann Surg* 2007; 245: 573-582 [PMID: 17414606 DOI: 10.1097/01.sla.0000251438.43135.fb]
 - 26 Provansal-Cheylan M, Bernard JP, Mariani A, Soehendra N, Cremer M, Sahel J, Sarles H. Occluded pancreatic endoprotheses--analysis of the clogging material. *Endoscopy* 1989; 21: 63-69 [PMID: 2468478 DOI: 10.1055/s-2007-1012902]
 - 27 Schmalz MJ, Geenen JE. Therapeutic pancreatic endoscopy. *Endoscopy* 1999; 31: 88-94 [PMID: 10082415 DOI: 10.1055/s-1999-14119]
 - 28 Smits ME, Rauws EA, Tytgat GN, Huibregtse K. Endoscopic treatment of pancreatic stones in patients with chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 556-560 [PMID: 8781932 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70190-6]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用

魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李伟, 周健, 田大广

■背景资料

急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)是急性胰腺炎中比较常见的临床类型。目前, 针对ABP的治疗方案, 有关Meta分析表明伴有胆道梗阻或胆管炎者应早期内镜介入治疗, 以期在疾病早期解除梗阻, 通畅引流, 防止疾病的进一步发展。但治疗性内镜, 尤其是经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)失败的病例, 临床应如何处理治疗, 是目前临床医生面对的问题。本文总结了13例EST失败后早期行腹腔镜手术的病例, 进行了归纳总结。

魏晓平, 胡明道, 李伟, 田大广, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区 云南省昆明市 650101

杨万雄, 云南保山市施甸县医院普通外科 云南省保山市 678200
周健, 云南保山市中医院肝胆外科 云南省保山市 678000

魏晓平, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 本文由魏晓平设计; 治疗过程由魏晓平与田大广主要操作; 杨万雄、李伟及周健辅助完成; 本文论文由魏晓平完成; 胡明道指导修改。

通讯作者: 田大广, 副主任医师, 650101, 云南省昆明市滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区。

tiandaguang11@126.com

收稿日期: 2014-03-13 修回日期: 2014-03-31

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration in the treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy

Xiao-Ping Wei, Ming-Dao Hu, Wan-Xiong Yang, Wei Li, Jian Zhou, Da-Guang Tian

Xiao-Ping Wei, Ming-Dao Hu, Wei Li, Da-Guang Tian, Hepatobiliary and Pancreatic Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Wan-Xiong Yang, General Surgery Department, the People's Hospital of Shidian County, Baoshan 678200, Yunnan Province, China

Jian Zhou, Hepatobiliary Surgery Department, the Traditional Chinese Hospital of Baoshan, Baoshan 678000, Yunnan Province, China

Correspondence to: Da-Guang Tian, Associate Chief Physician, the Hepatobiliary and Pancreatic Department of the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunming 650101, Yunnan Province, China. tiandaguang11@126.com

Received: 2014-03-13 Revised: 2014-03-31

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of laparoscopic cholecystectomy (LC) and laparoscopic common bile duct exploration (LCBDE) in the treatment of acute biliary pancreatitis (ABP) after failure of endoscopic sphincterotomy (EST).

METHODS: Thirteen patients who were diagnosed with ABP after failure of EST were treated with LC plus LCBDE in which electrohydraulic

lithotripsy and harmonic scalpel were used. The hospital stay, operation time, loss of blood and postoperative complications were recorded.

RESULTS: The procedure was successful in all the patients. The operation time and hospital stay were 95-163 min and 10-14 d, respectively. One of the patients had residual stones (7.7%).

CONCLUSION: LC combined with LCBDE is an effective and safe way to treat ABP after failure of EST.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Pancreatitis; Endoscopic sphincterotomy

Wei XP, Hu MD, Yang WX, Li W, Zhou J, Tian DG. Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration for treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2190-2193
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2190.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2190>

摘要

目的: 探讨急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗失败后, 急诊行腹腔镜手术的疗效。

方法: 回顾分析13例ABP患者EST治疗失败后结合液电碎石及超声刀行腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)联合胆道探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)临床资料, 记录手术时间、出血量、住院时间及术后并发症发生率。

结果: 手术均获成功, 无1例中转开腹。手术时间95-163 min, 住院时间10-14 d, 1例(7.7%)发生胆管残余结石。

结论: 针对ABP行EST失败后病例, LC+LCBDE是一种安全有效的治疗方法。

■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 胰腺炎; 经内镜乳头括约肌切开术

核心提示: 针对梗阻型急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP), 尤其是重型ABP, 行经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)加鼻胆管引流后择期行腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy)应为更合理的选择. 但作为一种EST失败后的应急措施, 结合超声刀与液电碎石的腹腔镜手术治疗是一种安全可行的治疗方法.

魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李伟, 周健, 田大广. 腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2190-2193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2190>

0 引言

急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)占我国胰腺炎年发病人数50%-70%^[1], 其诱因包括胆系结石、胆道蛔虫、Oddis括约肌痉挛、壶腹部狭窄、乳头旁憩室、胆胰合流异常等. 目前, 针对ABP的治疗方案, 有关Meta分析表明伴有胆道梗阻或胆管炎者应早期内镜介入治疗^[2]. 但有关内镜治疗失败后的手术治疗, 尚未见相关报道. 我院对2010-10/2013-10急性胆源性胰腺炎行经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗失败后的13例病例, 结合超声刀及液电碎石, 采用腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy, LC)加胆道探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)治疗, 疗效满意, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组(病例均来自于昆明医科大学第二附属医院)13例, 男8例, 女5例, 年龄23-65岁, 平均51岁±8.7岁, 入院后均按中华医学会外科分会胰腺外科学组推荐的急性胰腺炎的临床诊断及分级标准(1996年第二次方案), 排除其他原因引起的急性胰腺炎, 诊断为轻症急性胰腺炎. 行磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查均发现胆囊结石合并肝外胆管结石, 符合ABP诊断. 入院后在常规药物治疗同时, 24 h内给予内镜治疗, 行EST失败后于24 h内将腹腔镜与液电碎石及超声刀结合, 行LC+LCBDE. 液电碎石仪(四川康迪医疗

设备公司TNS-2003T型体内冲击波胆道液电碎石仪), 液电碎石电极为可弯曲金属导丝式电极. 超声刀(强生公司, Harmonic 55.5 kHz; 纤维胆道镜), Olympus XP-20型, 配备取石网篮.

1.2 方法 全身麻醉, 患者取头高足低位, 右侧抬高15-20度. 四孔法放置Trocar. 术中先观察胆囊、胆总管及周围网膜情况, 了解有无腹水、粘连、皂化斑等. 超声刀钝性或锐性分离粘连, 胆囊颈部结石嵌顿张力高者先行胆囊底部穿刺减压以良好显露胆囊三角, 胆囊动脉夹闭后离断, 胆囊管于近胆囊壶腹部金属钛夹夹毕或丝线结扎后暂不切除, 留做牵拉. 超声刀切开胆管前壁, 置入纤维胆道镜, 较小结石用取石网篮直接取出; 结石较大者插入液电碎石电极, 接触结石后采用连续激发模式击碎结石. 用取石网篮取出碎石. 取尽结石后, 再次胆道镜检查有无残石, 胆管内放置18-22#T型管, 4/0微乔线缝扎关闭胆管切口, 全部患者温氏孔置管引流. 术后予持续胃肠减压, 保持引流管通畅, 使用能透过血胰屏障的抗生素, 抑制胰液分泌及胰酶活化的药物等治疗.

2 结果

本组13例患者均顺利完成手术, 手术时间95-163 min(平均73 min±10min), 术中失血量15-140 mL(平均30 mL±8 mL) 腹腔引流管于术后48-72 h拔除, 术后7 d行T管造影, 1例示胆管残余结石, 术后2 mo胆道镜取石后无残留. 术后10-14 d出院, 无1例发生胆漏及术后出血, 胰腺炎加重等并发症. 随访4-35 mo, 无因胰腺炎复发及结石再发.

3 讨论

ABP根据胆道疾病诱发部位不同, 又可分为胆囊源性与胆管源性胰腺炎. 胆管源性胰腺炎多由结石嵌顿与Vater壶腹或结石不断运动通过壶腹, 引起Oddis括约肌痉挛, 阻塞胆胰管共同通道所致. 而胆囊源性胰腺炎发病的机制则包括“一过性结石”滑动, 胆囊收缩与十二指肠乳头括约肌开放功能不协调, 胆囊收缩素一促胰酶素和促胰液素分泌增多等因素^[3,4]. 但归根结底, 胆管壶腹的梗阻是诱发ABP的最主要原因. 文献报道壶腹部梗阻持续时间与胰腺炎严重程度呈正比, 24 h内几乎病变都是可逆的^[5]. 因此对梗阻性ABP, 治疗的关键是尽早去除病因, 解除梗阻. 早期积极治疗可改善胰腺微循环, 降低并发症发生率^[6]. 我们于入院24 h内对本组患者行

■研发前沿

目前, 针对ABP的病例, 文献报道壶腹部梗阻持续时间与胰腺炎严重程度呈正相关, 24 h内几乎病变都是可逆的, 超过48 h则出现广泛的出血, 坏死, 因此, 临床已达成的共识是早期行治疗性内镜. 但有关早期行手术治疗的时机, 尚存争议, 部分学者认为应早期(72 h)内手术, 部分认为应待病情缓解后再手术治疗. 而将二者结合, 先行内镜治疗在手术的临床研究也正在开展并总结经验.

■创新盘点

有关EST治疗失败后早期行腹腔镜手术治疗的文 章尚未见报道. 本研究将腹腔镜与超声刀、液电碎石结合, 在EST失败后行手术治疗, 认为其是一种安全可行的治疗方法.

■应用要点

腹腔镜胆囊切除及胆道探查术目前已广泛开展应用的术式, 针对行EST失败的ABP患者, 早期开展该术式, 技术上成熟可靠。但由于本研究例数较少, 尚无法得出梗阻型ABP是否可将选腹腔镜手术作为首选治疗方法的结论, 同时有关可否行经胆总管取石及采用胰高血糖素冲洗排石等仍有待进一步研究。

内镜治疗, 以期解除梗阻, 降低胆管内压, 但EST治疗失败, 转为急诊手术治疗。分析其原因可能为: (1)炎症致十二指肠黏膜水肿, 乳头不易显露或乳头细小, 乳头隆起段标志不明显, 标准导管及弓式刀难以直接插入胆总管; (2)乳头旁、顶端大憩室, 是导致穿孔的最常见原因^[7]; (3)误伤十二指肠后动脉或其分支, 引发胆管活动性出血, 凝血块或电凝后焦痂遮盖乳头。其发生率可达20.17%^[8]。内镜下取石成功率可达85%-90%^[9], 但其失败原因主要包括: (1)结石下方胆总管狭窄; (2)胆总管结石嵌顿; (3)胆总管成角等。

针对梗阻型ABP, 是早期手术还是待内镜减压后再二期手术, 目前尚有争议, 存在较多分歧^[10]。我们于发病48 h内结合超声刀及液电碎石行LC+LCBDE, 手术均获成功, 术后无1例发生严重并发症, 与相关文献报道^[11]及常规观点认为的应在炎症发作72 h内手术一致。分析其原因为: LC成功与否的关键在于能否顺利辨清“三管关系”, 而在胆囊炎症早期, 胆囊虽有不同程度充血水肿及网膜的包裹, 但多为疏松粘连, 经钝性剥离或锐性分离后仍可良好显露胆囊三角, 游离胆囊管及胆囊动脉。但若进入亚急性期, 则组织严重水肿, 粘连致密, 多从胆囊体部就开始形成致密粘连, 甚至无法寻及胆囊, 胆囊三角得不到良好显露, 大大增加了手术风险, 并易误伤胆管。同时, 我们在手术中利用超声刀不产生热能扩散及精确切割的特性, 胆管穿刺后用超声刀继续打开胆管, 既可有效防止胆管出血, 又避免了胆管壁的热灼伤。同时胰腺炎腹腔脏器充血水肿, 轻轻触碰就易导致组织出血, 超声刀进行分离粘连, 游离胆囊床等操作, 大大减少了出血风险。而液电碎石的采用, 对较大结石或嵌顿于Oddis括约肌的结石则得到了较好的处理, 本组2例病例就因结石嵌顿于Oddis括约肌而导致EST失败。

手术中应注意: (1)在探索胆管的过程中, 若先切除了胆囊, 则肝脏一般容易下垂遮盖胆管, 而单纯挑起肝脏则可能因施力不均而误伤肝脏。而本研究则完成胆道探索, 放置T管后才离断胆囊管, 切除胆囊。这样可以在抓持胆囊的同时上挑肝叶, 既充分暴露了胆管, 又避免戳伤肝脏, 造成不必要的损伤; (2)胆囊床的处理。ABP时, 腹腔脏器均受炎症影响而充血水肿, 胆囊床组织水肿增厚, 不易辨清其中的小血管, 尤其是门静脉小属枝, 且极易在牵拉下撕脱肝床, 导致出血。而采用超声刀夹持水肿系膜的同时凝固, 一

般可有效闭合小血管及胆管, 但应注意避免夹住胆囊壁而引起胆囊破裂。对胆囊系膜较短者, 需先仔细游离后再夹持凝固; (3)ABP多伴Oddis括约肌狭窄或壶腹水肿, 难以排除细小结石。故使用液电碎石仪时, 不可将结石击碎过小, 一方面多次取石延长了手术时间, 另一方面可能残留细小结石再次堵塞胆管出口; 若胆管壁出血, 可暂停碎石, 将胆道镜置于出血处压迫或采用冰盐水冲洗2-5 min, 一般出血可停止; (4)胆管内均放置T型管引流, 一方面可以引流胆汁, 降低胆管内压, 进一步降低胰管压力, 另一方面可减轻Oddis括约肌水肿, 利于其炎症消退; (5)温氏孔置管引流, 既可以观察有无出血, 胆漏的发生, 又可以引流腹腔炎性液体, 降低网膜囊压力, 有利于胰腺炎的恢复。

由于EST带来的括约肌功能丧失而导致的胆道感染和乳头切开部位瘢痕挛缩引发的乳头狭窄, 可能会导致结石复发, 反流性胆管炎和胰腺炎等远期并发症^[12,13], 随访10年以上并发症发生率约5.8%-24%^[14]。而LCBDE仅切开胆管前壁, 有效保留了Oddis括约肌这一“门户”的功能, 从而预防了肠液返流及其导致的相关并发症, 因此, 术后随访期内无胰腺炎复发及结石再发。但不可否认的是, 对于非结石因素, 如肿瘤、单纯狭窄等, 内镜明显优越于腹腔镜, 不仅可通过放置支架, 鼻胆管引流等方式解除梗阻, 还能组织活检, 明确病变性质。

基于“微创化”及“损伤控制”的理论, 目前针对梗阻型ABP, 尤其是重型ABP, 行EST加鼻胆管引流后择期行LC应为更合理的选择^[15]。本研究由于例数较少, 并且是EST失败后的应急措施, 虽然已表明行该术式是安全有效的, 但尚无法得出梗阻型ABP是否可将选腹腔镜手术作为首选治疗方法的结论, 同时有关可否行经胆总管取石及采用胰高血糖素冲洗排石等仍有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 易晓雷, 李旭辉, 苗雄鹰. 急性胆源性胰腺炎腹腔镜胆囊切除术的手术时机. 中国普通外科杂志 2010; 19: 592-594
- 2 van Geenen EJ, van Santvoort HC, Besselink MG, van der Peet DL, van Erpecum KJ, Fockens P, Mulder CJ, Bruno MJ. Lack of consensus on the role of endoscopic retrograde cholangiography in acute biliary pancreatitis in published meta-analyses and guidelines: a systematic review. *Pancreas* 2013; 42: 774-780 [PMID: 23774699 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318287d208]

- 3 刘昌阔. 十二指肠镜联合腹腔镜治疗急性胆源性胰腺炎. 肝胆胰外科杂志 2011; 23: 229-231
- 4 van Geenen EJ, van der Peet DL, Bhagirath P, Mulder CJ, Bruno MJ. Etiology and diagnosis of acute biliary pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 495-502 [PMID: 20703238 DOI: 10.1038/nrgastro]
- 5 Acosta JM, Rossi R, Galli OM, Pellegrini CA, Skinner DB. Early surgery for acute gallstone pancreatitis: evaluation of a systematic approach. *Surgery* 1978; 83: 367-370 [PMID: 635772]
- 6 Dubravcsik Z, Hritz I, Fejes R, Balogh G, Virányi Z, Hausinger P, Székely A, Szepes A, Madácsy L. Early ERCP and biliary sphincterotomy with or without small-caliber pancreatic stent insertion in patients with acute biliary pancreatitis: better overall outcome with adequate pancreatic drainage. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 729-736 [PMID: 22414053 DOI: 10.3109/00365521.2012.660702]
- 7 Rochester JS, Jaffe DL. Minimizing complications in endoscopic retrograde cholangiopancreatography and sphincterotomy. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2007; 17: 105-27, vii [PMID: 17397779]
- 8 黄长文, 王开阳, 傅华群. 密切关注内镜下乳头括约肌切开术的并发症. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 793-796
- 9 Bergman JJ, Huijbregtse K. Endoscopic Sphincterotomy and Stone Extraction. *Semin Laparosc Surg* 1995; 2: 140-150 [PMID: 10401075]
- 10 Canlas KR, Branch MS. Role of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6314-6320 [PMID: 18081218]
- 11 包文中, 孟翔凌, 汤大维, 周高潮, 王家文. 胆囊结石合并急性胰腺炎早期和延期腹腔镜胆囊切除术临床疗效分析. 中国普通外科杂志 2013; 22: 1232-1234
- 12 Kim KY, Han J, Kim HG, Kim BS, Jung JT, Kwon JG, Kim EY, Lee CH. Late Complications and Stone Recurrence Rates after Bile Duct Stone Removal by Endoscopic Sphincterotomy and Large Balloon Dilation are Similar to Those after Endoscopic Sphincterotomy Alone. *Clin Endosc* 2013; 46: 637-642 [PMID: 24340257 DOI: 10.5946/ce.2013.46.6.637]
- 13 Mustafa A, Begaj I, Deakin M, Durkin D, Corless DJ, Wilson R, Slavin JP. Long-term effectiveness of cholecystectomy and endoscopic sphincterotomy in the management of gallstone pancreatitis. *Surg Endosc* 2014; 28: 127-133 [PMID: 23982647 DOI: 10.1007/s00464-013-3138-6]
- 14 Sugiyama M, Atomi Y. Risk factors predictive of late complications after endoscopic sphincterotomy for bile duct stones: long-term (more than 10 years) follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2763-2767 [PMID: 12425545]
- 15 Sanjay P, Yeeting S, Whigham C, Judson H, Polignano FM, Tait IS. Endoscopic sphincterotomy and interval cholecystectomy are reasonable alternatives to index cholecystectomy in severe acute gallstone pancreatitis (GSP). *Surg Endosc* 2008; 22: 1832-1837 [PMID: 18071797]

同行评价

本文选题贴近临床需求, 有助于解决临床工作中的实际问题. 病例资料回顾分析合理, 数据全面, 详实, 结论可靠, 结果具有较重要的临床指导意义和较高的科学价值.

编辑 田滢 电编 都珍珍



食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值

章幽芳, 黄清选

■背景资料

对于IgG抗体介导的食物不良反应与各种疾病尤其是慢性病的相关性研究的文献报道越来越多。多数专家认为慢性消化系统疾病可能是由于机体缺乏相应的酶而无法完全消化摄入的一种或几种食物, 以多肽或其他分子形式进入肠道后被识别为外来物质而产生了免疫反应, 从而导致食物特异性IgG抗体的产生, 并引发一系列肠道症状。

章幽芳, 黄清选, 浙江省衢州市人民医院儿科 浙江省衢州市 324000

章幽芳, 主治医师, 主要从事新生儿疾病的研究。

作者贡献分布: 本研究由章幽芳设计; 黄清选参与完成。

通讯作者: 章幽芳, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区新安路, 浙江省衢州市人民医院儿科。gongminfood@163.com

收稿日期: 2014-04-03 修回日期: 2014-04-08

接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases

You-Fang Zhang, Qing-Xuan Huang

You-Fang Zhang, Qing-Xuan Huang, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Quzhou, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: You-Fang Zhang, Attending Physician, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Quzhou, Xin'an Road, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. gongminfood@163.com

Received: 2014-04-03 Revised: 2014-04-08

Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic diseases of the digestive system.

METHODS: One hundred and six children with chronic diseases of the digestive system (experiment group) and 106 children without digestive system disorders (control group) were included in this study. The IgG antibodies against 14 types of food were detected, and the positive rate of serum food-specific IgG antibody detection and feeding patterns in 4 mo after birth between the two groups were compared.

RESULTS: The positive rates of antibodies against eggs (61.32%, 18.87%) and milk (43.40%, 11.32%) were relatively high in the two groups compared with those against other food. The positive rates of antibodies against milk, eggs and soybean in the experiment group were sig-

nificantly higher than those in the control group (43.40% vs 11.32%, 61.32% vs 18.87%, 11.32% vs 0.00%, $P < 0.05$). The percentages of subjects who were positive for antibodies against 2 or 3 kinds of food as well as the total positive rate in the experiment group were significantly higher than those in the control group (34.91% vs 13.21%, 15.09% vs 4.72%, 85.85% vs 49.06%, $P < 0.05$). The breast-feeding rate in 4 months after birth in the experiment group was significantly lower than that in the control group (43.40% vs 76.42%, $P < 0.05$). The rates of artificial feeding and partial breastfeeding in the experiment group were significantly higher than those in the control group (8.49% vs 1.89%, 48.11% vs 21.70%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Food-specific IgG detection can help identify chronic diseases of the digestive system caused by food. The antibodies against milk and eggs are the most common. Early feeding way is an important factor responsible for food intolerance.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children; Chronic diseases of the digestive system; Food-specific IgG

Zhang YF, Huang QX. Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2194-2197 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2194>

摘要

目的: 探讨食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值。

方法: 比较106例慢性消化系统疾病患儿(观察组)和106例消化系统正常(对照组)患儿14种食物特异性IgG阳性率、血清食物特异性IgG检测阳性率以及出生后4 mo内喂养方式。

结果: 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率

■同行评议者

李勇, 主任医师, 教授, 上海中医药大学附属市中医院消化科

较高的均为鸡蛋(61.32%, 18.87%)和牛奶(43.40%, 11.32%); 观察组患儿牛奶、鸡蛋和大豆阳性率均显著高于对照组(43.40% vs 11.32%)、(61.32% vs 18.87%)、(11.32% vs 0.00%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿2种食物阳性、3种及以上食物阳性以及总阳性率均显著高于对照组(34.91% vs 13.21%)、(15.09% vs 4.72%)、(85.85% vs 49.06%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。观察组患儿出生后4 mo内母乳喂养率显著低于对照组(43.40% vs 76.42%), 人工喂养和混合喂养率均显著高于对照组(8.49% vs 1.89%)、(48.11% vs 21.70%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 食物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病, 牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物, 早期喂养方式是导致食物不耐受的重要因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 儿童; 慢性消化系统疾病; 食物特异性IgG

核心提示: 本研究中观察组患儿食物特异性IgG抗体检测总阳性率为85.85%, 对照组患儿总阳性率为49.06%, 两组差异显著。表明小儿慢性消化系统疾病中食物特异性IgG抗体检测阳性率较高, 与国外相关文献报道结果一致。

章幽芳, 黄清选. 食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2194-2197
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2194>

0 引言

儿童慢性消化系统疾病在临床上发生率较高, 多数患儿病因不能完全明确, 临床症状也较为复杂, 给临床治疗增加了较大难度^[1]。患儿若不能及时采取有效治疗干预可引起营养不良、贫血等并发症, 甚至对正常生活和学习产生较大影响^[2]。近几年, 大量文献报道指出食物特异性IgG抗体与慢性消化系统疾病存在紧密联系, 根据食物特异性IgG抗体检测结果可发现引起患儿不耐受的食物, 采取相应饮食回避治疗后可有效改善患儿临床症状^[3]。现回顾性分析我院收治的慢性消化系统疾病患儿食物特异性IgG抗体检测, 分析引发食物不耐受的相关因素, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-02/2014-02我院消化科收治的慢性消化系统疾病患儿106例作为观察组研究对象。入选标准: 年龄6 mo-14岁; 辅食中至少添加14种食物(牛奶、牛肉、猪肉、鸡肉、鸡蛋、鱼、螃蟹、虾、大米、玉米、小麦、大豆、西红柿和蘑菇)中的3-4种; 反复呕吐3 mo以上且经钡餐检查排除器质性病变; 腹痛反复发作3 mo以上且经胃镜或钡餐检查排除器质性病变; 腹泻久治不愈持续2 mo以上且多次大便镜检和培养排除寄生虫和细菌感染的慢性腹泻; 厌食2 wk以上并伴有生长发育迟缓^[4]。排除标准: 入选前接受激素、免疫抑制剂或脱敏治疗者; 近期有输血及输血浆史; 近期有感染史或有免疫缺陷病; 存在过敏史; 辅助检查发现器质性病变者。选择我院住院部同期收治的106例无消化系统疾病临床症状的患儿作为对照组研究对象。

1.2 方法

1.2.1 取样: 两组患儿均抽取静脉血2-3 mL注入含有抑肽酶40 μ L和7.5%EDTA二钠30 μ L混合液的离心管中, 在4000 r/min下离心5 min, 分离血清至EP管中, 于-80 $^{\circ}$ C低温冰箱中储存备用^[5]。

1.2.2 检测: 使用食物特异性IgG外检测试剂盒, 采用酶联免疫法(ELISA)测定两组患儿血清样本中14种食物(牛奶、牛肉、猪肉、鸡肉、鸡蛋、鱼、螃蟹、虾、大米、玉米、小麦、大豆、西红柿和蘑菇)特异性IgG抗体^[6]。试剂盒购自美国Sigma公司, 操作步骤按照试剂盒说明进行。

1.2.3 观察指标: 比较两组患儿14种食物特异性IgG阳性率、血清食物特异性IgG检测阳性率以及出生后4 mo内喂养方式。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean \pm SD表示计量资料, 采用 t 检验, 用百分比表示计数资料, 采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿临床资料比较 观察组患儿慢性腹痛58例、慢性腹泻22例、反复呕吐17例、厌食9例。两组患儿在性别、年龄分布等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。

2.2 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率比较 观察组患儿14种食物特异性IgG阳性率较高的为鸡蛋(61.32%)、牛奶(43.40%)和大豆(11.32%);

■相关报道

近几年, 大量文献报道指出食物特异性IgG抗体与慢性消化系统疾病存在紧密联系, 根据食物特异性IgG抗体检测结果可发现引起患儿不耐受的食物, 采取相应饮食回避治疗后可有效改善患儿临床症状。

■应用要点

物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病,牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物,早期采取母乳喂养方式能够降低IgG抗体介导的食物不良反应发生率。

表 1 两组患儿临床资料比较 $n = 106, n(\%)$

| 分组 | 性别 | | 年龄(岁) | | | | 慢性消化系统疾病 | | | |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|---------|
| | 男 | 女 | ≤1 | 1-3 | >3 | 平均年龄 | 慢性腹痛 | 慢性腹泻 | 反复呕吐 | 厌食 |
| 观察组 | 72(67.92) | 34(32.08) | 31(29.25) | 29(27.36) | 46(43.40) | 4.15 ± 3.73 | 58(54.72) | 22(20.75) | 17(16.04) | 9(8.49) |
| 对照组 | 59(55.66) | 47(44.34) | 29(27.36) | 35(33.02) | 42(39.62) | 4.27 ± 3.51 | - | - | - | - |

表 2 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率比较 $n = 106, n(\%)$

| 分组 | 牛奶 | 牛肉 | 猪肉 | 鸡肉 | 鸡蛋 | 鱼 | 螃蟹 | 虾 | 大米 | 玉米 | 小麦 | 大豆 | 西红柿 | 蘑菇 |
|-----|----------------------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-------------|
| 观察组 | 46 (43.40) ^a | 2 (1.89) | 2 (1.89) | 0 (0.00) | 65 (61.32) ^a | 2 (1.89) | 7 (6.60) | 0 (0.00) | 11 (10.38) | 0 (0.00) | 5 (4.72) | 12 (11.32) ^a | 0 (0.00) | 0 (0.00) |
| 对照组 | 12 (11.32) | 3 (2.83) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 20 (18.87) | 8 (7.55) | 0 (0.00) | 3 (2.83) | 5 (4.72) | 0 (0.00) | 5 (4.72) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) |

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 3 两组患儿血清食物特异性IgG检测阳性率比较 $n = 106, n(\%)$

| 分组 | 1种食物阳性 | 2种食物阳性 | 3种及以上食物阳性 | 合计 |
|-----|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 观察组 | 38(35.85) | 37(34.91) ^a | 16(15.09) ^a | 91(85.85) ^a |
| 对照组 | 33(31.13) | 14(13.21) | 5(4.72) | 52(49.06) |

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 4 两组患儿出生后4 mo内喂养方式比较 $n = 106, n(\%)$

| 分组 | 母乳喂养 | 人工喂养 | 混合喂养 |
|-----|------------------------|----------------------|------------------------|
| 观察组 | 46(43.40) ^a | 9(8.49) ^a | 51(48.11) ^a |
| 对照组 | 81(76.42) | 2(1.89) | 23(21.70) |

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

对照组患儿14种食物特异性IgG阳性率较高的为鸡蛋(18.87%)、牛奶(11.32%)和鱼(7.55%);观察组患儿牛奶、鸡蛋和大豆阳性率均显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患儿血清食物特异性IgG检测阳性率比较 观察组患儿2种食物阳性、3种及以上食物阳性以及总阳性率均显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

2.4 两组患儿出生后4 mo内喂养方式比较 观察组患儿出生后4 mo内母乳喂养率显著低于对照组,人工喂养和混合喂养率均显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

近几年,对于IgG抗体介导的食物不良反应与各

种疾病尤其是慢性病的相关性研究的文献报道越来越多^[7]。多数专家认为慢性消化系统疾病可能是由于机体缺乏相应的酶而无法完全消化摄入的一种或几种食物,以多肽或其他分子形式进入肠道后被识别为外来物质而产生了免疫反应,从而导致食物特异性IgG抗体的产生,并引发一系列肠道症状^[8]。IgG抗体介导的食物不良反应与IgE介导的食物过敏反应差异较大。IgE介导的食物过敏反应发病速度快,临床症状突出,由某种明确的食物摄入引起发病,常反复发作^[9];而IgG抗体介导的食物不良反应为慢性免疫损伤,由于抗体产生时间较长,因此多表现为慢性疾病^[10]。本研究中观察组患儿食物特异性IgG抗体检测总阳性率为85.85%,对照组患儿总阳性率为49.06%,两组差异显著。表明小儿慢性消化系统疾病中食物特异性IgG抗体检测阳性率较高,与国外相关文献报道结果一致^[11]。但需要注意的是健康儿童食物特异性IgG抗体检测阳性率也较高,因此IgG抗体检测不能作为诊断儿童慢性消化系统疾病的特异性指标。

本研究中两组儿童食物特异性IgG抗体检测阳性率较高的食物中均有鸡蛋(61.32%, 18.87%)

和牛奶(43.40%, 11.32%). 分析原因主要为: (1)鸡蛋和牛奶属于高蛋白食物, 具有酸性等电点糖蛋白的抗原特异性, 对加热、烹调等加工方式具有耐受性, 对肠道消化也有抵抗作用, 因此可成为高免疫原性食物^[12]; (2)食物特异性IgG抗体在机体内升高达到一定水平后方可引起疾病或临床症状, 这是一个长期的过程, 而鸡蛋和牛奶是儿童辅食添加中最先接触和接触时间较长的食物, 因此易成为不耐受食物^[13]. 另外, 从饮食习惯上来看, 大豆、大米等也是儿童接触较早的食物, 本研究中二者的食物特异性IgG检测阳性率也较高.

另外, 本研究中观察组患儿2种食物阳性率、3种及以上食物阳性率与对照组存在显著差异. 表明IgG抗体介导的食物不良反应多由于2种以上食物引发, 单一食物引发较少. 本研究结果显示, 两组患儿出生后4 mo内喂养方式存在显著差异, 儿童生后4 mo内喂养方式为母乳喂养者IgG抗体介导的食物不良反应发生率较低. 表明减少婴儿早期接触异性蛋白的机会, 采取母乳喂养能够降低儿童IgG抗体介导的食物不良反应发生率. 分析原因主要为: (1)儿童胃肠功能发育不成熟, 易出现食物不良反应^[14]; (2)母乳为婴儿喂养最佳食物, 其中含有与肠道生理菌双歧杆菌生长密切相关的生物因子, 有助于提高婴儿免疫力, 改善婴儿消化道微环境^[15]. 尤其对于有过敏家族史的儿童更应该推迟奶、蛋等辅食的添加时间, 降低儿童食物过敏的发生率^[16].

总之, 食物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病, 牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物, 早期采取母乳喂养方式能够降低IgG抗体介导的食物不良反应发生率.

4 参考文献

- 1 韩煦, 常艳敏. 食物不耐受的研究进展. 医学综述 2012; 18: 1043-1045
- 2 刘小娟, 竺婷婷, 曾蓉, 常莉, 李丰益, 李文胜, 江咏梅. 儿童食物不耐受临床分析. 中国当代儿科杂志 2013; 15: 550-554
- 3 白雪, 李会强. 食物不耐受及其IgG抗体检测的临床价值. 医学综述 2011; 17: 2158-2160
- 4 Bhuiyan MR, Majumder TK, Raihan AA, Roy PK, Farha N, Kamal M. Histopathological alterations in post-infectious irritable bowel syndrome in Bangladeshi population. *Mymensingh Med J* 2010; 19: 275-281 [PMID: 20395926]
- 5 宓庆梅, 仲人前. 儿童血清中食物特异性IgG检测的临床意义. 检验医学 2009; 24: 296-298
- 6 陈杰, 王轶, 张剑波, 汪智英, 董巍. 14种食物不耐受血清特异性IgG抗体检测在临床中的应用价值. 实用医院临床杂志 2010; 7: 67-69
- 7 谭全会, 李兴华. 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2551-2556
- 8 缪美华, 邵雪君, 朱宏. 儿童食物不耐受与血清中IgG的关系. 中国中西医结合儿科学 2010; 2: 62-64
- 9 唐吟茵, 许树长, 吴萍. 食物敏感与肠易激综合征研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 389-393
- 10 李玉华, 项立, 肖智辉, 王慧慧. 食物不耐受与儿童慢性腹痛的相关性研究. 中国全科医学 2012; 15: 2170-2172
- 11 Morcos A, Dinan T, Quigley EM. Irritable bowel syndrome: role of food in pathogenesis and management. *J Dig Dis* 2009; 10: 237-246 [PMID: 19906102 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00392.x]
- 12 庄莹, 林志辉. 食物不耐受及与消化系统疾病关系的研究进展. 国际消化病杂志 2012; 32: 292-295
- 13 Antico A, Pagani M, Vescovi PP, Bonadonna P, Senna G. Food-specific IgG4 lack diagnostic value in adult patients with chronic urticaria and other suspected allergy skin symptoms. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 52-56 [PMID: 21109748 DOI: 10.1159/000318736]
- 14 谭全会, 李兴华. 食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗肠易激综合征. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3094-3097
- 15 Patel NJ, Jenzarli A. Does food intolerance play a role in recurrent respiratory papillomatosis? *Int Forum Allergy Rhinol* 2012; 2: 85-88 [PMID: 22311847 DOI: 10.1002/alr.20094]
- 16 朱秀琴, 刘墨宇. 消化系统疾病患者食物不耐受状况及饮食护理. 护理学杂志 2010; 25: 80-81

■同行评价

本课题具有一定的临床实际意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性

李忠, 张云, 樊振涛

■背景资料

胃肠道手术是临床中常见的手术方法之一, 而术后胃肠减压是临床中胃肠道手术的常规操作步骤之一, 并且在临床中具有一定的应用。但是, 临床相关学者对胃肠手术患者是否进行放置胃管存在异议。本研究重点分析术后胃肠减压的必要性, 为临床治疗该病提供参考。

李忠, 张云, 武警后勤学院附属医院普外科 天津市 300162
樊振涛, 天津南开医院普外科 天津市 300100
李忠, 主治医师, 主要从事胃肠外科的研究。
作者贡献分布: 课题设计与论文书写由李忠完成; 数据分析由张云完成; 病例收集由樊振涛完成。
通讯作者: 李忠, 主治医师, 300162, 天津市河东区成林路220号, 武警后勤学院附属医院普外科。blacben@163.com
电话: 02260578839
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-28

Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis

Zhong Li, Yun Zhang, Zhen-Tao Fan

Zhong Li, Yun Zhang, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of the Armed Police Logistics College, Tianjin 300162, China
Zhen-Tao Fan, Department of General Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Zhong Li, Attending Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of the Armed Police Logistics College, 220 Chenglin Road, Hedong District, Tianjin 300162, China. blacben@163.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the necessity and effectiveness of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis.

METHODS: One hundred patients who underwent colorectal resection and anastomosis from January 2013 to December 2013 at our hospital were included in this study. The patients were randomly divided into either a study group or a control group. The control group underwent conventional decompression treatment, while the observation group did not undergo. The times to recovery of bowel sounds, flatus and defecation, postoperative hospital stay and complications were compared between the two groups.

RESULTS: The times to recovery of bowel sounds, flatus and defecation and length of postoperative hospital stay did not differ significant-

ly between the two groups (1.9 ± 0.6 d vs 2.0 ± 0.5 d, 4.3 ± 1.6 d vs 4.5 ± 1.3 d, 3.0 ± 1.2 d vs 3.1 ± 1.1 d, 8.9 ± 2.1 d vs 9.2 ± 2.0 d, $P > 0.05$). The rates of infection and the incidence of anastomotic fistula also did not differ significantly between the two groups (2.0% vs 4.0%, 4.0% vs 6.0%, $P > 0.05$). The incidences of pulmonary infection, fever and sore throat were significantly lower in the observation group than in the control group (0.0% vs 10.0%, 2.0% vs 12.0%, 2.0% vs 18.0%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis can increase the occurrence of some complications, and gastric tubes should be removed as early as possible to accelerate the rehabilitation of patients and effectively reduce the incidence of fever, lung infection, sore throat and other complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal resection and anastomosis; Decompression; Necessity

Li Z, Zhang Y, Fan ZT. Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2198-2201
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2198.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2198>

摘要

目的: 探讨结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性与效果。

方法: 选取我院2013-01/2013-12行结直肠切除吻合术患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为观察组和对照组, 对照组患者行常规胃肠减压治疗, 观察组不进行常规胃肠减压治疗, 观察两组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间与相关并发症发生情况。

结果: 观察组患者术后肠鸣音恢复时间、肛

■同行评议者

孔静, 副教授, 副主任医师, 中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间与对照组比较, 差异无统计学意义($1.9 \pm 0.6 \text{ d}$ vs $2.0 \pm 0.5 \text{ d}$, $4.3 \pm 1.6 \text{ d}$ vs $4.5 \pm 1.3 \text{ d}$, $3.0 \pm 1.2 \text{ d}$ vs $3.1 \pm 1.1 \text{ d}$, $8.9 \pm 2.1 \text{ d}$ vs $9.2 \pm 2.0 \text{ d}$, 均 $P>0.05$). 观察组患者伤口感染、吻合口瘘发生率与对照组比较, 差异无统计学意义(2.0% vs 4.0% , 4.0% vs 6.0% , 均 $P>0.05$); 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率与对照组比较, 差异有统计学意义(0.0% vs 10.0% , 2.0% vs 12.0% , 2.0% vs 18.0% , 均 $P<0.05$).

结论: 临床中对于结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早的拔除胃管, 加快患者的快速康复, 有效地降低发热、肺部感染和咽喉炎等并发症发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠切除吻合术; 胃肠减压; 必要性

核心提示: 结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早的拔除胃管, 加快患者的快速康复, 有效的降低发热、肺部感染和咽喉炎等并发症发生. 临床中应引起足够的重视, 降低相关并发症的发生.

李忠, 张云, 樊振涛. 结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2198-2201 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2198.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2198>

0 引言

术后胃肠减压是临床中胃肠道手术的常规操作步骤之一, 在临床中具有一定的应用. 但是, 临床相关学者对胃肠手术患者是否进行放置胃管存在异议. 国内患者认为, 胃肠术后不需要进行常规胃肠减压, 持续的胃肠减压反而对增加术后肺内感染和咽喉炎等并发症^[1]. 因此, 本文重点分析结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性, 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取我院2013-01/2013-12结直肠切除吻合术患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为观察组和对照组. 观察组50例, 男性患者24例, 女性患者26例, 患者的年龄为31-79岁, 平均年龄为 61.3 ± 3.5 岁. 结肠癌患

者20例, 直肠癌患者30例. 对照组50例, 男性患者25例, 女性患者25例, 患者的年龄为33-79岁, 平均年龄为 62.7 ± 3.1 岁. 结肠癌患者21例, 直肠癌患者29例. 观察组和对照组患者基本资料比较无明显的差异($P>0.05$), 统计学无意义, 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)年龄在18岁以上对象; (2)术前电子结肠镜证实为结直肠癌, 或者术中病理证实; (3)择期进行开腹结肠和直肠手术, 包括根治性大肠癌手术.

1.2.2 排除标准: (1)术前检查伴有消化系梗阻性疾病; (2)预防性造瘘患者.

1.2.3 治疗: 本次研究的两组患者术前15 min进行常规的放置胃管, 对照组患者在术后肛门排气之后便可拔除胃管, 观察组术后24 h内患者清醒之后便将其拔除. 两组的对象其余治疗均无任何的差异, 术前均积极的控制基础性疾病, 并做好充分的肠道准备工作, 术前30 min给予抗生素进行预防感染. 术后均给予抗感染和营养支持以及雾化吸入与伤口清洗等对症治疗. 同时, 积极的鼓励患者多翻身活动, 从而有效的促进胃肠的蠕动^[2].

1.2.4 观察指标: 此次临床研究观察的指标: (1)肠鸣音恢复时间; (2)肛门排气恢复时间; (3)肛门排便时间; (4)术后住院时间; (5)术后并发症(主要包括术后切口感染、肺部感染、吻合口瘘、发热和咽喉炎等).

统计学处理 此次研究的数据资料均采取SPSS18.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 进行表示, 独立样本采取 t 进行检验, 计数资料采取 χ^2 进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较 经过观察组和对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较, 观察组与对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较无明显的差异($P>0.05$), 统计学无意义(表1).

2.2 两组术后并发症观察 通过对观察组和对照组患者术后并发症的观察, 观察组和对照组伤口感染、吻合口瘘发生率比较无明显的差异

■研究前沿

本次的临床研究就目前胃肠道手术中的关键性步骤进行分析, 而且临床中对于术后是否放置胃管一直以来存在争议, 并且不同的学者认为留置与不留置的重要性. 本次研究显示对于结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应引起足够的重视.

■相关报道

临床研究显示, 部分的学者提出对于结直肠切除吻合术后不给予胃肠减压, 能够有效地降低相关并发症的发生. 本文研究就这一问题进行全面的了解, 从而得出结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 且这一结论与临床中相关的报道吻合.

■创新盘点

本研究中重点阐述了结直肠切除吻合术行胃肠减压与不进行胃肠减压的效果比较相似,并不能够达到理想的预期效果。但是本研究中从其安全性分析,了解术后行胃肠减压会增加相关并发症的发生,客观的反应出结直肠切除吻合术行胃肠减压的可行性,从而更好的引起术者的认识。

表 1 观察组和对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较 ($n = 50$, mean \pm SD, d)

| 分组 | 肠鸣音恢复 | 肛门排便 | 肛门排气恢复 | 术后住院 |
|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 观察组 | 1.9 \pm 0.6 | 4.3 \pm 1.6 | 3.0 \pm 1.2 | 8.9 \pm 2.1 |
| 对照组 | 2.0 \pm 0.5 | 4.5 \pm 1.3 | 3.1 \pm 1.1 | 9.2 \pm 2.0 |
| t 值 | 0.31 | 0.26 | 0.12 | 0.53 |
| P 值 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

表 2 观察组和对照组患者术后并发症的观察 ($n = 50$, $n(\%)$)

| 分组 | 伤口感染 | 吻合口瘘 | 肺部感染 | 发热 | 咽喉炎 |
|----------|--------|--------|---------|---------|---------|
| 观察组 | 1(2.0) | 2(4.0) | 1(2.0) | 0(0.0) | 1(2.0) |
| 对照组 | 2(4.0) | 3(6.0) | 6(12.0) | 5(10.0) | 9(18.0) |
| χ^2 | 0.31 | 0.17 | 6.32 | 7.02 | 7.62 |
| P 值 | >0.05 | >0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

($P>0.05$), 无统计学意义; 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率明显的低于对照组发热、肺部感染和咽喉炎发生率($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

结直肠切除吻合术是临床中常见的手术方法之一, 在临床中具有较高的应用效果, 胃肠减压是其中的一个重要治疗过程, 对促进患者术后胃肠功能恢复具有一定的作用^[3]。随着临床中人们对胃肠减压的了解, 部分的学者提出对于结直肠切除吻合术后不给予胃肠减压, 能够有效地降低相关并发症的发生^[4]。

通过本次的临床研究分析, 临床中结直肠切除吻合术后行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生。观察组与对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较无明显的差异($P>0.05$), 无统计学意义。由此分析, 对于结直肠切除吻合术后不进行胃肠减压处理并不会增加患者住院时间和延长术后胃肠功能恢复时间。吻合口瘘和伤口感染是结直肠切除吻合术后常见并发症之一, 在临床中具有较高的发病率^[5]。传统的观念认为, 术后实施胃肠减压能够有效地减轻患者腹部压力, 降低吻合口的压力, 从而降低吻合口瘘的发生率^[6]。同时, 给予减轻伤口压力, 避免伤口的感染。但是, 数据显示, 观察组和对照组伤口感染、吻合口瘘发生率比较无明显的差异($P>0.05$)。可能是由于胃肠吻合口的压力并不能够因为胃肠减压而减低, 使得在实施和不实施效果并不是很

明显^[7-10]。因此, 手术中应尽可能的保留吻合肠段的良好血供与无张力, 可不给予实施胃肠减压处理^[11,12]。数据还显示, 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率明显的低于对照组发热、肺部感染和咽喉炎发生率($P<0.05$)。由此分析, 术后实施胃肠减压很容易增加发热、肺部感染和咽喉炎的并发症发生。可能是由于胃管插管的过程中不顺利, 或者固定效果不好而导致上下活动, 很容易引起咽喉部的黏膜炎性水肿, 从而引发咽喉肿痛和咽喉炎的发生。同时, 胃管置管后, 很容易影响患者的进食和进水, 使得痰液本来就比较黏稠, 加之咽喉部肿痛, 导致患者不敢用力咳嗽, 进一步增加恶性循环, 最终导致痰液在肺部积压, 大大的增加肺部感染的几率^[13,14]。另外, 放置胃管很容易促使喉部的黏液分泌过多, 使得吞咽反射感受器受到严重的影响, 加之恶心与呕吐的几率增加, 大大的增加肺部感染的风险。进一步分析, 结直肠切除吻合术后不进行常规的留置胃管能够降低发热和肺部感染以及咽喉炎等并发症的发生, 更好地促进患者术后功能的恢复^[15]。

总之, 结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早地拔除胃管, 加快患者的快速康复, 降低相关并发症的发生。

4 参考文献

- 尹彪. 胃肠减压在下消化道切除吻合术后应用的必要性评价. 健康之路 2013; 12: 106
- 杨国光. 下消化道切除吻合术应用胃肠减压的临床研究. 中外医学研究 2011; 9: 32-33
- 丁杰, 廖国庆, 张忠民, 潘扬, 倪青, 王润华, 李东苗. 胃

■应用要点

该文章就目前结直肠切除吻合术的主流问题进行探讨, 从而临床实际意义的角度出发, 回顾了大量的临床资料, 进一步的了解结直肠切除吻合术行胃肠减压的可行性以及应用安全。同时, 对以后术者的临床操作具有较好的指导意义, 进一步的规范手术操作。

- 切除术后留置胃肠减压必要性的Meta分析. 中华普通外科杂志 2011; 26: 659-663
- 4 陈珂, 牟一平, 徐晓武, 谢坤, 周伟. 胃癌根治术后常规留置胃管必要性的荟萃分析. 中华医学杂志 2012; 92: 1841-1844
- 5 Okada K, Fujisaki J, Kasuga A, Omae M, Hirasawa T, Ishiyama A, Inamori M, Chino A, Yamamoto Y, Tsuchida T, Nakajima A, Hoshino E, Igarashi M. Diagnosis of undifferentiated type early gastric cancers by magnification endoscopy with narrow-band imaging. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1262-1269 [PMID: 21443667 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06730.x]
- 6 陈筱民. 胃肠减压在下消化道切除吻合术后应用的必要性评价及相关护理. 中国医学创新 2013; 11: 58-60
- 7 李靖, 王金桥. 下消化道切除吻合术后应否实施胃肠减压的探讨. 实用医学杂志 2006; 22: 1442-1443
- 8 Shim JH, Yoo HM, Lee HH, Kim JG, Jeon HM, Song KY, Park CH. Use of laparoscopy as an alternative to computed tomography (CT) and positron emission tomography (PET) scans for the detection of recurrence in patients with gastric cancer: a pilot study. *Surg Endosc* 2011; 25: 3338-3344 [PMID: 21533967 DOI: 10.1007/s00464-011-1722-1]
- 9 Spizzo G, Öfner D, de Vries A, Lukas P, Steger G, Pluschnig U, Zacherl J, Widder J, Zabernigg A, Gastl G, Mühlmann G. Preoperative chemotherapy with cisplatin and docetaxel followed by surgery and clip-oriented postoperative chemoradiation in patients with localized gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from a phase II feasibility study. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 677-683 [PMID: 21063792 DOI: 10.1245/s10434-010-1388-2]
- 10 徐香军, 所荣增, 王晖, 甘建琛. 结直肠吻合术后胃肠减压疗效的临床观察. 天津医科大学学报 2012; 18: 120-122
- 11 宋娟, 牟文莲, 左君, 王群. 腹腔镜结直肠癌术后不行胃肠减压可行性分析. 中国局解手术学杂志 2011; 20: 676
- 12 侯立朝, 王海久, 樊海宁, 邓勇. 胃肠减压在择期结直肠癌术后有效性和安全性的Meta分析. 中国全科医学 2012; 15: 2071-2074
- 13 余强芳, 杨翔, 彭渝. 国内消化系统疾病术后胃肠减压必要性的Meta分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 877-881
- 14 丁文俊, 崔龙. 全结直肠切除回肠储袋肛管吻合术治疗溃疡性结肠炎. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 694-695
- 15 高友福, 孙颢, 陈宏, 吴学勇, 姜波健. 术中肠腔减压在左半结肠癌肠梗阻一期切除吻合术中的临床应用. 结直肠肛门外科 2011; 17: 71-74

■同行评价

本次研究科学性较强,且在临床实际应用中具有较强的应用价值. 整篇文章从临床实际问题出发,为同行提供更好的指导. 但是,文章的研究量化指标相对少,依然需要大量的临床研究而证实,从而各个方面了解胃肠减压的效果及可行性.

编辑 郭鹏 电编 都珍珍



结肠癌患者预后临床病理的多因素分析

张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军

■背景资料

在判断结肠癌预后的众多因素中, 肿瘤的TNM分期为最重要的因素。但是因为肿瘤的异质性和诸多临床病理学的预后因素尚未纳入评价系统中, 常常会导致临床病理分期相同的肿瘤预后与治疗效果大相径庭。如何寻找出不好的预后因素, 可以结合TNM分期更加完善结肠癌患者预后的评价体系, 以便术前就能作出更准确判断, 采取更加积极的治疗策略和更严密的监测随访, 提高生存率及生活质量, 这是我们临床研究中亟待解决的问题。

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

张宝昕, 河北省沧州中西医结合医院 河北省沧州市 061001
潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军, 北京大学肿瘤医院 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所结直肠肿瘤外科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室 北京市 100142

作者贡献分布: 本课题由赵军设计; 资料标本收集及数据分析由张宝昕、潘宏达及高兆亚完成; 本论文写作由张宝昕完成; 修改及审校由顾晋与赵军完成。

通讯作者: 赵军, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路52号, 北京大学肿瘤医院结直肠肿瘤外科。

zhaojun1972@126.com

电话: 010-88196086

收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-03-26

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma

Bao-Xin Zhang, Hong-Da Pan, Zhao-Ya Gao, Jin Gu, Jun Zhao

Bao-Xin Zhang, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Cangzhou 061001, Hebei Province, China

Hong-Da Pan, Zhao-Ya Gao, Jin Gu, Jun Zhao, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Colorectal Surgery, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing Cancer Hospital, Beijing 100142, China

Correspondence to: Jun Zhao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Beijing Cancer Hospital, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhaojun1972@126.com

Received: 2014-02-25 Revised: 2014-03-26

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the prognostic factors for colon carcinoma by analyzing its clinical and pathological characteristics.

METHODS: We retrospectively reviewed the demographic, clinical, histopathological, and laboratory data for consecutive patients with colon cancer who underwent curative surgery alone from July 2007 to May 2010 at Peking University Cancer Hospital. Unvaried and multivariate analyses were conducted to identify prognostic factors for colon carcinoma.

RESULTS: A total of 226 valid cases were reviewed in this study, and their 3-year overall

survival rate was 81.9%. Univariate analysis showed that preoperative CEA level > 5 ng/mL, poor differentiation, age < 40, blood transfusion, higher T stage, higher N stage, metastasis and lymphatic vessel invasion were poor prognostic factors for patients with colon cancer ($P < 0.05$). Multivariate analysis found that preoperative CEA level ($P = 0.017$), higher N stage ($P = 0.005$), poor differentiation ($P = 0.002$), and higher M stage ($P = 0.000$) were the independent prognostic factors for colon carcinoma.

CONCLUSION: Based on the prognostic risk factors such as preoperative CEA level, poor differentiation, higher N stage and metastasis, more accurate risk stratification can be conducted in patients with colon cancer. Patients with such risk factors should be considered as candidates for receiving more intensive treatment and surveillance.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Prognosis; Multivariate analysis

Zhang BX, Pan HD, Gao ZY, Gu J, Zhao J. Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2202-2207 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2202.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2202>

摘要

目的: 探讨影响结肠癌患者术后生存的临床病理因素。

方法: 回顾性分析2007-07/2010-05北京肿瘤医院结直肠外科手术治疗的结肠癌患者临床病理资料, 对可能影响患者生存的因素进行单因素和Cox多因素模型分析。分析影响结肠癌预后的因素。

结果: (1)全部患者3年总生存率为81.9%; (2)单因素分析发现术前血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)水平>5 ng/mL、肿瘤分化程度低、年龄<40岁、更高的T分期、N

分期、M分期、术中输血和脉管癌栓($P<0.05$)是影响患者预后的因素;(3)多因素回归分析术前血清CEA水平($P=0.017$)、肿瘤分化程度($P=0.002$)、N分期($P=0.005$)M、分期($P=0.000$)是患者生存的独立预后危险因素。

结论: 根据术前血清CEA水平、肿瘤分化程度、更高N分期、有无远处转移可以对结肠癌具有预后不良因素的患者进行更准确的风险分层, 针对此类高危患者临床上应采取更积极的治疗以及术后更加密切的随访。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠癌; 预后; 多因素分析

核心提示: 本研究明确淋巴结转移、远隔转移、术前血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)水平 >5 ng/mL、病理分化程度是接受根治性结肠癌术后的独立预后因素, 从而使我们在术前对结肠癌预后作出更准确判断, 采取更加积极的治疗策略, 术后更严密的监测随访, 提高生存率及生活质量。

张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军. 结肠癌患者预后临床病理的多因素分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2202-2207
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2202.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2202>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在世界范围内是常见的恶性肿瘤。全球范围每年结直肠癌的新发病例及死亡病例数已位居恶性肿瘤的第3位, 每年结直肠癌的新发病例120万例, 死亡约60万例, 严重的危害人民的健康^[1]。在我国, 结直肠癌的发病率也逐渐上升^[2]。卫生部于2010年颁布了《结直肠癌诊疗指南》, 推广结直肠癌的综合诊治, 目前手术治疗仍是唯一根治手段。虽然采取了积极的手术治疗手段, 但对术后患者的随访发现结肠癌与直肠癌的预后存在差异。因此, 在临床实践中, 外科医生迫切需要明确影响结肠癌患者预后的临床病理因素, 从而采取针对性治疗。我们对北京大学肿瘤医院结直肠外科2007-07/2010-05经治的、具备完整临床随访资料的226例患者进行回顾性分析。探讨影响结肠癌患者生存预后的因素, 为结肠癌预后的判断、临床治疗决策的选择及提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-07/2010-05于北京大学肿瘤

医院结直肠外科治的、具备完整临床随访资料的226例患者进行回顾分析。226例患者中男女各113例, 中位年龄为63岁(28-89岁)。入组标准:(1)结肠原发性肿瘤;(2)有明确病理诊断;(3)术中完整切除肿瘤;(4)排除既往肿瘤病史;(5)排除家族性息肉病性结肠癌、遗传性非息肉病性结肠癌和克隆氏病、溃疡性结肠炎恶变;(6)排除同时性多原发肿瘤;(7)有完整的临床及随访资料。

1.2 方法

1.2.1 手术治疗: 所有患者都接受了开放的根治性结肠切除术, 符合目前所提倡的全结肠系膜切除的标准^[3]。手术采用吻合器进行肠道重建, 并常规手工加固和留置负压吸引的引流管。

1.2.2 术后随访: 所有患者术后均按照NCCN结肠癌治疗指南进行随访: 患者术后2年内每3 mo随访, 3-5年每6 mo随访。检查项目包括体检、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、血常规及生化、胸片、腹盆腔CT或超声。对于肿瘤局部复发或远隔转移的判断, 以影像学诊断为主。随访时间1.8-44.9 mo, 中位随访时间25.3 mo。其中失访12例, 随访率94.7%。

统计学处理 应用SPSS17.0软件进行统计分析。以患者术后3年无病生存率作为观测指标, 按Kaplan-Meier法进行分析, 生存率的比较采用时序检验Log-rank法。采用Backward: LR方式进行Cox回归多因素回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特点 226例患者中男女各113例(50.0%), 中位年龄为63岁(28-89岁)。术前存在贫血诊断者88例[女: 血红蛋白(hemoglobin, Hb) <110 g/L, 男: Hb <120 g/L]。术前血清CEA升高者110例(48.7%)。肿瘤部位: 升结肠癌或横结肠癌99例, 左半结肠或乙状结肠癌127例。病理检查提示中位淋巴结检出数量为18(4-56)枚, 共有86.3%的患者获取淋巴结数 >12 枚。镜下诊断可见有39.8%(90/226)患者肿瘤分化不良, 25.7%(58/226)的患者存在脉管癌栓。本组226例患者总的3年无病生存率为81.9%。

2.2 单因素分析 影响预后的指标有: 年龄、术中输血、术前血清CEA水平 >5 ng/mL、肿瘤分化程度低、肿瘤侵犯深度、淋巴结转移、远处转移和脉管癌栓($P<0.05$)。而性别、贫血、肿瘤部位、肿瘤大小、检出淋巴结数目、术前有

■研究前沿

全球范围每年结直肠癌的新发病例及死亡病例数已位居恶性肿瘤的第3位。在我国, 结直肠癌的发病率也逐渐上升, 已越来越为人们所重视。然而, 尽管采取了积极的治疗手段, 但患者的预后仍不尽如人意。在临床实践中, 医生迫切需要了解影响结肠癌患者预后的病理因素, 从而做出更准确的判断及针对性治疗。

■相关报道

国内外多数报道表明: 更高N分期、更高M分期、术前血清CEA水平、肿瘤直径 ≥ 5 cm、肿瘤侵犯深度、年龄、送检淋巴结总数、肿瘤根治度、脉管癌栓、围手术期输血等是结肠癌预后的独立危险因素, 不同的研究结论略有不同。

表 1 226例结肠癌患者预后单因素分析

| 临床病理因素 | n | 3年生存率(%) | P值 |
|-----------------------------|-----|----------|-------|
| 性别 | | | |
| 男 | 113 | 81.4 | 0.891 |
| 女 | 113 | 82.3 | |
| 年龄(岁) | | | |
| ≤ 40 | 10 | 70.0 | 0.041 |
| 40-65 | 108 | 88.0 | |
| > 65 | 108 | 76.9 | |
| 血清CEA(ng/mL) | | | |
| ≤ 5 | 116 | 92.2 | 0.000 |
| > 5 | 110 | 70.9 | |
| 血红蛋白(g/L) | | | |
| 女 < 110 , 男 < 120 | 88 | 77.3 | 0.153 |
| 女 ≥ 110 , 男 ≥ 120 | 138 | 84.8 | |
| 肿瘤部位 | | | |
| 右侧结肠 | 99 | 80.8 | 0.766 |
| 左侧结肠 | 127 | 82.7 | |
| 肿瘤分化 | | | |
| 高、中分化 | 136 | 87.5 | 0.004 |
| 低分化、黏液腺癌 | 90 | 73.3 | |
| 肿瘤直径(cm) | | | |
| < 5 | 93 | 82.8 | 0.689 |
| ≥ 5 | 133 | 51.5 | |
| T分期 | | | |
| T1 | 6 | 100.0 | 0.010 |
| T2 | 15 | 100.0 | |
| T3 | 173 | 82.7 | |
| T4 | 32 | 65.6 | |
| N分期 | | | |
| N0 | 111 | 92.8 | 0.000 |
| N1 | 56 | 85.7 | |
| N2 | 59 | 57.6 | |
| M分期 | | | |
| M0 | 216 | 84.7 | 0.000 |
| M1 | 10 | 20.0 | |
| 淋巴结总数 | | | |
| < 12 | 20 | 85.0 | 0.736 |
| ≥ 12 | 206 | 81.6 | |
| 脉管癌栓 | | | |
| 无 | 167 | 87.4 | 0.000 |
| 有 | 58 | 65.5 | |
| 输血 | | | |
| 无 | 201 | 83.6 | 0.008 |
| 有 | 25 | 68.0 | |
| 体质量减轻 | | | |
| 有 | 69 | 81.2 | 0.820 |
| 无 | 157 | 82.2 | |

CEA: 癌胚抗原。

无体质量减轻等因素则未显示对预后有影响($P>0.05$)(表1)。

2.3 多因素分析 将临床病理学因素引入Cox比例风险模型进行多因素回归分析, 采用Backward: LR方式计算。发现术前血清CEA水平, 肿瘤分化程度, 淋巴结转移, 远处转移是影响结肠癌预后的独立因素, 而其余因素未能进入Cox多因素模型(表2, 图1)。

3 讨论

3.1 概述 在判断结肠癌预后的众多因素中, 肿瘤的TNM分期为最重要的因素。但是因为肿瘤的异质性和诸多临床病理学的预后因素尚未纳入评价系统中, 常常会导致相同临床病理分期的肿瘤预后与治疗效果大相径庭。NCCN指南推荐对II期结肠癌伴有高危因素的患者可行术后辅助治疗。我们从中获得启发, 能否找出不好的预后因素, 可以结合TNM分期更加完善结肠癌患者预后的评价体系, 以便术前就能作出更准确判断, 采取更加积极的治疗策略, 术后更严密地监测随访, 提高生存率及生活质量, 这是我们临床研究中亟待解决的问题。

3.2 预后因素 本研究回顾性总结了262例结肠癌患者的临床病理资料, 统计分析显示: 淋巴结转移、远隔转移、术前CEA水平升高、肿瘤分化程度成为患者独立的预后因素。

3.2.1 淋巴结转移: 美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)指南中II期和III期结肠癌的5年生存率分别为82.5%和59.5%, 有明显差异, 其根本区别在于有无转移淋巴结。淋巴结转移代表了肿瘤在局部除了浸润深度外, 向外扩张的程度, 反映了肿瘤的生物行为, 可以代表恶性程度的高低, 与生存密切相关^[4,5]。7版AJCC指南较6版引入N1c, 新分期中对于N的精细分期也是基于淋巴结数目影响预后的新研究数据, 并且反映了原发肿瘤淋巴引流区域有肿瘤种植的预后价值的研究数据, 在相同的T分期下, N1a的患者的5年生存率较N1b患者高3%-10%。N2a患者5年生存率较N2b高5%-20%^[6]。

有研究^[7,8]认为淋巴结检出数目是预测结直肠癌预后的重要因素。5年生存率的比较中, 获得淋巴结总数 ≤ 9 枚的患者较获得淋巴结总数 > 27 枚的II期结肠癌中低6.4%, 在III期结肠癌患者中要低8.8%。但统计学上未找到一个淋巴结数量的临界点, 尽可能检查更多的淋巴结是有益的。有不少学者在Swanson等^[9]、Tsai等^[10]及Vather等^[11]研究的基础上找到了临界点, 认为至少要检出个淋巴结总数要 > 13 、18或16枚, 才能

■同行评价
本文具有一定指
导意义.

表 2 226例结肠癌患者预后的多因素分析

| 影响因素 | 回归系数(β) | 标准误(SE) | Wald值 | P值 | 相对危险度 | 95%可信区间 |
|--------|-----------------|---------|--------|-------|-------|--------------|
| CEA数据化 | 0.943 | 0.395 | 5.705 | 0.017 | 2.568 | 1.184–5.569 |
| 病理分化 | 1.118 | 0.367 | 9.282 | 0.002 | 3.059 | 1.490–6.279 |
| N分期 | 0.651 | 0.230 | 7.990 | 0.005 | 1.917 | 1.221–3.009 |
| M分期 | 2.291 | 0.474 | 23.387 | 0.000 | 9.886 | 3.906–25.021 |

CEA: 癌胚抗原.

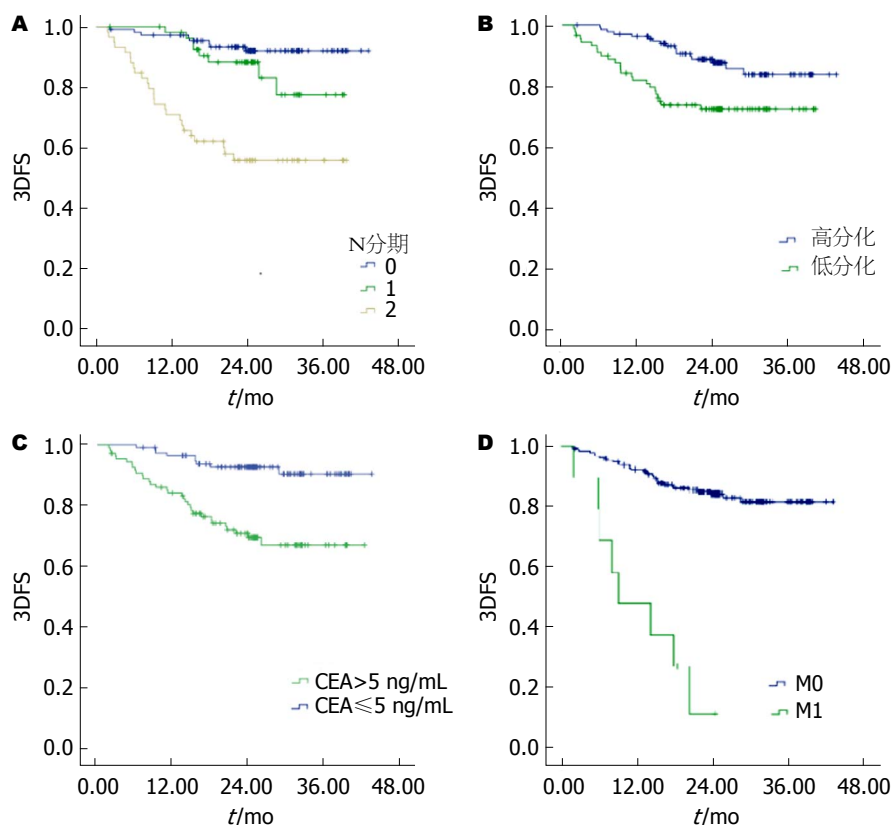


图 1 相关因素对患者3年无病生存率的影响. A: 淋巴结转移; B: 肿瘤分化程度; C: 术前CEA水平; D: 远处转移. CEA: 癌胚抗原.

对患者的淋巴结有无转移作出准确的判断. 同样AJCC指南中指出淋巴结数目不足12枚是Ⅱ期结直肠癌的高危因素. 这可能因为淋巴结检出数目不足导致临床分期被低估.

我们的研究显示更高的N分期是影响预后的主要因素(表1). 多因素分析显示, 更高的N分期也是影响预后的独立因素(表2). 这与一般认为淋巴结转移是影响结肠癌预后的独立因素的观点相符. 关于清扫淋巴结总数, 根据NCCN指南, 我们将12枚作为分界点, 未能发现淋巴结总数与预后相关.

3.2.2 病理分化程度: 一般认为病理类型是影响预后的重要因素, 肿瘤分化越差, 恶性程度越

高, 局部侵袭和远处转移能力强, 预后越差^[12,13]. O'Connell^[5]比较Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期结肠癌患者的预后, 发现低分化组的5年生存率明显低于高分化组, 有明显的统计学差异. 关于分化程度的界定, 有些研究提出四分法即: 高分化、中分化、低分化、未分化^[14]. 亦有学者建议将病理分级简化为高分化(高分化+中分化)和低分化(低分化+未分化)两级, 以更有利于的判断预后^[15]. 此外, 还有一些其他的研究认为, 黏液腺癌应当作为一种分化程度高但恶性程度高的特殊类型^[16]. 本组病例将分化程度分为两级, 经多因素分析证实病理分化程度是影响预后的独立因素.

3.2.3 术前血清CEA水平: CEA水平在结直肠癌

患者的预后判断、疗效观察以及复发、转移的检测中具有重要临床意义^[17,18]。美国癌症协会和病理联合会推荐通过测定术前CEA水平来预测结直肠癌患者预后,认为CEA是具有较大价值的判断指标之一,可被当作对TNM系统的补充^[19,20]。许多的临床研究证实术前血清CEA水平是重要的预后指标,并且独立于肿瘤的TNM分期和组织学分级^[21]。尽管存在不同意见^[22]。但大多数观点认为CEA是预测预后的重要指标。相比其他手段,术前测定血清CEA水平的测定简单、资料采集方便、操作无创、卫生经济学优势明显。本组病例资料结果显示:术前CEA增高(≥ 5 ng/mL)的结肠癌患者术后3年的生存率明显低于CEA正常的患者。测定患者术前CEA水平,对于在术前预测患者预后以及术后的随访具有重要意义。

3.2.4 远处转移:有远处转移的患者,从TNM分期来说属于IV期,预后最差^[4,23]。日本的数据显示IV期5年生存率仅为14.3%,显著低于III期5年生存率62.1%-76.1%^[24]。对于转移灶普遍认为手术切除转移灶的患者生存获益明显增加,并且转移灶的多少影响预后^[24,25]。本文显示远处转移是影响患者生存的非常显著的独立因素。术前出现远处转移患者的生存率极差,3年生存率仅为20.0%,较无转移者84.7%有明显的统计学差异。

总之,本研究回顾了226例结肠癌患者的临床病理学资料,统计分析发现,年龄、术中输血、术前血清CEA水平 >5 ng/mL、肿瘤分化程度低、肿瘤侵犯深度、淋巴结转移、远隔转移和脉管癌栓与预后相关,多因素分析提示:淋巴结转移、远隔转移、术前血清CEA水平 >5 ng/mL、病理分化程度是独立预后因素。对于具有不良预后因素的患者我们建议术后行更积极的治疗并加强术后随访,以减少术后复发转移的机会,从而提高术后生存期及改善生存质量。这些预测因素有待进一步的前瞻性研究证实。

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]
- Li M, Gu J. Changing patterns of colorectal cancer in China over a period of 20 years. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4685-4688 [PMID: 16094710]
- Hohenberger W, Weber K, Matzel K, Papadopoulos T, Merkel S. Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal*

Dis 2009; 11: 354-364; discussion 364-365 [PMID: 19016817]

- Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond ME, Henson DE, Hutter RV, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Taylor CR, Welton M, Willett C. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 979-994 [PMID: 10888773]
- O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1420-1425 [PMID: 15467030 DOI: 10.1093/jnci/djh275]
- Gunderson LL, Jessup JM, Sargent DJ, Greene FL, Stewart A. Revised tumor and node categorization for rectal cancer based on surveillance, epidemiology, and end results and rectal pooled analysis outcomes. *J Clin Oncol* 2010; 28: 256-263 [PMID: 19949015 DOI: 10.1200/JCO.2009.23.9194]
- Kotake K, Honjo S, Sugihara K, Hashiguchi Y, Kato T, Kodaira S, Muto T, Koyama Y. Number of lymph nodes retrieved is an important determinant of survival of patients with stage II and stage III colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 29-35 [PMID: 22102737 DOI: 10.1093/jjco/hyr164]
- Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 433-441 [PMID: 17374833 DOI: 10.1093/jnci/djk092]
- Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, Bland KI. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 65-71 [PMID: 12513963]
- Tsai HL, Lu CY, Hsieh JS, Wu DC, Jan CM, Chai CY, Chu KS, Chan HM, Wang JY. The prognostic significance of total lymph node harvest in patients with T2-4N0M0 colorectal cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 660-665 [PMID: 17468927 DOI: 10.1007/s11605-007-0119-x]
- Vather R, Sammour T, Kahokehr A, Connolly AB, Hill AG. Lymph node evaluation and long-term survival in Stage II and Stage III colon cancer: a national study. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 585-593 [PMID: 19116751 DOI: 10.1245/s10434-008-0265-8]
- Oñate-Ocaña LF, Montesdeoca R, López-Graniel CM, Aiello-Crocifoglio V, Mondragón-Sánchez R, Cortina-Borja M, Herrera-Goepfert R, Oros-Ovalle C, Gallardo-Rincón D. Identification of patients with high-risk lymph node-negative colorectal cancer and potential benefit from adjuvant chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34: 323-328 [PMID: 15333684 DOI: 10.1093/jjco/hyh054]
- Radespiel-Tröger M, Hohenberger W, Reingruber B. Improved prediction of recurrence after curative resection of colon carcinoma using tree-based risk stratification. *Cancer* 2004; 100: 958-967 [PMID: 14983491 DOI: 10.1002/cncr.20065]
- André T, Sargent D, Tabernero J, O'Connell M, Buyse M, Sobrero A, Misset JL, Boni C, de Gramont A. Current issues in adjuvant treatment of stage II colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 887-898 [PMID: 16614880 DOI: 10.1245/ASO.2006.07.003]
- Treanor D, Quirke P. Pathology of colorectal cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2007; 19: 769-776 [PMID: 17950585 DOI: 10.1016/j.clon.2007.08.012]

- 16 Nozoe T, Anai H, Nasu S, Sugimachi K. Clinico-pathological characteristics of mucinous carcinoma of the colon and rectum. *J Surg Oncol* 2000; 75: 103-107 [PMID: 11064389]
- 17 Kanellos I, Zacharakis E, Kanellos D, Pramateftakis MG, Tsahalidis T, Altsitsiadis E, Betsis D. Prognostic significance of CEA levels and detection of CEA mRNA in draining venous blood in patients with colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2006; 94: 3-8 [PMID: 16788936]
- 18 Kim SB, Fernandes LC, Saad SS, Matos D. Assessment of the value of preoperative serum levels of CA 242 and CEA in the staging and postoperative survival of colorectal adenocarcinoma patients. *Int J Biol Markers* 2003; 18: 182-187 [PMID: 14535588]
- 19 Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer* 2000; 88: 1739-1757 [PMID: 10738234]
- 20 Peng Y, Wang L, Gu J. Elevated preoperative carcinoembryonic antigen (CEA) and Ki67 is predictor of decreased survival in IIA stage colon cancer. *World J Surg* 2013; 37: 208-213 [PMID: 23052808 DOI: 10.1007/s00268-012-1814-7]
- 21 Reiter W, Stieber P, Reuter C, Nagel D, Lau-Werner U, Lamerz R. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 5195-5198 [PMID: 11326694]
- 22 Wiggers T, Arends JW, Volovics A. Regression analysis of prognostic factors in colorectal cancer after curative resections. *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 33-41 [PMID: 3366023]
- 23 Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1471-1474 [PMID: 20180029 DOI: 10.1245/s10434-010-0985-4]
- 24 Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, Tanaka S, Ito Y, Ajioka Y, Hamaguchi T, Hyodo I, Igarashi M, Ishida H, Ishiguro M, Kanemitsu Y, Kokudo N, Muro K, Ochiai A, Oguchi M, Ohkura Y, Saito Y, Sakai Y, Ueno H, Yoshino T, Fujimori T, Koinuma N, Morita T, Nishimura G, Sakata Y, Takahashi K, Takiuchi H, Tsuruta O, Yamaguchi T, Yoshida M, Yamaguchi N, Kotake K, Sugihara K. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2010 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2012; 17: 1-29 [PMID: 22002491 DOI: 10.1007/s10147-011-0315-2]
- 25 Pfannschmidt J, Muley T, Hoffmann H, Dienemann H. Prognostic factors and survival after complete resection of pulmonary metastases from colorectal carcinoma: experiences in 167 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 732-739 [PMID: 14502146]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻

曹峰瑜, 吴彪

■背景资料

我国结直肠癌发病率的不增加, 而约7%-28%的患者为首发症状表现为完全或不完全性肠梗阻。对于左半结肠和直肠癌导致梗阻的治疗, 目前多为急诊手术治疗, 行姑息性肿瘤切除、远端肠管封闭加近端造口术, 不仅需要二次手术, 而且围手术期并发症发生率及病死率较高。

曹峰瑜, 吴彪, 武汉市第一医院胃肠外科 湖北省武汉市 430022

曹峰瑜, 主要从事胃肠道肿瘤的防治及临床研究。

作者贡献分布: 临床资料整理、文章起草及数据分析由曹峰瑜完成; 课题设计、文章修改和审阅由吴彪完成。

通讯作者: 吴彪, 副教授, 副主任医师, 430022, 湖北省武汉市硚口区中山大道215号, 武汉市第一医院胃肠外科。

915766973@qq.com

收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-24

接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer

Feng-Yu Cao, Biao Wu

Feng-Yu Cao, Biao Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Biao Wu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan No.1 Hospital, 215 Zhongshan Street, Qiaokou District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 915766973@qq.com

Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-24

Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of transanal ileus tube decompression in the treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer, and to analyze the differences between emergency surgery and elective surgery after transanal ileus tube decompression.

METHODS: Fifty-four patients with bowel obstruction due to colorectal cancer treated at our hospital between October 2009 and October 2012 were included, of whom 25 underwent transanal ileus tube decompression. After this treatment, 20 cases received first-stage resection and anastomosis. A case-control study was used to compare the rate of first-stage resection and anastomosis, perioperative recovery and complications rate between patients undergoing transanal ileus tube decompression (observation group) and those undergoing emergency surgery (control group).

■同行评议者

茅爱武, 教授, 上海同仁医院介入中心

RESULTS: In the observation group, 25 cases were successfully treated by transanal ileus tube decompression, of whom 20 underwent laparoscopic first-stage resection and anastomosis. The rate of first-stage anastomosis was significantly higher in the observation group than in the control group (80% vs 37.9%, $P < 0.05$). In the perioperative period, the differences in hospital stay and operative time between the two groups were not statistically significant. The amount of bleeding was less and the time to intestinal function recovery was shorter in the observation group. The number of resected lymph nodes in the observation group was significantly more than that in the control group. The overall incidence of complications in the observation group was significantly lower than that in the control group (12.0% vs 37.9%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Transanal ileus tube decompression can improve the rate of first-stage anastomosis and reduce perioperative morbidity and mortality in the treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Transanal ileus tube decompression; Colorectal cancer; Obstruction

Cao FY, Wu B. Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2208-2212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2208.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2208>

摘要

目的: 探讨经肛型肠梗阻减压管在结直肠癌梗阻性梗阻治疗中的临床应用, 并分析比较使用该管后的择期手术与急诊手术的差异。

方法: 回顾性分析2009-10/2012-10我科收治的结直肠癌梗阻病例54例, 其中25例给予经肛型肠梗阻减压管治疗, 治疗后20例实施手术切除并一期吻合。采用病例对照研究方法比较使用经肛型肠梗阻减压管治疗后择期手术组(观察

组)和急诊手术组(对照组) I 期手术率、围手术期恢复情况及并发症发生率。

结果: (1) 观察组25例均一次性操作成功, 经准备后, 其中20例行腹腔镜肿瘤根治术并 I 期吻合, I 期吻合率为80%, 与对照组的37.9%相比, 其差异有统计学意义; (2) 围手术期, 两组住院天数和手术时间的差异均无统计学意义。观察组的术中出血量为296.00 mL±18.38 mL, 术后通气时间为67.60 h±3.72 h, 明显少于对照组的318 mL±22.01 mL和72.30 h±3.77 h, 其差异有统计学意义。观察组淋巴结清扫数量明显多于对照组, 其差异有统计学意义; (3) 观察组并发症总体发生率为12.0%, 明显低于对照组的37.9%, 其差异有统计学意义。

结论: 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻, 可以提高 I 期吻合率, 降低围手术期并发症发生率和病死率。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 经肛型肠梗阻减压管; 结直肠癌; 肠梗阻

核心提示: 对于左半结肠及直肠癌性患者, 应用经肛型肠梗阻减压管, 具有以下优点: (1) 可以引流、减压, 有效地缓解梗阻症状; (2) 可以提高 I 期吻合率; (3) 可以降低围手术期并发症发生率及病死率。

曹峰瑜, 吴彪. 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2208-2212 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2208.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2208>

0 引言

随着我国结直肠癌发病率的不断增加, 结直肠肿瘤所致的肠梗阻的病例也不断增加。传统的治疗方法为急诊手术治疗, 行姑息性肿瘤切除、远端肠管封闭加近端造口术, 这不仅为患者增加二次手术的痛苦, 并且据报道, 急诊手术的术后30 d的病死率为14.9%, 而择期手术为5.8%^[1,2]。本研究通过病例对照的方式, 探讨经肛型肠梗阻减压管在缓解结直肠癌性梗阻及为择期手术做过渡的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-10/2012-10我科共收治左半结肠及直肠癌致肠梗阻患者54例, 其中25例做为观察组, 接受经肛型肠梗阻减压管治疗; 其中

表 1 两组一般资料对比

| | 观察组 | 对照组 | χ^2/t | P值 |
|-------|------------|------------|------------|-------|
| 性别 | | | | |
| 男 | 14 | 17 | 0.038 | 0.846 |
| 女 | 11 | 12 | | |
| 年龄(岁) | 54.7±15.29 | 52.9±13.35 | 0.028 | 0.782 |
| 肿瘤位置 | | | | |
| 结肠 | 17 | 19 | 0.037 | 0.847 |
| 直肠 | 8 | 10 | | |
| 组织学类型 | | | | |
| 腺癌 | 20 | 22 | 0.133 | 0.715 |
| 黏液腺癌 | 5 | 7 | | |

男14例, 女11例, 年龄23-78岁, 平均年龄54.7岁。另29例做为对照组, 均行急诊手术治疗; 其中男17例, 女12例, 年龄34-81岁, 平均52.9岁。所有患者均签署知情同意书, 详细记录每位患者的围手术期一般资料及术后并发症等临床资料。Create公司产经肛型肠梗阻减压导管配件、Olympus电子肠镜系统、数字X机、60%泛影葡胺等。

1.2 方法 清洁灌肠后, 给予肠镜检查。发现肿块的位置, 置入导丝越过梗阻的肿块, 通过导丝置入造影的导管, 透视确定梗阻的位置后, 保留造影导管退镜, 在导丝的引导下置入扩张器, 扩张狭窄部位后, 退出扩张器, 并置入肠梗阻减压管, 水囊内注入15 mL生理盐水, 以固定导管。接“Y”型接头, 观察引流效果, 并可用生理盐水或甲硝唑进行冲洗。

统计学处理 应用SPSS17.0软件包进行统计学处理, 计数资料使用 χ^2 检验或Fisher确切概率法进行数据分析, 计量资料使用t检验进行分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 减压管置入近期疗效 25例患者均一次性成功置入经肛型减压管, 减压管置入后, 其中21例随即有大量粪便及肠液排出, 患者腹痛、腹胀的不适随即得到缓解, 4例梗阻时间较长的患者2-3 d出现排气通便, 临床症状出现缓解。

2.2 两组一般资料及 I 期手术率对比 两组病例在性别、年龄、肿瘤发生部位、术后组织学分型等方面差异均无统计学差异(表1)。观察组25例患者中, 20例经过精心准备后, 施行 I 期于腹腔镜下施行根治性手术, 1例冰冻骨盆, 行姑息性造口术, 4例出现腹腔或远处转移, 症状缓解后, 转肿瘤科继续治疗。因而观察组 I 期手术率

■ 研发前沿

近年来, 有学者尝试进行术中结肠灌洗, 及金属支架对左半结肠及直肠癌性梗阻进行治疗, 然而两种方法均有一定的局限性。而我们使用经肛型肠梗阻减压管治疗左半结肠及直肠癌性梗阻, 对于使用经肛型肠梗阻减压管后, 手术时机、化疗及手术的选择, 仍是需要解决的问题。

■创新盘点

本文应用病例对照研究的方式,比较了使用肠梗阻减压管组及急诊手术组的一期吻合率,围手术并发症发生率等情况,得出使用肠梗阻减压管组一期吻合率较高,并发症较少等结论,并分析了两组之间差别的相关原因。

表 2 两组 I 期手术率对比

| I 期手术 | 对照组 | 病例组 | 总计 | χ^2 值 | P值 |
|-------|-----|-----|----|------------|-------|
| 有 | 20 | 11 | 31 | 9.718 | 0.002 |
| 无 | 5 | 18 | 23 | | |
| 总计 | 25 | 29 | 54 | | |

为80%。对照组的29例患者中,其中26例患者急诊开腹手术,11例经过经术中肠道灌洗后,行 I 期吻合术,15例患者行肿瘤切除,近端造口+远端暂时性封闭手术,3例患者因出现冰冻骨盆,行姑息性造口术。对照组 I 期吻合率为37.9%,两组一期手术率比较有差异,具有统计学意义(表2)。

2.3 两组围手术期一般资料对比 观察组术中出血量、术后通气时间明显少于对照组,而淋巴结清扫数量多于对照组,两组间住院天数及手术时间差异,无统计学意义(表3)。

2.4 两组术后并发症对比 观察组发生切口感染1例,肺部感染2例,并发症发生率为12.0%;对照组发生切口感染4例,肺部感染3例,吻合口瘘2例,多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)1例,腹腔感染1例,并发症发生率为37.9%,两组并发症发生率比较,差异,有统计学意义(表4)。

3 讨论

目前对于治疗左半结肠癌和直肠癌导致的肠梗阻尚无统一的标准,由于左半结肠和直肠导致的癌性梗阻常导致闭袢型肠梗阻,病情发展快,常导致严重的感染,并伴有水、电解质及酸碱平衡的紊乱,而且多数患者并发有基础疾病,如肺部感染、高血压、糖尿病等,导致较高的围手术期并发症发生率及病死率^[3]。由于梗阻,导致近端肠管扩张、水肿明显,切除后上下端肠管管径不同,且供血不佳,大部分学者认为行 I 期吻合,术后吻合口瘘的发生率较高,因而应行分期手术^[4]。然而分期手术存在很多缺点:(1)两次手术给患者身体、心理造成两次伤害;(2)手术可能引起肿瘤的腹腔种植及远处转移,使部分患者失去进行第二次手术的机会;(3)由于部分患者并发有基础疾病,及梗阻导致的感染及水电解质紊乱等,因需要行急诊手术,而无法进行纠正和治疗,再加上手术和麻醉的应激,致围手术期并发症发生率及病死率较高。因而,左半结肠及直肠癌性梗阻的治疗,需要考虑:(1)保证

手术安全,降低围手术期的并发症发生率及病死率;(2)符合肿瘤手术根治的原则,提高患者术后5年的生存率^[5]。

鉴于分期手术的缺点,及左半结肠及直肠癌性梗阻治疗的特殊性,近年来,部分学者尝试进行术中结肠灌洗及金属支架对左半结肠及直肠癌性梗阻进行治疗^[6,7]。然而,此两种方法均有其局限性。进行术中结肠灌洗,要求大量液体在术中对结肠进行充分灌洗,无疑会增加手术时间;其次,腹腔暴露时间增长,导致腹腔感染的机会增加;另外,术中灌洗结肠并不能解决梗阻近端肠壁水肿,上下端肠管口径不一,因而并不能降低术后吻合口瘘的发生率^[8,9]。对于金属支架,首先其造价较高;其次由于结肠弯曲较多,其操作难度较大,即使成功放置,由于易发生粪便堵塞及移位等并发症,一定程度上限制了其使用^[10,11]。

本研究中,对于左半结肠及直肠癌性梗阻患者,我们使用经肛型肠梗阻减压管,所有患者均一次性操作成功,其中20例随即有大量粪便及肠液排出,患者腹痛、腹胀的不适随即得到缓解,4例梗阻时间较长的患者2-3 d出现排气通便,临床症状出现缓解。在患者一般情况好转后,小剂量配合利尿剂,适当予以液体负平衡,减轻肠道水肿。并在患者肠梗阻症状缓解的情况下,控制感染,纠正水、电解质及酸碱平衡紊乱,积极治疗基础疾病,待一般情况好转后,再通过经肛型减压管进行肠道清洗,使肠道达到 I 期吻合的标准。本组25例患者中,有20例经过精心准备7 d左右后,行腹腔镜下结直肠癌根治术,全部进行 I 期吻合,术后未发生吻合口瘘、切口感染等术后并发症。I 期吻合率为80%。而对照组 I 期手术率为37.9%,两组 I 期吻合率比较,观察组 I 期吻合率明显高于对照组,其差异有统计学意义。因而,对于左半结肠及直肠癌性梗阻患者,给予经肛型肠梗阻减压管治疗后,可以提高患者的 I 期吻合率,减少患者二次手术的痛苦。

本研究的观察组与对照组在围手术期,其两组间住院天数及手术时间差异无统计学意义。虽然观察组肠梗阻减压和肠道准备需要时间,然而术后恢复较快,围手术期并发症发生率较低,因而总体上并不延长患者住院时间。观察组的20例手术,我们全部行腹腔镜下肿瘤根治术,总体上不延长手术时间的情况下,对患者机体损伤较小,并且术中出血量明显小于对照组,其差异亦均有统计学意义。在两组淋巴结清扫数量的对比中,观察组淋巴结清扫数量明显多于

表 3 两组围手术期一般资料对比 (mean ± SD)

| 一般资料 | 观察组 | 对照组 | t值 | P值 |
|------------|----------------|----------------|--------|-------|
| 住院天数(d) | 13.10 ± 1.60 | 14.30 ± 2.00 | 1.482 | 0.156 |
| 术中出血量(mL) | 296.00 ± 18.38 | 318.00 ± 22.01 | -2.426 | 0.026 |
| 手术时间(min) | 223.50 ± 16.68 | 212.50 ± 19.04 | 1.374 | 0.186 |
| 术后通气时间(h) | 67.60 ± 3.72 | 72.30 ± 3.77 | -2.820 | 0.012 |
| 淋巴结清扫数量(个) | 15.60 ± 2.50 | 12.40 ± 1.58 | 3.420 | 0.003 |

表 4 两组术后并发症对比

| 并发症 | 观察组 | 对照组 | χ^2 | P值 |
|-------|-----|-----|----------|-------|
| 切口感染 | 1 | 4 | | |
| 肺部感染 | 2 | 3 | | |
| 吻合口瘘 | 0 | 2 | | |
| MODS | 0 | 1 | | |
| 腹腔感染 | 0 | 1 | | |
| 并发症总数 | 3 | 11 | 4.701 | 0.030 |

对照组,其原因可能为急诊手术时,由于患者全身情况较差,不能耐受精细的肿瘤根治术,迫使医生尽量简化手术,抢救患者生命。然而经过经肛型减压管解除梗阻,控制感染,治疗基础疾病后,使得患者可以耐受更为标准的肿瘤根治术。

在并发症发生方面,对照组发生切口感染4例,肺部感染3例,吻合口瘘2例,MODS 1例,腹腔感染1例,并发症发生率为37.9%。11例术中进行结肠灌洗的患者,术后有2例发生了吻合口瘘,1例切口感染,因为在不解决肠壁水肿、管径不一的情况下,即使进行术中灌洗,术后吻合口瘘这一严重并发症的发生率也并没有降低,相反术中灌洗增加了手术时间,增加了腹腔感染的机率。亦有报道^[12],急诊手术的并发症多见,是由于严重感染所致的心肺功能障碍,患者术后恢复延迟,对照组中1例患者,虽经手术解除了梗阻,然而由于感染严重,术后出现MODS,抢救无效后死亡,教训惨痛。而在观察组,发生切口感染1例,肺部感染2例,无死亡病例,其并发症发生率明显低于对照组。造成两组术后并发症及病死率显著差异的原因可能为:(1)经过减压管减压后,肠梗阻症状缓解,肠道细菌移位所致菌血症得到纠正;(2)避免急诊手术后,可以赢得时间,以控制梗阻导致的感染,调整水电解质及酸碱平衡的紊乱;(3)经有效治疗高血压、糖尿病、肺部感染等基础疾病后,全身状况得到显著改善,心肺功能增强,免疫功能得到改善等。

总是,对于左半结肠及直肠癌性梗阻的治疗,经肛型肠梗阻减压管的应用,可以提高I期吻合率,减少患者接受二次手术的痛苦;为接受限期手术赢得时间,经过准备后,可以耐受更标准的肿瘤根治术;并可以避免急诊手术,降低围手术期并发症发生率和病死率。有学者报道,对于解除梗阻后的结直肠癌可先进行新辅助化疗^[13],然而我们仍然缺少这方面的经验,对于手术、新辅助化疗的选择,以及化疗后手术时机的选择是我们接下来将进行研究的方向。

4 参考文献

- 李明琦, 张博森, 陈海鹏, 王锡山. 关于结直肠癌梗阻患者肠道吻合研究进展. 中华普外科手术学杂志(电子版) 2011; 5: 352-354
- Morris EJ, Taylor EF, Thomas JD, Quirke P, Finan PJ, Coleman MP, Rachet B, Forman D. Thirty-day postoperative mortality after colorectal cancer surgery in England. *Gut* 2011; 60: 806-813 [PMID: 21486939 DOI: 10.1136/gut.2010.232181]
- 魏晓军, 梁振家, 李世拥, 陈光, 徐一石. 内支架置入后手术治疗结直肠癌梗阻围手术期疗效观察. 人民军医 2010; 53: 660-661
- Pirlet IA, Slim K, Kwiatkowski F, Michot F, Millat BL. Emergency preoperative stenting versus surgery for acute left-sided malignant colonic obstruction: a multicenter randomized controlled trial. *Surg Endosc* 2011; 25: 1814-1821 [PMID: 21170659 DOI: 10.1007/s00464-010-1471-6.]
- 张祖案, 庄建良, 潘群雄, 黄子成, 朱聪辉. 金属内支架置入术在结直肠癌梗阻中的临床研究. 中外医疗 2010; 29: 51-53,55
- Zheng C, Wu YL, Li Q. Preoperative intestinal stent decompression with primary laparoscopic surgery to treat left-sided colorectal cancer with obstruction: a report of 21 cases. *Cancer Biol Med* 2013; 10: 99-102 [PMID: 23882425 DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2013.02.006]
- 王栋亭, 王学祥. 左半结肠癌并急性肠梗阻一期切除吻合术治疗体会. 结直肠肛门外科 2011; 17: 89-91
- 潘茂华. 左半结肠癌梗阻 I 期消化道重建方式的选择. 结直肠肛门外科 2012; 18: 186-188
- 林锡汉, 庄丹, 袁伟嗣, 庄俊峰, 刘金炎. 术中结肠灌洗与常规手术在梗阻性左半结肠癌 I 期吻合中应用的比较. 广东医学 2012; 33: 1458-1459
- Lujan HJ, Barbosa G, Zeichen MS, Mata WN, Maciel V, Plasencia G, Hartmann RF, Viamonte M, Fogel R. Self-expanding metallic stents for palliation and as a bridge to minimally invasive surgery in colorectal

■应用要点

对于左半结肠及直肠癌性患者,有条件的单位可以使用经肛型肠梗阻减压管,可以快速缓解梗阻症状,避免急诊手术后,可以充分进行肠道准备,在一般情况改善、肠壁水肿消除后,行手术治疗,可以降低围手术期并发症发生率。

■同行评价

本文在提高 I 期吻合率,降低围手术期并发症发生率和病死率方面作出积极的探索,具有一定的指导意义。

- obstruction. *JSL* 2013; 17: 204-211 [PMID: 23925013 DOI: 10.4293/108680813X13654754534990]
- 11 陈涛,董乐,刘懿. 结直肠支架的临床应用. *国际消化病杂志* 2013; 33: 394-398
- 12 Baqué P, Chevallier P, Karimjee Solihi F, Rahili MA, Iannelli A, Benizri EI, Bernard JL, Bereder JM, Oddo F, Padovani B, Gugenheim J, Benchimol D, Bourgeon A. [Colostomy vs self-expanding metallic stents: comparison of the two techniques in acute tumoral left colonic obstruction]. *Ann Chir* 2004; 129: 353-358 [PMID: 15297225]
- 13 Karoui M, Charachon A, Delbaldo C, Loriau J, Laurent A, Sobhani I, Tran Van Nhieu J, Delchier JC, Fagniez PL, Piedbois P, Cherqui D. Stents for palliation of obstructive metastatic colon cancer: impact on management and chemotherapy administration. *Arch Surg* 2007; 142: 619-623; discussion 623 [PMID: 17638798]

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%。

便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效

韩柯, 向前

韩柯, 向前, 河南省南阳市中心医院肛肠科 河南省南阳市 473000

韩柯, 副主任医师, 主要从事中西医结合治疗肛肠疾病的研究。

作者贡献分布: 本研究设计由韩柯完成, 向前参与; 文章写作由韩柯完成。

通讯作者: 韩柯, 副主任医师, 473000, 河南省南阳市工农路312号, 河南省南阳市中心医院肛肠科. hankehanke@163.com

收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-30

接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients

Ke Han, Qian Xiang

Ke Han, Qian Xiang, Department of Proctology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, He'nan Province, China
Correspondence to: Ke Han, Associate Chief Physician, Department of Proctology, Nanyang Central Hospital, 312 Gongnong Road, Nanyang 473000, He'nan Province, China. hankehanke@163.com

Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-30

Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in the treatment of constipation in elderly patients after hemorrhoid surgery.

METHODS: Seventy-eight elderly patients with constipation who had undergone hemorrhoid surgery at Nanyang Central Hospital were randomly divided into either an observation group or a control group ($n = 39$ for each). The observation group was treated with Biantong capsules plus mosapride, and the control group was treated with mosapride alone. The curative effect was compared between the two groups.

RESULTS: Two patients in the observation group developed loose stool, which was re-

lieved after continued treatment. Six patients in the control group developed abdominal pain, which was resolved after enema administration. No liver function abnormalities were observed in either group. In the observation group, 26 (66.7%) cases were cured, 7 (17.9%) cases showed a significant response, 4 (10.3%) cases showed a partial response, and 2 (5.1%) cases showed no response; the corresponding figures in the control group were 17 (43.6%), 4 (10.3%), 10 (25.9%) and 8 (20.5%), respectively. The total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (94.9% vs 79.5%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Biantong capsules combined with mosapride has a good curative effect in the treatment of constipation in elderly patients after hemorrhoid surgery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Biantong capsules; Mosapride; Constipation; Hemorrhoids

Han K, Xiang Q. Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2213-2216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2213.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2213>

摘要

目的: 探讨便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘患者的临床疗效, 为临床治疗老年痔患者术后便秘提供参考。

方法: 收集河南省南阳市中心医院肛肠科收治的78例老年痔术后便秘患者, 随机分为观察组和对照组, 各39例, 观察组采用便通胶囊+莫沙必利治疗, 对照组采用莫沙必利治疗, 比较两组患者临床治疗效果。观察组2例大便不成形, 坚持服用药物治疗后患者的临

■背景资料

老年人随着年龄增长, 大肠肌张力减低, 肠腺分泌减少等多种自身因素影响, 更易发生便秘, 表现为便意少, 次数减少及排便艰难、费力、不畅等。痔术后便秘会引起伤口水肿、疼痛甚至是继发性大出血, 影响伤口正常生长愈合, 老年痔术后便秘还易造成其他并发症或后遗症, 诱发或加重冠心病、心力衰竭、脑梗塞等心脑血管疾病。

■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

■研发前沿

大便干结或用力排便会使部分愈合的伤口裂开导致延期愈合,加重伤口出血和疼痛,直接影响手术效果和预后,降低患者生活质量,若能及时采取有效合理治疗,减轻患者身心痛苦,还能预防种种不良情况的发生。

床症状缓解;对照组6例腹痛胀,经过排便灌肠之后缓解。两组的对象均无肝肾功能异常的情况。

结果: 观察组患者治疗痊愈26例(66.7%),显效7例(17.9%),有效4例(10.3%),无效2例(5.1%),总有效率94.9%;对照组患者痊愈17例(43.6%),显效4例(10.3%),有效10例(25.9%),无效8例(20.5%),总有效率为79.5%,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 通便胶囊具有健脾益肾、润肠通便的作用,莫沙必利能促进胃肠蠕动,将两者联合用于治疗老年痔术后便秘取得良好的效果,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: 通便胶囊;莫沙必利;便秘;痔

核心提示: 本文采用通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘39例患者,痊愈率(66.7%)和总有效率(94.9%)均明显优于单纯使用莫沙必利治疗的患者的痊愈率(43.6%)和总有效率(79.5%),中药可使脾胃气旺,精血充盈,大肠濡润,西药见效快、缓解症状明显,中西药结合,发挥各自优势,疗效确切,有效减少或防止老年痔术后便秘的发生,对疼痛、出血等症状也有改善作用,很大程度提高了老年患者的生活质量,值得临床推广应用。

韩柯, 向前. 通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2213-2216
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2213.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2213>

0 引言

痔是肛肠科常见多发疾病, 占所有肛肠疾病的40%-50%, 多需手术治疗。由于手术时肛门正常结构受到损伤, 术后患者活动减少, 一定程度上影响肠道蠕动功能, 易导致发生便秘^[1]。老年人随着年龄增长, 大肠肌张力减低, 肠腺分泌减少等多种自身因素影响, 更易发生便秘^[2], 表现为便意少, 次数减少及排便艰难、费力、不畅等。痔术后便秘会引起伤口水肿、疼痛甚至是继发性大出血, 影响伤口正常生长, 老年痔术后便秘还易造成其他并发症或后遗症, 诱发或加重冠心病、心力衰竭、脑梗塞等心脑血管疾病。目前便秘主要应用药物治疗, 本文采用中药通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘患者, 取得良好的效果, 具体报道如下。

■相关报道

中医认为, 便秘是由于脏腑功能紊乱, 脾胃运化失司, 属于“燥秘”、“虚秘”、“气秘”范畴, 为大肠传导功能失常所致。糟粕内停, 或热伤津, 津液不足而不能下润大肠, 致使大肠干结; 或气血两虚, 大肠传导无能。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-05/2013-09河南省南阳市中心医院肛肠科收治的痔术后便秘老年患者78例, 男41例, 女37例, 年龄最大80岁, 最小55岁, 平均年龄(62.4±5.6)岁, 病程1-30年不等, 平均病程19.2年±8.3年, 随机分为观察组(39例)和对照组(39例)。选择标准: (1)55岁以上的男女老年患者; (2)排便时间延长, 3 d以上1次, 粪便干燥坚硬; (3)重者大便艰难, 干燥如粟, 可伴有少腹胀急、神疲乏力, 胃纳减退等。排除标准: (1)混合痔同时合并肛瘘、肛周脓肿、肛裂等其他肛肠疾病患者; (2)伴有严重血液系统、心脑血管及心肝肾等疾病不能耐受手术患者, 身体其他脏器病变引起者如: 尿毒症、糖尿病、甲状腺功能低下等; (3)合并有不明原因腹痛及肠梗阻等用药禁忌。两组在性别、年龄、病程等方面均无显著差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 观察组口服通便胶囊(国药准字: Z19990071, 武汉健民药业集团股份有限公司生产), 3粒/次, 2次/d, 同时服用莫沙必利(国药准字: H20031110, 成都康弘药业集团股份有限公司生产), 5 mg/次, 2次/d; 对照组服用莫沙必利, 5 mg/次, 2次/d, 疗程为10 d, 所有患者术后均常规换药、抗感染及对症治疗, 不服用其他通便药物, 观察和记录患者药物治疗后排便情况, 比较两组临床治疗效果。

1.2.2 疗效判定: (1)痊愈: 患者大便正常, 排便间隔<2 d, 与排便困难相关的临床症状基本消失, 3 mo内无复发; (2)显效: 患者便秘明显改善, 排便顺畅, 与排便困难相关的临床症状消失70%以上; (3)有效: 患者排便略顺畅, 排便间隔2-3 d, 与排便困难相关的临床症状消失减少; (4)无效: 临床症状无改善甚至加重。

统计学处理 研究所得到的相关数据采用SPSS12.0统计学数据处理软件进行处理分析, 各项参数以mean±SD表示, 采用 t 和 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 观察组患者痊愈26例(66.7%), 显效7例(17.9%), 有效4例(10.3%), 无效2例(5.1%), 总有效率94.9%; 对照组痊愈17例(43.6%), 显效4例(10.3%), 有效10例(25.9%), 无效8例(20.5%), 总有效率为79.5%, 两组对比有显著差异, 具有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

表 1 观察组和对照组治疗后效果比较 [n = 39, n(%)]

| 分组 | 痊愈 | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效率(%) |
|----------|----------|--------|---------|--------|---------|
| 观察组 | 26(66.7) | 7/17.9 | 4/10.3 | 2/5.1 | 94.9 |
| 对照组 | 17/43.6 | 4/10.3 | 10/25.6 | 8/20.5 | 79.5 |
| χ^2 | 4.19 | 0.95 | 3.13 | 4.13 | 9.81 |
| P值 | <0.05 | >0.05 | >0.05 | <0.05 | <0.05 |

■应用要点

莫沙必利是促胃肠道动力药, 选择性作用于胆碱能神经节后纤维的5-羟色胺受体, 促进乙酰胆碱的释放, 从而促进消化道平滑肌运动, 恢复或增强肠道推进性运动, 利于大便排出体外。

2.2 不良反应 观察组2例大便不成形, 坚持服用药物治疗后患者的临床症状缓解; 对照组6例腹痛胀, 经过排便灌肠之后缓解。两组的对象均无肝肾功能异常的情况。

3 讨论

便秘是痔疮患者术后常见并发症之一, 临床表现为大便量过少、过硬、排除困难或合并一些特殊症状, 如长时间用力排便, 直肠胀感、排便不尽, 在不使用泻药的情况下, 7 d内自发排空粪便不超过2次或长期无便意, 其发生会使患者感到焦虑不安, 长期便秘会引起老年人食欲不振、失眠多梦、情绪起伏大等^[3,4]。大便干结或用力排便会使部分愈合的伤口裂开导致延期愈合, 加重伤口出血和疼痛, 直接影响手术效果和预后, 降低患者生活质量, 若能及时采取有效合理治疗, 减轻患者身心痛苦, 还能预防种种不良情况的发生。

中医认为, 便秘是由于脏腑功能紊乱, 脾胃运化失司, 属于“燥秘”、“虚秘”、“气秘”范畴, 为大肠传导功能失常所致。糟粕内停, 或热伤津, 津液不足而不能下润大肠, 致使大肠干结; 或气血两虚, 大肠传导无能^[5,6]。痔疮手术后发生便秘主要有几个方面因素: 痔疮术后患者切口疼痛, 患者不敢用力或用力排便切口张力增加, 疼痛加重, 患者有意识地抑制正常排便; 切口疼痛、出血, 患者担心切口感染愈合而产生紧张、焦虑、恐惧等情绪, 引起交感神经兴奋, 减弱胃肠蠕动, 导致食欲不振与便秘; 心理障碍尤其是焦虑可导致盆底肌群紧张, 引起排便时肛门直肠运动异常, 导致便秘; 痔疮手术后患者体力不足、疼痛、出血等, 使患者行动不便或不愿下床活动, 减少肠蠕动导致便秘; 术后排便体位改变不能利用重力和腹内压促进排便; 患者进食量较少, 对肠胃道的刺激相对也降低, 很容易出现结肠反射和肠蠕动减慢的症状, 肠内容物在肠腔内运动缓慢, 水分被过分吸收而使粪便干结, 食物过于精细, 纤维含量少也不能

刺激正常肠蠕动; 患者缺乏疾病的相关知识, 对术后能否排便, 便后对伤口的处理的知识缺乏而不敢排便。

老年人由于膈肌、腹肌、平滑肌等收缩力普遍下降, 结肠和直肠蠕动减弱, 缺乏排便动力, 粪便传输缓慢; 唾液腺、胰腺和胃肠道的消化酶随年龄增长而减少, 导致小肠对营养的吸收, 老年人因脑神经细胞、肠肌间神经丛与黏膜下神经丛减少与变性, 导致排便反射及敏感性降低等多种因素, 更易发生便秘。中医治疗以滋补脾胃、补气生津为主。以调节自身机能为原则, 标本兼治。对于便秘患者来说, 应当避免用单纯的泻药, 久泄必伤脾胃, 应尽量使用润下、缓泻的中药方剂^[7,8]。通便胶囊由白术、肉苁蓉、当归、桑葚、枳实、芦荟组成, 炒白术健脾, 肉苁蓉填精补肾, 润肠, 当归养血活血调肝, 除大肠风燥, 用桑葚滋肝肾、生精血^[9,10]。

莫沙必利是促胃肠道动力药, 选择性作用于胆碱能神经节后纤维的5-羟色胺受体, 促进乙酰胆碱的释放, 从而促进消化道平滑肌运动, 恢复或增强肠道推进性运动, 利于大便排出体外^[11,12]。莫沙必利能缩短结肠转运时间, 降低肛门括约肌抑制松弛阈值和清醒状态下直肠敏感性阈值^[13-15]。

本文采用通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘39例患者, 痊愈率(66.7%)和总有效率(94.9%)均明显优于单纯使用莫沙必利治疗的患者的痊愈率(43.6%)和总有效率(79.5%), 中药可使脾胃气旺, 精血充盈, 大肠濡润, 西药见效快、缓解症状明显, 中西药结合, 发挥各自优势, 疗效确切, 有效减少或防止老年痔术后便秘的发生, 对疼痛、出血等症状也有改善作用, 很大程度提高了老年患者的生活质量, 值得临床推广应用。

4 参考文献

- 1 孙丽英. 120例老年习惯性便秘患者痔术后护理的临床体会. 福建中医药 2010; 41: 59-60
- 2 张小平. 便秘通便胶囊治疗老年性习惯性便秘临床观察. 湖北中医药大学学报 2013; 15: 57

■同行评价

本研究有一定参考价值,但是创新性一般,望后续深入研究.

- 3 潘琼, 张雅丽. 肛肠科良性疾病手术后便秘的护理进展. 护理研究 2013; 27: 2952-2954
- 4 魏巍. 老年性便秘的中医药治疗与预防. 现代医药卫生 2013; 29: 3354-3355
- 5 夏小琴. 莫沙必利治疗198例老年性便秘的临床效果探究. 健康必读(中旬刊) 2013; 12: 279-280
- 6 齐中普. 莫沙必利联合甘露醇对便秘患者行结肠镜检查前肠道的清洁效果. 中国全科医学 2009; 12: 808-809
- 7 张喻. 清肠合剂治疗肛肠疾病术后便秘的临床疗效观察. 中国临床护理 2011; 3: 21-23
- 8 Sim YL, Yusof NS, Ariffin A, Niyaz Khan M. Effects of nonionic micelles on the rate of alkaline hydrolysis of N-(2'-methoxyphenyl)phthalimide (1): kinetic and rheometric evidence for a transition from spherical to rodlike micelles under the typical reaction conditions. *J Colloid Interface Sci* 2011; 360: 182-188 [PMID: 21549387 DOI: 10.1016/j.jcis.2011.04.021]
- 9 Yik YI, Cain TM, Tudball CF, Cook DJ, Southwell BR, Hutson JM. Nuclear transit studies of patients with intractable chronic constipation reveal a subgroup with rapid proximal colonic transit. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 1406-1411 [PMID: 21763843 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.02.049]
- 10 Holzer P. Non-analgesic effects of opioids: management of opioid-induced constipation by peripheral opioid receptor antagonists: prevention or withdrawal? *Curr Pharm Des* 2012; 18: 6010-6020 [PMID: 22747544 DOI: 10.2174/138161212803582388]
- 11 戎艳莉, 王坤, 郭光丽, 梁红. 混合痔术后便秘的中西医结合护理干预. 河北中医 2013; 35: 1078-1079
- 12 田玉霞. 便秘患者108例临床分析. 吉林医学 2012; 33: 2598-2599
- 13 张永祺. 关于老年人便秘中西医结合治疗进展. 中国保健营养 2012; 22: 605-606
- 14 张耕, 张春冬. 活血润燥汤治疗功能性便秘61例疗效观察. 河北中医 2013; 35: 1142-1143
- 15 陈爱霞, 张磊, 李静君. 加味一贯煎治疗结肠慢传输型便秘60例临床观察. 河北中医 2011; 33: 854-855

编辑 郭鹏 电编 都珍珍



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)

幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果

俞惠敏, 诸景辉

俞惠敏, 诸景辉, 余姚市第二人民医院 浙江省余姚市 315400
俞惠敏, 主要从事消化内科方面的研究。

作者贡献分布: 俞惠敏设计实验, 书写论文; 诸景辉收集数据。

通讯作者: 诸景辉, 副主任医师, 315400, 浙江省余姚市梨洲街道学弄49号, 余姚市第二人民医院. zsf16752111@126.com
电话: 18905847818

收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-01

接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-28

Therapeutic and nursing effects of *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer

Hui-Min Yu, Jing-Hui Zhu

Hui-Min Yu, Jing-Hui Zhu, the Second Hospital of Yuyao City, Yuyao 315400, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Jing-Hui Zhu, Associate Chief Physician, the Second Hospital of Yuyao City, 49 Lizhou Street, Yuyao 315400, Zhejiang Province, China. zsf16752111@126.com

Received: 2014-02-24 Revised: 2014-04-01

Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effect of quadruple therapy and comprehensive nursing care for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) positive peptic ulcer.

METHODS: One hundred and ninety-eight patients with *H. pylori* positive peptic ulcer treated at our hospital from March 2012 to December 2013 were randomly divided into two groups: an observation group ($n = 99$) and a control group ($n = 99$). The observation group was treated with the quadruple therapy (citrate bismuth potassium + amoxicillin + clarithromycin + esomeprazole) and given comprehensive nursing care, while the control group received the triple therapy (amoxicillin + clarithromycin + esomeprazole) and routine nursing care. The treatment lasted two weeks. After treatment, endoscopy was performed to observe therapeutic and nursing effects.

RESULTS: In the observation group, 28 (28.3%) patients were cured, 60 (60.1%) had significant response 5 (5.1%) had partial response, 6 (6.1%)

showed no response, and the total response rate was 93.9%, and the corresponding values in the control group were 16 (16.2%), 42 (42.4%), 15 (15.1%), 26 (26.3%) and 73.4%, respectively. The treatment effect was significantly different between the two groups ($P < 0.05$). At the end of treatment, 89 patients in the observation group were *H. pylori* negative, and the rate of *H. pylori* eradication was 89.9%, while in the control group, 62 were *H. pylori* negative, and the rate of *H. pylori* eradication was 62.6%. There was a significant difference between the two groups in the rate of *H. pylori* eradication ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Quadruple therapy combined with comprehensive nursing care can effectively eradicate *H. pylori* and show a good therapeutic effect in the treatment of *H. pylori*-positive peptic ulcer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Peptic ulcer; Comprehensive nursing care

Yu HM, Zhu JH. Therapeutic and nursing effects of *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(15): 2217-2220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2217>

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗及给予综合系统护理的临床疗效。

方法: 收集余姚市第二人民医院2012-03/2013-10收治的198例*H. pylori*阳性消化性溃疡患者, 随机分为两组, 观察组99例, 对照组99例, 观察组采用枸橼酸铋钾+阿莫西林+克拉霉素+埃索美拉唑四联治疗及给予综合系统护理, 疗程为2 wk, 对照组采取阿莫西林+克拉霉素+埃索美拉唑三联治疗及一般常规护理, 治疗结束复查胃镜, 观察两组患者治疗及护理效果。

■背景资料

消化性溃疡主要指发生在胃和十二指肠的慢性溃疡, 多项研究证实幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等胃黏膜相关性疾病有关, 是消化性溃疡发病和复发的主要原因之一。临床中常常采取三联法或者四联法进行治疗, 但是经过内科治疗后多数的患者对病情发展的严重性缺乏认识, 因此治疗中加强针对性的护理是很有必要的。

■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■研究前沿

本研究中重点分析临床中 *H. pylori* 阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗治疗的安全性和临床疗效。同时,在患者的临床治疗过程中加强综合系统法的护理,从而提高患者对疾病的认识,更能够注意治疗中的问题,且采取的治疗方法是比较流行性的治疗方式。

结果: 观察组治疗痊愈28例(28.3%), 显效60例(60.1%), 有效5例(5.1%), 无效6例(6.1%), 总有效率93.9%, 对照组治疗后痊愈16例(16.2%), 显效42例(42.4%), 有效15例(15.1%), 无效26例(26.3%), 总有效率73.4%, 治疗效果有显著差异($P<0.05$); 治疗结束后4 wk观察组 *H. pylori* 阴性89例, *H. pylori* 根除率为89.9%, 对照组 *H. pylori* 阴性62例, *H. pylori* 根除率为(62.6%), 有显著差异, 具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 应用四联疗法治疗配合综合系统的护理 *H. pylori* 患者, 能有效根除 *H. pylori*, 对治疗 *H. pylori* 阳性消化性溃疡患者有良好的治疗效果, 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: 幽门螺杆菌; 消化性溃疡; 综合系统护理

核心提示: 根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是治疗消化性溃疡的关键, 四联疗法治疗 *H. pylori* 阳性消化性溃疡患者, 联合综合系统护理, 临床疗效确切, 且提高治愈率和 *H. pylori* 的消除率, 整体方法科学性强, 值得临床中应用。

俞惠敏, 诸景辉. 幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2217-2220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i15.2217>

0 引言

消化性溃疡主要指发生在胃和十二指肠的慢性溃疡, 是消化系统的一种常见多发病, 我国的发病率为10%-20%, 患者有周期性上腹部疼痛、反酸、嗝气等症状, 易反复发作^[1]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种生活在胃消化道的螺旋状细菌, 多项研究证实 *H. pylori* 感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等胃黏膜相关性疾病有关, 是消化性溃疡发病和复发的主要原因之一^[2-4]。典型的消化性溃疡具有慢性过程、周期性发作、节律性疼痛等特点, 经过内科治疗后腹痛、反酸、嗝气等症状短时间能得到控制, 患者对病情发展的严重性缺乏认识, 无护理干预下容易中断治疗, 病情反复^[5]。本文对我院收治的 *H. pylori* 阳性消化性溃疡患者应用四联疗法并配合综合系统的护理, 获得比较满意的治疗及护理效果, 具体报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2012-03/2013-10收治的 *H.*

pylori 阳性消化性溃疡患者198例, 男146例, 女52例。年龄最大65岁, 最小19岁, 平均年龄为37.6岁 \pm 9.2岁, 病程3 mo-14年不等, 其中十二指肠溃疡109例, 胃溃疡73例, 复合性溃疡16例, 所有患者均经过胃镜诊断为活动期溃疡, 并作¹⁴C尿素呼吸实验检查为 *H. pylori* 阳性。排除标准: 长期、严重、年龄较大患者; 有大出血或穿孔倾向患者; 瘢痕收缩梗阻、有癌变倾向的消化性溃疡患者。随机分为观察组(99例)和对照组(99例), 两组在性别、年龄、溃疡类型等方面均无显著差异, 不具有统计学意义($P>0.05$)(表1)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组: 对患者给予口服阿莫西林500 mg, 克拉霉素250 mg, 埃索美拉唑20 mg, 观察组: 对患者给予口服枸橼酸铋钾120 mg, 阿莫西林500 mg, 埃索美拉唑20 mg, 克拉霉素250 mg, 2次/d, 抗生素服药时间为每天午餐和晚餐后30 min, 埃索美拉唑服药时间为早餐前和睡前, 疗程为2 wk。

1.2.2 综合系统护理: (1)按消化系统疾病一般护理给予常规护理, 急性发作、疼痛或伴有胃肠道出血患者应卧床休息, 病情稳定后可适当活动。饮食以清淡为主, 忌食坚硬、辛辣、生冷、油煎等刺激性食物, 高纤维素饮食存在一种脂溶性保护因子具有防止溃疡复发的作用, 鼓励多食。少吃多餐, 避免饥饿或过饱。患者疼痛发作时可用热水袋敷在胃部, 减轻痉挛、腹痛, 采取转移注意力的方式减轻患者的疼痛感; (2)在临床治疗中, 护士应常与患者接触交谈, 观察其心理变化, 对其说明溃疡病知识及治疗效果, 增强患者对治疗的信心; (3)对患者积极进行卫生宣传教育, 注意家庭内感染, 做好餐具的消毒, 培养规律的生活方式和良好的饮食习惯, 注意保暖, 避免过度劳累、睡眠不足和精神紧张, 忌烟酒。嘱患者禁止使用致溃疡病药物如阿司匹林、咖啡因、非甾体药物等, 以防溃疡出血。指导患者按疗程服药, 坚持治疗, 以达到彻底根治的目的。指导患者正确用药并观察药物药效和不良反应, 不随便停药, 嘱患者停药4 wk后复查, 出血急性发作、疼痛或出现呕血、黑便应立即来院就医。

1.2.3 疗效判定: 复查胃镜检查, 痊愈: 溃疡愈合, 周围炎症消失; 显效: 溃疡愈合, 周围炎症存在; 有效: 为溃疡缩小50%以上; 无效: 溃疡大小无变化。 *H. pylori* 根除标准为药物治疗结束后的4 wk

■相关报道

随着临床中人们对 *H. pylori* 阳性消化性溃疡的不断认识, 传统的治疗中常常采取三联法, 但是不良反应比较多, 而四联法逐渐的得到临床中应用, 并且取得了多数人的认可。本研究也采取比较流行的四联法进行治疗, 并且治疗中加强综合性系统护理, 从而大大提高整体治疗效果。

表 1 观察组和对照组一般资料比较 ($n = 99$)

| 一般资料 | 观察组 | 对照组 | χ^2 | P 值 |
|---------|----------------|-----------------|----------|---------|
| 男/女 | 74/25 | 72/27 | 0.10 | >0.05 |
| 平均年龄(岁) | 38.9 ± 7.5 | 37.1 ± 10.7 | 1.37 | >0.05 |
| 溃疡类型 | | | | |
| 胃溃疡 | 39 | 34 | 0.54 | >0.05 |
| 十二指肠溃疡 | 53 | 56 | 0.18 | >0.05 |
| 复合性溃疡 | 7 | 9 | 0.27 | >0.05 |

表 2 观察组和对照组 *H. pylori* 阳性消化性溃疡患者治疗及护理效果对比 ($n = 99$)

| 分组 | 治愈 | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效率(%) | <i>H. pylori</i> 阴性 | <i>H. pylori</i> 根除率(%) |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------------|-------------------------|
| 观察组 | 28 | 60 | 5 | 6 | 93.9 | 89 | 89.9% |
| 对照组 | 16 | 42 | 15 | 26 | 73.4 | 62 | 62.6% |
| χ^2 值 | 4.27 | 6.56 | 5.56 | 14.91 | 15.37 | 20.3 | 20.58 |
| P 值 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

H. pylori: 幽门螺杆菌.

复查 ^{14}C 尿素呼气试验为阴性.

统计学处理 将所得数据进行SPSS19.0的统计学软件进行数据分析, 计量数据使用 χ^2 进行检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

观察组治疗痊愈28例(28.3%), 显效60例(60.1%), 有效5例(5.1%), 无效6例(6.1%), 总有效率93.9%, 对照组治疗后痊愈16例(16.2%), 显效42例(42.4%), 有效15例(15.1%), 无效26例(26.3%), 总有效率73.4%, 治疗效果有显著差异($P < 0.05$); 治疗结束后4 wk观察组 *H. pylori* 阴性89例, *H. pylori* 根除率为89.9%, 对照组 *H. pylori* 阴性62例, *H. pylori* 根除率为(62.6%), 两组对比差异具有统计学意义(表2).

3 讨论

胃酸过多、*H. pylori* 感染、胃黏膜保护减弱是溃疡产生的主要因素, 其中 *H. pylori* 会产生大量尿素酶, 在胃中生成氨, 改变胃的生理条件, 造成胃泌素和生长抑制的分泌紊乱, 引起胃黏膜炎症, 使胃酸分泌过多, 破坏正常胃黏膜屏障, 诱发胃十二指肠溃疡, 是慢性胃炎、消化性溃疡的主要发病因素之一^[6,7]. *H. pylori* 感染后引起炎症改变, 释放强力炎性介质, 刺激痛觉神经末梢, 引起平滑肌不规则收缩, 引起腹痛、嗝气等症状, 因此, 抗 *H. pylori* 感染治疗消化性溃疡的重要方面. 克拉霉素具有抗菌谱广的特点, 能抑制细菌合成和复制, 秘

剂可在 *H. pylori* 菌体中沉积, 在细胞质内引发气泡样变, 阿莫西林具有增加胃及十二指肠黏膜血流, 保护黏膜的左右, 从而促进溃疡愈合, 有效根除 *H. pylori* 感染, 消除胃黏膜炎症和降低溃疡复发率^[8-10]. 本次的临床研究也显示, 观察组总有效率93.9%, 明显的高于对照组的73.4%, 治疗效果有显著差异($P < 0.05$); 同时, 观察组治疗结束后4周 *H. pylori* 根除率为89.9%, 明显的高于对照组的62.6%. 进一步分析这种治疗方法的优越性.

在传统药物治疗的同时, 临床上还要加强患者期间的护理工作, 消化性溃疡是典型的心神疾病之一, 保持乐观、平和、积极的心态, 有利于消化性溃疡的治疗^[11]. 护理人员给患者及家属讲解疼痛原因, 使患者了解消化性溃疡的知识, 减少诱因, 避免食用刺激性食物, 戒烟戒酒, 引导患者以良好的心态应对疾病, 对治疗建立信心^[12]; 同时护理人员指导患者按时服药, 养成良好的生活习惯, 遵医嘱正确用药, 观察效果和和不良反应, 提高依从性^[13-15].

根除 *H. pylori* 感染是治疗消化性溃疡的关键, 除了药物的耐药性外, 患者对治疗的依从性也很重要, 本文应用四联疗法治疗 *H. pylori* 阳性消化性溃疡患者, 联合综合系统护理, 取得了较好的临床疗效, 提高 *H. pylori* 消化性溃疡的治愈率和 *H. pylori* 的消除率, 值得临床应用推广.

4 参考文献

- 杨伶俐, 徐帆, 李全秀. 幽门螺旋杆菌所致消化性溃疡

■创新盘点

本研究中进一步阐述 *H. pylori* 阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗的安全性和疗效性, 从 *H. pylori* 根除率方面进行分析, 指标观察具有针对性. 同时, 在整个治疗的过程中引入综合系统护理, 提高了患者对疾病的认识, 从而大大的配合临床治疗, 提高有效率.

■应用要点

本研究从临床实际问题处理, 对目前 *H. pylori* 阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗中的问题进行分析, 从而合理的引入综合系统护理, 使得相关的问题能够得到及时的解决, 并且进一步的提高患者的认识. 这种治疗过程中, 加强针对性的护理干预方法可行, 且得到患者的认可.

■同行评价

本研究以临床中最新的研究成果进行分析,重点观察*H. pylori*阳性消化性溃疡采用四联疗法的安全性,并且整个治疗中采取综合性护理,想法独特,且具有明显的临床应用价值。同时,整体的统计学方法正确,具有一定的意义。

- 2 治疗研究进展. 中国医药导报 2009; 6: 7-8
- 3 王文静. 76例幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗和护理. 中国当代医药 2013; 20: 186-187
- 4 齐越, 秦杰, 邱坤鹏, 柳迪, 陈楠, 蔡林. Orem自护理论在消化性溃疡患者自我护理能力及疗效中的应用效果观察. 中华现代护理杂志 2013; 19: 2900-2902
- 5 阮华娟, 陈凌云, 许湛珠. 个性化护理干预对消化性溃疡合并HP感染患者遵医行为的影响. 齐鲁护理杂志 2011; 17: 57-59
- 6 张亚洁, 白传军. 68例幽门螺杆菌阳性消化性溃疡诊疗分析. 大家健康 2013; 7: 121-122
- 7 王芳婷, 杨小丽, 王萍, 郭百叶. 细节护理在消化性溃疡患者的应用效果. 国际护理学杂志 2013; 32: 2495-2497
- 8 龙春华. 治疗幽门螺旋杆菌感染有效预防消化性溃疡复发的临床研究. 吉林医学 2012; 33: 953-954
- 9 戴巧君, 舒小莉. 影响幽门螺杆菌阳性消化性溃疡患者病原菌根除效果的相关因素分析. 中国现代医生 2013; 51: 9-11
- 10 Koizumi W, Tanabe S, Nakatani K, Ishido K, Nishimura K, Azuma M, Ae T, Sasaki T, Higuchi K, Katada C, Nakayama N, Saigenji K. Quadruple therapy with ecabet sodium, omeprazole, amoxicillin and metronidazole is effective for eradication of *Helicobacter pylori* after failure of first-line therapy (KDOG0201 Study). *J Clin Pharm Ther* 2010; 35: 303-307 [PMID: 20831531 DOI: 10.1111/j.1365-2710.2009.01092.x]
- 11 Shiotani A, Nishi R, Yamanaka Y, Murao T, Matsumoto H, Tarumi K, Kamada T, Sakakibara T, Haruma K. Renin-angiotensin system associated with risk of upper GI mucosal injury induced by low dose aspirin: renin angiotensin system genes' polymorphism. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 465-471 [PMID: 20824505 DOI: 10.1007/s10620-010-1382-3]
- 12 Sardarian H, Fakheri H, Hosseini V, Taghvaei T, Maleki I, Mokhtare M. Comparison of hybrid and sequential therapies for *Helicobacter pylori* eradication in Iran: a prospective randomized trial. *Helicobacter* 2013; 18: 129-134 [PMID: 23121338 DOI: 10.1111/hel.12017]
- 13 林根友, 肖兆群, 陆维宏. 中西医结合补救治疗幽门螺杆菌感染的临床研究. 中国现代医生 2013; 51: 93-96
- 14 由丽娜, 高璇, 热依汗古丽·乌修尔, 黄伍奎, 宋国宏. 中西医结合治疗脾胃湿热型幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的临床观察. 中国全科医学 2012; 15: 1891-1892
- 15 马成芳, 金巧馨. 护理干预辅助治疗消化性溃疡临床分析. 护士进修杂志 2013; 28: 279-280
- 16 李见好. 幽门螺旋杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果观察. 全科护理 2013; 11: 2137-2138

编辑 郭鹏 电编 都珍珍



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*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学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *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 2012年版)》, 《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 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《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。明确的内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之

首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 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!

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

崔清波 副主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

侯风刚 副主任医师
上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

胡国信 副教授
南昌大学第一附属医院传染科

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

李苏宜 教授
东南大学附属中大医院肿瘤科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘克辛 教授
大连医科大学临床药理学教研室

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马大烈 教授
长海医院病理科

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

吴军 研究员
军事医学科学院生物工程研究所

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

许玲 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授
市立医院肝病内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

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

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院

张小晋 主任医师
北京积水潭医院

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

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





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



ISSN 1009-3079

