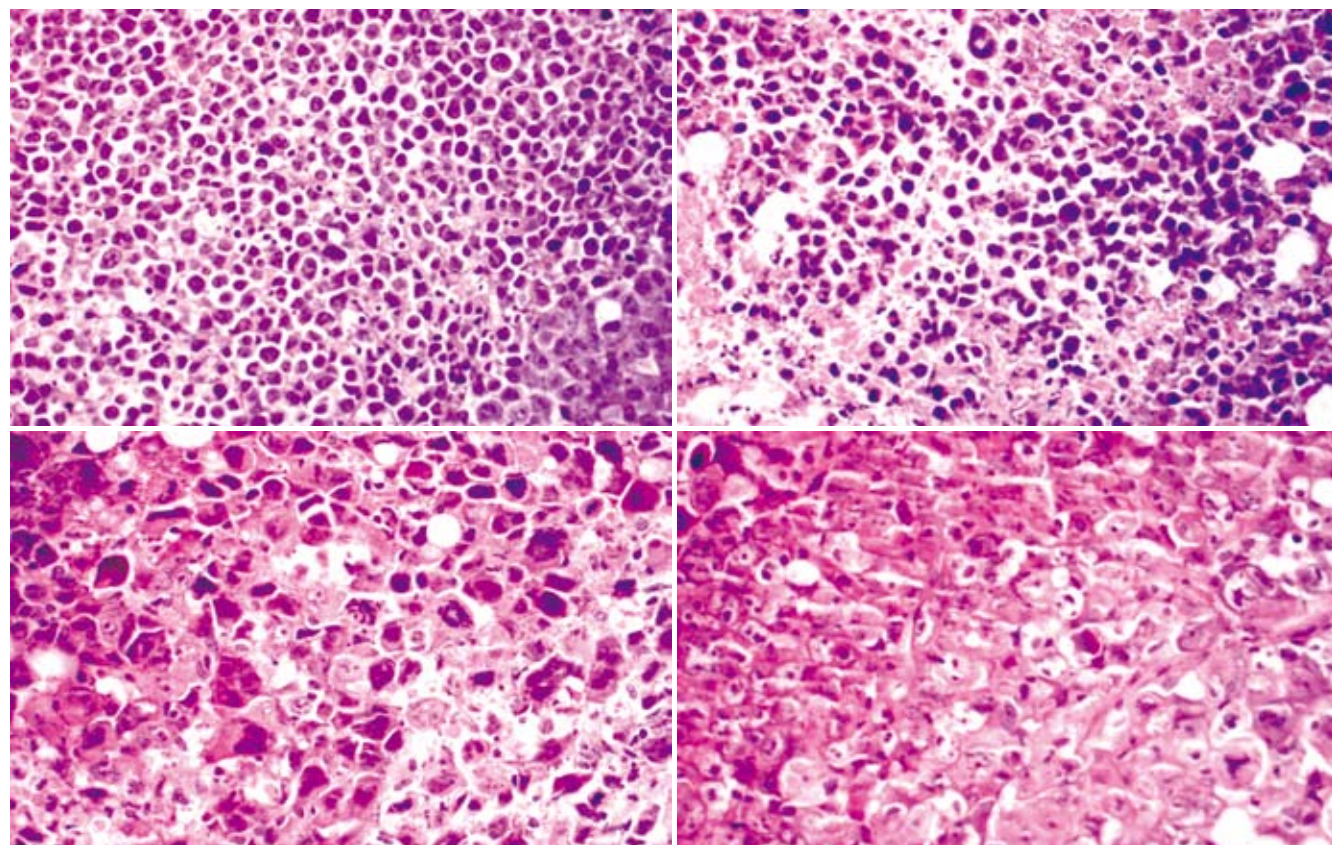


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2010 年 1 月 18 日 第 18 卷 第 2 期 (Volume 18 Number 2)



2 / 2010

ISSN 1009 3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《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》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思风教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

程英升教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和教授
王小众教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
苒新明教授
陈洪副教授

陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌副教授
迟宝荣教授
崔立红副教授
邓长生教授
丁士刚主任医师
董蕾教授
杜雅菊主任医师
樊晓明主任医师
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
郭晓钟教授
何松教授
洪天配教授
胡伏莲教授
胡和平主任医师
黄晓东副主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足主任医师
姜春萌教授
姜慧卿教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李祖国副教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授
马欣主任医师

倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉副教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈守荣教授
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
宋于刚教授
唐世刚教授
田宇彬教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党副教授
王晓艳副教授
闻勤生教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
许乐主任医师
杨建民教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
张春清教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张晓岚教授
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
周国雄主任医师
周晓东副教授
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学

蔡开琳副教授
蔡三军主任医师

曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈力教授
陈立波副教授
陈凜教授
陈强谱教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
仇毓东副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰副主任医师
丁义涛教授
董明教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何裕隆教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗副教授

李旭副教授
李永翔主任医师
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
卢实春教授
陆才德教授
禄韶英副主任医师
吕明德教授
吕云福教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民副主任医师
邱宝安主任医师
邱双健副教授
邱伟华副主任医师
裘正军教授
沈柏用副教授
沈世强教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邵升副教授
汤恢焕教授
田晓峰教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王广义教授
王健生教授
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王要军教授
王悦华副主任医师

王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴河水教授
吴健雄教授
吴金术教授
吴泰璜教授
吴志勇教授
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师
徐迅迪副主任医师
徐泱副主任医师
许戈良教授
严律南教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
杨秋蒙副主任医师
杨维良教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
郁宝铭教授
元云飞教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张群华教授
张水军教授
张宗明教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈志辉副主任医师
党双锁教授
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
高润平教授

高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
何生松教授
胡国信副主任医师
林菊生教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
唐霓副研究员
唐晓鹏教授
王凯教授
王怡主任医师
魏来教授
吴建国教授
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副主任医师
杨林副研究员
姚鹏副教授
张继明教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵连三教授
周霞秋教授
朱传武主任医师
庄林主任医师

消化中医学

蔡淦教授
陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘孟安教授
刘平教授
刘绍能主任医师

沈洪教授
唐志鹏研究员
王富春教授
王新月教授
谢鸣教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈公琰主任医师
李璠教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
沈克平主任医师
肖文华主任医师
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
陈克敏教授
官泳松教授
韩新巍教授
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
徐爱民副教授
徐克教授
杨业发教授
杨建勇教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
孙明军教授
万军教授
吴硕东教授
袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
樊红副教授
高春芳研究员
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
胡旭初副教授
黄园教授
黄文林教授
李刚教授
李杰副教授
李永哲副研究员
李增山副教授
刘克辛教授
梅林教授
钱睿哲教授
任超世研究员
任浩副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田文静副教授
田颖刚副研究员
汪思应教授
吴军研究员
吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周南进研究员
周士胜教授
周素芳教授
周晓东研究员

周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
李淳副教授
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
马大烈教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
魏蕾教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2010年1月18日 第18卷 第2期 (总第298期)

述 评

107 炎症性肠病的生物治疗

王露, 白爱平

基 础 研 究

113 QHF复方联合小剂量顺铂对小鼠H₂₂肝癌血管生成的抑制作用

陈涛, 付亚玲, 巩仔鹏, 邓李蓉, 胡月琴

119 细胞周期依赖性蛋白激酶对体外培养人肝癌细胞侵袭力的影响

王开阳, 熊爱珍, 蒋星星, 李龙, 李慧珍, 傅华群

125 DEN诱导大鼠肝癌形成中miR-199a的表达机制及健脾解毒法的干预作用

张斌, 李琦, 殷佩浩, 赵成根, 李先茜, 高虹, 孙珏, 范忠泽

132 尼卡地平对胰腺癌Patu8988株培美曲塞耐药的逆转作用

杨军, 石欣, 严伟, 林士波, 顾海涛, 钱程佳

临 床 研 究

137 EIF-5A2在肝细胞癌中的表达及其与VEGF、MVD的关系

赖旭东, 陈晓辉, 许贺标, 刘玉荣, 马宁芳

143 血小板衍化内皮细胞生长因子在胰腺癌组织中的表达及其临床意义

唐光华, 倪润洲, 肖明兵, 江枫, 陈健华, 黄华

文 献 综 述

149 瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中的研究进展

袁聪, 郑城婷, 许保, 杨丽

155 Glypican-3与原发性肝癌关系研究进展

罗飞兵, 张焜和

160 克罗恩病的糖、脂类和蛋白质代谢异常

吴涛, 季光

研 究 快 报

169 舒肝颗粒对大鼠肝星状细胞增殖及胶原分泌的影响

李志, 漆红, 李昌平

173 MicroRNA在人结肠癌干细胞中的表达谱

邹健, 于晓峰, 虞阳, 张颖, 史冬梅, 董洁, 李天奇, 刘雪静

临 床 经 验

179 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗

朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平

184 MSCT多期增强扫描诊断肝门区胆管癌15例

张天柱, 杨文魁

189 异甘草酸镁对肝切除术后保肝作用

张宪祥, 张炳远, 吴力群, 孙传东

195 胰腺双部位实性假乳头肿瘤1例

程东峰, 沈柏用, 韩宝三, 祝哲诚, 邓侠兴, 彭承宏

199 腹膜疾病诊断42例

岳宏宇, 刘文天, 邓宝茹, 常毅湘, 方维丽

病例报告	204 巨细胞病毒感染导致非免疫抑制宿主胃溃疡1例 王志斌, 胡立明, 韩海啸
附录	206 《世界华人消化杂志》投稿须知 211 2010年国内国际会议预告
志 谢	212 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	118 《世界华人消化杂志》正文要求 124 《世界华人消化杂志》按时完成2009年度出版任务 131 《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》影响因子0.729 136 《世界华人消化杂志》栏目设置 142 《世界华人消化杂志》计量单位标准 148 2008年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序 154 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》 159 <i>WJG</i> 成功通过评审被PMC收录 168 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 172 汤姆森-路透公布2008年 <i>WJG</i> 影响因子2.081 178 《世界华人消化杂志》参考文献要求 183 《世界华人消化杂志》修回稿须知 188 《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布《世界华人消化杂志》2008年影响因子0.547 194 《世界华人消化杂志》出版流程 203 《世界华人消化杂志》外文字符标准
封面故事	陈涛, 付亚玲, 巩仔鹏, 邓李蓉, 胡月琴. QHF复方联合小剂量顺铂对小鼠H ₂₂ 肝癌血管生成的抑制作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 113-118 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/113.asp
本期责任人	编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮, 李瑞敏; 组版编辑 何基才; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李瑞敏; 审核编辑 李军亮; 形式规范 马连生

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名</p> <p>(旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2010-01-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>出版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>印刷 北京科信印刷厂</p> <p>发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p>订购 全国各地邮电局</p> <p>邮购 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p>	<p>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》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>2010年版版权归世界华人消化杂志所有</p>
中国标准连续出版物号 ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R	邮发代号 82-262 国外代号 M 4481	国内定价 每册56.00元 全年2016.00元 广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

January 2010 Contents in Brief Volume 18 Number 2

EDITORIAL	107 Biological therapies for inflammatory bowel disease <i>Wang L, Bai AP</i>
BASIC RESEARCH	<p>113 QHF formula in combination with low-dose cisplatin inhibits angiogenesis in H₂₂ hepatocellular carcinoma in mice <i>Chen T, Fu YL, Gong ZP, Deng LR, Hu YQ</i></p> <p>119 Cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine suppresses the invasion of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells <i>in vitro</i> <i>Wang KY, Xiong AZ, Jiang XX, Li L, Li HZ, Fu HQ</i></p> <p>125 Involvement of miR-199a downregulation in the preventive effects of Jianpi Jiedu Recipe against experimental hepatocarcinoma in rats <i>Zhang B, Li Q, Yin PH, Zhao CG, Li XQ, Gao H, Sun J, Fan ZZ</i></p> <p>132 Nicardipine reverses the resistance of human pancreatic carcinoma Patu8988 cell line to pemetrexed <i>Yang J, Shi X, Yan W, Lin SB, Gu HT, Qian CJ</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>137 Correlations of EIF-5A2 protein expression with VEGF expression and microvessel density in hepatocellular carcinoma <i>Lai XD, Chen XH, Xu HB, Liu YR, Ma NF</i></p> <p>143 Clinical significance of PD-ECGF expression in human pancreatic carcinoma <i>Tang GH, Ni RZ, Xiao MB, Jiang F, Chen JH, Huang H</i></p>
REVIEW	<p>149 Advances in understanding the role of leptin, adiponectin and resistin in liver fibrogenesis <i>Yuan C, Zheng CT, Xu B, Yang L</i></p> <p>155 Advances in the relationship between glypican-3 and primary hepatic carcinoma <i>Luo FB, Zhang KH</i></p> <p>160 Abnormal glucose, lipid and protein metabolism in patients with Crohn's disease <i>Wu T, Ji G</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>169 Shugan Granule inhibits hepatic stellate cell proliferation and collagen production <i>Li Z, Qi H, Li CP</i></p> <p>173 Expression profile of microRNAs in human colon cancer stem cells <i>Zou J, Yu XF, Yu Y, Zhang Y, Shi DM, Dong J, Li TQ, Liu XJ</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>179 Pathological analysis, endoscopic therapy and follow-up observation of common gastric polyps in aged people <i>Zhu M, Tang J, Yang CM, Cao CP</i></p> <p>184 Diagnosis of dynamic contrast-enhanced MSCT for hilar cholangiocarcinoma: an analysis of 15 cases <i>Zhang TZ, Yang WK</i></p> <p>189 Protective effects of magnesium isoglycyrrhizinate on liver function in patients after liver resection <i>Zhang XX, Zhang BY, Wu LQ, Sun CD</i></p>

	195 Bifocal solid pseudopapillary tumor of the pancreas: a report of one case <i>Cheng DF, Shen BY, Han BS, Zhu ZC, Deng XX, Peng CH</i>
	199 Diagnosis of patients with peritoneal diseases: an analysis of 42 cases <i>Yue HY, Liu WT, Deng BR, Chang YX, Fang WL</i>
CASE REPORT	204 Cytomegalovirus-associated gastric ulcer in a non-immunosuppressed host <i>Wang ZB, Hu LM, Han HX</i>
APPENDIX	206 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 211 Meeting events calendar in 2010
ACKNOWLEDGMENT	212 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<i>Chen T, Fu YL, Gong ZP, Deng LR, Hu YQ.</i> QHF formula in combination with low-dose cisplatin inhibits angiogenesis in H ₂₂ hepatocellular carcinoma in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(2): 113-118 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/113.asp
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Rui-Min Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Rui-Min Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date January 18, 2010

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology
of Shanxi Province

SPONSOR

Taiyuan Research and Treatment Center
for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie,
Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

OVERSEAS DISTRIBUTOR

Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue
RMB 2016 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2010 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2010 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

炎症性肠病的生物治疗

王 雳, 白爱平

王雳, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006
白爱平, 副主任医师, 副教授, 研究方向为肠黏膜免疫调节及机制.
国家自然科学基金资助项目, No. 30860108
江西省自然科学基金资助项目, No. 2007GZY1168
江西省青年科学家培养对象计划基金资助项目
作者贡献分布: 本文综述由王雳和白爱平共同完成, 白爱平审校.
通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院消化内科. baiap@163.com
收稿日期: 2009-11-15 修回日期: 2009-12-12
接受日期: 2009-12-14 在线出版日期: 2010-01-18

Biological therapies for inflammatory bowel disease

Li Wang, Ai-Ping Bai

Li Wang, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30860108; the Natural Science Foundation of Jiangxi, China, No. 2007GZY1168; and the Young Scientist Cultivation Program of Jiangxi
Correspondence to: Associate professor Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com
Received: 2009-11-15 Revised: 2009-12-12
Accepted: 2009-12-14 Published online: 2010-01-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including Crohn's disease and ulcerative colitis, represents a heterogenic group of chronic diseases with a high morbidity and poor prognosis. The etiology of IBD is still unknown, and the pathogenesis of IBD has not been fully clarified. Consequently, the clinical outcome of IBD is unsatisfying. Fortunately, a variety of new biological therapies have being developed in recent years. These therapies are shown to be helpful in inducing remission, preventing complications, improving life quality of the patients, and reducing hospitalization rates and surgical rates. This article will review these new biological agents clinically used for IBD patients.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Biological therapy; Clinical application

Wang L, Bai AP. Biological therapies for inflammatory

bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(2): 107-112

摘要

炎症性肠病是一种慢性炎症性疾病, 主要包括克罗恩病和溃疡性结肠炎, 其发病原因不清楚, 发病机制目前尚未完全阐明, 临床治疗效果欠佳. 传统的治疗在于诱导病情缓解和维持治疗, 近年来炎症性肠病的治疗方案在传统方案的基础上, 增加了预防与疾病本身或治疗有关的并发症、改善患者的生活质量、减少住院率及外科手术率等目的. 随着生物制剂的不断出现, 此目标正在逐步实现. 本文对近年来新的生物制剂在炎症性肠病的临床应用进行评述.

关键词: 炎症性肠病; 生物治疗; 临床应用

王雳, 白爱平. 炎症性肠病的生物治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 107-112
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/107.asp>

0 引言

一般认为炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)是遗传易感者在一定的环境因素影响下肠黏膜免疫功能紊乱所造成的慢性肠道炎症. 传统的治疗包括类皮质激素、氨基水杨酸、免疫抑制剂等, 但临床治疗效果欠佳. 近年来, 随着IBD发病机制的基础及临床研究不断深入, 人们发现某些炎症细胞因子等因素可能在IBD发病机制中发挥重要作用. 研究发现, 阻断这些参与IBD发病的重要因素, 能明显抑制肠黏膜免疫反应, 缓解IBD及实验性结肠炎的病情, 有可能达到彻底治疗IBD的效果. 随着生物工程的迅猛发展, 不断出现许多新型生物制剂并应用于临床, 这些生物制剂显示出良好的IBD临床治疗效果. 本文就IBD生物治疗方面的进展作一述评.

1 抗炎细胞因子抗体制剂

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是一

■背景资料

一般认为炎症性肠病(IBD)是遗传易感者在一定的环境因素影响下肠黏膜免疫功能紊乱所造成的慢性肠道炎症. 其治疗目标是尽可能长时间的维持临床缓解, 维持胃肠道的生理功能、减少并发症、提高生活质量、减少住院率和外科手术率. 传统的治疗包括类皮质激素、氨基水杨酸、免疫抑制剂等, 但临床治疗效果欠佳. 近年来, 不断出现的新生物制剂具有疗效和安全性等方面的优势, 为IBD临床治疗提供了新的药物和治疗方案的选择.

■同行评议者

夏冰, 教授, 武汉大学中南医院消化内科

■研发前沿

IBD主要包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,其发病机制尚未阐明,随着在IBD免疫学和遗传学发病机制的深入研究和新型生物制剂的出现,让IBD的生物治疗研究成为热点。

种能够诱导细胞繁殖和分化的促炎症细胞因子,与IBD发病关系非常密切^[1],并且IBD患者病情与炎症肠黏膜中TNF的表达水平相关,而抑制TNF的表达能明显缓解IBD病情^[2]。目前用于治疗IBD的抗TNF制剂主要有3种:英夫利昔(infliximab)、阿达木(adalimumab, D2E7)和聚乙二醇化西他利珠(certolizumab, CDP-870),目前尚未有关以上3种抗TNF药物疗效的对比研究报告,他们在治疗方面(尤其是在克罗恩病维持缓解方面)都有疗效。

1.1 infliximab infliximab是一种由基因工程生产的人-鼠嵌合体IgG1单克隆抗体,其分子含75%人序列和25%鼠序列,是被正式批准用于治疗IBD的首个生物制剂。infliximab的作用机制是与可溶性和跨膜的TNF相结合,抑制表达TNF细胞的功能,并通过Fc段介导T细胞的补体结合作用诱导细胞凋亡,产生抗体依赖的细胞毒作用^[3]。infliximab的短期疗效已经被证实,同时研究也显示infliximab长期治疗克罗恩病时具有很好的临床效果^[4,5],而且infliximab能有效地改善临床症状、促进内镜下黏膜修复、愈合窦道、改善患者生活质量、降低住院率及外科手术率^[6,7]。目前infliximab已被应用于治疗儿童克罗恩病,与其他常规药物相比,具有有效促进儿童患者恢复体质量和生长,改善儿童骨骼结构等优点^[8-10]。此外,一项关于活动性溃疡性结肠炎实验研究表明,对于中重度溃疡性结肠炎静脉内给予infliximab后能有效诱导缓解、修复受损黏膜组织、减少糖皮质激素的用量^[11]以及降低外科切除结肠手术的几率^[12]。根据美国FDA关于infliximab的报告,infliximab的适应证包括:难治性的克罗恩病、激素依赖性的克罗恩病、急性中重度的克罗恩病、慢性难治性的溃疡性结肠炎、IBD并发其他系统性疾病(如强直性脊柱炎、坏疽性脓皮病、慢性葡萄膜炎等)等^[13]。不良反应主要包括:产生抗infliximab抗体^[14]、输液反应^[15]、药物性红斑狼疮^[16]等。禁忌证包括:已知道其有过敏的患者、IBD患者合并有活动性感染(尤其是结核感染)^[17]、神经脱髓鞘病^[18]、III/IV级充血性心衰^[19]、淋巴瘤及其他恶性肿瘤^[20]等。目前使用infliximab的治疗方案^[21]:在治疗的第1、2、6周予5 mg/kg体质量静脉滴注治疗以诱导缓解;以后每隔8 wk予以相同计量以维持缓解。对于infliximab治疗有效而后又失效的患者可将剂量增加1倍或缩短给药间隔时间(一般为4-7 wk);如果开始2个剂量治疗仍然无

明显疗效的不应再给予infliximab治疗。

1.2 adalimumab 与infliximab不同,adalimumab是由基因工程制造的一种完全人源化的IgG1类单克隆抗TNF抗体。其作用机制和infliximab相同,与可溶性及膜表面的TNF结合,并活化补体和发挥抗体介导补体依赖性的细胞毒作用。有关adalimumab的临床研究报道很多,包括当其他抗TNF药物(如infliximab)失效或无效时adalimumab作为替代药品的临床效果^[22]、其剂量大小与疗效和安全性^[23,24]、以及给药时间等方面的研究^[25]。目前已获得美国FDA批准应用于临床,其临床适应证包括:克罗恩病以及克罗恩病合并类风湿性关节炎、银屑病关节炎的治疗。禁忌证包括:活动性感染(如肺结核感染)、神经系统疾病、淋巴瘤等。不良反应包括:局部注射部位的反应、重度感染、神经功能的损害以及淋巴系统的影响(如淋巴瘤等)^[23]。其主要给药方式为皮下注射,40 mg每2 wk 1次。

1.3 certolizumab certolizumab是一种完全人源化的抗TNF单克隆小抗体Fab片段,并且Fab片段与聚乙二醇分子连接,以延长其生物半衰期。与前2种作用机制不同,虽然certolizumab也是结合可溶性及跨膜性TNF,但是他不能促使补体活化,不能引起抗体介导的细胞毒性活化效应,以及不能介导T细胞凋亡。目前已获得美国FDA批准应用于临床,其临床适应证包括:中至严重克罗恩病患者。不良反应包括:注射部位的局部反应、上呼吸道感染、泌尿系统感染以及关节疼痛^[26]。其用药方式是皮下注射,400 mg每4 wk给药1次,用药方便。

2 抗白细胞黏附分子制剂

2.1 natalizumab natalizumab(那他利珠)是一种基因工程制造的IgG4人-鼠嵌合性的抗整合素 $\alpha 4$ 单克隆抗体,是在人IgG4抗体的基础上加入鼠抗整合素 $\alpha 4$ 的单克隆抗体的补体决定簇而形成的^[27]。natalizumab的作用机制是通过抑制、阻断整合素 $\alpha 4$ 信号来阻止炎症细胞从血液中迁移到炎症部位,并且该药物能选择性阻断迁移的炎症细胞。研究显示患者在服用natalizumab 1 wk后,其能够阻止淋巴细胞、单核细胞、嗜碱性细胞等进入到炎症部位,但不能阻止嗜中性细胞的迁移^[49]。目前已获得美国FDA批准应用于临床,其临床适应证包括:顽固性中重度的克罗恩病。主要的不良反应包括:进行性多灶性白质脑病、严重肝损害、呼吸道感染、关节痛、

头痛、输液反应等^[28,29]。目前III期临床研究natlizumab用药方式是静脉内注射, 300 mg每4 wk 1次。

2.2 vedolizumab vedolizumab(MLN-02, LDP-02)是一种抗整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的IgG1人-鼠嵌合性单克隆抗体, 他是通过把鼠抗整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的单克隆抗体的补体决定簇区加到人IgG1抗体骨架中制成的。vedolizumab通过阻断整合素 $\alpha 4\beta 7$ 来发挥作用。目前该药物临床前期研究适应证包括: 溃疡性结肠炎和克罗恩病。但少数患者使用该药物后效果欠佳, 进一步的临床研究中发现这类患者体内存在有抗vedolizumab的抗体^[30]。

3 Th1细胞极化抑制剂

3.1 ustekinumab ustekinumab是一种人源性抗IL-12/IL-23 P40亚单位单克隆IgG1抗体。现已明确IL-12/IL-23等细胞因子与克罗恩病的发病机制有关, IL-12由P40和P35 2个亚单位组成, 能诱导幼稚的CD4⁺T细胞向Th1细胞分化及调节IFN- γ 表达。IL-23由P40和P19 2个亚单位组成, 诱导幼稚的CD4⁺T细胞分化为Th17细胞及调节IL-17A、IL-17F等细胞因子表达^[31,32]。其临床前期研究适应证包括: 治疗中重度克罗恩病, 尤其是之前曾经给予过infliximab治疗的患者。不良反应包括: 呼吸道感染、恶性肿瘤、心血管疾病、注射部位的局部反应、头痛、关节痛等^[33]。其给药方式有静脉内与皮下给药两种, 二者的治疗效果无明显差异。

3.2 fontolizumab fontolizumab是一种人源性IgG1单克隆抗IFN- γ 抗体, IFN- γ 由Th1细胞分泌, 他能增强Th1介导的免疫反应性, 同时抑制Th2细胞的增殖。fontolizumab通过抗IFN- γ 来发挥作用。其临床前期研究适应证包括: 中重度克罗恩病。在临床研究中发现fontolizumab的治疗效果与剂量有关^[34]。一般其耐受性较好, 较高剂量时其不良反应包括: 恶心、畏寒、乏力、类感冒症状等。

4 抗IL-6受体抗体制剂

tocilizumab是一种针对IL-6受体的人源性单克隆抗体。IL-6受体主要在T细胞和巨噬细胞表达。tocilizumab的作用机制是阻断IL-6与其受体结合来发挥作用。其临床前期研究适应证为克罗恩病。但该药仍需要大量的实验来评估在治疗IBD方面的疗效。其不良反应主要是: 口腔炎、鼻咽炎、胆固醇升高、肝功能损害等。目前在II期临床研究中其给药方式为静脉内注射^[35]。

5 重组人细胞因子

重组人细胞因子主要有IL-10、IL-11等。重组人IL-10能诱导调节性T细胞的分化, 抑制肠黏膜免疫反应。重组人IL-11可通过抑制TNF- α 、IL-1等促炎性细胞因子的产生而抑制炎症反应, 同时他还具有肠黏膜保护性。二者临床前期研究适应证包括: 克罗恩病和溃疡性结肠炎。不良反应包括: 头痛、发热、贫血、血小板减少、全身不适等。在临床研究中重组人IL-10给药方式是: 经肠道局部给药、静脉内注射、皮下注射, 其中以肠道局部给药为主, 5-8 $\mu\text{g/kg}$ 体质量^[36]。重组人IL-11给药方式是: 皮下注射, 15 $\mu\text{g/kg}$ 体质量^[37]。

6 抗T细胞制剂

6.1 人源性抗CD3单克隆抗体 visilizumab (HuM291)是一种无FcR片段的人源性抗CD3单克隆抗体。他针对CD3来发挥作用, 可选择性诱导活化的T细胞凋亡。在临床前期研究中其适应证包括: 难治的溃疡性结肠炎和克罗恩病。其不良反应包括: 疲乏、恶心、呕吐、发热、寒战和脱水以及一过性T细胞减少等。给药方式是: 静脉内注射10 $\mu\text{g/kg}$ 体质量^[38]。

6.2 T细胞活化抑制剂 Dh5D12是针对CD40配体制剂的人源性单克隆抗体。CD40配体存在于活化的T细胞表面, 该制剂通过阻断CD40配体来抑制T细胞功能。目前临床前期研究适应证包括: 中重度克罗恩病^[39]。其不良反应包括: 头痛、关节痛和肌肉疼痛等。

7 生长因子

7.1 粒细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage-colony stimulating factor, GM-CSF) GM-CSF是一种造血生长因子, 他通过刺激肠道内在的自然免疫系统来治疗疾病。目前临床前期研究适应证包括: 中重度克罗恩病^[40,41]。其不良反应包括: 注射部位的局部反应以及骨关节痛。其给药方式为皮下注射, 6 $\mu\text{g/kg}$ 体质量。

7.2 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF) EGF能促进细胞生长、增殖和分化, 是强效细胞保护因子, 主要临床前期适应证包括: 轻中度溃疡性结肠炎^[42,43]。其不良反应尚不清楚, 但有研究表明表皮生长因子有促进结肠癌发病的倾向^[44]。其给药方式为局部灌肠给药。

8 小分子化合物制剂

小分子化合物制剂已广泛应用于治疗IBD。如活性细胞分裂蛋白激酶抑制剂(semapimod和

■相关报道

根据美国FDA关于infliximab的报道, infliximab的适应证包括: 难治性的克罗恩病、激素依赖性的克罗恩病、急性中重度的克罗恩病、慢性难治性的溃疡性结肠炎、IBD并发其他系统性疾病(如强直性脊柱炎、坏疽性脓皮病、慢性葡萄膜炎等)等。不良反应主要包括: 产生抗infliximab抗体、输液反应、药物性红斑狼疮等。

■应用要点

本文提示,目前出现的生物制剂在IBD的治疗和安全性方面有优势,但同时他们存在一定的不良反应,临床应用时需要根据IBD患者病情选择最佳个体化治疗方案。

doramapimod)主要抑制TNF的产生,在临床前期研究中的适应证:克罗恩病^[45,46]。RDP58主要抑制包括TNF在内的促炎性因子的产生,其在临床前期研究中的适应证:溃疡性结肠炎^[47]。罗格列酮以前是用于治疗糖尿病的药物,其在临床前期研究的适应证:轻中度溃疡性结肠炎^[48]。CCX282(Traficet-EN)主要抑制T细胞迁移到肠内,其用于临床研究中适应证为克罗恩病^[49]。

9 干细胞移植

干细胞是具有高度分化潜能的细胞,可在不同条件下分化为各种子代细胞。移植后的干细胞能参与炎症性肠黏膜修复过程,代替肠黏膜受损的细胞成分(如上皮细胞、内皮细胞以及肌纤维细胞等),此外干细胞还参与调节肠道内的免疫反应。干细胞移植分自体干细胞移植和异体干细胞移植。在临床前期实验中其适应证包括:难治性IBD,尤其是克罗恩病^[50,51]。自体干细胞移植可来源于自身,故不存在干细胞来源风险和排斥反应,其不良反应主要是感染等。而异体干细胞移植的不良反应主要则包括:排斥反应以及感染等。

10 生物制剂的安全性

随着生物制剂在治疗IBD方面应用的日益广泛,其安全性的问题也越来越受到重视,主要包括:机会性感染(尤其是肺结核感染)^[52]、局部注射反应^[53]、抗药抗体的产生和淋巴瘤^[54]的发生,其他特殊的危险性如使用natalizumab后可能诱发多灶性白质脑病^[28]以及在联合使用infliximab和硝基咪唑硫嘌呤可诱发肝脾T细胞淋巴瘤^[55]等。作为临床医生我们在使用这些药物治疗疾病的时候,同时也应该密切注意这些生物制剂安全性并尽量避免其发生。

11 结论

IBD的治疗目标是尽可能长时间的维持临床缓解,维持胃肠道的生理功能、减少并发症、提高生活质量、减少住院率和外科手术率。目前IBD传统治疗药物的疗效和安全性都存在着一一定的缺陷。随着IBD在免疫学和遗传学发病机制深入研究,不断出现的新生物制剂具有疗效和安全性等方面的优势,为IBD临床治疗提供了新的药物和治疗方案的选择。同时,这些新的生物制剂存在一定的不良反应,临床应用时需要根据IBD患者病情选择最佳个体化治疗方案。

参考文献

- 1 Reinecker HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP, Raedler A. Enhanced secretion of tumour necrosis factor- α , IL-6, and IL-1 β by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 1993; 94: 174-181
- 2 Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor α for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 1029-1035
- 3 van Deventer SJ. Anti-tumour necrosis factor therapy in Crohn's disease: where are we now? *Gut* 2002; 51: 362-363
- 4 Caviglia R, Ribolsi M, Rizzi M, Emerenziani S, Annunziata ML, Cicala M. Maintenance of remission with infliximab in inflammatory bowel disease: efficacy and safety long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5238-5244
- 5 Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Rutgeerts P. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 1541-1549
- 6 Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Hanauer SB. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-413
- 7 Lichtenstein GR, Yan S, Bala M, Blank M, Sands BE. Infliximab maintenance treatment reduces hospitalizations, surgeries, and procedures in fistulizing Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 862-869
- 8 Hyams J, Crandall W, Kugathasan S, Griffiths A, Olson A, Johans J, Liu G, Travers S, Heuschkel R, Markowitz J, Cohen S, Winter H, Veereman-Wauters G, Ferry G, Baldassano R. Induction and maintenance infliximab therapy for the treatment of moderate-to-severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology* 2007; 132: 863-873; quiz 1165-1166
- 9 Borrelli O, Bascietto C, Viola F, Bueno de Mesquita M, Barbato M, Mancini V, Bosco S, Cucchiara S. Infliximab heals intestinal inflammatory lesions and restores growth in children with Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 342-347
- 10 Thayu M, Leonard MB, Hyams JS, Crandall WV, Kugathasan S, Otley AR, Olson A, Johans J, Marano CW, Heuschkel RB, Veereman-Wauters G, Griffiths AM, Baldassano RN. Improvement in biomarkers of bone formation during infliximab therapy in pediatric Crohn's disease: results of the REACH study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1378-1384
- 11 Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johans J, Travers S, Rachmilewitz D, Hanauer SB, Lichtenstein GR, de Villiers WJ, Present D, Sands BE, Colombel JF. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2462-2476
- 12 Järnerot G, Hertervig E, Friis-Liby I, Blomquist L, Karlén P, Grännö C, Vilén M, Ström M, Danielsson A, Verbaan H, Hellström PM, Magnuson A, Curman B. Infliximab as rescue therapy in severe to

- moderately severe ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 2005; 128: 1805-1811
- 13 Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. Review article: Infliximab therapy for inflammatory bowel disease--seven years on. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 451-463
 - 14 Lupascu A, Armuzzi A, De Pascalis B, Carloni E, Lauritano EC, Gasbarrini A, Pola P, Gasbarrini A. Sacroileitis and peripheral arthropathy associated with ulcerative colitis: effect of infliximab on both articular and intestinal symptoms. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 423-425
 - 15 Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, Salzberg BA, Diamond RH, Chen DM, Pritchard ML, Sandborn WJ. Serious infections and mortality in association with therapies for Crohn's disease: TREAT registry. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 621-630
 - 16 Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, Kamm MA, Korzenik JR, Lashner BA, Onken JE, Rachmilewitz D, Rutgeerts P, Wild G, Wolf DC, Marsters PA, Travers SB, Blank MA, van Deventer SJ. Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 876-885
 - 17 Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001; 345: 1098-1104
 - 18 Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, Oliverio PJ, Sandberg G, Crayton H, Richert JR, Siegel JN. Demyelination occurring during anti-tumor necrosis factor alpha therapy for inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2862-2869
 - 19 Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003; 107: 3133-3140
 - 20 Han PD, Cohen RD. Managing immunogenic responses to infliximab: treatment implications for patients with Crohn's disease. *Drugs* 2004; 64: 1767-1777
 - 21 Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, Mayer L, Regueiro C, Rutgeerts P, Sandborn WJ, Sands BE, Schreiber S, Targan S, Travis S, Vermeire S. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133: 312-339
 - 22 Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Colombel JF, Panaccione R, D'Haens G, Li J, Rosenfeld MR, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with infliximab: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 829-838
 - 23 Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, Panaccione R, Wolf D, Pollack P. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 2006; 130: 323-333; quiz 591
 - 24 Sandborn WJ, Hanauer SB, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh DG, Panaccione R, Wolf D, Kent JD, Bittle B, Li J, Pollack PF. Adalimumab for maintenance treatment of Crohn's disease: results of the CLASSIC II trial. *Gut* 2007; 56: 1232-1239
 - 25 Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, Schreiber S, Byczkowski D, Li J, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 52-65
 - 26 Schreiber S, Khaliq-Kareemi M, Lawrance IC, Thomsen OØ, Hanauer SB, McColm J, Bloomfield R, Sandborn WJ. Maintenance therapy with certolizumab pegol for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 239-250
 - 27 Lanzarotto F, Carpani M, Chaudhary R, Ghosh S. Novel treatment options for inflammatory bowel disease: targeting alpha 4 integrin. *Drugs* 2006; 66: 1179-1189
 - 28 Van Assche G, Van Ranst M, Sciort R, Dubois B, Vermeire S, Noman M, Verbeeck J, Geboes K, Robberecht W, Rutgeerts P. Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2005; 353: 362-368
 - 29 Sandborn WJ, Colombel JF, Enns R, Feagan BG, Hanauer SB, Lawrance IC, Panaccione R, Sanders M, Schreiber S, Targan S, van Deventer S, Goldblum R, Despain D, Hogge GS, Rutgeerts P. Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2005; 353: 1912-1925
 - 30 Feagan BG, Greenberg GR, Wild G, Fedorak RN, Paré P, McDonald JW, Cohen A, Bitton A, Baker J, Dubé R, Landau SB, Vandervoort MK, Parikh A. Treatment of active Crohn's disease with MLN0002, a humanized antibody to the alpha4beta7 integrin. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1370-1377
 - 31 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70
 - 32 Schmidt C, Giese T, Ludwig B, Mueller-Molaian I, Marth T, Zeuzem S, Meuer SC, Stallmach A. Expression of interleukin-12-related cytokine transcripts in inflammatory bowel disease: elevated interleukin-23p19 and interleukin-27p28 in Crohn's disease but not in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 16-23
 - 33 Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN, Scherl E, Fleisher MR, Katz S, Johanns J, Blank M, Rutgeerts P. A randomized trial of Ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2008; 135: 1130-1141
 - 34 Reinisch W, Hommes DW, Van Assche G, Colombel JF, Gendre JP, Oldenburg B, Teml A, Geboes K, Ding H, Zhang L, Tang M, Cheng M, van Deventer SJ, Rutgeerts P, Pearce T. A dose escalating, placebo controlled, double blind, single dose and multidose, safety and tolerability study of fontolizumab, a humanised anti-interferon gamma antibody, in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2006; 55: 1138-1144
 - 35 Ito H, Takazoe M, Fukuda Y, Hibi T, Kusugami K, Andoh A, Matsumoto T, Yamamura T, Azuma J, Nishimoto N, Yoshizaki K, Shimoyama T, Kishimoto T. A pilot randomized trial of a human anti-

同行评价

本文综述近年来生物制剂在炎症性肠病治疗方面的进展, 内容新颖, 有一定的临床参考价值。

- interleukin-6 receptor monoclonal antibody in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 989-996; discussion 947
- 36 Steidler L, Hans W, Schotte L, Neiryck S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science* 2000; 289: 1352-1355
- 37 Sands BE, Bank S, Sninsky CA, Robinson M, Katz S, Singleton JW, Miner PB, Safdi MA, Galandiuk S, Hanauer SB, Varilek GW, Buchman AL, Rodgers VD, Salzberg B, Cai B, Loewy J, DeBruin MF, Rogge H, Shapiro M, Schwertschlag US. Preliminary evaluation of safety and activity of recombinant human interleukin 11 in patients with active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 58-64
- 38 Plevy S, Salzberg B, Van Assche G, Regueiro M, Hommes D, Sandborn W, Hanauer S, Targan S, Mayer I, Mahadevan U, Frankel M, Lowder J. A phase I study of visilizumab, a humanized anti-CD3 monoclonal antibody, in severe steroid-refractory ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007; 133: 1414-1422
- 39 Kasran A, Boon L, Wortel CH, Hogezaand RA, Schreiber S, Goldin E, Boer M, Geboes K, Rutgeerts P, Ceuppens JL. Safety and tolerability of antagonist anti-human CD40 Mab ch5D12 in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 111-122
- 40 Korzenik JR, Dieckgraefe BK, Valentine JF, Hausman DF, Gilbert MJ. Sargramostim for active Crohn's disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 2193-2201
- 41 Takazoe M, Matsui T, Motoya S, Matsumoto T, Hibi T, Watanabe M. Sargramostim in patients with Crohn's disease: results of a phase 1-2 study. *J Gastroenterol* 2009; 44: 535-543
- 42 Sinha A, Nightingale J, West KP, Berlanga-Acosta J, Playford RJ. Epidermal growth factor enemas with oral mesalamine for mild-to-moderate left-sided ulcerative colitis or proctitis. *N Engl J Med* 2003; 349: 350-357
- 43 Procaccino F, Reinshagen M, Hoffmann P, Zeeh JM, Lakshmanan J, McRoberts JA, Patel A, French S, Eysselein VE. Protective effect of epidermal growth factor in an experimental model of colitis in rats. *Gastroenterology* 1994; 107: 12-17
- 44 Slonim AE, Bulone L, Damore MB, Goldberg T, Wingertzahn MA, McKinley MJ. A preliminary study of growth hormone therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1633-1637
- 45 Hommes D, van den Blink B, Plasse T, Bartelsman J, Xu C, Macpherson B, Tytgat G, Peppelenbosch M, Van Deventer S. Inhibition of stress-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 7-14
- 46 Schreiber S, Feagan B, D'Haens G, Colombel JF, Geboes K, Yurcov M, Isakov V, Golovenko O, Bernstein CN, Ludwig D, Winter T, Meier U, Yong C, Steffgen J. Oral p38 mitogen-activated protein kinase inhibition with BIRB 796 for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 325-334
- 47 Travis S, Yap LM, Hawkey C, Warren B, Lazarov M, Fong T, Tesi RJ. RDP58 is a novel and potentially effective oral therapy for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 713-719
- 48 Lewis JD, Lichtenstein GR, Deren JJ, Sands BE, Hanauer SB, Katz JA, Lashner B, Present DH, Chuai S, Ellenberg JH, Nessel L, Wu GD. Rosiglitazone for active ulcerative colitis: a randomized placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2008; 134: 688-695
- 49 Rutgeerts P, Vermeire S, Van Assche G. Biological therapies for inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2009; 136: 1182-1197
- 50 Ditschkowski M, Einsele H, Schwerdtfeger R, Bunjes D, Trenchel R, Beelen DW, Elmaagacli AH. Improvement of inflammatory bowel disease after allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2003; 75: 1745-1747
- 51 Brittan M, Alison MR, Schier S, Wright NA. Bone marrow stem cell-mediated regeneration in IBD: where do we go from here? *Gastroenterology* 2007; 132: 1171-1173
- 52 Toruner M, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Orenstein R, Sandborn WJ, Colombel JF, Egan LJ. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 929-936
- 53 D'Haens G. Risks and benefits of biologic therapy for inflammatory bowel diseases. *Gut* 2007; 56: 725-732
- 54 Passarini B, Infusino SD, Barbieri E, Varotti E, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Tambasco R, Campieri M. Cutaneous manifestations in inflammatory bowel diseases: eight cases of psoriasis induced by anti-tumor-necrosis-factor antibody therapy. *Dermatology* 2007; 215: 295-300
- 55 Mackey AC, Green L, Liang LC, Dinndorf P, Avigan M. Hepatosplenic T cell lymphoma associated with infliximab use in young patients treated for inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44: 265-267

编辑 李军亮 电编 何基才

QHF复方联合小剂量顺铂对小鼠H₂₂肝癌血管生成的抑制作用

陈涛, 付亚玲, 巩仔鹏, 邓李蓉, 胡月琴

陈涛, 付亚玲, 巩仔鹏, 邓李蓉, 胡月琴, 三峡大学医学院中
医系 湖北省宜昌市 443002

陈涛, 北京中医药大学医学博士, 教授, 主要从事中医药抗恶性
肿瘤的研究。

湖北省卫生厅中医药中西医结合科研基金资助项目, No.
2005-455-33

作者贡献分布: 陈涛与付亚玲对此文所作贡献均等; 此课题由
陈涛、付亚玲、巩仔鹏、邓李蓉及胡月琴设计; 研究过程由陈
涛、付亚玲、巩仔鹏、邓李蓉及胡月琴操作完成; 研究所用新
试剂及分析工具由付亚玲与巩仔鹏提供; 数据分析由付亚玲与
邓李蓉完成; 本论文写作由陈涛、付亚玲及巩仔鹏完成。

通讯作者: 陈涛, 教授, 443002, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡
大学医学院中医系. chentao@ctgu.edu.cn

电话: 0717-6397378 传真: 0717-6397328

收稿日期: 2009-09-30 修回日期: 2009-11-20

接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2010-01-18

QHF formula in combination with low-dose cisplatin inhibits angiogenesis in H₂₂ hepatocellular carcinoma in mice

Tao Chen, Ya-Ling Fu, Zi-Peng Gong, Li-Rong Deng,
Yue-Qin Hu

Tao Chen, Ya-Ling Fu, Zi-Peng Gong, Li-Rong Deng,
Yue-Qin Hu, Department of Chinese Medicine, Medical
College, China Three Gorges University, Yichang 443002,
Hubei Province, China

Supported by: the Integrated Chinese and Western Medi-
cal Research Foundation of the Health Department of Hubei
Province, No. 2005-455-33

Correspondence to: Professor Tao Chen, Department of
Chinese Medicine, Medical College, China Three Gorges
University, 8 Daxue Road, Yichang 443002, Hubei Prov-
ince, China. chentao@ctgu.edu.cn

Received: 2009-09-30 Revised: 2009-11-20

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of QHF formula in combination with low-dose cisplatin (DDP) on tumor angiogenesis and growth in H₂₂ hepatocellular carcinoma in mice and observe their toxic reactions.

METHODS: Forty-eight BALB/c mice were inoculated with mouse hepatocellular carcinoma H₂₂ cells in the right axillary skin to establish a mouse model of H₂₂ hepatocellular carcinoma.

The model mice were randomly divided into four groups: QHF group, DDP group, QHF plus DDP group and normal saline (NS) group. The inhibitory effects of these drugs on tumor growth were evaluated by calculating the reduced rate of tumor growth. The toxicity of these drugs was examined by observing the general condition of mice and the spleen index. The morphological changes of tumor cells were observed under an optical microscope. The microvessel density (MVD) in tumor tissue was evaluated by immunohistochemistry.

RESULTS: The tumor weight was significantly lower in the QHF group, DDP group, and QHF plus DDP group than in the NS group (0.63 g ± 0.16 g, 0.45 g ± 0.23 g and 0.33 g ± 0.15 g vs 1.22 g ± 0.22 g, respectively; all *P* < 0.01), while the tumor weight was significantly higher in the QHF group than in the QHF plus DDP group (*P* < 0.01). The reduced rates of tumor growth in the QHF group, DDP group and QHF plus DDP group were 47.45%, 63.11% and 72.95%, respectively. The MVD in tumor tissue was significantly lower in the QHF group, DDP group, and QHF plus DDP group than in the NS group (11.00 ± 1.56, 10.33 ± 1.49 and 6.87 ± 0.97 vs 19.93 ± 1.02, respectively; all *P* < 0.01). Compared with the QHF group and DDP group, the MVD was significantly lower in the QHF plus DDP group (both *P* < 0.01). Furthermore, a lower incidence of toxic reactions and a better quality of survival were observed in the QHF plus DDP group than in the DDP group.

CONCLUSION: Both of QHF and small-dose DDP have anti-angiogenic effects in H₂₂ hepatocellular carcinoma in mice. QHF in combination with small-dose DDP has synergistic anti-angiogenic effects and can improve the quality of survival and reduce the incidence of toxic reactions in mice bearing H₂₂ hepatocellular carcinoma.

Key Words: QHF; Cisplatin; Chemotherapy; Hepatocellular carcinoma; Angiogenesis

Chen T, Fu YL, Gong ZP, Deng LR, Hu YQ. QHF

■背景资料

肝癌是临床常见的恶性肿瘤之一, 术后复发和转移率极高, 目前尚缺乏有效的治疗药物。而血管生成是肿瘤生长和转移的形态学基础, 他不仅为肿瘤提供充足的营养, 而且为转移的肿瘤细胞提供了通道。故抑制血管生成的疗法有望成为治疗肝癌的重要方法。

■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

■研发前沿

当前,特异性抗血管生成药物与节律性化疗药物联合应用是肿瘤治疗领域的一大热点.研究发现抗血管联合应用可以作用于血管生长的不同环节、不同阶段,充分发挥各自优势,产生协同效应,并且两者的不良反应都低.

formula in combination with low-dose cisplatin inhibits angiogenesis in H₂₂ hepatocellular carcinoma in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(2): 113-118

摘要

目的:探讨QHF复方联合小剂量化疗药物顺铂(DDP)对小鼠H₂₂肝癌血管生成的影响,观察其抑瘤效果和不良反应.

方法:48只BALB/c小鼠右腋皮下注射小鼠H₂₂肝癌细胞建立荷瘤模型,随机分设为QHF复方组、小剂量DDP、联合用药组(QHF+DDP)及生理盐水组(NS).以抑瘤率为指标,观察各药物对荷瘤小鼠肿瘤生长的抑制作用;以小鼠的一般状况及脾指数为指标,观察各药物对荷瘤小鼠的不良反应;光镜观察肿瘤组织形态;免疫组织化学方法检测各药物对小鼠肝癌组织中的微血管密度(MVD).

结果:QHF组、DDP组和联合用药组的瘤质量均较NS对照组明显降低($0.63 \text{ g} \pm 0.16 \text{ g}$, $0.45 \text{ g} \pm 0.23 \text{ g}$, $0.33 \text{ g} \pm 0.15 \text{ g}$ vs $1.22 \text{ g} \pm 0.22 \text{ g}$, 均 $P < 0.01$),联合用药组较QHF组显著降低($P < 0.01$).抑瘤率分别为47.45%、63.11%和72.95%.QHF组、DDP组和联合用药组小鼠移植瘤组织内的MVD数量较NS对照组明显降低(11.00 ± 1.56 , 10.33 ± 1.49 , 6.87 ± 0.97 vs 19.93 ± 1.02 , 均 $P < 0.01$);联合用药组与各单药组相比明显降低(均 $P < 0.01$).QHF与DDP联合应用组的不良反应较单用DDP组轻,生存质量较好.

结论:QHF复方与小剂量DDP均具有抗肝癌血管生成的作用;QHF复方与小剂量DDP联合应用具有协同抗肝癌血管生成的作用,同时QHF复方具有提高生存质量和降低化疗药物不良反应的作用.

关键词:QHF复方;顺铂;化学疗法;肝癌;血管生成

陈涛,付亚玲,巩仔鹏,邓李蓉,胡月琴. QHF复方联合小剂量顺铂对小鼠H₂₂肝癌血管生成的抑制作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 113-118

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/113.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤之一,术后复发和转移率极高,目前尚缺乏有效的治疗药物.肝癌作为一种多血管肿瘤,肿瘤新生血管在其发生、侵袭和转移复发过程中发挥重要作用.因此抑制血管

形成在抗肝肿瘤的研究中意义重大.目前,已有研究表明,持续低剂量化疗给药,可以靶向作用于肿瘤微血管,达到抑制肿瘤血管生成的作用,并具有不良反应小和不易产生耐药的优点^[1],而在合用另一种抗血管生成药物时抑制肿瘤血管生成的作用则更为明显^[2].QHF复方(华蟾素800 mg/kg、人参皂甙Rg3 14 mg/kg、三七总皂甙5.5 mg/kg、香菇多糖100 mg/kg)是我们根据肝癌“瘀”、“毒”、“虚”的病机特点,通过动物实验,采用均匀设计法筛选得到的组方.研究表明QHF复方具有良好的抗肝癌作用,与化疗药物合用具有显著的减毒、增效作用^[3].据文献报道^[4-7],QHF复方中的人参皂甙Rg3、华蟾素及香菇多糖均有抑制肿瘤血管生成的作用.据此我们推测QHF复方也可以通过抑制肿瘤血管生成而发挥抗肿瘤作用.顺铂为广谱抗癌药,国内外有许多用其对肿瘤小剂量节律化疗的报道^[8,9],效果较好.本文以H₂₂荷瘤小鼠为动物模型,观察QHF复方联合小剂量顺铂对小鼠H₂₂肝癌血管生成的影响及抑瘤效果和和不良反应,初步探讨其对肝癌的治疗价值.

1 材料和方法

1.1 材料 BALB/c纯系小鼠,清洁级,♂,周龄4-6 wk,体质量 $20 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$,共48只,由湖北省实验动物中心提供.小鼠肝癌H₂₂细胞由本校免疫教研室保存,以腹水型传代保种,第3代用于实验.注射用顺铂(冻干型),购自锦州九泰药业有限责任公司.华蟾素片,购自安徽金蟾生化股份有限公司.参一胶囊(人参皂甙Rg3),购自吉林亚泰制药有限公司.血塞通片(三七总皂甙),购自云南省玉溪市维和制药有限公司.香菇多糖片,购自浙江金华埃森药业有限公司.以上各药物使用前均用灭菌生理盐水稀释至一定浓度.兔抗鼠CD34 mAb、即用型免疫组织化学试剂盒(SABC试剂盒)及DAB显色剂均购自武汉博士德生物工程有限公司.电子分析天平(MP200A型),上海良平仪器厂生产.光学显微镜,日本Olympus公司生产.石蜡包埋机(EG1150型),德国Leica公司生产.石蜡切片机: (ULTRACUT-R型),德国Leica公司生产.多功能显微镜及测量系统: (DM-R型),德国Leica公司生产.电热恒温鼓风干燥箱(GZX-9070MBE型),上海博迅实业有限公司生产.

1.2 方法

1.2.1 造模:肝癌H₂₂细胞株BALB/c小鼠体内连

续传代3代后,抽取接种7 d左右种鼠腹水,呈乳白色, D-Hanks液洗涤离心(800 r/min, 5 min)2次,调整细胞浓度至 5.0×10^6 个/mL,台盼蓝拒染法检测存活率 $\geq 95\%$,将细胞悬液注射至健康BALB/c小鼠右腋皮下,每只0.2 mL,建立实体瘤模型.全程严格无菌操作,1 h内完成.

1.2.2 分组及给药:小鼠造模后第3天,随机分为4组,每组12只. NS组:每只小鼠予生理盐水0.4 mL灌胃,同时予生理盐水0.2 mL腹腔注射; QHF复方组予以下4种药物[华蟾素800 mg/kg, 人參皂甙Rg3 14 mg/kg, 三七总皂甙5.5 mg/kg, 香菇多糖100 mg/kg(配比1)]各0.1 mL总共0.4 mL灌胃,同时予0.2 mL生理盐水腹腔注射,每日1次,连续给药10 d; 小剂量DDP组:予生理盐水0.4 mL灌胃,同时予DDP 0.2 mL(剂量2 mg/kg)腹腔注射; DDP+QHF组:给予QHF 0.4 mL灌胃,同时予DDP 0.2 mL腹腔注射. 以上给药均为每日1次,连续10 d.

1.2.3 一般状况观察:给药期间每日密切观察小鼠的外观毛色、精神状态、活动及饮食等情况.

1.2.4 脾指数:末次给药24 h后,颈椎脱臼法处死小鼠,完整剥离脾组织,电子天平上称质量,按下列公式计算脾指数:脾指数 = 脾质量(mg)/小鼠体质量(g).

1.2.5 瘤质量及抑瘤率:末次给药24 h后,颈椎脱臼法处死小鼠,完整剥离肿瘤组织,电子天平上称质量,按下列公式计算抑瘤率(inhibition rate, IR):抑瘤率(IR) = [模型组瘤质量(g)-用药组瘤治疗(g)]/模型组瘤质量(g) $\times 100\%$.

1.2.6 肿瘤大体标本及组织形态观察:剥离荷瘤小鼠肿瘤组织时,肉眼观察肿瘤的体积、颜色及质地,同时观察其假膜是否完整、剥离时有无出血等. 取各组小鼠肿瘤组织, 10%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋,切片. 行HE染色,光镜下观察肿瘤组织及细胞的形态学变化.

1.2.7 肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD):肿瘤组织经甲醛固定、石蜡包埋后切片,采用免疫组织化学染色(SABC法),操作步骤按试剂盒要求. 以PBS代替一抗作阴性对照,已知阳性切片作阳性对照. MVD的计数方法:按Weidner等^[10]报道的方法,首先在低倍视野下($\times 40$)扫视整张石蜡切片,每张切片找出5个微血管密集区,然后在高倍视野下($\times 200$)计数. 每张切片共计数5个视野,取其平均值为该例的MVD值. 微血管的判断标准为: (1)与邻近的微血管、肿瘤细胞及其他结缔组织成分不相连的、标记

清晰的内皮细胞及内皮细胞簇均可作为一个可计数的微血管. (2)可能源于同一微血管的内皮细胞,如染色清晰且相互分离,也可作为单独的微血管计数. (3)血管腔及腔内红细胞的存在不是确认微血管的必备条件. (4)对肿瘤区内的硬化区、肿瘤细胞稀疏区及邻近良性组织区域内的血管不进行计数. (5)对管腔直径 >8 个红细胞或管壁有平滑肌存在的血管不进行计数.

统计学处理 采用SPSS10.0统计分析软件处理实验结果. 计量资料的数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,计数资料的数据以百分率(%)表示. 计量资料采用单因素方差分析;计数资料采用卡方检验.

2 结果

2.1 荷瘤小鼠一般状况观察 实验过程中,除QHF组以外的各组小鼠均表现为皮毛无光泽,竖毛现象明显,活动减少,迟缓. 但QHF+DDP联合用药组好于单纯DDP化疗组. DDP组小鼠不良反应明显,出现厌食、腹泻、精神萎靡、消瘦及被毛脱落等症状, QHF+DDP组不良反应相对较小. 给药结束时,除NS组以外的各组小鼠均有死亡,所有死亡小鼠均为体质量明显下降者. 可排除由于实验操作不当致死的可能,小鼠死亡是由于自身体质差所致. QHF组、DDP组及QHF+DDP联合用药组分别有2只、1只和2只小鼠死亡,其死亡率分别为16.67%、8.33%和16.67%. 各组小鼠死亡率差异无统计学意义($P>0.05$).

2.2 荷瘤小鼠的脾指数 NS组、QHF组、DDP组及QHF+DDP联合用药组的脾指数分别为(9.39 ± 3.68 , 10.91 ± 1.53 , 4.40 ± 0.99 , 8.32 ± 0.25). 除DDP组的脾指数较NS组明显下降以外($P<0.05$), QHF组和QHF+DDP联合用药组与NS组相比,差异无统计学意义($P>0.05$). 用药组两两比较:联合用药组的脾指数较DDP组明显上升,差异有显著的统计学意义($P<0.01$),与QHF组相比,差异无统计学意义($P>0.05$); DDP组较QHF组明显下降,差异有显著统计学意义($P<0.01$).

2.3 药物对小鼠肿瘤生长情况的影响 接种5 d内,小鼠外观无明显改变. 5 d后各组可触及右腋皮下瘤块, NS对照组小鼠肿瘤生长迅速,局部肿胀,压迫症状明显;各用药组小鼠肿瘤生长相对NS对照组较缓慢. 各组小鼠的瘤质量及抑瘤率见表1. QHF组、DDP组及QHF+DDP联合用药组的抑瘤率分别为47.54%、63.11%和72.95%. 各用药组的瘤质量均明显低于NS组,差异有显

■ 相关报道

Browder等报道低剂量抗血管生成化疗的抗肿瘤效果可因合用一种特异靶向内皮细胞的药物而明显提高. Zhang等报道将持续低剂量CTX和人參皂甙Rg3联合应用治疗Lewis肺癌小鼠和EMT-6乳腺癌小鼠,二者显示出抗血管生成协同作用,并且治疗不良反应小,不易产生耐药,抑瘤效果较单药组显著且持久,动物生存期得到延长.

■创新盘点

本研究所用的QHF复方是本项目组前期所筛选的一种疗效显著的抗肝癌组方。本次实验发现其具有一定的抗肝癌血管生成的作用,而且与小剂量DDP联合应用具有协同抗肝癌血管生成的作用。

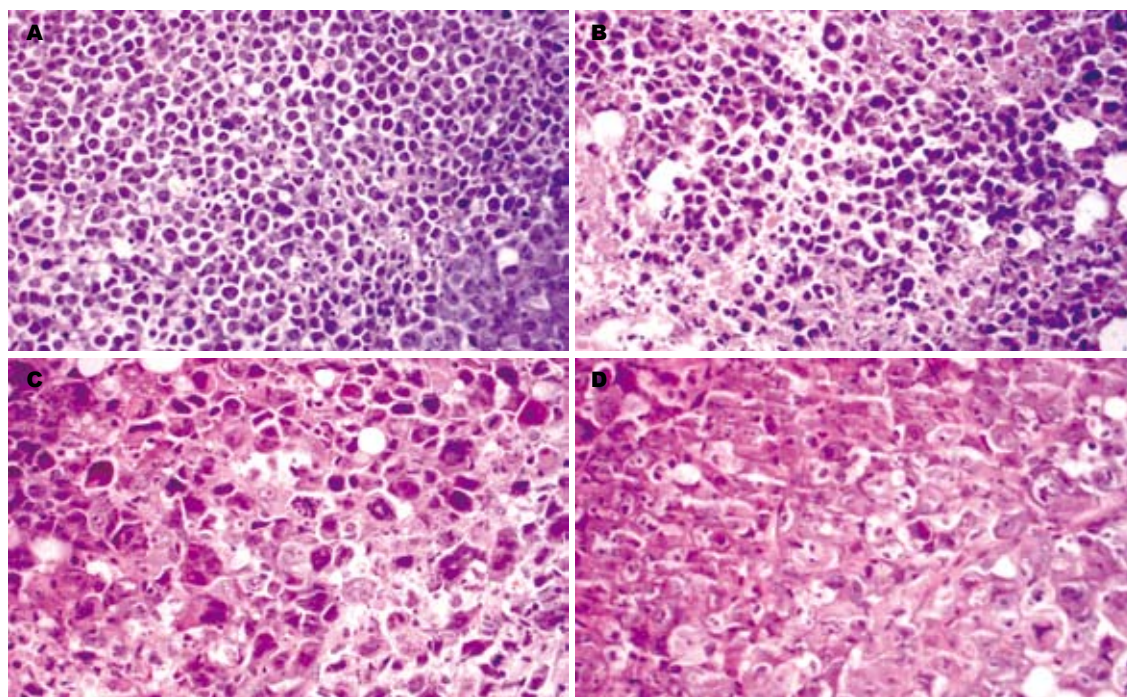


图1 光镜观察皮下移植瘤血管生成情况(HE × 400). A: NS组; B: QHF组; C: DDP组; D: QHF+DDP组.

表1 各组小鼠的瘤质量及抑瘤率 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	肿瘤质量(g)	抑瘤率(%)
NS组	1.22 ± 0.22^d	
QHF组	0.63 ± 0.16^{bd}	47.54
DDP组	0.45 ± 0.23^b	63.11
QHF+DDP组	0.33 ± 0.15^b	72.95

^b $P < 0.01$ vs NS组; ^d $P < 0.01$ vs QHF+DDP组.

著的统计学意义(均 $P < 0.01$). 用药组两两比较: 联合用药组的瘤质量明显低于QHF组($P < 0.01$), 但与DDP组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); QHF组与DDP组的差异无统计学意义($P > 0.05$).

2.4 皮下移植瘤血管生成情况 肉眼观察: NS对照组肿瘤组织体积大、颜色红润、质脆, 瘤块假膜不完整, 部分浸润生长至腿部肌肉, 剥离时易出血; 各用药组肿瘤组织体积相对较小, 颜色略苍白、质韧, 瘤块假膜完整, 剥离时基本无出血. 光镜观察: NS对照组表现为肿瘤组织内小片坏死, 肿瘤细胞生长旺盛, 细胞核异型性明显, 间质血管丰富; 各用药组表现为肿瘤组织内坏死区增大, 间质血管较稀少, 有明显的纤维化形成(图1).

2.5 荷瘤小鼠肝癌组织中MVD的计数 QHF组、DDP组及QHF+DDP联合用药组的肿瘤组织MVD数值分别为 11.00 ± 1.56 、 10.33 ± 1.49 及

6.87 ± 0.97 , 与NS对照组(19.93 ± 1.02)比较均明显降低, 差异有显著统计学意义(均 $P < 0.01$); 联合用药组的MVD计数明显低于两单药组, 差异有显著统计学意义(均 $P < 0.01$); QHF组与DDP组的差异无统计学意义($P > 0.05$, 图2).

3 讨论

1971年Folkman等^[11]首次提出, 肿瘤的生长和转移依赖于血管生成, 为肿瘤的治疗开辟了新的领域. 肝细胞癌为血供丰富的实体肿瘤, 其生物学特性包括高度血管浸润及转移倾向, 导致该疾病的预后不良. 肿瘤血管形成理论的建立, 为研究肝细胞癌复发和转移的机制提供了新的理论依据, 同时为治疗肝细胞癌, 防止肝细胞癌的复发和转移找到了一种更为有效的治疗手段-抗血管生成治疗^[12,13].

MVD是目前较为公认的评价肿瘤组织血管生成的较好指标^[14]. 他能直接量化反映肿瘤血管生成的程度, 是反映恶性肿瘤生物学行为的重要参数, 与肿瘤的侵袭、转移及预后关系密切. 研究认为CD34标记的微血管是真正的新生肿瘤血管^[15,16]. 大量研究表明, 恶性肿瘤组织的MVD较良性肿瘤组织及正常黏膜组织高. 因此许多学者认为MVD在反映肿瘤预后方面是一个独立而且重要的因素, 高MVD往往提示易发生转移和预后不良, 有效的抗血管生成剂可明显降低肿瘤组织的MVD.

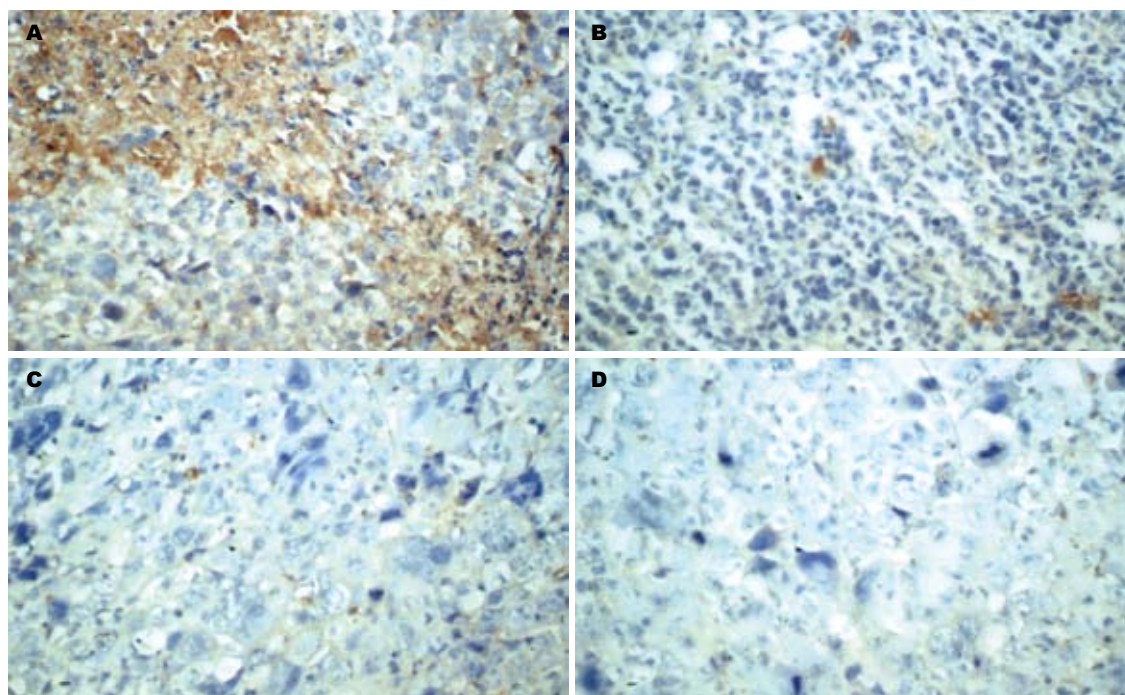


图 2 各组小鼠肝癌组织中MVD($\times 400$). A: NS组; B: QHF组; C: DDP组; D: QHF+DDP组.

■应用要点

本研究表明QHF复方可能通过抑制肿瘤血管生成的效应,达到靶向抗肝肿瘤治疗的目的,为其进一步开发应用打下了较好的基础.而且其与化疗联合应用药效增强的实验结果对开发更为有效的抗肿瘤血管生成抑制剂具有一定的指导意义.

当前,特异性抗血管生成药物与节律性化疗药物联合应用是肿瘤治疗领域的一大热点^[17,18],研究发现抗血管联合应用可以作用于血管生长的不同环节、不同阶段,充分发挥各自优势,产生协同效应,并且两者的不良反应都低.

DDP是一种细胞周期非特异性抗肿瘤药物,他通过与DNA链结合,形成交叉连接,抑制DNA、RNA合成和细胞有丝分裂,从而抑制肿瘤生长.该药已用于多种实体肿瘤的治疗,是目前较为有效的化疗药物之一.本研究结果显示,DDP组肿瘤的MVD表达水平较NS对照组明显下降,表明低剂量DDP具有抗血管生成作用.本实验结果与谭光宏、侯继院等的报道一致^[19,20].

QHF复方组肿瘤组织的MVD表达水平较NS对照组明显下降,差异有统计学意义.表明QHF复方具有抗血管生成作用,抗血管生成可能是QHF复方发挥抗肿瘤作用的机制之一.

本研究发现,将低剂量DDP与抗血管生成药QHF复方联合干预移植性肝癌H₂₂小鼠后,肿瘤组织中MVD数量不仅较NS对照组明显下降,而且较各自单独应用时下降更为明显,差异有显著统计学意义.因此,二者具有协同抗肿瘤血管生成作用.另外,从荷瘤小鼠的一般状况及脾指数结果来看,QHF复方与DDP联合应用组的一般状况明显好于单用DDP组,而且脾指数也较单用DDP为高,差异有统计学意义.这表明QHF复

方能降低化疗药物的不良反应,具有减毒作用.

4 参考文献

- 1 Miller KD, Sweeney CJ, Sledge GW Jr. Redefining the target: chemotherapeutics as antiangiogenics. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1195-1206
- 2 Bello L, Carrabba G, Giussani C, Lucini V, Cerutti F, Scaglione F, Landré J, Pluderi M, Tomei G, Villani R, Carroll RS, Black PM, Bikfalvi A. Low-dose chemotherapy combined with an antiangiogenic drug reduces human glioma growth in vivo. *Cancer Res* 2001; 61: 7501-7506
- 3 Chen T, Li D, Fu YL, Hu W. Screening of QHF formula for effective ingredients from Chinese herbs and its anti-hepatic cell cancer effect in combination with chemotherapy. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 363-368
- 4 安宁, 朱文. 人参皂苷Rg3抗肿瘤作用机制研究进展. *现代肿瘤医学* 2008; 16: 648-652
- 5 黄薛慈, 王世军. 中药及其有效成分抑制肿瘤血管生长的研究进展. *新中医* 2007; 39: 96-98
- 6 王双双, 李柏, 翟笑枫. 华蟾素注射液抗肿瘤应用及其机制研究进展. *山东中医药大学学报* 2008; 32: 436-438
- 7 张鹏, 苗玉荣, 刘春英. 香菇多糖对Lewis肺癌小鼠VEGF的表达及MVD的影响. *宜春学院学报* 2008; 30: 87-88
- 8 Tan WF, Lin LP, Li MH, Zhang YX, Tong YG, Xiao D, Ding J. Quercetin, a dietary-derived flavonoid, possesses antiangiogenic potential. *Eur J Pharmacol* 2003; 459: 255-262
- 9 Fan PS, Gu ZL, Sheng R, Liang ZQ, Wang XX, Zhu Y. Inhibitory effect of quercetin on proliferation of human microvascular endothelial cells in vitro. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 1231-1234
- 10 Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324:

■同行评价

本研究就QHF复方联合DDP抗肝癌血管生成的作用进行了观察,其结果对药物的进一步开发打下了较好的基础,有一定的可读性。

- 1-8
- 11 Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-1186
- 12 孙文洲, 于丽波, 董新舒. 一氧化氮合酶抑制剂对大肠癌裸鼠移植瘤的抗血管生成作用. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 114-117
- 13 张建永, 李锦毅, 李红玉, 戴聪, 马春雷, 王向党. restin 基因转染对裸鼠胃癌移植瘤生长的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3713-3718
- 14 Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol* 1998; 184: 119-122
- 15 Kim KW, Bae SK, Lee OH, Bae MH, Lee MJ, Park BC. Insulin-like growth factor II induced by hypoxia may contribute to angiogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 348-351
- 16 Lin P, Buxton JA, Acheson A, Radziejewski C, Maisonnier PC, Yancopoulos GD, Channon KM, Hale LP, Dewhirst MW, George SE, Peters KG. Antiangiogenic gene therapy targeting the endothelium-specific receptor tyrosine kinase Tie2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 8829-8834
- 17 Browder T, Butterfield CE, Kräling BM, Shi B, Marshall B, O'Reilly MS, Folkman J. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 1878-1886
- 18 Zhang Q, Kang X, Zhao W. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on Lewis lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342: 824-828
- 19 谭光宏, 魏于全, 田聆, 黄风迎. 猪endoglin重组蛋白疫苗和低剂量顺铂联合治疗肿瘤研究. *海南医学院学报* 2006; 12: 13-19
- 20 侯继院, 沈方臻, 王延涛, 赵园园. 顺铂低剂量节律化疗抑制小鼠H₂₂肝癌血管生成观察. *齐鲁医学杂志* 2008; 23: 95-98

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第3套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

细胞周期依赖性蛋白激酶对体外培养人肝癌细胞侵袭力的影响

王开阳, 熊爱珍, 蒋星星, 李 龙, 李慧珍, 傅华群

王开阳, 蒋星星, 李龙, 李慧珍, 傅华群, 南昌大学第二附属医院肝胆外科 江西省南昌市 330006
熊爱珍, 南昌大学第二附属医院药剂科 江西省南昌市 330006

王开阳, 2007级南昌大学医学院硕士, 主要从事肝胆外科基础与临床研究。

江西省卫生厅基金资助项目, No. 20091156

作者贡献分布: 此课题在傅华群指导下由王开阳设计; 实验过程由王开阳与蒋星星共同完成; 熊爱珍为项目负责人, 指导实验; 数据分析由李龙与李慧珍完成; 本文撰写由王开阳与傅华群完成。

通讯作者: 傅华群, 教授, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第二附属医院肝胆外科. ncdxfhq@yahoo.com.cn

电话: 0791-6259631

收稿日期: 2009-10-11 修回日期: 2009-11-15

接受日期: 2009-11-16 在线出版日期: 2010-01-18

Cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine suppresses the invasion of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells *in vitro*

Kai-Yang Wang, Ai-Zhen Xiong, Xing-Xing Jiang, Long Li, Hui-Zhen Li, Hua-Qun Fu

Kai-Yang Wang, Xing-Xing Jiang, Long Li, Hui-Zhen Li, Hua-Qun Fu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Ai-Zhen Xiong, Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the Foundation of Health Bureau of Jiangxi Province, No. 20091156

Correspondence to: Professor Hua-Qun Fu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. ncdxfhq@yahoo.com.cn

Received: 2009-10-11 Revised: 2009-11-15

Accepted: 2009-11-16 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of cyclin-dependent kinases on the invasion of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells *in vitro* and explore potential mechanisms involved.

METHODS: SMMC-7721 cells were divided into two groups: control group (untreated with

roscovitine) and treatment group (treated with 32 $\mu\text{mol/L}$ of roscovitine for 24 hours). The cell cycle distribution of SMMC-7721 cells was detected by flow cytometry. Cell invasion and motility were evaluated by Transwell chamber assay and wound healing assay, respectively. The mRNA expression of urokinase plasminogen activator (uPA) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: The percentage of SMMC-7721 cells in G_0/G_1 phase was significantly higher in the treatment group than in the control group ($72.19\% \pm 0.47\%$ vs $59.22\% \pm 0.54\%$, $P < 0.05$). The number of cells passing through the Transwell membrane was significantly lower in the treatment group than in the control group (71.40 ± 5.59 vs 149.60 ± 16.36 , $P < 0.05$). Roscovitine treatment also significantly decreased cell motility ($P < 0.05$). RT-PCR analysis revealed that roscovitine treatment downregulated the expression of uPA mRNA expression but had no significant impact on MMP-9 mRNA expression.

CONCLUSION: Roscovitine treatment decreases the invasion and motility of SMMC-7721 cells possibly via a mechanism associated with changing cell cycle and downregulating uPA mRNA expression.

Key Words: Cell cycle dependent kinase; Cell cycle; Invasion; uPA; Hepatocellular carcinoma cell

Wang KY, Xiong AZ, Jiang XX, Li L, Li HZ, Fu HQ. Cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine suppresses the invasion of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 119-124

摘要

目的: 探讨CDKs对体外培养的人肝癌细胞SMMC-7721侵袭力的影响及其分子机制。

方法: 将细胞分为A、B两组(A组用终浓度为0

■背景资料

细胞周期依赖性蛋白激酶(CDKs)最早由Hartwell LH和Nurse P分别在芽殖酵母和裂殖酵母中发现, 并因此获得2001年诺贝尔生理学 and 医学奖。起初人们的研究仅局限于CDKs与肿瘤细胞周期的关系, 随着对CDKs的不断认识, 人们发现他不仅对细胞周期有调控作用, 而且对多种蛋白活性和RNA的转录也有影响。

■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病理实验科

■ 相关报道

von Breitenbuch等通过给小鼠肝右叶内注射CT-26结肠癌细胞制成原发肝转移模型, 5 d后经门静脉注射CT-26肿瘤细胞, 应用射频消融治疗肝右叶肿瘤, 发现射频消融治疗鼠肝肿瘤7 d后残余癌细胞存活率增加, 增殖能力明显提高。

$\mu\text{mol/L}$ Roscovitine, B组用终浓度为 $32 \mu\text{mol/L}$ Roscovitine, 均培养24 h), 采用流式细胞术检测经CDKs特异性抑制剂Roscovitine干预后的人肝癌细胞SMMC-7721的细胞周期, 并用Transwell小室、划痕实验、PCR技术分别检测处于不同细胞周期下的人肝癌细胞侵袭能力、水平运动能力及uPA、MMP-9 mRNA表达。

结果: 经终浓度为 $32 \mu\text{mol/L}$ 的Roscovitine干预24 h后的人肝癌细胞SMMC-7721处于 G_0/G_1 期细胞比例迅速升高($72.19\% \pm 0.47\%$ vs $59.22\% \pm 0.54\%$, $P < 0.05$), 细胞侵袭能力下降, 穿膜细胞数明显减(71.40 ± 5.59 vs 149.60 ± 16.36 , $P < 0.05$); 细胞水平运动能力明显下降($P < 0.05$); uPA mRNA的表达下降, 但MMP-9 mRNA的表达却无明显变化。

结论: Roscovitine干预使人肝癌细胞SMMC-7721侵袭能力和水平运动能力下降, 其机制可能与肝癌细胞周期时相分布发生改变和uPA mRNA的表达下降有关。

关键词: 细胞周期依赖性蛋白激酶; 细胞周期; 侵袭力; uPA; 肝癌细胞

王开阳, 熊爱珍, 蒋星星, 李龙, 李慧珍, 傅华群. 细胞周期依赖性蛋白激酶对外培养人肝癌细胞侵袭力的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 119-124

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/119.asp>

0 引言

细胞周期依赖性蛋白激酶(cell cycle dependent kinases, CDKs)首先在酵母菌中发现, 他需与细胞周期素(Cyclin)相结合形成复合物才有活性. CDKs不但能作用于细胞周期 G_1 -S- G_2 -M的调控点影响细胞有丝分裂, 而且还能对RNA的形成和许多因子的转录具有调控作用. 我们的前期研究已证实^[1], 利用适宜浓度的CDKs抑制剂Roscovitine抑制CDKs的活性后, 增殖期肝癌细胞的生长、增殖被抑制, 肝癌细胞周期时相的分布被改变, 与凋亡相关的Bcl-2、caspase-3 mRNA的表达也发生相应的改变. Roscovitine可以通过抑制CDKs的活性调控Bcl-2和caspase-3 mRNA的表达使肝癌细胞周期时相分布发生改变. 国外Kar等^[2]也报道, 用甲氧雌二醇(2-ME)抑制CDC25后, 发现CDK1和CDK2的磷酸化减弱, 肝癌细胞株(HepBB、HepG2、PLC/PRF5)的周期分布被阻滞在 G_2 /M期, 细胞的凋亡明显增加; Ito等^[3]也报道人肝癌中CDK1过表达与高

甲胎蛋白(AFP)、高增殖细胞核抗原(Ki267)、低分化、不良预后等密切相关. 国内周奇等^[4]发现CyclinE与组织分化、癌栓形成及侵袭转移有关, CyclinA与组织分化、肝门淋巴结/肝外转移、癌灶数目及癌栓形成及侵袭转移均有关. 处于不同周期的肿瘤细胞其分裂能力不同, 那么改变肿瘤细胞的周期时相分布是否对肿瘤细胞的侵袭能力也会有影响? 因此, 我们在前期的研究基础上利用对肝癌细胞生长抑制最有效的Roscovitine浓度($32 \mu\text{mol/L}$)作用人肝癌细胞SMMC-7721 24 h后, 观察在不同周期下人肝癌细胞侵袭能力的变化, 并探讨其可能的作用机制, 从而进一步认识影响肝癌细胞侵袭的相关因素, 并为临床治疗肝癌提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞SMMC-7721细胞株购自中国科学院细胞库. CDKs抑制剂Roscovitine购自美国Sigma公司; MMP-9、uPA、 β -actin引物均由上海生物试剂公司合成; 引物系列号MMP-9: Sense 5'-TGG GCT ACG TGA CCT ATG ACA T-3', Antisense 5'-GCC CAG CCC ACC TCC ACT CCT C-3'; uPA: Sense 5'-AGA ATT CAC CAC CAT CGA GA-3', Antisense 5'-ATC AGC TTC ACA ACA GTC AT-3', β -actin: Sense 5'-AGA GGG AAA TCG TGC GTG AC-3', Antisense 5'-CGG ACT CAT CGT ACT CCT GCT-3'; Transwell小室购自Corning公司。

1.2 方法

1.2.1 流式细胞仪检测SMMC-7721细胞周期时相分布: 选取对数生长期细胞, 以0.25%胰酶消化, 用含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液将细胞分散成密度为 5×10^4 个/mL的单细胞悬液, 将细胞接种于2个培养瓶中(培养瓶底部面积为 25 cm^2), 每瓶4 mL; 培养24 h后换含有不同浓度的Roscovitine(终浓度为0和 $32 \mu\text{mol/L}$)的培养液处理细胞, 继续培养24 h后, 分为A、B两组(终浓度为 $0 \mu\text{mol/L}$ 的设为A组, 终浓度为 $32 \mu\text{mol/L}$ 的设为B组), 以0.25% Trypsin消化, 收集细胞, 制成单细胞悬液, 调整待测细胞浓度至 10^6 /mL; 取1 mL细胞悬液, 4°C 、1 000 r/min离心10 min, 弃上清; 加入1 mL冷PBS, 轻轻吹打使细胞悬浮, 4°C 、1 000 r/min离心10 min, 弃上清; 重复悬浮3次; 将细胞重悬于100 μL PBS中加入Triton X-100 250 μL , 混匀, 室温孵育10 min; 加入RNA酶200 μL , 混匀, 室温孵育10 min; 加入碘化丙

啉(PI)200 μL , 混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min后立即上机检测。

1.2.2 Transwell侵袭小室实验: 分别接种A、B两组中的 5.0×10^5 个细胞于已行基底膜包被的Transwell小室中, 小室内的培养基为无血清的RPMI 1640, 体积1 000 μL , 然后于小室外即6孔板的孔内加入2 500 μL 含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养基, 以提供细胞侵袭运动的趋化因子, 培养24 h后自6孔板中取出Transwell小室, PBS轻轻冲洗3次, 用自备小棉签小心擦净小室底部微孔滤膜上层的细胞, 然后将小室置于甲醇固定液中放置10 min, 取出小室放于结晶紫中染色5 min; 沿小室底部边缘剪下滤膜, 显微镜下观察穿过Matrigel及微孔至滤膜反面的细胞, 于200倍光学显微镜下计数5个视野的细胞, 取平均值; 用SPSS10.0 for Windows统计软件分析两组细胞间的差异, $P < 0.05$ (双侧检验)认为有统计学意义。

1.2.3 划痕实验: 细胞培养至孔底覆盖率达80%~90%后分为2组, 分别加入0 $\mu\text{mol/L}$ 的Roscovitine液(A组)和终浓度为32 $\mu\text{mol/L}$ 的Roscovitine液(B组)后, 置于 CO_2 培养箱内培养, 24 h后两组均换无血清培养基, 使细胞饥饿24 h, 待细胞贴壁率达100%时, 用1 mL无菌枪头在六孔板中长满的单层细胞上迅速而轻轻地划1-2道痕, PBS冲洗去掉脱落的细胞, 换无血清的培养基继续培养24 h后; 在显微镜下观察划痕修复的过程, 取0、24 h为时间点拍照记录, 并测量各时间点的相对痕距, 比较不同组细胞水平运动能力的差异。

1.2.4 RT-PCR: 按试剂盒说明书进行操作进行A、B两组细胞总RNA抽提, 将提取得到的RNA于1%琼脂糖凝胶电泳检测总RNA的完整性, 分光光度计检测RNA的浓度及纯度; 按试剂盒说明书进行操作, 反应体系为25.0 μL , 在冰浴中进行逆转录; 将逆转录产物按预变性为94 $^{\circ}\text{C}$ 下5 min, 变性为94 $^{\circ}\text{C}$ 下30 s, 退火为温度为(uPA 55 $^{\circ}\text{C}$, MMP-9 45 $^{\circ}\text{C}$)下30 s, 延伸为72 $^{\circ}\text{C}$ 下60 s, 共30个循环, 最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min的反应条件进行PCR反应, 最后取相应的PCR产物6.0 μL 及DNA Marker(DL600)6.0 μL 加入1.5%琼脂糖凝胶点样孔, 置电泳仪上进行水平电泳(恒压恒流: 90 mV, 25 min), 通过Gene Genius全自动凝胶成像系统读取目的电泳条带的斑点密度扫描值, 以各组 β -actin条带的扫描值来标化其相应组uPA、MMP-9 mRNA表达量。

统计学处理 所有数据采用SPSS14.0统计软

表1 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721细胞周期的变化(%)

分组	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
A组	59.22 \pm 0.54	26.34 \pm 0.20	14.44 \pm 0.62
B组	72.19 \pm 0.47 ^a	18.95 \pm 0.24 ^a	8.86 \pm 0.76 ^a

^a $P < 0.05$ vs A组同期细胞。

件进行统计分析。计量资料以mean \pm SD, 采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721细胞周期的变化 对照组A组中G₀/G₁期细胞占59.22% \pm 0.54%, S期占26.34% \pm 0.20%, G₂/M期占14.44% \pm 0.62%; B组中G₀/G₁期细胞占72.19% \pm 0.47%, S期占18.95% \pm 0.24%, G₂/M期占8.86% \pm 0.76%。与对照组A组相比, B组G₀/G₁期细胞比例增多, S期、G₂/M期细胞比例减少(均 $P < 0.05$, 表1)。

2.2 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721侵袭能力的变化 A组每个小室穿膜细胞数为(149.60 \pm 16.36)个, B组为(71.40 \pm 5.59)个, 与对照组A组相比, B组细胞穿过Transwell膜细胞数明显减少($P < 0.05$, 图1)。

2.3 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721水平运动能力的变化 与对照组A组相比, 24 h后显微镜下B组中的细胞水平运动距离明显降低, 缩小的痕距也明显减小(均 $P < 0.05$, 图2, 表2)。

2.4 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721 uPA和MMP-9 mRNA的表达 B组与对照组A组相比, uPA mRNA的表达降低, A、B两组间的表达结果有统计学意义($P < 0.05$), 但MMP-9 mRNA表达却无明显的变化($P > 0.05$, 图3)。

3 讨论

Roscovitine是嘌呤类CDKs抑制剂, 此化合物及其衍生物对CDKs有特异性的抑制作用而对其他蛋白激酶基本无作用, X射线晶体衍射测定结果表明, Roscovitine是通过与ATP竞争ATP结合位点起到抑制CDKs的作用^[5]。

CDK1可以与CyclinB和CyclinA形成具有活性功能的复合物CyclinB-CDK1, CyclinA-CDK1。CyclinB1-CDK1可以磷酸化RNA聚合酶II和蛋白激酶影响有丝分裂。CyclinA-CDK1

■创新盘点

不同周期时相下的细胞生物学特征应该是不相同的, 本文通过实验提出处于G₀/G₁期的人肝癌细胞的侵袭能力和水平运动能力均比S、G₂/M期的细胞要低, 并对CDKs的功能得到进一步认识。

■应用要点

本研究提示, Roscovitine可能改变肝癌细胞周期时相分布发生和下调uPA mRNA的表达, 使人肝癌细胞SMMC-7721侵袭能力和水平运动能力下降, 这有利于人们对肝癌细胞侵袭相关因素的认识, 为临床治疗肝癌提供新的思路。

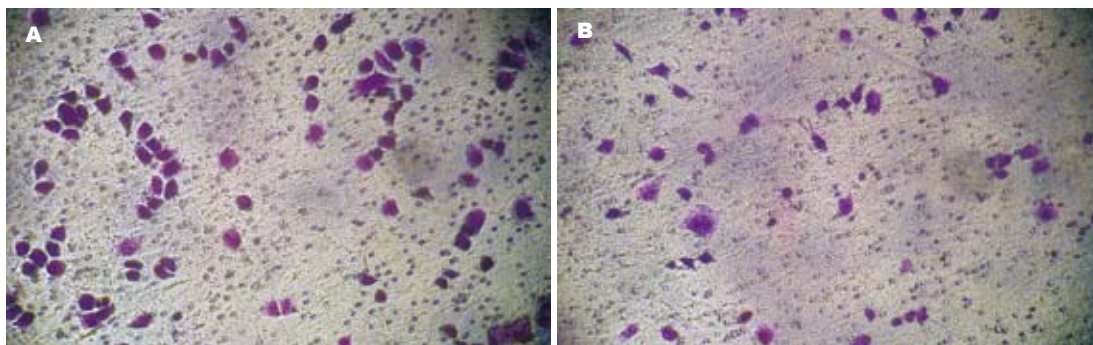


图1 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721侵袭能力的变化. A: A组; B: B组.

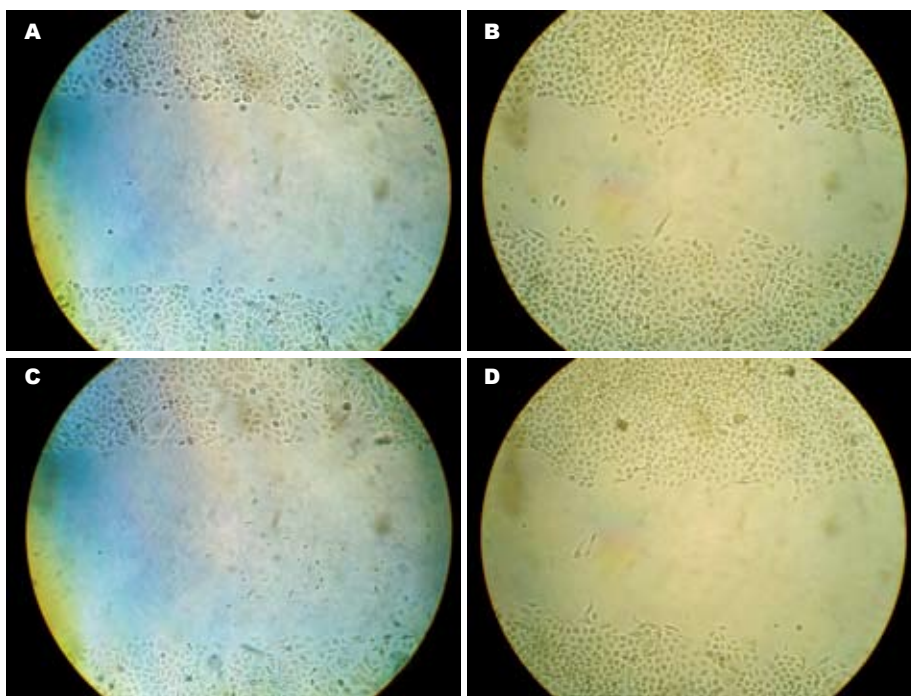


图2 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721水平运动能力的变化. A, B: A组; C, D: B组; A, C: 0 h; B, D: 24 h.

表2 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721水平运动能力的变化 (mean \pm SD)

作用时间	痕距	
	A组	B组
0 h	31.98 \pm 2.84	30.06 \pm 2.66
24 h	17.96 \pm 1.72	26.48 \pm 0.93

在DNA的精确复制中起到重要作用, 可以作用DNA复制过程中的重要元件促进细胞向G₂期转化. CyclinE-CDK2可以激活pRb, 使pRb磷酸化, 解除进入S期必需基因的转录因子的抑制, 使细胞继续增殖. CyclinA-CDK2可以磷酸化蛋白水解途径中的复合物Skp2和Cdc20, 影响细胞周期^[6]. CDK4与CyclinD结合成CyclinD-CDK4复合物, 他一方面可以整合外部刺激信号启动细胞周期; 另一方面可以解除结合在CyclinE-CDK2

上面的P27H蛋白, 使得CyclinD-CDK2激活, 促进细胞进入S期. CyclinD-CDK4可以调节肝细胞的生长, 使得细胞有足够大的体积而通过限制性调控点继续分化^[7]. 多种CDK可以通过影响RNA转录和相关蛋白作用细胞周期. 我们用32 μ mol/L的Roscovitine作用于人肝癌细胞后进行细胞周期检测, 与对照组相比, G₀/G₁期细胞百分比增加12.97%, S期减少7.39%, G₂/M期减少5.58%占8.86%, 采用t检验, $P < 0.05$, 与报道相符. CDKs活性受到抑制后, 细胞周期时相发生相应的改变, 大量细胞被阻滞在G₀/G₁期, 进入S期和G₂/M期的细胞数减少, 细胞的增殖分化能力下降.

肝细胞癌的转移可以分为肝内转移与远处转移, 其转移包含一系列相互关联的事件, 是一个“多步骤过程”^[8], 首先要依靠多种蛋白水解酶来降解细胞外基质和基底膜; 其次, 借助黏附

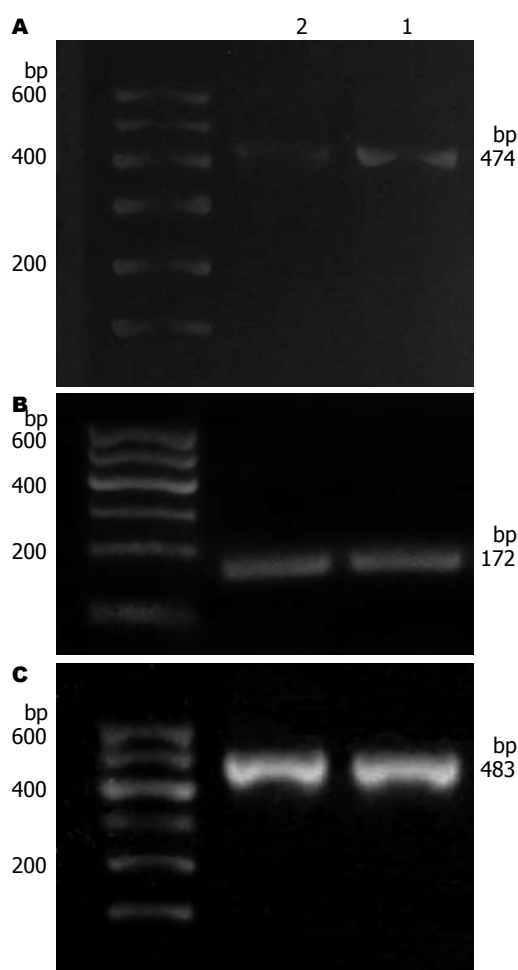


图 3 抑制CDKs活性后人肝癌细胞SMMC-7721 uPA和MMP-9 mRNA的表达. A: uPA; B: MMP-9; C: β -actin; 1: A组; 2: B组.

分子产生的外力,借助自身的运动相关蛋白,侵入血管或者淋巴管内,游向远器官和组织;最后,黏附分子协助肝癌细胞附壁并最终游出血管.肝癌细胞的侵袭主要指对细胞外基质和基底膜的突破,即为肝癌转移早期的第1步,不但与细胞外基质和基底膜的降解密切相关,并且细胞运动能力的大小也是影响侵袭能力的重要因素.我们用划痕实验检测水平运动能力,发现Roscovitine处理后组的细胞水平运动能力降低. CDK7与CyclinH组成复合物CyclinH-CDK7,其活性并不随细胞周期的变化而变化,在静止期细胞中也存在.其作用可能与转录起始时RNA多聚酶的磷酸化有关.在RNA转录延长中,转录因子IIH(transcription factor IIH, TFIIH)可以影响RNA聚合酶II的磷酸化. CDK7能成为TFIIH的亚基,从而调节RNA聚合酶II,调控多种因子的转录延长^[9-11].原发性肝细胞癌中核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)

表达比正常组织中要高,且随肝癌的侵袭性增强而表达增高, CDK7还可影响正性转录延长因子b(positive transcription elongation factor b, p-TEFb)的活性而影响NF- κ B的表达,与肝癌的转移有着密切的关系^[12]. CDK9是调节转录的细胞周期蛋白依赖性激酶,与CyclinT结合形成p-TEFB, p-TEFB通过磷酸化RNA聚合酶II调控转录的延伸.我们利用Transwell小室检测两组细胞的体外侵袭能力,发现Roscovitine处理后组的细胞穿膜数明显比未经Roscovitine处理组少.根据细胞周期检查结果我们得出,处于G₀/G₁期的人肝癌细胞的侵袭能力和水平运动能力均比处于S、G₂/M期的细胞要低.进而提示我们,增殖能力越强的细胞其侵袭能力越强.

肿瘤侵袭还与各种酶的分泌有关,在这些环节中,细胞外基质和细胞基底膜的降解是肿瘤侵袭过程中的关键所在. uPA在激活基质蛋白水解酶及纤溶酶系统中起着关键作用. uPA是一种特异性的丝氨酸蛋白水解酶,可以激活纤溶酶原形成有活性纤溶酶,后者可催化一系列的蛋白质降解,其中包括纤维蛋白、纤黏蛋白、层蛋白等, uPA还可直接或间接地激活金属蛋白酶类^[13].而现知胶原纤维等细胞外基质的降解主要由肝内的基质金属蛋白酶来完成,在其破坏中其重要作用的是MMP-2和MMP-9,因为MMP-2和MMP-9不但可以酶解细胞间基质成分,也是降解细胞外基质型IV胶原的主要酶.因此,我们同时检测Roscovitine处理后的人肝癌细胞的uPA和MMP-9 mRNA的表达,发现32 μ mol/L的Roscovitine处理后的人肝癌细胞uPA mRNA的表达降低,而MMP-9 mRNA的表达却没有变化.是处于不同细胞周期的人肝癌细胞影响uPA的表达还是Roscovitine作用CDKs后在转录水平上就已经影响了uPA的表达,我们不得而知.

细胞的周期不仅影响肿瘤的发生,在肿瘤的后续发展中也有重要作用,抑制CDKs的活性可以改变人肝癌细胞的周期分布,使大量细胞处于静止期,人肝癌细胞的侵袭力和运动力也会降低,与侵袭相关的部分因子的表达也会被下调.在临床治疗过程中,我们发现肝癌容易复发,如射频消融治疗肝癌会促进肿瘤的复发及残癌的增殖^[14],射频消融治疗肝癌后,复发后的肿瘤再治疗后更容易复发,再复发后的肿瘤治疗后的复发可能性比原发肿瘤高3倍. von Breitenbuch等^[15]通过给小鼠肝右叶内注射CT-26结肠癌细胞制成原发肝转移模型,5 d后经门静

同行评价

本研究探讨细胞周期依赖性蛋白激酶对体外培养的人肝癌细胞侵袭力的影响,具有一定创新性、科学价值及参考意义.

脉注射CT-26肿瘤细胞,应用射频消融治疗肝右叶肿瘤,发现射频消融治疗鼠肝肿瘤7 d后残余癌细胞存活率增加,增殖能力明显提高.此外,我们发现肝癌经手术治疗后残留在体内的肝癌细胞转移速度加快.国内外较大系列的临床资料^[16,17]表明肝癌术后的3年复发率为40%-50%左右,5年复发率为60%-70%乃至更高.肝癌术后复发的来源一般认为有2个.一是原发肿瘤产生的肝内播散,手术切除原发肿瘤后肝内播散病灶继续生长为临床可发现的肿瘤;另一种是肝脏慢性病变基础上的肿瘤再发^[18].此外,复发是否与改变了残癌细胞的周期而加剧了其侵袭能力相关,值得我们进一步研究.

4 参考文献

- 1 马景胜,王开阳,邢宏松,李慧珍,傅华群. Roscovitine对增生期肝癌细胞周期的影响. 国际外科学杂志 2009; 36: 229-232
- 2 Kar S, Wang M, Carr BI. 2-Methoxyestradiol inhibits hepatocellular carcinoma cell growth by inhibiting Cdc25 and inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62: 831-840
- 3 Ito Y, Takeda T, Sakon M, Monden M, Tsujimoto M, Matsuura N. Expression and prognostic role of cyclin-dependent kinase 1 (cdc2) in hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2000; 59: 68-74
- 4 周奇,梁力建,彭宝岗,甄宇洋,苏才坤. 肝细胞癌中p27、cyclin E和cyclin A的表达及相关分析. 中山大学学报(医学科学版) 2006; 27: 61-63
- 5 Schwartz GK, Shah MA. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9408-9421
- 6 Obaya AJ, Sedivy JM. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 126-142
- 7 Sherwood PW, Osley MA. Histone regulatory (hir) mutations suppress delta insertion alleles in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 1991; 128: 729-738
- 8 Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 285-293
- 9 Pinheiro R, Liaw P, Yankulov K. A uniform procedure for the purification of CDK7/CycH/MAT1, CDK8/CycC and CDK9/CycT1. *Biol Proced Online* 2004; 6: 163-172
- 10 Morris DP, Michelotti GA, Schwinn DA. Evidence that phosphorylation of the RNA polymerase II carboxyl-terminal repeats is similar in yeast and humans. *J Biol Chem* 2005; 280: 31368-31377
- 11 Tamrakar S, Kapasi AJ, Spector DH. Human cytomegalovirus infection induces specific hyperphosphorylation of the carboxyl-terminal domain of the large subunit of RNA polymerase II that is associated with changes in the abundance, activity, and localization of cdk9 and cdk7. *J Virol* 2005; 79: 15477-15493
- 12 Brès V, Yoh SM, Jones KA. The multi-tasking P-TEFb complex. *Curr Opin Cell Biol* 2008; 20: 334-340
- 13 Mazzieri R, Masiero L, Zanetta L, Monea S, Onisto M, Garbisa S, Mignatti P. Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase-plasmin system: a regulatory mechanism with cell-bound reactants. *EMBO J* 1997; 16: 2319-2332
- 14 周建伟,汤钊猷,任正刚. 射频消融治疗肝癌对残存癌细胞侵袭转移和机体免疫功能的影响. 中国临床医学 2009; 16: 394-395
- 15 von Breitenbuch P, Köhl G, Guba M, Geissler E, Jauch KW, Steinbauer M. Thermoablation of colorectal liver metastases promotes proliferation of residual intrahepatic neoplastic cells. *Surgery* 2005; 138: 882-887
- 16 Wakai T, Shirai Y, Yokoyama N, Nagakura S, Hatakeyama K. Hepatitis viral status affects the pattern of intrahepatic recurrence after resection for hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 266-271
- 17 周信达. 肝细胞癌转移复发研究现状与展望. 肝胆外科杂志 2003; 11: 241-243
- 18 孙惠川. 肝癌术后转移复发的治疗进展. 癌症进展 2005; 3: 30-32

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》按时完成2009年度出版任务

本刊讯 《世界华人消化杂志》按时完成2009年1-36期的出版任务,出版各类文章774篇,全部经过同行专家评议.其中评论性文章158篇(20.41%),原创性文章237篇(30.62%),研究快报91篇(11.76%),临床经验253篇(32.69%),病例报告13篇(1.68%),会议纪要2篇(0.26%).

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(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.(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

DEN诱导大鼠肝癌形成中miR-199a的表达机制及健脾解毒法的干预作用

张斌, 李琦, 殷佩浩, 赵成根, 李先茜, 高虹, 孙珏, 范忠泽

张斌, 李琦, 殷佩浩, 赵成根, 李先茜, 高虹, 孙珏, 范忠泽, 上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科 上海市 200062
张斌, 博士, 副主任医师, 主要从事肝病的基础和临床研究.

中国博士后基金资助项目, No. 20080440639

肝肾疾病证教育重点实验室(上海中医药大学)开放课题基金资助项目, No. GS090203

作者贡献分布: 此课题由张斌、李琦及范忠泽共同设计; 研究过程由张斌、赵成根及李先茜操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由高虹与孙珏提供; 数据分析由张斌完成; 本论文写作由张斌与殷佩浩完成.

通讯作者: 范忠泽, 主任医师, 博士生导师, 200062, 上海市兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科.

fanzhongze@citiz.com

电话: 021-62572723-4310

收稿日期: 2009-11-15 修回日期: 2009-12-10

接受日期: 2009-12-14 在线出版日期: 2010-01-18

Involvement of miR-199a downregulation in the preventive effects of Jianpi Jiedu Recipe against experimental hepatocarcinoma in rats

Bin Zhang, Qi Li, Pei-Hao Yin, Cheng-Gen Zhao, Xian-Qian Li, Hong Gao, Jue Sun, Zhong-Ze Fan

Bin Zhang, Qi Li, Pei-Hao Yin, Cheng-Gen Zhao, Xian-Qian Li, Hong Gao, Jue Sun, Zhong-Ze Fan, Department of TCM Oncology, Putuo District Center Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Supported by: the China Postdoctoral Science Foundation, No. 20080440639; and the Open Project Program Foundation of Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine), Ministry of Education, No. GS090203

Correspondence to: Zhong-Ze Fan, Department of TCM Oncology, Putuo District Center Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Shanghai 200062, China. fanzhongze@citiz.com

Received: 2009-11-15 Revised: 2009-12-10

Accepted: 2009-12-14 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the preventive effects of Jianpi Jiedu Recipe against diethylnitrosamine-induced hepatocarcinoma in rats and explore the involvement of miR-199a downregulation in this process.

METHODS: Male Wistar rats were randomly

divided into three groups: normal control group ($n = 25$), model group ($n = 40$) and prevention group ($n = 40$). The normal control group was given normal saline [10 mL/(kg·d) ig] for 12 weeks, the model group was given diethylnitrosamine dissolved in drinking water (80 ppm) at a dose of 8 mg/(kg·d) for the same duration, and the prevention group was given both diethylnitrosamine at the same dose and Jianpi Jiedu Recipe [17.5 g/(kg·d), ig] for the same duration. Five rats in each group were executed at weeks 4, 8, 12 and 16, respectively, and the remaining rats were killed at week 20. Meanwhile, the mortality, incidence of ascites, and liver and spleen index were measured. Hematoxylin-eosin staining (HE) was used to examine hepatic pathological changes. The expression of miR-199a mRNA was detected by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: At week 20, the mortality rate and the incidence rate of ascites were 0% and 0% in the normal control group, 42.5% and 87.5% in the model group, and 17.5% and 44.4% in the prevention group, respectively. The mortality rate and the incidence of ascites were significantly lower in the prevention group than in the model group (both $P < 0.05$). At week 16, the incidence of HCC was 100% in both the model group and prevention group and 0% in the normal control group, the incidence of grade III liver cancer was 100% (5/5) in the model group, and the incidences of grade I, II and III liver cancer were 40% (2/5), 40% (2/5) and 20% (1/5) in the prevention group, respectively. Compared with the model group, the liver and spleen index in the prevention group were significantly reduced at all time points (all $P < 0.01$). Real-time RT-PCR results showed that the expression of miR-199a was significantly upregulated in the model group. However, miR-199a expression was significantly downregulated in the prevention group at all time points except at week 16 (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Jianpi Jiedu Recipe has good preventive effects against hepatocarcinoma in

■背景资料

原发性肝癌是发病率较高的恶性肿瘤, 缺乏理想的早期诊断和治疗手段, 许多患者一旦发现往往就是晚期, 给进一步治疗带来很大的难度, 造成许多患者从确诊到死亡的时间很短, 因而加强肝癌的预防就显得尤为重要, 其中中医药预防肿瘤的作用受到越来越多的人的重视.

■同行评议者

丁惠国, 主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

■研究前沿

miRNAs的表达失调与肿瘤发病密切相关,具有癌基因或抑癌基因的特点,是肿瘤诊断和治疗的重要靶点,近年来,miR-199a与恶性肿瘤的发病关系引起许多学者的高度重视,同时健脾解毒方预防肝癌作用是否与调控miR-199a有关,这些都是目前亟待解决的课题。

rats perhaps partly by downregulating miR-199a expression.

Key Words: Jianpi Jiedu Recipe; Primary liver cancer; Diethylnitrosamine; Rat; Prevention; miRNA

Zhang B, Li Q, Yin PH, Zhao CG, Li XQ, Gao H, Sun J, Fan ZZ. Involvement of miR-199a downregulation in the preventive effects of Jianpi Jiedu Recipe against experimental hepatocarcinoma in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 125-131

摘要

目的:探讨中药复方健脾解毒方对二乙基亚硝胺(DEN)诱导的大鼠肝癌的预防作用及其调控miR-199a的表达机制。

方法:♂ Wistar大鼠,随机分为正常组($n=25$)、模型组($n=40$)及中药预防组($n=40$)。除正常组外,其他组在1-12 wk饮用含DEN 80 mg/L的饮水[mg/(kg·d)]以诱癌,中药组同时给予含生药1.75 g/mL的健脾解毒方灌胃(10 mL/kg),正常组给予10 mL/kg生理盐水灌胃,每日1次,共12 wk。于4、8、12、16 wk时相点,各组随机取5只大鼠处死取肝,20 wk将剩余大鼠全部处死取肝,观察肝脏外观,计算死亡率和腹水生成率,比较肝脾指数,肝组织进行HE染色,应用Real-time PCR检测肝组织miR-199a的表达。

结果:在20 wk实验结束时,正常大鼠无死亡,而模型大鼠死亡率为42.5%(17/40),预防组死亡率为17.5%(7/40),16-20 wk时模型组腹水发生率为87.5%(7/8),预防组为44.4%(8/18),与模型组有差异性($P<0.05$)。正常组没有肿瘤形成,模型组和预防组在16 wk后成瘤率均为100%。16 wk模型组肝癌Ⅲ级发生率为100%(5/5),而预防组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级肝癌发生率分别为40%(2/5)、40%(2/5)及20%(1/5),两组比较有差异($P<0.05$)。与模型组比较,中药预防组有显著降低肝脾指数的作用(均 $P<0.01$)。PCR结果显示,模型组肝组织miR-199a较正常组明显上调,中药预防组除16 wk外均有显著下调miR-199a表达的作用(均 $P<0.01$)。

结论:健脾解毒方有预防DEN诱导大鼠肝癌发生的作用,其机制可能部分与下调miR-199a的表达有关。

关键词:健脾解毒方;原发性肝癌;二乙基亚硝胺;大鼠;预防;微RNA

张斌,李琦,殷佩浩,赵成根,李先茜,高虹,孙珏,范忠泽. DEN诱导大鼠肝癌形成中miR-199a的表达机制及健脾解毒法的干

预作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18(2): 125-131
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/125.asp>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国发病率较高的恶性肿瘤,许多患者早期发病往往缺乏临床症状,一旦发现常是晚期,给进一步治疗带来很大难度,造成许多患者从确诊到死亡的时间很短^[1-5],因而加强肝癌的预防就显得尤为重要,其中中医药预防肿瘤的作用受到越来越多人的重视。健脾解毒方为我院范忠泽教授的经验方,既往研究发现该方具有提高机体免疫、改善脏器功能及抗消化系肿瘤等多种疗效^[6-8],但对其机制还不清楚。Micro RNAs(miRNAs)是小片段非编码RNA,参与调节基因表达,发现其表达失调与肿瘤发病密切相关,具有癌基因或抑癌基因的特点,是肿瘤诊断和治疗的重要靶点,其中miR-199a与恶性肿瘤的发病关系近年来引起许多学者的高度重视^[9-11]。为此,我们采用二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱发大鼠肝癌模型,动态观察诱癌过程中肝组织miR-199a的表达规律,同时研究健脾解毒方对肝癌发病的预防作用及机制。

1 材料和方法

1.1 材料 0.95 g/mL二乙基亚硝胺,纯度99.9%,美国Sigma公司产品。TRIzol RNA提取试剂,RT-PCR试剂, Promega公司;健脾解毒方由生黄芪、白术、猪苓、八月札、石见穿、野葡萄藤、薏苡仁等组成,经水煎、浓缩及醇沉制成,制成含生药1.75 g/mL浓度的中药制剂,高压灭菌,4℃存放备用,由上海中医药大学附属普陀医院制剂室制成。♂ Wistar大鼠105只,清洁级,体质量100 g±10 g,动物合格证号:SCXP(沪)2008-0016,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,所有大鼠分笼饲养于上海中医药大学附属普陀医院实验动物房。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组:所有大鼠分笼饲养,每笼5-6只,适应性饲养1 wk后,全部大鼠分为正常组($n=25$)、模型组($n=40$)及中药预防组($n=40$):模型组和预防组饮用含DEN 80 mg/L的饮水,维持DEN摄入量8 mg/(kg·d)以诱癌,并以普通灭菌水补足不足水量,连续12 wk后改为自由饮水;中药组在饮用DEN水的同时每日给予含生药1.75



图1 各组16 wk时超声检查. A: 正常组; B: 模型组; C: 预防组.

g/mL的中药汤剂灌胃(10 mL/kg), 每天1次, 正常组给予生理盐水10 mL/kg灌胃, 每天1次, 连续12 wk. 于4、8、12、16 wk, 各组随机取5只大鼠处死取肝, 20 wk时剩余大鼠全部处死取肝, 大体观察暴露肝脏, 记录肝脏的形态、颜色、质地, 记录一般情况及表面癌结节数, 记录腹水形成情况及计算肝脾指数.

1.2.2 大鼠肝脏超声波观察: 大鼠吸入含有2%异氟烷的氧气麻醉, 腹部用脱毛霜去毛. 凝胶外涂于小鼠脱毛的皮肤, 通过腹壁获取肝脏和邻近结构的冠状面和矢状面图像. 超声成像应用Vero 770™ Imagine System型超声仪, 15L8W宽频线阵探头, 频率为8.0-13.0 MHz.

1.2.3 肝组织病理学观察: 取肝脏标本, 40 g/L多聚甲醛缓冲液固定24 h, 常规石蜡包埋, 切片, HE染色, 光学显微镜下观察, 并对肿瘤采用Edmondson分级法进行分级.

1.2.4 Real-time PCR检测肝组织miR-199a的表达水平: 提取各组组织总RNA, 进行PCR检测miR-199a的表达, 每个样品测3次. 检测步骤: 样本各取1 μg总RNA作为逆转录模板, RT引物为5'-CCCAGGCTGTCATATCGGTC-3', 同时设计扩增用miR-199a上游引物: 5'-ACC TCCCTGATTGGCTACGA-3', 下游引物: 5'-AGCCCTCTTTGATGCTGTCC-3'; 以U6为内参对照, 上游引物: 5'-TAAAATCTATATACACGAC GGCTTCG-3'; 下游引物: 5'-TACTGTGCGTTTA AGCACTTCGC-3', 把加好样品的96孔板放在荧光定量PCR仪中进行反应, 反应条件如下: 95 °C 15 min后连续45个循环, 每个循环内95 °C 15 s、55 °C 30 s、72 °C 34 s, 总反应体积20 μL, 反应结束后分析PCR反应曲线, 得到Ct值. Real-time分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行, 该方法是目的基因与内参基因的Ct值比较, 即 $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$, 再将实验组与对照组比较, 即 $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{实验组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$, 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算.

统计学处理 所有数据采用SPSS11.0软件统

计分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用单因素方差分析, 计数资料的统计采用卡方检验, 肿瘤分级发生率比较采用两样本秩和检验, 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 大鼠一般情况及成瘤率 正常组大鼠生长状态良好, 体质量增加显著, 皮毛光滑, 二便如常; 模型组活动少, 精神萎靡, 胡须下垂, 喜睡少动, 体质量增加减少, 皮毛欠光滑, 尿色黄, 有腹泻; 中药预防组一般状态明显好于模型组. 在20 wk实验结束时, 正常大鼠无死亡, 而模型大鼠死亡率为42.5%(17/40), 预防组死亡率为17.5%(7/40), 经解剖发现, 正常大鼠无腹水, 模型组和预防组在16-20 wk时部分出现腹水, 去除病死部分, 经16、20 wk解剖后统计, 模型组腹水发生率为87.5%(7/8), 预防组为44.4%(8/18), 预防组与模型组的死亡率和腹水发生率比较均有差异性(均 $P < 0.05$). 正常组没有发现肿瘤形成, 模型组和预防组大鼠早期肝脏表面变粗糙, 质地较柔软, 边缘锐薄, 切面呈斑剥状, 诱癌至12 wk肝脏表面和实质内出现大小不等的结节, 直径 < 1 cm, 质地变硬, 16 wk后结节变硬, 个别直径 > 2.5 cm, 有结节型、巨块型和弥漫型, 模型组和预防组在16 wk后成瘤率为100%. 图1显示模型组和预防组在16 wk时采用超声波均可探及肿瘤形成, 表现为圆形或类圆形略高、等或低回声结节, 无包膜, 边界清楚, 有较明显的声晕, 内部回声欠均匀, 当肿瘤内部出现坏死时可呈低或无回声.

2.2 病理形态学观察

2.2.1 肉眼观察: 正常组的大鼠肝脏表面光滑, 色淡红, 边缘锐利, 质地软(图2A). 模型组和预防组大鼠随着诱癌过程的进行, 经历肝炎、肝硬化阶段而形成肝癌, 实验至16 wk后, 模型组大鼠肝脏表面粗糙, 可见多个大小不一的灰白色癌结节, 最大者 $1 \text{ cm} \times 1.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$, 切面呈结节状, 可见出血和坏死, 癌周肝脏常伴结节或肝硬化

■ 相关报道

Jiang等对肝硬化患者的肝组织miRNA情况开展了研究, 发现肝硬化发病与miRNA的表达异常有关, 而且是发生肝癌的重要参考指标, 他们还对人肝癌标本进行了研究, 发现miR-199a、miR-21和miR-301在肝癌中表达明显, 与预后有关.

■创新盘点

本实验采用DEN诱导大鼠肝癌模型,对造模过程中肝组织miR-199a的表达情况进行动态研究,有助于阐明肝癌的发病机制及中药预防肝癌的效果。



图2 各组16 wk时肝脏肉眼观察. A: 正常组; B: 模型组; C: 预防组.

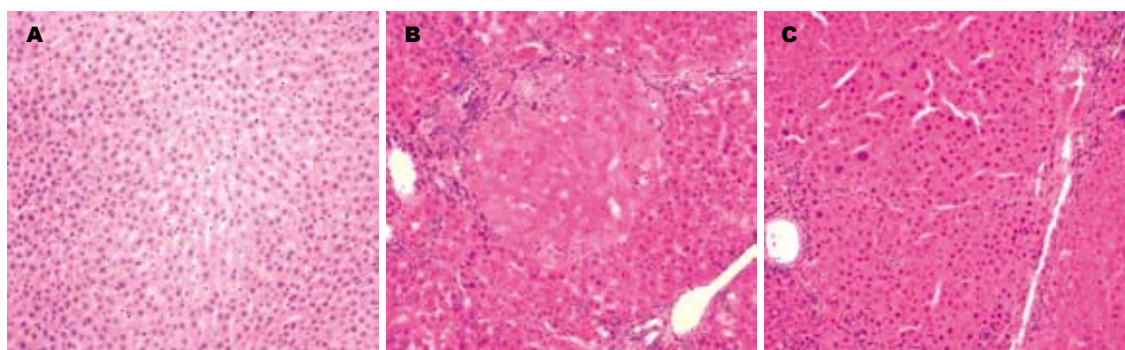


图3 各组大鼠16 wk时肝组织病理改变(HE × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: 预防组.

表1 各组大鼠肝指数比较 (g/kg, mean ± SD)

分组	4 wk	8 wk	12 wk	16 wk	20 wk
正常组	26.45 ± 1.27 ^b	27.02 ± 1.06 ^b	25.71 ± 2.94 ^b	26.21 ± 3.05 ^b	24.15 ± 2.16 ^b
模型组	30.58 ± 1.36	42.25 ± 1.22	51.82 ± 1.83	80.82 ± 3.35	122.84 ± 5.83
预防组	25.04 ± 1.83 ^b	30.87 ± 2.46 ^b	39.68 ± 4.00 ^b	66.40 ± 11.03 ^b	96.17 ± 6.62 ^b

^b $P < 0.01$ vs 模型组; 4-16 wk每组5只; 20 wk的正常组、模型组、预防组分别为5、3、13只.

改变; 预防组的肝脏表面癌结节较模型组有显著改善(图2B, C).

2.2.2 病理组织学: 图3显示各组在16 wk时肝组织HE染色情况, 其中正常组: 肝小叶结构正常, 无界面性炎症及纤维化; 肝条索排列规整, 以中央静脉为中心呈放射状排列, 肝细胞无变性、坏死. 模型组: 肝细胞异型性增生明显, 大部分增生肝细胞出现核异质变, 细胞核仁普遍增大, 细胞成倍增大, 染色质粗糙, 出现癌变细胞, 同时呈典型的柱状及腺管样癌巢结构, 且周围组织肝细胞异型性明显, 伴癌细胞浸润, 并可见不同程度的脂肪变性, 部分区域有出血、坏死及静脉癌栓, 周围的肝组织内尚可见微小癌卫星灶. 癌周组织细胞水肿、嗜酸性变、脂肪变性, 并有肝细胞增生灶、增生结节及非典型增生结节, 呈典型的肝硬化表现. 预防组: 虽然大

鼠肝脏可见癌结节, 但与模型组比较, 肝细胞变性坏死减轻. 肿瘤分级结果研究表明, 16 wk时模型组Ⅲ级发生率为100%(5/5), 而预防组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级发生率分别为40%(2/5)、40%(2/5)及20%(1/5), 两组比较有显著差异($P < 0.05$).

2.3 肝脾指数 与模型组比较, 中药预防组4-20 wk的肝脾指数均显著下降(表1, 2, 图4, 5).

2.4 肝组织miR-199a的表达 与正常组比较, 模型组和预防组的miR-199a均有显著上调. 同时, 与模型组比较, 预防组除16 wk外均出现miR-199a的表达下调, 两组之间差异显著($P < 0.01$, 图6, 7, 表3).

3 讨论

DEN是具有中毒性和致癌性双重效应的化学毒剂, 可通过产生亲电子产物脱嘌呤作用连接到

表 2 各组大鼠脾指数比较 (g/kg, mean \pm SD)

分组	4 wk	8 wk	12 wk	16 wk	20 wk
正常组	2.55 \pm 0.14 ^b	2.42 \pm 0.25 ^b	2.52 \pm 0.15 ^b	2.52 \pm 0.11 ^b	2.37 \pm 0.21 ^b
模型组	4.47 \pm 0.30	4.67 \pm 0.32	4.36 \pm 0.55	4.46 \pm 0.20	5.25 \pm 0.46
预防组	3.39 \pm 0.30 ^b	3.62 \pm 0.36 ^b	3.31 \pm 0.05 ^b	3.72 \pm 0.46 ^a	4.23 \pm 0.53 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; 4–16 wk 每组5只; 20 wk 的正常组、模型组、预防组分别为5、3、13只。

表 3 各组大鼠肝组织miR-199a的表达 (mean \pm SD)

分组	4 wk	8 wk	12 wk	16 wk	20 wk
正常组	1.01 \pm 0.06 ^b	1.13 \pm 0.05 ^b	0.96 \pm 0.09 ^b	1.19 \pm 0.04 ^b	1.11 \pm 0.03 ^b
模型组	2.55 \pm 0.06	4.27 \pm 0.10	4.91 \pm 0.09	4.16 \pm 0.32	5.13 \pm 0.16
中药组	1.37 \pm 0.07 ^b	1.76 \pm 0.04 ^b	4.22 \pm 0.25 ^b	4.87 \pm 0.09 ^b	3.81 \pm 0.12 ^b

^b $P < 0.01$ vs 模型组; 4–16 wk 每组5只; 20 wk 的正常组、模型组、预防组分别为5、3、5只。

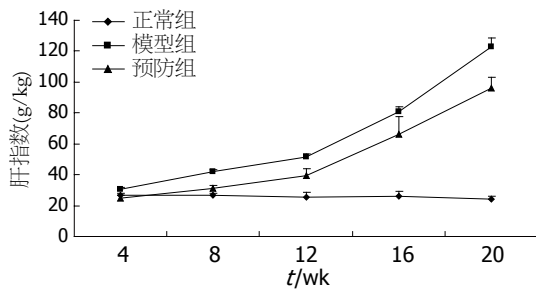


图 4 各组肝指数动态比较。

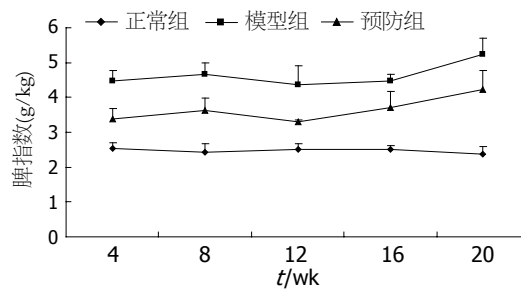


图 5 各组脾指数动态比较。

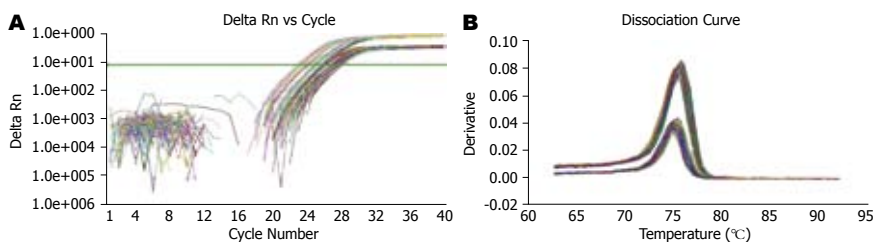
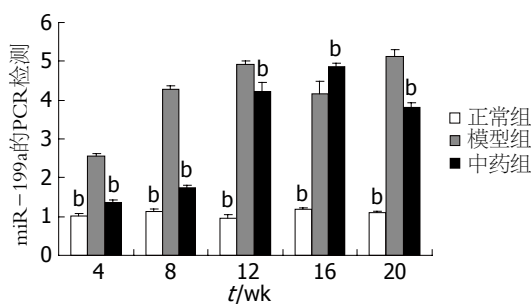


图 6 miR-199a扩增和熔解曲线。A: 扩增曲线; B: 熔解曲线。

图 7 各组肝组织miR-199a的表达。^b $P < 0.01$ vs 模型组。

DNA双链上,使DNA双链随机内收而导致DNA编码错误引发机体损伤,已经广泛用于原发性肝癌的诱癌模型,该模型经过中毒损伤-增生硬

化-癌变3个阶段,病理类型和人类肝癌发生过程相似^[12,13]。本研究发现,正常组没有发现肿瘤形成,模型组和预防组大鼠早期肝脏表面变粗糙,质地较柔软,边缘锐薄,切面呈斑剥状,诱癌至12 wk肝脏表面和实质内出现大小不等的结节,质地变硬,16 wk后结节变硬,个别直径>2.5 cm,有结节型、巨块型和弥漫型,模型组和预防组在16 wk后成瘤率为100%,是比较理想的肝癌动物研究模型。

中医中药防治肿瘤在我国有悠久的历史,具有独特的机制与效应,在肝癌的预防中同样具有重要的地位,其中中药复方是根据中医理、法、方、药的理论组方并经过实践确定下来的

应用要点

本研究证实健脾解毒方有预防DEN诱导大鼠肝癌发生的作用,其机制可能部分与下调miR-199a的表达有关,为中药预防肿瘤的作用提供理论依据。

■同行评价

本研究采用中医中药防治肝癌并取得一定进展,具有一定理论和临床应用价值。

有效方剂,是中医预防肿瘤的主要手段之一。健脾解毒方是根据中医学整体观念和辨证论治的原则,将清热解毒、祛瘀散结、健脾理气等有机结合起来,选用植物性中药组方,由生黄芪、白术、猪苓、八月札、石见穿、野葡萄藤、薏苡仁等组成,具有健脾理气、化湿解毒的作用,由著名中医肿瘤专家范忠泽教授组方,他认为肝癌的发生、发展与六淫外侵、七情失调、饮食所伤及素体不足等多种因素有关,出现痰、瘀、毒等病理产物,并可涉及肝、肾等多个脏腑功能失调,但脾胃的病变,始终是一个关键的因素,肝癌的形成大多由于脾气不足,运化不能,湿浊内蕴或肾气亏损,气化失司,湿浊内聚。湿浊蕴结体内,日久郁而化热,湿热蕴结下注,浸淫肠道导致肠道气血运行不畅,湿热瘀滞凝结而成肿块。本研究对健脾解毒方预防肝癌的效果进行研究,结果发现,预防组的死亡率为17.5%,16 wk后腹水发生率为44.4%,而模型组死亡率为42.5%,腹水发生率为87.5%,两组有显著差异(均 $P<0.05$),同时,预防组还有显著降低肝脾指数的作用。通过对肝组织病理的进一步研究,发现模型组16 wk时肝癌Ⅲ级发生率为100%(5/5),而预防组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级肝癌发生率分别为40%(2/5)、40%(2/5)及20%(1/5),两组比较有显著差异($P<0.05$)。上述研究表明,健脾解毒方对DEN诱导大鼠肝癌动物模型具有降低死亡率、减少腹水形成及降低肝脾指数的作用,对肝癌发生和发展有较好的预防作用。

miRNA是长度约为20 nt的非编码RNA,本身不编码蛋白。miRNA过去被认为是机体的多余基因,但目前认为在细胞凋亡、增殖、分化、血管生成及肿瘤形成等方面均具有重要的调节作用,参与人体大约30%的基因调节,与肿瘤、心血管疾病、肝病、免疫紊乱及代谢紊乱等多种发病有关^[14-18]。miRNA与HCC的关系引起国内外很多学者的重视,如Ji等^[19]研究认为,miRNA是肝癌诊断和治疗研究的重要靶点。Wong等^[20]采用基因芯片对HCC组织miRNA表达谱进行研究,发现肝癌组织中miR-222、miR-221和miR-31上调,miR-223、miR-126和miR-122a下调。Varnholt等^[21]对52例肝癌前和HCC患者进行研究,发现miR-122、miR-100和miR-10a在肝癌中表达上调,miR-145表达下降。Jiang等^[22]对肝硬化患者的肝组织miRNA情况也开展了研究,发现肝硬化发病与miRNA的表达异常有关,而且是发生肝癌的重要参考指

标,他们还对人肝癌标本进行了研究,发现miR-199a、miR-21和miR-301在肝癌中表达明显,与预后有关。近年来,miR-199a与肿瘤的关系引起了许多学者的高度重视,如Yu等^[23]对大鼠口腔癌模型组织中miRNA表达情况进行研究,发现miR-199a在肿瘤组织中表达下调,认为miR-199与口腔癌发病密切相关,可以作为病情判断的重要参考指标。Garzon等^[11]对急性髓细胞样白血病血液样本进行研究,发现miR-191和miR-199a的高表达与不良预后相关。但综合国内外研究情况,有关DEN诱导大鼠肝癌模型miR-199a表达规律方面的报道还较少,为此,本研究采用DEN诱导大鼠肝癌模型,对模型形成过程中肝组织miR-199a的表达情况进行了初步研究,结果显示,与正常组比较,模型组肝组织miR-199a的表达有显著上调,而与模型组比较,预防组除16 wk外,均有显著下调miR-199a表达的作用,两组之间差异显著(均 $P<0.01$),上述结果表明,miR-199a的表达上调与肝癌发生密切相关,具有癌基因的特点,同时健脾解毒方有较好预防DEN诱导大鼠肝癌发生的作用,其机制可能部分与下调miR-199a的表达有关,对其机制仍需做进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 Vivekanandan P, Singh OV. High-dimensional biology to comprehend hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Proteomics* 2008; 5: 45-60
- 2 Roessler S, Budhu A, Wang XW. Future of molecular profiling of human hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2007; 3: 429-439
- 3 Zender L, Kubicka S. Molecular pathogenesis and targeted therapy of hepatocellular carcinoma. *Onkologie* 2008; 31: 550-555
- 4 Pang RW, Poon RT. From molecular biology to targeted therapies for hepatocellular carcinoma: the future is now. *Oncology* 2007; 72 Suppl 1: 30-44
- 5 Lai JP, Sandhu DS, Moser CD, Cazanave SC, Oseini AM, Shire AM, Shridhar V, Sanderson SO, Roberts LR. Additive effect of apicidin and doxorubicin in sulfatase 1 expressing hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *J Hepatol* 2009; 50: 1112-1121
- 6 许建华, 李朝衡, 朱美华, 孙珏, 范忠泽. 肠胃清口服液体内抗肿瘤的实验研究. *中药药理与临床* 2004; 20: 42-43
- 7 许建华, 范忠泽, 孙珏, 朱美华, 李琦, 韩建宏, 石晓兰. 肠胃清药物血清对人口腔表皮癌细胞株KB-A-1多药耐药的逆转作用. *肿瘤* 2005; 25: 562-565
- 8 许建华, 范忠泽, 孙珏, 朱美华, 费瑞银, 韩建宏, 石晓兰, 李朝衡, 张勇. 肠胃清治疗晚期胃癌及对外周血MDR1 mRNA的影响. *上海中医药杂志* 2007; 41: 40-42
- 9 Ladeiro Y, Zucman-Rossi J. [miRNAs in cancer: the case of liver tumors] *Med Sci (Paris)* 2009; 25: 467-472
- 10 Varnholt H. The role of microRNAs in primary

- liver cancer. *Ann Hepatol* 2008; 7: 104-113
- 11 Garzon R, Volinia S, Liu CG, Fernandez-Cymering C, Palumbo T, Pichiorri F, Fabbri M, Coombes K, Alder H, Nakamura T, Flomenberg N, Marcucci G, Calin GA, Kornblau SM, Kantarjian H, Bloomfield CD, Andreeff M, Croce CM. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111: 3183-3189
 - 12 许文, 王阁, 杨志祥, 陈川, 张志敏, 李琼, 雒喜忠, 胡庆, 王东, 李增鹏. APE1在DEN诱导大鼠肝细胞癌形成过程中作用的研究. *肿瘤预防与治疗* 2008; 21: 127-129
 - 13 刘家国, 赵洪进, 刘艳娟, 王小龙. 富硒麦芽对二乙基亚硝胺致SD大鼠肝癌细胞因子和血管生成的影响. *中国兽医学报* 2007; 27: 573-578
 - 14 Zhang C. MicroRNomics: a newly emerging approach for disease biology. *Physiol Genomics* 2008; 33: 139-147
 - 15 Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Pelletier L, Rebouissou S, Zucman-Rossi J. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations. *Hepatology* 2008; 47: 1955-1963
 - 16 Bala S, Marcos M, Szabo G. Emerging role of microRNAs in liver diseases. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5633-5640
 - 17 Song G, Wang L. A conserved gene structure and expression regulation of miR-433 and miR-127 in mammals. *PLoS One* 2009; 4: e7829
 - 18 Bray I, Bryan K, Prenter S, Buckley PG, Foley NH, Murphy DM, Alcock L, Mestdagh P, Vandesompele J, Speleman F, London WB, McGrady PW, Higgins DG, O'Meara A, O'Sullivan M, Stallings RL. Widespread dysregulation of MiRNAs by MYCN amplification and chromosomal imbalances in neuroblastoma: association of miRNA expression with survival. *PLoS One* 2009; 4: e7850
 - 19 Ji J, Wang XW. New kids on the block: diagnostic and prognostic microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1686-1693
 - 20 Wong QW, Lung RW, Law PT, Lai PB, Chan KY, To KF, Wong N. MicroRNA-223 is commonly repressed in hepatocellular carcinoma and potentiates expression of Stathmin1. *Gastroenterology* 2008; 135: 257-269
 - 21 Varnholt H, Drebbler U, Schulze F, Wedemeyer I, Schirmacher P, Dienes HP, Odenthal M. MicroRNA gene expression profile of hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 1223-1232
 - 22 Jiang J, Gusev Y, Aderca I, Mettler TA, Nagorney DM, Brackett DJ, Roberts LR, Schmittgen TD. Association of MicroRNA expression in hepatocellular carcinomas with hepatitis infection, cirrhosis, and patient survival. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 419-427
 - 23 Yu T, Wang XY, Gong RG, Li A, Yang S, Cao YT, Wen YM, Wang CM, Yi XZ. The expression profile of microRNAs in a model of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced oral carcinogenesis in Syrian hamster. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 64

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》 2008年影响因子 0.729

本刊讯 《中国期刊引证报告(扩刊版)》是依托中国科学技术信息研究所国家工程技术数字图书馆“知识服务”系统,在“万方数据-数字化期刊群”基础上,结合中国科技论文与引文数据库(CSTPCD),以我国正式出版的各学科6108种中英文期刊为统计源期刊。对全部期刊的引文数据,严格按题名、作者、刊名、年、卷、期、页等进行分项切分后,进行规范化处理和有效链接,经统计分析,编制而成。2008年《世界华人消化杂志》总被引频次3683次,影响因子0.729,即年指标0.142,引用期刊数732,学科扩散指标0.533,被引半衰期4.303,H指数8。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

尼卡地平对胰腺癌Patu8988株培美曲塞耐药的逆转作用

杨军, 石欣, 严伟, 林士波, 顾海涛, 钱程佳

■背景资料

多药耐药严重影响胰腺癌的化疗效果, 目前对胰腺癌耐药机制的研究是一大热点, 其中ABC多药转运蛋白家族正越来越被重视, 该家族成员主要作用之一是转运各种化疗药物排出细胞, 肿瘤细胞高表达该家族成员往往预示着化疗药物在该细胞内的浓度不易积聚, 即不易达到作用浓度而导致耐药发生。二氢吡啶类钙离子阻滞剂(尼卡地平)作用于底物结合位点, 与化疗药物起竞争性作用, 这就为逆转耐药提供了可能的方法。

杨军, 石欣, 严伟, 林士波, 顾海涛, 钱程佳, 东南大学临床医学院 东南大学中大医院普外科 江苏省南京市 210009
杨军, 在读硕士, 主要从事胰腺癌及其耐药机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30772541

新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, NCET-06-0469

作者贡献分布: 此课题由石欣、严伟及杨军设计; 研究过程由杨军、严伟及林士波完成; 数据分析由顾海涛与钱程佳完成; 论文写作由杨军与石欣完成。

通讯作者: 石欣, 副教授, 210009, 江苏省南京市, 东南大学临床医学院, 东南大学附属中大医院普外科. shixined@hotmail.com
电话: 025-83272206

收稿日期: 2009-10-26 修回日期: 2009-11-25

接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2010-01-18

Nicardipine reverses the resistance of human pancreatic carcinoma Patu8988 cell line to pemetrexed

Jun Yang, Xin Shi, Wei Yan, Shi-Bo Lin, Hai-Tao Gu, Cheng-Jia Qian

Jun Yang, Xin Shi, Wei Yan, Shi-Bo Lin, Hai-Tao Gu, Cheng-Jia Qian, Department of General Surgery, Zhongda Hospital, Clinical Medicine College, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30772541; and the Program for New Century Excellent Talents in University, No. NCET-06-0469

Correspondence to: Associate professor Xin Shi, Department of General Surgery, Zhongda Hospital, Clinical Medicine College, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. shixined@hotmail.com

Received: 2009-10-26 Revised: 2009-11-25

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate whether safe doses of nicardipine, an antagonist of ATP-binding cassette subfamily G member 2 (ABCG2), can reverse the resistance of human pancreatic carcinoma Patu8988 cell line to pemetrexed.

METHODS: The maximal safe dose of nicardipine for pemetrexed-resistant Patu8988 strain and its parent strain was determined by methyl thiazoly tetrazolium (MTT) assay. The half maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of pemetrexed alone and in combination with nicardipine for the growth of the two cell strains were measured also by MTT assay. The apoptosis rates of

the two cell strains were examined using DAPI nuclear staining and flow cytometry.

RESULTS: MTT analysis showed that the maximal safe dose of nicardipine for Patu8988 strains was $4.85 \mu\text{mol/L}$ (2.5 mg/L). Although there was no significant difference in the IC_{50} value in parental Patu8988 cell strain between pemetrexed alone and pemetrexed in combination with safe doses of nicardipine, a significant difference was noted in the IC_{50} value in drug-resistant Patu8988 strain ($P < 0.05$). Flow cytometry analysis showed that the apoptosis rate of drug-resistant cells treated with pemetrexed in combination with nicardipine was higher than that of cells treated with pemetrexed alone ($32.27\% \pm 2.8\%$ vs $50.5\% \pm 4.2\%$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Nicardipine at safe doses can increase the sensitivity of drug-resistant Patu8988 cell strain to pemetrexed, but has no significant effect in parental Patu8988 strain.

Key Words: Pancreatic neoplasm; Pemetrexed; Resistance; Nicardipine

Yang J, Shi X, Yan W, Lin SB, Gu HT, Qian CJ. Nicardipine reverses the resistance of human pancreatic carcinoma Patu8988 cell line to pemetrexed. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 132-136

摘要

目的: 探讨ABCG2拮抗剂-尼卡地平在体外安全剂量下能否逆转耐药, 为临床应用提供实验基础。

方法: 采用噻唑蓝法(MTT)测定尼卡地平对Patu8988亲本和耐药细胞的安全使用浓度, 测定单用培美曲塞和联合安全剂量的尼卡地平分别对两株细胞的 IC_{50} 变化; 分别采用DAPI核染色和细胞流式分析在耐药细胞中单用培美曲塞组和联合尼卡地平组凋亡差异。

结果: MTT结果显示尼卡地平在浓度 $<4.85 \mu\text{mol/L}$ (2.5 mg/L)时对细胞基本无不良反应。单用培美曲塞和联合安全剂量的尼卡地平对

■同行评议者

唐文富, 副主任医师, 四川大学华西医院中西医结合科

Patu8988亲本株细胞 IC_{50} 无明显差异, 而对耐药株细胞 IC_{50} 有差异($P<0.05$). 流式细胞分析在耐药细胞中联合尼卡地平组凋亡比例高于单用培美曲塞组($32.27\% \pm 2.8\%$ vs $50.5\% \pm 4.2\%$, $P<0.05$).

结论: 安全剂量下尼卡地平能提高胰腺癌Patu8988耐药细胞株对培美曲塞的敏感性, 而对其亲本株无作用.

关键词: 胰腺癌; 培美曲塞; 耐药; 尼卡地平

杨军, 石欣, 严伟, 林士波, 顾海涛, 钱程佳. 尼卡地平对胰腺癌Patu8988株培美曲塞耐药的逆转作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 132-136

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/132.asp>

0 引言

胰腺癌发生多药耐药是导致胰腺癌化疗效果差的一个重要原因, 而多药耐药发生的原因至今是国内外学者研究的一个热点, 其中已被证明ABC多药转运家族在其中发挥了巨大的作用^[1], 而针对该家族中的某些基因采取拮抗剂治疗的相关研究尚处于起步状态. 本实验室前期通过体外5次大剂量冲击诱导法经过约5 mo成功诱导出对培美曲塞耐药的胰腺癌Patu8988细胞株^[2]($IC_{50} = 2.9$ 倍), 通过Affymetrix基因芯片比对分析发现2000余与耐药相关基因的变化, 经过筛选发现ABC家族中ABCG2、ABCC2、MDR1等基因均有不同程度的提高, 进一步采取RT-PCR及Western blot检测发现耐药株中ABCG2的表达提高最为明显, 是其亲本株的2.5倍. 本研究旨在针对变化最明显的耐药基因ABCG2采取拮抗剂进行逆转实验, 为临床应用提供实验基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌Patu8988株及其经培美曲塞诱导产生的耐药细胞株细胞, 由东南大学医学院中心实验室所保存提供. 高糖DMEM培养基、胎牛血清、胰酶等购于Gibco公司. 培美曲塞为法国礼来公司(Lilly)产品(批号: A512938H). 盐酸尼卡地平注射液(佩尔): 日本山之内制药株式会社(批号: Y001Y01). MTT、DMSO: 美国Sigma公司产品. Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒及DAPI试剂盒: 南京凯基生物科技发展有限公司. 美国伯乐公司BIO-RAD550酶联免疫检测仪. 美国BD公司FACSCalibur流式细胞仪. 日本Olympus公司MF51倒置荧光显微镜.

1.2 方法

1.2.1 人胰腺癌细胞体外培养: 人胰腺癌细胞Patu8988株及耐药细胞株培养于含100 mL/L胎牛血清的高糖DMEM培养液, 常规培养于37℃、50 mL/L CO₂的培养箱中, 细胞单层贴壁生长, 至70%-80%融合时胰蛋白酶消化传代.

1.2.2 MTT法测定尼卡地平对胰腺癌Patu8988亲本株及耐药株细胞的不良反应: 将细胞按 5×10^3 个/孔分别接种于96孔板, 设6副孔, 8 h后每孔分别加入0-194 μ mol/L(0-100 mg/L)的尼卡地平, 继续培养48 h后, 每孔加入MTT溶液20 μ L, 37℃继续孵育4 h, 吸弃孔内培养上清液, 每孔加入150 μ L DMSO, 振荡10 min, 在BIO-RAD550酶联免疫检测仪上测定各孔570 nm波长处吸光度(A)值, 再用SPSS15.0统计软件包计算出 IC_{50} . 实验重复3次. 公式: 抑制率 = 1-加药组A值/对照组A值.

1.2.3 MTT法测定单用培美曲塞及联合安全剂量的尼卡地平对胰腺癌Patu8988亲本株及耐药株细胞 IC_{50} 的变化: 方法同1.2.2. 8 h后每孔分别加入0-5 000 μ mol/L(0-3 000 mg/L)的培美曲塞, 联合用药组另加入4.85 μ mol/L(2.5 mg/L)的尼卡地平(阴性对照孔除外). 实验重复3次.

1.2.4 DAPI法观察耐药株细胞组别内凋亡细胞形态并计数: 24孔板内每孔加入500 μ L培养液, 内含 2×10^4 个对培美曲塞耐药Patu8988株细胞, 设4组, 每组3副孔. 8 h后待细胞贴壁后分别加入总量20 μ L的生理盐水、尼卡地平(终浓度4.85 μ mol/L)、培美曲塞(终浓度300 μ mol/L)、培美曲塞+尼卡地平(终浓度同前), 继续抚育生长48 h; PBS洗涤后滴加DAPI, 室温下暗处10 min; PBS漂洗3 min \times 3次; 荧光显微镜下($\times 200$ 倍)每孔随机计3个视野细胞, 观察、成像; 统计每视野凋亡细胞平均数(包括早、中、晚3期).

1.2.5 流式细胞分析耐药株细胞各组凋亡细胞比例: 对培美曲塞耐药Patu8988株细胞平均传代至4个25 mL培养瓶, 每瓶含培养液2 mL, 细胞数约 1×10^5 个. 8 h后分别加入80 μ L生理盐水、尼卡地平、培美曲塞、培美曲塞+尼卡地平(终浓度同上). 48 h后用不含EDTA的胰酶消化离心, 倒去上清液, 用500 μ L Binding Buffer悬浮细胞; 转入EP管内; 加入5 μ L Annexin V-FITC及Propidium Iodide, 室温避光反应10 min; 荧光显微镜下检测. 实验重复3次.

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS15.0统计软件进行数据分析, 配对资料采

■ 相关报道

Zhou等利用尼卡地平(1, 4-二氢吡啶类钙离子阻滞剂)与米托蒽醌体外联合作用于高表达ABCG2的对米托蒽醌耐药的乳腺癌MCF-7/MX100细胞株和非小细胞性肺癌H460/MX20后发现细胞内的米托蒽醌积累是单用米托蒽醌的4.5倍, 之后小鼠实验也得出相似的结果. 姚进等分别通过体内和体外2个实验联合尼卡地平与尼莫司汀作用于高表达ABCG2耐药基因的神经胶质瘤结果显示联合用药提高了对胶质瘤细胞的杀伤、促进凋亡和延长荷瘤鼠生存期.

■创新盘点

本研究从凋亡角度应用MTT、凋亡核染色及流式细胞分析验证安全剂量下的尼卡地平能成功提高胰腺癌Patu8988耐药株细胞对培美曲塞的敏感性。

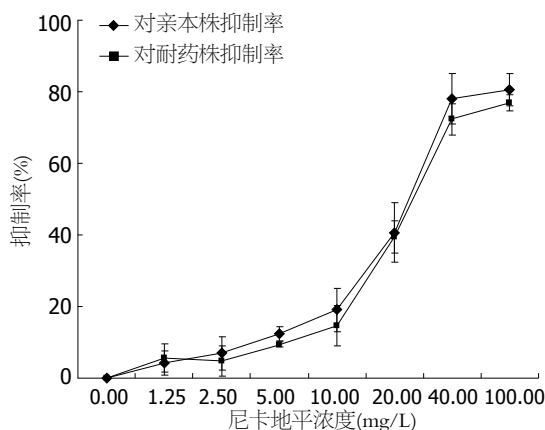


图1 尼卡地平对腺癌细胞Patu8988株及耐药细胞株的抑制作用。

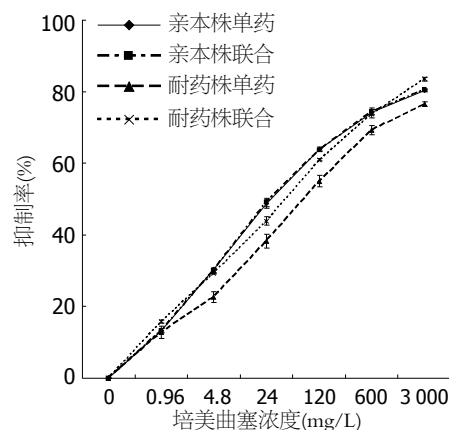


图2 MTT测定培美曲塞单药及联合尼卡地平对腺癌细胞Patu8988株及耐药细胞株的作用。

用 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 尼卡地平对腺癌细胞Patu8988株及耐药细胞株的不良反应 尼卡地平在低浓度(< 2.5 mg/L)对此细胞无明显抑制作用, 随着浓度的增高对细胞的不良反应渐提升(图1)。

2.2 单加培美曲塞及联合尼卡地平对腺癌细胞Patu8988株及耐药细胞株 IC_{50} 的影响 胰腺癌Patu8988株细胞在单加培美曲塞及联合尼卡地平时 IC_{50} 分别为 72.96 mg/L \pm 4.67 mg/L、 72.36 mg/L \pm 5.42 mg/L ($P > 0.05$); 而在对培美曲塞耐药株细胞组分别为 158.36 mg/L \pm 34.29 mg/L、 77.72 mg/L \pm 3.64 mg/L ($P < 0.05$, 图2)。

2.3 DAPI法检测凋亡 耐药株细胞在对照组及单加尼卡地平组中细胞核形态规则, 未见明显凋亡核形态; 在单加培美曲塞组及联合尼卡地平组均可见部分细胞核呈波纹状、染色质高度凝聚, 少数细胞核裂解为碎块, 产生凋亡小体(图3)。计数凋亡细胞平均数, 4组分别为 0.89 ± 0.60 、 1.00 ± 0.71 、 11.44 ± 3.28 、 22.67 ± 4.27 , 联合尼卡地平可增加耐药株细胞对培美曲塞的敏感性, 增加凋亡。

2.4 流式细胞检测 耐药株细胞在对照组、单加尼卡地平组、单加培美曲塞、联合尼卡地平组中细胞凋亡比例分别为 $4.83\% \pm 2.14\%$ 、 $6.43\% \pm 2.53\%$ 、 $32.27\% \pm 2.8\%$ 、 $50.5\% \pm 4.2\%$, 其中在对照组、单加尼卡地平组凋亡比例无明显差异($P > 0.05$), 单加培美曲塞、联合尼卡地平组中凋亡比例有差异($P < 0.05$, 表1)。联合尼卡地平能部分逆转耐药细胞株对培美曲塞的抵抗能力, 实验结果见图3, 4。

3 讨论

胰腺癌是人类最致命的恶性肿瘤之一, 预后极

表1 各组流式细胞凋亡比例

分组	凋亡比例(%)			P值
	第1次	第2次	第3次	
对照组	2.4	5.7	6.4	> 0.05
2.5 mg/L尼卡地平组	3.7	8.7	6.9	
180 mg/L培美曲塞组	30.0	31.4	35.4	< 0.05
2.5 mg/L尼卡地平+ 180 mg/L培美曲塞组	50.7	46.2	54.6	

差, 5年生存率约0.4%-5%。手术能提高5年生存率至20%左右, 然而只有10%-20%患者有手术机会^[3]。化疗是胰腺癌术后重要的辅助治疗手段。

培美曲塞(pemetrexed)是2004年美国食品与药品管理局批准应用于临床一种多靶点抗叶酸合成的药物, 基础研究显示, 培美曲塞能抑制胰腺癌细胞的增殖, 与吉西他滨联合对抑制胰腺癌细胞生长具协同作用^[4]。II期的临床研究表明, 培美曲塞对晚期胰腺癌疗效突出, 且不良反应小^[5]。用培美曲塞作为二线化疗药物, 能显著提高患者的生存时间, 改善预后^[6]。

然而, 虽然新的化疗药物不断被开发出来, 多药耐药(multidrug resistance, MDR)却始终是引起化疗效果下降肿瘤治疗失败的首要原因。前期本实验室成功诱导出对培美曲塞耐药的胰腺癌Patu8988细胞株^[2], 通过Affymetrix基因芯片初筛比分析发现其中多药转运蛋白家族(ATP binding cassette蛋白超家族, ABC蛋白超家族)表达变化显著。经过进一步的鉴定发现其中ABCG2的提高最为明显。ABCG2介导多种物质转运, 是多种化疗药物的转运媒介, 他的变化与化疗效果密切相关^[7-9]。

目前临床上用来克服耐药的方法一般有2

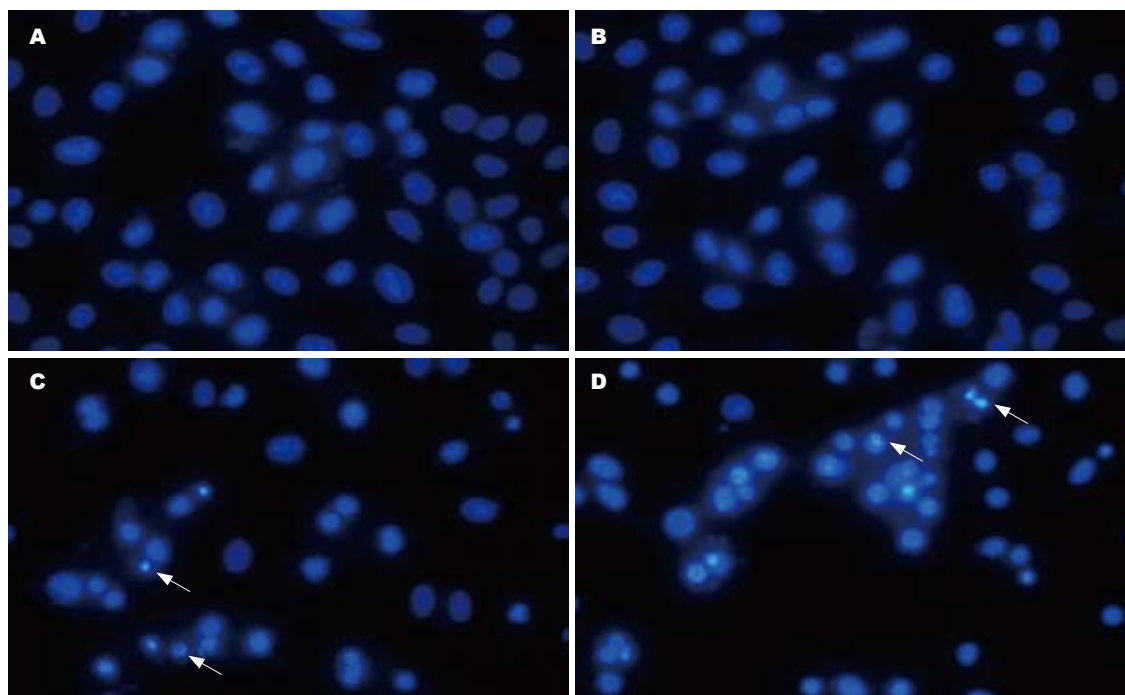


图 3 DAPI法观察耐药株细胞各组凋亡细胞形态. A: 对照组; B: 单加2.5 mg/L尼卡地平组; C: 单加180 mg/L培美曲塞组; D: 联合加入2.5 mg/L尼卡地平+180 mg/L培美曲塞组.

■应用要点

本研究发现尼卡地平能提高Patu8988耐药细胞株对培美曲塞的敏感性, 可能为临床应用提供了实验基础.

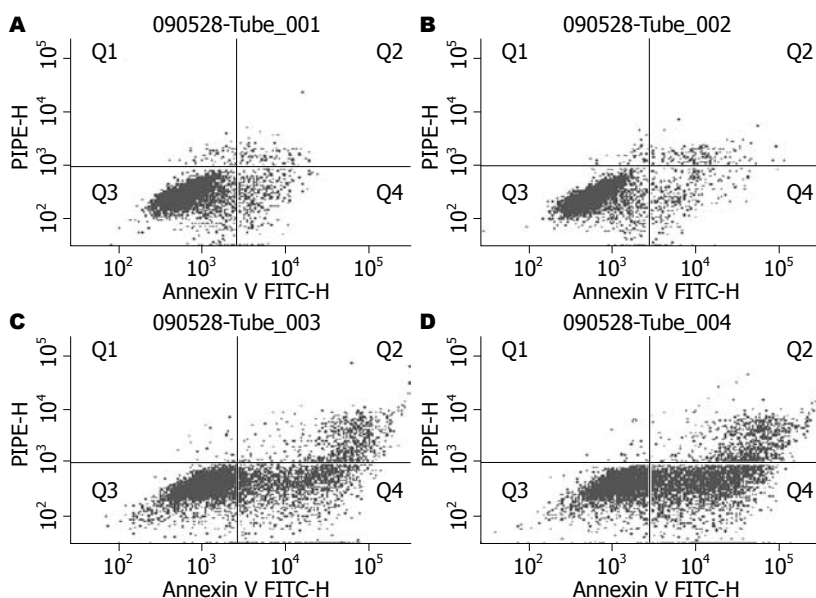


图 4 流式细胞检测各组的凋亡比例. A: 对照组; B: 单加2.5 mg/L尼卡地平组; C: 单加180 mg/L培美曲塞组; D: 联合加入2.5 mg/L尼卡地平+180 mg/L培美曲塞组.

个: 一是选择患者敏感的药物、加大化疗药物的剂量; 二是联合应用多药耐药逆转剂. 通常因为条件限制, 医生很难通过体外实验选取最敏感药物, 而采取经典或经验用药, 有时化疗效果不理想可能需加大用药或联合几种化疗药物, 这可能提高患者出现各种严重的并发症的几率, 所以联合使用逆转剂已成为肿瘤耐药逆转研究的发展趋势.

尼卡地平是临床上常用、不良反应很小的钙离子拮抗剂, 被运用于高血压的治疗, 研究

发现他对于ABCG2也有拮抗作用. Shukla等^[10]利用光亲和标记的方法发现尼卡地平作用于ABCG2底物结合位点, 作为反应底物起竞争性抑制其转运功能. 其逆转机制可能为阻断化疗药物通过ABCG2转运蛋白泵出细胞, 提高细胞内化疗药物浓度. Zhou等^[11]利用尼卡地平(1, 4-二氢吡啶类钙离子阻滞剂)与米托蒽醌体外联合作用于高表达ABCG2的对米托蒽醌耐药的乳腺癌MCF-7/MX100细胞株和非小细胞性肺癌H460/MX20后发现细胞内的米托蒽醌积累是单

■同行评价

本文对尼卡地平对胰腺癌Patu8988株培美曲塞耐药的逆转作用进行研究,结论可靠,学术价值较好,但实验尚需进一步研究。

用米托蒽醌的4.5倍,之后小鼠实验也得出相似的结果。姚进等^[12]分别通过体内和体外两个实验联合尼卡地平和尼莫司汀作用于高表达ABCG2耐药基因的神经胶质瘤结果显示联合用药提高了对胶质瘤细胞的杀伤、促进凋亡和延长荷瘤鼠生存期。

基于上述考虑:尼卡地平可能是临床上潜在的化疗耐药逆转剂。本实验研究尼卡地平逆转对培美曲塞耐药胰腺癌Patu8988株耐药的結果证实其作用。作为逆转剂,药物应具有逆转作用而本身又无细胞毒性作用。MTT实验结果显示,尼卡地平 $<4.85\text{ }\mu\text{mol/L}$ (2.5 mg/L)时对细胞基本无毒性作用,在这浓度下不能增强培美曲塞对Patu8988亲本细胞株的杀伤作用,但能明显增强培美曲塞对高表达ABCG2的Patu8988耐药细胞株的杀伤作用。DAPI染色实验及流式细胞学结果显示,联合用药组细胞凋亡比例明显高于单药组($P<0.05$)。这可能为临床联合应用耐药逆转剂提供了一种实验基础。

总之,化疗药物与耐药逆转剂的联合应用,既可避免增加化疗药物剂量后造成的不良反应,又增强了耐药肿瘤细胞的敏感性,它具有临床应用广阔的前景。

4 参考文献

- 1 Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 105-127
- 2 严伟, 石欣, 葛梓. 胰腺癌细胞株Patu8988对培美曲塞产生获得性耐药的分子生物学机制初步研究. *实用肿瘤学杂志* 2009; 23: 106-109
- 3 Budiharto T, Haustermans K, Van Cutsem E, Van Steenberghe W, Topal B, Aerts R, Ectors N, Bielen D, Vanbekevoort D, Goethals L, Verslype C. A phase I radiation dose-escalation study to determine the maximal dose of radiotherapy in combination with weekly gemcitabine in patients with locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *Radiat Oncol* 2008; 3: 30
- 4 Giovannetti E, Mey V, Danesi R, Mosca I, Del Tacca M. Synergistic cytotoxicity and pharmacogenetics of gemcitabine and pemetrexed combination in pancreatic cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2936-2943
- 5 Miller KD, Picus J, Blanke C, John W, Clark J, Shulman LN, Thornton D, Rowinsky E, Loehrer PJ Sr. Phase II study of the multitargeted antifolate LY231514 (ALIMTA, MTA, pemetrexed disodium) in patients with advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2000; 11: 101-103
- 6 Boeck S, Weigang-Köhler K, Fuchs M, Kettner E, Quietzsch D, Trojan J, Stötzer O, Zeuzem S, Lordick F, Köhne CH, Kröning H, Steinmetz T, Depenbrock H, Heinemann V. Second-line chemotherapy with pemetrexed after gemcitabine failure in patients with advanced pancreatic cancer: a multicenter phase II trial. *Ann Oncol* 2007; 18: 745-751
- 7 Ishikawa T, Nakagawa H. Human ABC transporter ABCG2 in cancer chemotherapy and pharmacogenomics. *J Exp Ther Oncol* 2009; 8: 5-24
- 8 Hegedus C, Szakács G, Homolya L, Orbán TI, Telbisz A, Jani M, Sarkadi B. Ins and outs of the ABCG2 multidrug transporter: an update on in vitro functional assays. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 47-56
- 9 Polgar O, Robey RW, Bates SE. ABCG2: structure, function and role in drug response. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2008; 4: 1-15
- 10 Shukla S, Robey RW, Bates SE, Ambudkar SV. The calcium channel blockers, 1,4-dihydropyridines, are substrates of the multidrug resistance-linked ABC drug transporter, ABCG2. *Biochemistry* 2006; 45: 8940-8951
- 11 Zhou XF, Yang X, Wang Q, Coburn RA, Morris ME. Effects of dihydropyridines and pyridines on multidrug resistance mediated by breast cancer resistance protein: in vitro and in vivo studies. *Drug Metab Dispos* 2005; 33: 1220-1228
- 12 姚进, 黄强, 刁艺, 吴自成, 储亮, 王爱东, 董军, 兰青. 胶质瘤SP细胞耐药靶分子ABCG2的实验研究. *中国神经肿瘤杂志* 2008; 6: 10-14

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

EIF-5A2在肝细胞癌中的表达及其与VEGF、MVD的关系

赖旭东, 陈晓辉, 许贺标, 刘玉荣, 马宁芳

赖旭东, 广州市红十字会医院急诊科 广东省广州市 510220
陈晓辉, 广州医学院第一附属医院急诊科 广东省广州市 510182
许贺标, 刘玉荣, 马宁芳, 广州医学院组织学与胚胎学教研室 广东省广州市 510260
赖旭东, 医学硕士, 主要从事消化系统肿瘤研究。
广州市教育局高校科技计划基金资助项目, No. 61053
作者贡献分布: 课题设计、实施由马宁芳与陈晓辉完成; 具体实验操作由赖旭东与许贺标完成; 刘玉荣负责数据的整理及统计分析; 赖旭东、马宁芳及陈晓辉负责论文撰写。
通讯作者: 马宁芳, 教授, 510182, 广东省广州市, 广州医学院组织学与胚胎学教研室. maningfang@yahoo.com.cn
收稿日期: 2009-10-09 修回日期: 2009-11-30
接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Correlations of EIF-5A2 protein expression with VEGF expression and microvessel density in hepatocellular carcinoma

Xu-Dong Lai, Xiao-Hui Chen, He-Biao Xu, Yu-Rong Liu, Ning-Fang Ma

Xu-Dong Lai, Department of Emergency Medicine, Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China
Xiao-Hui Chen, Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260, Guangdong Province, China
He-Biao Xu, Yu-Rong Liu, Ning-Fang Ma, Department of Histology and Embryology, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, Guangdong Province, China
Supported by: the Science and Technology Program of Guangzhou Municipal Bureau of Education, No. 61053
Correspondence to: Professor Ning-Fang Ma, Department of Histology and Embryology, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, Guangdong Province, China. maningfang@yahoo.com.cn
Received: 2009-10-09 Revised: 2009-11-30
Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the correlations of eukaryotic initiation factor-5A2 (EIF-5A2) expression with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, microvessel density (MVD) and clinicopathological parameters in hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Immunohistochemistry was used to determine the expression of EIF-5A2, VEGF and CD34 in 49 HCC tissues and 6 normal liver

tissues. The MVD was calculated by counting CD34-labeled vessels. The correlations of EIF-5A2 expression with VEGF expression, MVD and clinicopathological parameters in HCC were then analyzed.

RESULTS: The positive rates of EIF-5A2, VEGF and CD34 expression in 49 HCC tissues were 87.7%, 89.7% and 100%, respectively. In contrast, EIF-5A2 and CD34 expression was not detected and VEGF was weakly detected in normal liver tissues. EIF-5A2 expression was positively correlated with VEGF expression and MVD ($r = 0.416$ and 0.321 , respectively; both $P < 0.05$) in HCC. There were no significant differences in EIF-5A2 expression, VEGF expression and MVD between HCC tissues containing a single tumor focus and multiple tumor foci. No differences were found in the expression of EIF-5A2 and VEGF among HCCs of different diameters though a significant difference was noted in MVD. The levels of EIF-5A2 and VEGF expression and MVD were significantly higher in HCC patients with portal vein tumor thrombosis than in those without portal vein tumor thrombosis (all $P < 0.05$). Significant differences were also noted in EIF-5A2 and VEGF expression and MVD between HCC with an integral capsule and that without an integral capsule (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: EIF-5A2 is highly expressed in HCC tissues. EIF-5A2 expression is positively correlated with VEGF expression and MVD in HCC. The overexpression of EIF-5A2 may play an important role in portal vein encroachment and metastasis of HCC.

Key Words: Eukaryotic initiation factor-5A2; Vascular endothelial growth factor; Microvessel density; Hepatocellular carcinoma; Immunohistochemistry

Lai XD, Chen XH, Xu HB, Liu YR, Ma NF. Correlations of EIF-5A2 protein expression with VEGF expression and microvessel density in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 137-142

摘要

目的: 探讨真核翻译起始因子-5A2(eukaryotic

■背景资料

真核生物翻译起始因子-5A2(EIF-5A2)为人卵巢癌UACC-1598细胞3q26.2高扩增区段内新发现的癌基因,属EIF-5A家族,其在大部分正常组织内无表达,而在肿瘤组织内特异性表达,研究发现其高表达与卵巢癌的临床分期密切相关。

■同行评议者

刘平, 教授, 南京医科大学第一附属医院肿瘤科

■研究前沿

HCC生长快、转移早、死亡率高。血管生成是HCC恶化的第一步,目前阻断HCC血管生成已成为临床治疗的热点,因此以血管生成信号传导通路为靶向的抗血管治疗是颇具潜力的、抗HCC浸润、转移和术后复发的治疗方法。

initiation factor 5A2, EIF-5A2)在肝癌内的表达及其与VEGF表达、血管密度和临床病理指标的关系。

方法: 用免疫组织化学方法检测49例HCC组织及6例正常肝组织中EIF-5A2、VEGF和CD34的表达,计数微血管密度(MVD),并结合临床病理特征进行比较分析。

结果: 49例HCC组织中EIF-5A2、VEGF、CD34阳性表达率分别为87.7%、89.7%及100.0%,正常肝组织EIF-5A2、CD34表达呈阴性,VEGF表达为阴性或弱阳性。肝癌组织中EIF-5A2蛋白表达与VEGF表达及MVD间均呈正相关($r = 0.416, 0.321$, 均 $P < 0.05$);不同肿瘤灶数量的HCC组织EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别无显著性,不同直径HCC的EIF-5A2、VEGF蛋白表达差别亦无显著性,而不同直径的HCC的MVD差别有显著性($P < 0.05$)。有癌栓形成组与无癌栓组相比EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均有显著性(均 $P < 0.05$)。肿瘤包膜完整组与无包膜/包膜不完整组两组间EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均有显著性(均 $P < 0.05$)。

结论: 肝癌组织中有较高的EIF-5A2阳性表达;EIF-5A2表达与VEGF表达及MVD呈正相关,与HCC组织血管侵犯和转移倾向有关。

关键词: 真核翻译起始因子-5A2; 血管内皮生长因子; 微血管密度; 肝细胞癌; 免疫组织化学

赖旭东, 陈晓辉, 许贺标, 刘玉荣, 马宁芳. EIF-5A2在肝细胞癌中的表达及其与VEGF、MVD的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 137-142

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/137.asp>

0 引言

真核翻译起始因子-5A2(eukaryotic initiation factor-5A2, EIF-5A2)是在人卵巢癌UACC-1598细胞内发现的新癌基因^[1],为真核生物翻译起始因子-5A(eukaryotic initiation factor 5A, EIF-5A)家族中的一员,其表达产物与EIF-5A有82%同源性。EIF-5A蛋白在生物合成后,其分子上的赖氨酸即被N'-赖氨酸合酶(deoxyhypusine synthase, DHPS)催化修饰形成8-羧基2, 7, 10-三氨基癸酸(hypusine),进而使EIF-5A活化以维持细胞的正常增殖,抑制DHPS活性将延缓正常细胞或各种肿瘤细胞的细胞周期^[2,3]。EIF-5A mRNA及蛋白广泛表达于人体正常组织或肿瘤细胞,而同样受DHPS作用的EIF-5A2仅在正常睾丸和脑细

胞中有弱表达,但某些肿瘤细胞内如卵巢癌和结肠癌等,EIF-5A2却有很强的表达,且与临床分期密切相关^[4,5],提示EIF-5A2极可能为一个转移相关基因。原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种强的血管依赖性肿瘤,具有生长快、转移早和高死亡率的特点,血管生成是其恶化的第一步,因此以血管生成信号传导通路为靶向的抗血管治疗是颇具潜力的、抗HCC浸润、转移和术后复发的治疗方法^[6],但在血管生成过程中,许多信号分子调控机制目前还不清楚。有报道报道抑制EIF-5A2的激活因子DHPS将影响血管内皮细胞的增殖及血管发生,提示EIF-5A2表达可能与血管生成有关^[7]。本研究采用免疫组织化学的方法检测肝癌组织内EIF-5A2、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等表达并计数HCC的微血管密度(microvascular density, MVD),旨在探讨EIF-5A2表达与VEGF表达、MVD及HCC主要临床病理特征的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选取广州附属肿瘤医院病理科2008年HCC切除标本49例,男43例,女6例,年龄28-74(平均48.6)岁。所有标本病理诊断均为HCC,肝癌病理分级按Edmondson方法分级I-II级38例,III级11例。49例肝癌标本中,肿瘤直径 < 5 cm有17例,肿瘤直径 > 5 cm者32例,36例有门脉血管转移。另取6例正常肝移植供体活检肝组织切片作正常对照。鼠抗人EIF-5A2单克隆抗体由香港大学临床肿瘤学系关新元教授惠赠,兔抗人VEGF多克隆抗体、鼠抗人CD34单克隆抗体及兔/鼠两步法检测试剂盒(UltraVision Detection System, HRP/DAB)均为NeoMarkers产品。

1.2 方法

1.2.1 切片制备: 所有标本组织均经过常规100 g/L的甲醛溶液固定,石蜡包埋。载玻片经泡酸、高温灭菌、多聚赖氨酸涂片处理。连续切片,片厚4 μ m,分别行HE染色作复诊、组织病理学分级以及EIF-5A2、VEGF及CD34免疫组织化学染色。

1.2.2 EIF-5A2和VEGF结果判定标准: 采用双盲评分法。在排除非特异性染色的前提下,以黄色、棕黄色、棕褐色为阳性,计分方法A:按切片中细胞染色的深浅评分,0分-无着色;1分-细胞染色呈浅黄色;2分-细胞染色呈棕黄色;3分-细胞染色呈棕褐色。B:按切片中的阳性细胞比

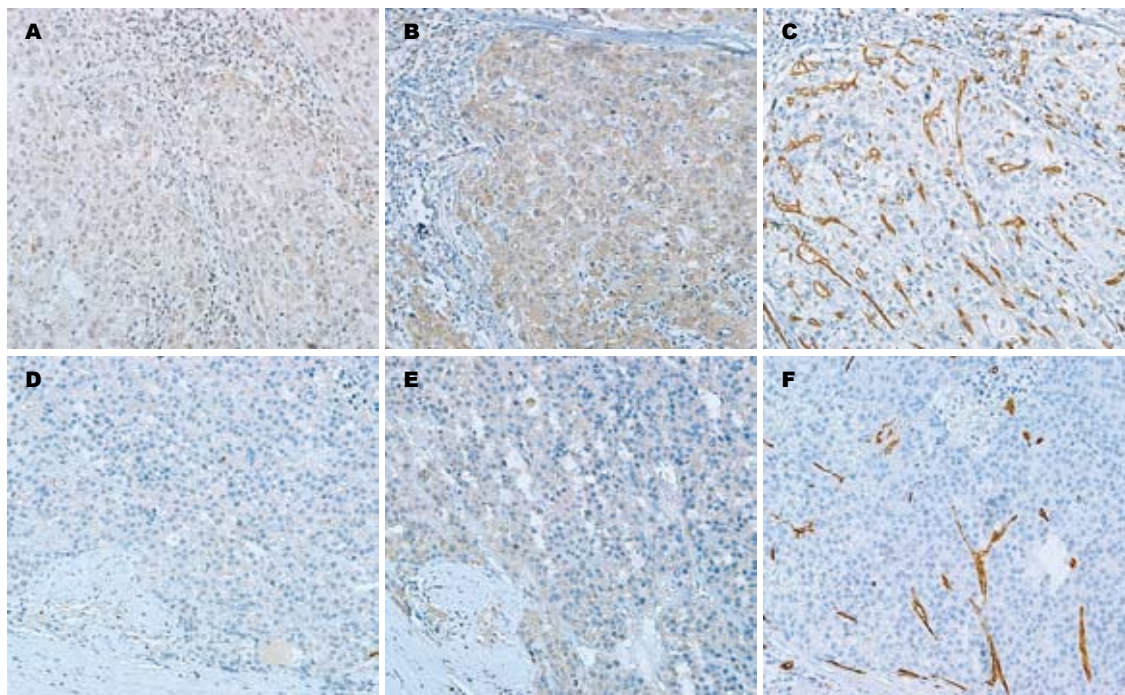


图1 相邻肝癌组织切片示EIF-5A2、VEGF表达及MVD(×200)。A: EIF-5A2蛋白高表达; B: VEGF蛋白高表达; C: 高MVD; D: EIF-5A2蛋白低表达; E: VEGF蛋白低表达; F: 低MVD; A-C: 为同一例标本相邻切片; D-E: 另1例标本相邻切片。

■相关报道

有研究对多种腺癌的原发灶、转移灶差异表达基因进行比较,发现有17种差异表达基因与转移有关,其中包括在EIF-5A及EIF-5A2的赖氨酸修饰中起关键作用的DHPS。

例评分, 每例随机观察5个视野, 每个视野100个细胞, 计数500个细胞中染色阳性的细胞数, 0分-显色细胞数≤5%; 1分-显色细胞数占5%-25%; 2分-显色细胞数占25%-50%; 3分-显色细胞数占50%-75%; 4分-75%以上的细胞显色。每例标本染色积分 = A×B, 若乘积≤1为阴性, >1为阳性。

1.2.3 CD34结果及MVD判定标准: 根据Weidner^[8]计数方法, 每一染成棕黄色的、可与周围肿瘤细胞或组织区分开来的内皮细胞或内皮细胞簇, 均作为1个单一的微血管。管腔面积大于8个红细胞直径或带有较厚肌层的微血管均不计数。肿瘤内细胞稀少区域的微血管不进行计数。结果判定在双盲法下进行。于低倍镜(×40和×100)下选取5个微血管最多的视野即热点区(Hotspot), 再于高倍(×400)视野下计数微血管的数目, 求得5个视野的均值作为MVD。硬化、炎症及坏死区的微血管不计入计数结果。若管腔大且长的特殊类型血管, 采用Taniganwa等报道的改良法计算^[9], 即每40 μm长度的此类血管计数为一个MVD值。

统计学处理 所有数据均经统计软件SPSS 12.0进行统计分析, EIF-5A2表达与VEGF的表达及MVD相关性采用单因素Spearman相关分析, EIF-5A2、VEGF表达和MVD与肝癌临床病理因素的分析采用 t 检验。以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。EIF-5A2、VEGF表达分值、MVD值以mean±

表1 EIF-5A2、VEGF、CD34在肝癌及正常肝组织中的表达

组织类型	n	阳性率(%)		
		EIF-5A2	VEGF	CD34
肝癌组织	49	87.7	89.7	100.0
正常肝组织	6	0.0	0.0	0.0

SD表示。

2 结果

2.1 EIF-5A2、VEGF、CD34在肝癌组织中的表达及相互间的关系 49例肝癌组织中EIF-5A2表达阳性43例(87.7%, 表1), 阳性表达呈浅黄色或棕黄色, 定位于肝癌细胞胞质, 癌体周边细胞EIF-5A2的表达明显强于癌体中央细胞(图1A, D), 并可见其浸润穿越周围的结缔组织, 呈侵袭性生长; VEGF阳性表达44例(89.7%, 表1), 阳性表达呈棕黄色或棕褐色, 定位于细胞质(图1B, E), 与EIF-5A2表达有相同趋势; 49例组肝癌组织均有CD34表达(100%, 表1), 阳性表达呈棕褐色, 定位于肿瘤区内皮细胞胞质, 可见散在CD34阳性内皮细胞或内皮细胞簇, 部分微血管有管腔, 形态不规则, 低分化肝癌组织内的微血管密度大于分化程度高的肝癌组织(图1C, F)。正常对照肝组织EIF-5A2呈阴性表达, VEGF呈阴性或弱阳性表达。Spearman相关分析显示EIF-5A2与

■创新盘点

本研究用免疫组织化学方法观察EIF-5A2在HCC的表达,探讨了EIF-5A2表达与HCC内VEGF表达、MVD及其临床病理特征之间的关系,为研究EIF-5A2在HCC中的作用机制提供了一定理论基础。

表 2 EIF-5A2、VEGF及CD34(MVD)的单因素相关分析

	EIF-5A2	VEGF	MVD
EIF-5A2			
<i>r</i> 值	1.000	0.416	0.321
<i>P</i> 值	—	<0.05	<0.05
VEGF			
<i>r</i> 值	0.416	1.000	0.385
<i>P</i> 值	<0.05	—	<0.05
MVD			
<i>r</i> 值	0.321	0.385	1.000
<i>P</i> 值	<0.05	<0.05	—

VEGF、EIF-5A2与MVD及VEGF与MVD间均存在正相关(表2)。

2.2 EIF-5A2、VEGF蛋白表达、MVD与临床病理特征的关系 不同肿瘤数量的HCC组织EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别无显著性($P>0.05$),不同直径HCC的EIF-5A2、VEGF蛋白表达差别无显著性($P>0.05$),而不同直径HCC的MVD差别有显著性($P<0.05$)。有癌栓形成组与无癌栓组相比EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均有显著性($P<0.05$)。49例HCC中,肿瘤包膜完整组与无包膜/包膜不完整组两组间EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均有显著性($P<0.05$)。根据Edmonds病理分级,49例HCC中,I-II级与III级两组间EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均无显著性($P>0.05$)。AFP值 $\leq 50 \mu\text{g/L}$ 与 $>50 \mu\text{g/L}$ 两组间EIF-5A2、VEGF蛋白表达及MVD差别均无显著性($P>0.05$,表3)。

3 讨论

本研究结果显示人正常肝组织无EIF-5A2表达,而HCC组织中有EIF-5A2表达,癌周缘EIF-5A2表达明显强于癌体中央,提示肿瘤侵袭的前沿细胞中EIF-5A2合成较多。统计学分析结果显示门脉癌栓形成、包膜不完整的HCC组织EIF-5A2表达明显高于无门脉癌栓形成及有包膜的HCC组织,表明EIF-5A2表达与HCC的发展及转移有关。

血管生成在肿瘤生长及转移过程中起关键作用,其提供丰富的营养,为肿瘤的浸润及转移创造条件。肿瘤细胞释放的促血管生成因子可作用于内皮细胞,促进新血管的生成,其中VEGF是目前公认的直接参与新血管生成的因子,能刺激血管内皮细胞增殖、降解血管外基质,导致内皮细胞分裂、迁移,形成大量新生血

管,满足肿瘤不断生长的需要^[10]。HCC是富血管肿瘤,其特点为易侵犯门脉系统、早期发生播散和转移^[11,12]。鉴于EIF-5A2在HCC中的表达特点,本研究进一步探讨了HCC中血管生成因子VEGF表达及MVD与EIF-5A2表达的关系。大量研究证实VEGF与HCC生长、转移和新生血管形成关系密切^[13,14]。正常情况下,VEGF广泛分布于人体许多组织中以维持正常血管密度和营养物质的供应,但其表达水平低,普通方法难以测出,与之相比多数恶性肿瘤存在VEGF高表达^[15],这与本实验观察到的VEGF在HCC组织及正常肝组织中的表达情况一致。本实验中HCC组织VEGF表达定位及强度趋势与EIF-5A2非常接近,多数EIF-5A2高表达的HCC组织尤其是肿瘤周边的EIF-5A2高表达细胞其VEGF也同样高表达,而EIF-5A2阴性或弱表达组织其VEGF表达也弱,二者之间呈正相关,提示EIF-5A2可能与VEGF调控有关。

MVD是反映恶性肿瘤侵袭和转移等生物学行为的一个重要指标^[9,10],通常以抗CD34抗体标记肝癌新生血微血管内皮细胞来计算MVD^[16]。许多研究显示肝癌组织中的MVD与肿瘤的转移及复发相关^[9]。本研究采用CD34免疫组织化学染色计数肝癌的MVD,结果显示高分化及低分化的HCC组织中MVD差异显著,即分化越差,MVD计数越高,说明HCC微血管生成与其本身生物学特征有关。统计学分析结果显示MVD计数与EIF-5A2表达程度正相关,即EIF-5A2高表达的瘤组织MVD计数高,提示EIF-5A2表达与微血管形成密切相关。EIF是细胞蛋白合成过程中的一个上游调控因子,细胞快速增长及分裂的启动有赖于蛋白合成酶系统活性的上调。细胞内大量生长相关基因的mRNA表达受严格的翻译后调控,任何翻译因子表达水平的微小变化都会打破平衡,使各种蛋白表达量发生改变而引起细胞生物学行为的变化^[17]。作为EIF-5A家族成员,EIF-5A2蛋白表达上调可能会引起其他肿瘤相关因子如VEGF的表达增强,继而产生相应的细胞生物学改变如癌细胞无限增殖、血管形成等。此外本研究显示MVD计数与HCC包膜完整性及癌栓的生成有关,此结果与以往的研究报道一致,进一步说明EIF-5A2、VEGF及MVD之间的关系密切。目前阻断肿瘤血管形成已成为临床肿瘤治疗研究的热点,如何选择有效的治疗靶点阻断肿瘤新生血管形成是亟待解决的问题。本研究结果显示EIF-5A2作为蛋

表 3 EIF-5A2、VEGF表达及MVD与HCC临床病理特征的关系

病理参数	n	EIF-5A2表达	VEGF表达	MVD
肿瘤数量				
单个	27	7.66 ± 1.30	8.15 ± 1.16	52.04 ± 3.54
多个	22	7.32 ± 2.45	7.96 ± 1.05	54.25 ± 4.12
肿瘤大小(cm)				
≤5	17	7.25 ± 2.12	7.89 ± 1.05	46.56 ± 4.22
>5	32	6.94 ± 1.22	7.94 ± 1.66	53.18 ± 3.24 ^a
癌栓				
有	36	7.24 ± 1.25 ^a	8.45 ± 0.84 ^a	56.45 ± 3.81 ^a
无	13	6.15 ± 2.01	7.50 ± 1.20	48.50 ± 3.63
包膜				
有	35	6.82 ± 1.64	7.48 ± 1.45	49.64 ± 3.87
无/不完整	14	7.79 ± 1.85 ^a	8.39 ± 1.13 ^a	59.50 ± 4.06 ^a
病理分级				
I – II	38	7.55 ± 1.60	7.85 ± 1.26	52.26 ± 2.89
III – IV	11	7.84 ± 1.94	8.02 ± 0.95	54.67 ± 3.36
AFP (μg/L)				
≤50	14	7.28 ± 2.10	8.05 ± 0.85	51.67 ± 3.46
>50	35	7.45 ± 1.78	8.23 ± 1.85	52.14 ± 4.22

t检验, ^aP<0.05.

白EIF, 在肝癌有特异性表达, 且与VEGF表达及MVD密切相关, 有望成为阻断HCC血管形成的有效靶点.

4 参考文献

1 Guan XY, Sham JS, Tang TC, Fang Y, Huo KK, Yang JM. Isolation of a novel candidate oncogene within a frequently amplified region at 3q26 in ovarian cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3806-3809

2 Jansson BP, Malandrin L, Johansson HE. Cell cycle arrest in archaea by the hypusination inhibitor N(1)-guanylyl-1,7-diaminoheptane. *J Bacteriol* 2000; 182: 1158-1161

3 Lee Y, Kim HK, Park HE, Park MH, Joe YA. Effect of N1-guanylyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2002; 237: 69-76

4 Guan XY, Fung JM, Ma NF, Lau SH, Tai LS, Xie D, Zhang Y, Hu L, Wu QL, Fang Y, Sham JS. Oncogenic role of eIF-5A2 in the development of ovarian cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 4197-4200

5 Xie D, Ma NF, Pan ZZ, Wu HX, Liu YD, Wu GQ, Kung HF, Guan XY. Overexpression of EIF-5A2 is associated with metastasis of human colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2008; 39: 80-86

6 Wood JM, Bold G, Buchdunger E, Cozens R, Ferrari S, Frei J, Hofmann F, Mestan J, Mett H, O'Reilly T, Persohn E, Rösel J, Schnell C, Stover D, Theuer A, Towbin H, Wenger F, Woods-Cook K, Menrad A, Siemeister G, Schirner M, Thierauch KH, Schneider MR, Dreys J, Martiny-Baron G, Totzke F. PTK787/ZK 222584, a novel and potent inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases,

impairs vascular endothelial growth factor-induced responses and tumor growth after oral administration. *Cancer Res* 2000; 60: 2178-2189

7 Clement PM, Hanauske-Abel HM, Wolff EC, Kleinman HK, Park MH. The antifungal drug ciclopirox inhibits deoxyhypusine and proline hydroxylation, endothelial cell growth and angiogenesis in vitro. *Int J Cancer* 2002; 100: 491-498

8 Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 169-180

9 Tanigawa N, Lu C, Mitsui T, Miura S. Quantitation of sinusoid-like vessels in hepatocellular carcinoma: its clinical and prognostic significance. *Hepatology* 1997; 26: 1216-1223

10 Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, Unger C, Marmé D, Gastl G. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999; 85: 178-187

11 汤钊猷. 肝癌外科治疗的进展. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 249-254

12 Rampone B, Schiavone B, Martino A, Viviano C, Confuorto G. Current management strategy of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3210-3216

13 Jinno K, Tanimizu M, Hyodo I, Nishikawa Y, Hosokawa Y, Doi T, Endo H, Yamashita T, Okada Y. Circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) is a possible tumor marker for metastasis in human hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 1998; 33: 376-382

14 El-Assal ON, Yamanoi A, Soda Y, Yamaguchi M, Igarashi M, Yamamoto A, Nabika T, Nagasue N. Clinical significance of microvessel density and

■应用要点

本研究证实, EIF-5A2表达与VEGF表达及MVD呈正相关, 与HCC组织血管侵犯和转移倾向有关. 为更深入研究EIF-5A2的作用机制, 寻找新的肿瘤预后诊断标记、设计有效的肿瘤治疗靶点提供理论依据.

■同行评价

本文研究了EIF-5A2在肝细胞癌中的表达及其与VEGF、MVD的关系,方法较为单一,有一定的科学性和可读性。

- vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of cirrhotic liver. *Hepatology* 1998; 27: 1554-1562
- 15 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Yamazaki M, Kikukawa M, Tsujinoue H, Nakatani T, Fukui H. Vascular endothelial growth factor tightly regulates in vivo development of murine hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 1998; 28: 1489-1496
- 16 黄晓武, 樊嘉, 吴志金, 孙惠川, 汤钊猷. 肝细胞肝癌与局灶性结节性增生微血管的免疫组化染色比较. *中华肝胆外科杂志* 2004; 10: 752-756
- 17 Hershey JWB, Miyamoto S. Translational control and cancer. In: Sonenberg N, Hershey JWB, Mathews MB, eds. *Translational Control of Gene Expression*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000: 637-654

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》计量单位标准

本刊讯 本刊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 $37.6^{\circ}\text{C} \pm 1.2^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $\times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或 $\mu\text{mol/L}$ 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 $10\text{ cm} \times 6\text{ cm} \times 4\text{ cm}$. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、 CO_2 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 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 μg , hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO_2 , 50 mL/L CO_2 ; 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.

血小板衍生内皮细胞生长因子在胰腺癌组织中的表达及其临床意义

唐光华, 倪润洲, 肖明兵, 江枫, 陈健华, 黄华

唐光华, 倪润洲, 肖明兵, 江枫, 陈健华, 黄华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001
唐光华, 医学硕士, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤早期诊断的研究。

江苏省“六大人才高峰”基金资助项目, No. 2006073

南通市社会发展基金资助项目, No. S2007028

作者贡献分布: 此课题由倪润洲设计、总负责; 唐光华、肖明兵、江枫、陈健华及黄华收集标本及进行免疫组织化学研究; 数据分析由唐光华与肖明兵完成; 论文撰写由倪润洲与唐光华完成。

通讯作者: 倪润洲, 教授, 主任医师, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院消化内科。nirz@163.com

收稿日期: 2009-08-25 修回日期: 2009-11-15

接受日期: 2009-11-23 在线出版日期: 2010-01-18

Clinical significance of PD-ECGF expression in human pancreatic carcinoma

Guang-Hua Tang, Run-Zhou Ni, Ming-Bing Xiao, Feng Jiang, Jian-Hua Chen, Hua Huang

Guang-Hua Tang, Run-Zhou Ni, Ming-Bing Xiao, Feng Jiang, Jian-Hua Chen, Hua Huang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Foundation for “Talents in Six Fields” of Jiangsu Province, No. 2006073; and the Social Development Foundation of Nantong City, No. S2007028

Correspondence to: Professor Run-Zhou Ni, MD, PhD, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. nirz@163.com

Received: 2009-08-25 Revised: 2009-11-15

Accepted: 2009-11-23 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) in human pancreatic carcinoma and evaluate its clinical significance.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of PD-ECGF in 36 paraffin-embedded pancreatic carcinoma specimens, 21 tumor-adjacent normal tissue specimens, and 60 cancerous specimens derived from other tissues (stomach, colon, esophagus, liver, lung and breast; 10 specimens each). The expression of PD-ECGF in different tissues was compared.

The correlation between PD-ECGF expression and clinical parameters in pancreatic carcinoma was analyzed.

RESULTS: The positive rate of PD-ECGF in pancreatic carcinoma was higher than that in tumor-adjacent normal tissue (88.9% vs 28.6%, $P < 0.01$). The positive rates of PD-ECGF in cancerous colon, liver, breast, esophagus, stomach and lung tissues were 60%, 70%, 80%, 90%, 90% and 80%, respectively. The positive rate of PD-ECGF in pancreatic carcinoma at stage II-IV was higher than that at stage I (100% vs 75%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: PD-ECGF is an organ-unspecific tumor-associated protein that may be associated with the progression of pancreatic carcinoma.

Key Words: PD-ECGF; Pancreatic carcinoma; Marker for pancreatic carcinoma

Tang GH, Ni RZ, Xiao MB, Jiang F, Chen JH, Huang H. Clinical significance of PD-ECGF expression in human pancreatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 143-148

摘要

目的: 观察血小板衍生内皮细胞生长因子(PD-ECGF)在胰腺癌组织中的表达, 探讨其临床意义。

方法: 利用Elivison免疫组织化学法检测36例手术切除的胰腺癌及21例癌旁正常胰腺组织, 以及胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌及乳腺癌组织各10例中PD-ECGF的表达。分析PD-ECGF与胰腺癌大小、分化程度及淋巴结转移的相关性。

结果: PD-ECGF在胰腺癌组织中的表达阳性率显著高于在癌旁正常胰腺组织(88.9% vs 28.6%, $P < 0.01$)。PD-ECGF在结肠癌、肝癌、乳腺癌、食管癌、胃癌及肺癌组织中的表达阳性率为60%、70%、80%、90%、90%及80%。II-IV期胰腺癌组织中PD-ECGF的表

■背景资料

胰腺癌是一种发病隐匿, 恶性度极高的消化系统肿瘤, 早期诊断困难。CEA和CA19-9等传统血清标志物由于特异性和敏感性较低, 其临床使用价值也有限。因此, 找到新的肿瘤标志物以提高其特异性和敏感性极为重要。

■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科; 刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科; 李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■相关报道

陈哲京等研究了20例胰腺癌病例,有14例PD-ECGF表达阳性,其PD-ECGF表达阳性率(70%)明显高于慢性胰腺炎和正常胰腺组织;胰腺癌PD-ECGF阳性组的MVD明显高于阴性组。另外,通过血管面积的比较发现PD-ECGF阳性组总血管面积(TVA)也明显高于阴性组。

达阳性率显著高于I期胰腺癌组织(100% vs 75%, $P < 0.05$)。

结论: PD-ECGF为一种非特异性的肿瘤相关因子,其可能与胰腺癌的病程进展有关。

关键词: 血小板衍化内皮细胞生长因子; 胰腺癌; 胰腺癌标志物

唐光华, 倪润洲, 肖明兵, 江枫, 陈建华, 黄华. 血小板衍化内皮细胞生长因子在胰腺癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 143-148

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/143.asp>

0 引言

胰腺癌是一种发病隐匿, 恶性度极高的消化系统肿瘤。其预后极差, 中位生存时间为3-5 mo, 超过12 mo仅占10%, 5年生存率不足5%^[1]。胰腺癌的治疗以手术治疗为主。但胰腺癌早期诊断困难, 85%的患者出现症状时已发生淋巴结或远处转移, 失去了根治性切除的机会。因此, 提高胰腺癌的早期诊断率, 对提高其手术切除率, 延长患者生存时间, 降低复发率具有重要意义。然而, CT和B-US等影像手段对早期胰腺肿瘤的确诊仍有一定困难, 而CEA和CA19-9等传统血清标志物由于特异性和敏感性较低, 其临床使用价值也有限。因此, 找到新的肿瘤标志物以提高其特异性和敏感性极为重要。最近, 我们利用蛋白质组技术对胰腺癌组织及癌旁正常胰腺组织中差异表达蛋白质进行了研究, 采用双向电泳分离蛋白质, 快速银染, 以MALDI-TOF MS加以鉴定, 在胰腺癌组织中筛选得到12个上调蛋白^[2]。本文以其中在胰腺癌组织中上调明显的PD-ECGF蛋白作为研究对象, 利用免疫组织化学方法进一步研究他们在胰腺癌组织与正常胰腺组织中的表达差异, 并与其他常见恶性肿瘤(胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌和乳腺癌)相对照, 探讨PD-ECGF在胰腺癌组织中表达的特异性及与临床病理参数之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-2007年南通大学附属医院住院手术的胰腺癌患者36例, 男18例, 女18例, 男:女=1:1, 年龄38-78(平均 61.72 ± 8.32)岁。其中胰腺导管腺癌30例, 黏液腺癌3例, 肉瘤样癌1例, 腺泡细胞癌1例, 腺鳞癌1例。分化程度: 高分化2例, 中分化23例, 低分化及未分化11例。胰腺周围淋

巴结转移8例, 未转移28例。肿瘤部位: 胰头20例, 胰体尾16例; 肿瘤大小: ≤ 3 cm 12例, > 3 cm 24例。TNM分期: I期16例, II期7例, III期1例, IV期12例。胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌和乳腺癌各10例。所有病例均经手术及病理确诊, 均有完整的手术记录及病理诊断资料。所有标本均经10%甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 制作4 μ m病理切片。由两位高年资病理医生阅片确定诊断。鼠抗人PD-ECGF单克隆抗体购自美国Santa Cruz Biotechnology, Inc.; 免疫组织化学染色试剂盒PV9000购自北京中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检查过程: 采用Elivison二步法检测PD-ECGF在胰腺癌及癌旁组织、胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌组织中的表达。所有的标本用甲醛溶液固定, 石蜡包埋。每份标本切成4 μ m的薄片, 常规技术脱蜡, 水化, PBS液洗涤。将切片放置在0.01 mmol/L柠檬酸组织抗原修复液(pH6.0)中, 中档微波处理10 min进行抗原修复, 取出自然冷却至室温。PBS冲洗3次, 每次5 min, 3% H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶10 min, 再次用PBS冲洗3次, 每次5 min。除去PBS液, 每张切片加1滴1:50稀释PD-ECGF鼠抗人单克隆抗体, 在室温条件下孵育1 h。PBS冲洗3次, 每次5 min。除去PBS, 每张切片滴加PV9000试剂1, 室温下孵育20 min。PBS冲洗3次, 每次2 min。除去PBS液, 每张切片滴加PV9000试剂2, 室温下孵育30 min, PBS冲洗3次, 每次2 min。除去PBS液, DAB显色, 水洗, 复染, 封固, 镜检。阴性对照采用PBS替代第一抗体。

1.2.2 免疫组织化学检查结果的判断标准: PD-ECGF表达主要位于细胞质及细胞核内。以出现淡黄色至棕褐色颗粒且染色强度高于背景非特异性着色者为阳性细胞。光镜下半定量结果判断参照许良忠的方法^[3], 综合考虑染色强度和阳性细胞数。染色强度分数标准: 棕褐色3分; 棕黄色2分; 淡黄色1分; 无着色0分。同样物镜下计数阳性细胞数: 一个视野内着色细胞 $> 75\%$ 4分; 51%-75% 3分; 11%-50% 2分; $\leq 10\%$ 1分; 阴性0分。两项得分相乘: 0-3分为阴性表达“-”; 满3分为“+”; 4分为“++”; 5分以上为“+++”。“+~+++”为阳性表达。

统计学处理 用Stata10.0统计软件进行四格表 χ^2 检验及确切概率法检验, 结果 $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

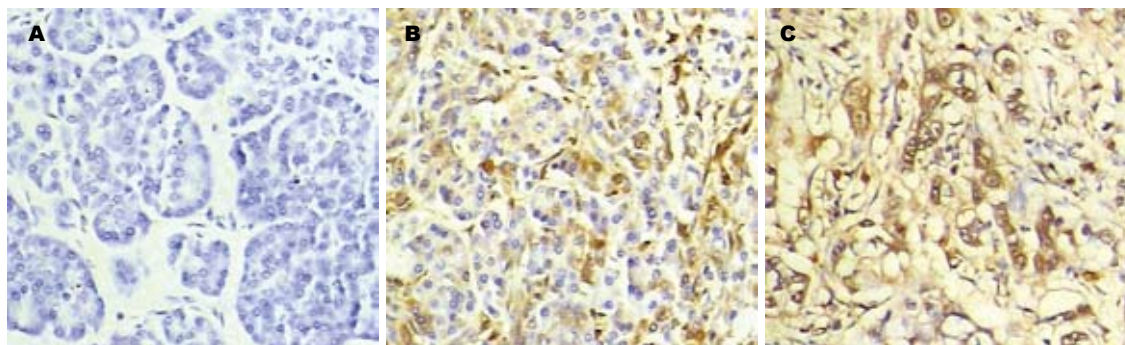


图1 PD-ECGF在胰腺癌及癌旁正常胰腺组织的表达($\times 400$). A: 癌旁正常胰腺组织; B: 高分化胰腺癌; C: 低分化胰腺癌.

表1 PD-ECGF在胰腺癌、癌旁正常胰腺组织以及其他恶性肿瘤中的表达

分组	n	阳性表达 n(%)	表达强度 n(%)			
			-	+	++	+++
胰腺癌	36	32(88.9)	4(11.1)	8(22.2)	11(30.6)	13(36.1)
癌旁组织	21	6(28.6) ^b	15(71.4)	6(28.6)	0(0.0)	0(0.0)
胃癌	10	9(90.0)	1(10.0)	1(10.0)	6(60.0)	2(20.0)
食管癌	10	9(90.0)	1(10.0)	4(40.0)	4(40.0)	1(10.0)
肝癌	10	7(70.0)	3(30.0)	5(50.0)	1(10.0)	1(10.0)
结肠癌	10	6(60.0)	4(40.0)	4(40.0)	1(10.0)	1(10.0)
肺癌	10	8(80.0)	2(20.0)	5(50.0)	2(20.0)	1(10.0)
乳腺癌	10	8(80.0)	2(20.0)	2(20.0)	1(10.0)	5(50.0)

^b $P < 0.01$ vs 胰腺癌.

2 结果

2.1 PD-ECGF在胰腺癌、癌旁正常胰腺组织以及其他恶性肿瘤中的表达 36例胰腺癌中有32例PD-ECGF表达呈阳性, 表达阳性率为88.9%(32/36), 表达强阳性率为36.1%(13/36). PD-ECGF表达主要位于细胞质及细胞核, 随表达强度不同被染色为淡黄、棕黄至棕褐色, 小片状或弥漫性分布. 在癌旁正常胰腺组织中, PD-ECGF的表达阳性率是28.6%(6/21), 且均为弱阳性表达(图1A). 高分化腺癌中PD-ECGF表达强度较低, 染色较淡(图1B). 低分化腺癌中PD-ECGF表达呈弥漫分布、染色强阳性(图1C). 胰腺癌组织PD-ECGF的表达阳性率和表达强度均高于癌旁正常胰腺组织, 两者之间有显著统计学差异($P < 0.05$). PD-ECGF在胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌中的表达阳性率分别为90%(9/10)、90%(9/10)、70%(7/10)、60%(6/10)80%(8/10)、80%(8/10). PD-ECGF在胰腺癌中的表达阳性率与在胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌中的表达阳性率相比较无显著统计学差异($P > 0.05$, 表1, 图1).

2.2 胰腺癌组织中PD-ECGF的表达与临床病理学参数的关系 胰腺癌组织中PD-ECGF的表达情况与患者的性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤分化程度、有无淋巴转移、肿瘤直径等临床病理参数之间没有明显的相关性($P > 0.05$). I期胰腺癌中PD-ECGF的表达阳性率为75%, II-IV期胰腺癌中PD-ECGF的表达阳性率为100%. II-IV期胰腺癌中PD-ECGF的表达阳性率高于I期胰腺癌中PD-ECGF的表达阳性率, 两者之间有显著统计学差异($P < 0.05$, 表2).

3 讨论

新生血管形成在肿瘤尤其是实体瘤的发生、发展与转移中起重要作用. 在肿瘤侵袭前期, 肿瘤细胞的生长主要依靠扩散取得营养; 当肿瘤直径超过一定程度时, 必须依靠所诱发的血管生成来维持其继续生长. 血管生成可使肿瘤获得足够的营养物质, 是促成上述转变的关键环节, 如果没有血管生成, 原发肿瘤的生长不会超过1-2 mm^{3[4]}. 目前已发现很多影响血管生成的因子, 如酸性成纤维细胞生长因子、碱性成纤维

■创新盘点

本文以在胰腺癌组织中上调明显的PD-ECGF蛋白作为研究对象, 利用免疫组织化学方法进一步研究他们在胰腺癌组织与正常胰腺组织中的表达差异, 并与其他常见恶性肿瘤(胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌和乳腺癌)相对照, 探讨了PD-ECGF在胰腺癌组织中表达的特异性及与临床病理参数之间的关系.

■应用要点

本文提示, PD-ECGF为一种非特异性的肿瘤相关因子, 其可能与胰腺癌的病程进展有关. 这可能为PD-ECGF是否可作为胰腺癌的早期诊断标志物提供新的依据.

表 2 胰腺癌中PD-ECGF的表达与临床病理参数的关系

临床病理参数	n	阳性表达 n(%)	PD-ECGF的表达强度				P值
			-	+	++	+++	
性别							
男	18	16(88.8)	2	4	4	8	1.000
女	18	16(88.8)	2	4	7	5	
年龄(岁)							
<60	12	11(91.6)	1	4	2	5	1.000
≥60	24	21(87.5)	3	4	9	8	
肿瘤部位							
胰头	20	19(95.0)	1	6	4	9	0.303
胰体尾	16	13(81.3)	3	2	7	4	
分化程度							
高+中	25	23(92.0)	2	6	9	8	0.570
低	11	9(81.8)	2	2	2	5	
淋巴转移							
有	8	8(100.0)	0	2	4	2	0.555
无	28	24(85.7)	4	6	7	11	
肿瘤直径(cm)							
≤3	12	12(100.0)	0	1	5	6	0.278
>3	24	20(83.3)	4	7	6	7	
TNM分期							
I 期	16	12(75.0)	4	3	3	6	0.031
II 期+ III 期+IV 期	20	20(100.0)	0	5	8	7	

细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子、血管生成素和PD-ECGF等. 其中, PD-ECGF是血管生成研究领域相对新的一个血管生长因子, 其在实体瘤^[5]中表达增高, 且可催化5-FU及其前体物质, 参与抗肿瘤反应^[6]. 因此, 与肿瘤的血管生成及化疗^[7-10]密切相关.

PD-ECGF基因定位于22号染色体的q13带. PD-ECGF是由两个的同源二聚体组成的阴离子蛋白质, 他可使胸苷去磷酸化为胸腺嘧啶和2-脱氧核糖-1-磷酸. 胸苷酶解产物胸腺嘧啶和2-脱氧核糖-1-磷酸有促进血管生成的作用^[11]. PD-ECGF可能通过降低抑制内皮细胞的胸苷水平促进血管生成. 1994年, Haraguchi等^[12]发现2-脱氧核糖-1-磷酸去磷酸化后的产物2-脱氧-D-核糖同样具有血管生成和趋化细胞活性. 体内PD-ECGF大量来源于血小板提示PD-ECGF对维持血管的稳定、促进内皮细胞的修复起重要作用. 有研究发现PD-ECGF在人类肿瘤组织中水平升高, 如卵巢癌^[13,14]、胃癌^[15,16]、乳腺癌^[5]、肺癌^[17]、宫颈癌^[18,19]、肾癌^[9,20]、肝癌^[21]、大肠癌^[22]、子宫内膜癌^[23]、膀胱癌^[24,25]等, 故认为PD-ECGF可能在癌性增生过程中起着重要作用.

PD-ECGF与胃癌^[26]、结肠癌^[27]中微血管密度(microvessel density, MVD)密切相关, 说明其是肿瘤血管形成和维持的重要因子之一.

陈哲京等^[28]研究了20例胰腺癌病例, 有14例PD-ECGF表达阳性, 其PD-ECGF表达阳性率(70%)明显高于慢性胰腺炎和正常胰腺组织; 胰腺癌PD-ECGF阳性组的MVD明显高于阴性组. 另外, 通过血管面积的比较发现PD-ECGF阳性组总血管面积(total vessel area, TVA)也明显高于阴性组, 说明胰腺癌的PD-ECGF表达影响肿瘤MVD和TVA, 与血管生成密切相关. 本研究发现胰腺癌组织PD-ECGF的阳性表达率和表达强度均高于癌旁正常胰腺组织, 这和陈哲京等的研究结果一致. I 期胰腺癌中PD-ECGF的阳性表达率为75%, II 期-IV 期胰腺癌中PD-ECGF的阳性表达率为100%. II 期-IV 期胰腺癌中PD-ECGF的阳性表达率高于 I 期胰腺癌中PD-ECGF的阳性表达率. 提示PD-ECGF表达水平与胰腺癌的发展及分期可能有关.

PD-ECGF在胃癌、食管癌、肝癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌中的阳性表达率均大于60%, 与其在胰腺癌组织中的阳性表达率无明显统计

学差异。这显示PD-ECGF为一种非特异性的肿瘤相关因子, 而非胰腺癌特异性表达的蛋白。

4 参考文献

- Spinelli GP, Zullo A, Romiti A, Di Seri M, Tomao F, Miele E, Spalletta B, Eramo A, Hassan C, Tomao S. Long-term survival in metastatic pancreatic cancer. A case report and review of the literature. *JOP* 2006; 7: 486-491
- Chen JH, Ni RZ, Xiao MB, Guo JG, Zhou JW. Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins in human pancreatic cancer tissue. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 193-200
- 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准. *中国癌症杂志* 1996; 6: 229-231
- Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353-364
- Ioachim E. Thymidine phosphorylase expression in breast cancer: the prognostic significance and its association with other angiogenesis related proteins and extracellular matrix components. *Histol Histopathol* 2008; 23: 187-196
- Yamashita T, Toida M, Kato K, Long NK, Miyazaki Y, Asaka Y, Hatakeyama D, Yonemoto K, Makita H, Kato Y, Shibata T. The effect of neoadjuvant therapy on the 5-fluorouracil metabolic and relative enzymes of oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 22: 501-507
- Andreotta C, Puppini C, Minisini A, Valent F, Pegolo E, Damante G, Di Loreto C, Pizzolitto S, Pandolfi M, Fasola G, Piga A, Puglisi F. Thymidine phosphorylase expression and benefit from capecitabine in patients with advanced breast cancer. *Ann Oncol* 2009; 20: 265-271
- Hua D, Huang ZH, Mao Y, Deng JZ. Thymidylate synthase and thymidine phosphorylase gene expression as predictive parameters for the efficacy of 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5030-5034
- Kamoshida S, Shioyama K, Shimomura R, Inada K, Sakurai Y, Ochiai M, Matuoka H, Maeda K, Tsutsumi Y. Immunohistochemical demonstration of fluoropyrimidine-metabolizing enzymes in various types of cancer. *Oncol Rep* 2005; 14: 1223-1230
- Loo WT, Chow LW, Suzuki T, Ono K, Ishida T, Hirakawa H, Ohuchi N, Sasano H. Expression of thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase in human breast carcinoma cells and tissues. *Anticancer Res* 2009; 29: 2525-2530
- Stevenson DP, Milligan SR, Collins WP. Effects of platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase, substrate, and products in a three-dimensional model of angiogenesis. *Am J Pathol* 1998; 152: 1641-1646
- Haraguchi M, Miyadera K, Uemura K, Sumizawa T, Furukawa T, Yamada K, Akiyama S, Yamada Y. Angiogenic activity of enzymes. *Nature* 1994; 368: 198
- Watanabe Y, Nakai H, Ueda H, Nozaki K, Hoshiai H, Noda K. Platelet-derived endothelial cell growth factor predicts of progression and recurrence in primary epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett* 2003; 200: 173-176
- Morimoto Y, Hasegawa K, Sawai T, Kishimoto Y, Akimoto T. [Significance of tissue thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase activities in ovarian cancer] *Gan To Kagaku Ryoho* 2004; 31: 2195-2198
- Yu EJ, Lee Y, Rha SY, Kim TS, Chung HC, Oh BK, Yang WI, Noh SH, Jeung HC. Angiogenic factor thymidine phosphorylase increases cancer cell invasion activity in patients with gastric adenocarcinoma. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 1554-1566
- Kandil MA, El-Wahed MM, El-Tahmody M. Predictive value of thymidine phosphorylase in gastric carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2004; 16: 159-167
- Sato J, Sata M, Nakamura H, Inoue S, Wada T, Takabatake N, Otake K, Tomoike H, Kubota I. Role of thymidine phosphorylase on invasiveness and metastasis in lung adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2003; 106: 863-870
- Kobayashi Y, Wada Y, Ohara T, Okuda Y, Suzuki N, Hasegawa K, Kiguchi K, Ishizuka B. Enzymatic activities of uridine and thymidine phosphorylase in normal and cancerous uterine cervical tissues. *Hum Cell* 2007; 20: 107-110
- Nakashima M, Nakano T, Ametani Y, Funamoto H, Uchiyama A, Miwa A, Miyata S, Shoji M, Kondo T, Satake S, Kojima Y. Expression of thymidine phosphorylase as an effect prediction factor for uterine cervical squamous cell carcinoma after radiotherapy: an immunohistochemical study. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1309-1313
- Takayama T, Mugiya S, Sugiyama T, Aoki T, Furuse H, Liu H, Hirano Y, Kai F, Ushiyama T, Ozono S. High levels of thymidine phosphorylase as an independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36: 564-569
- Hu J, Xu Y, Shen ZZ, Wang Z, Lu Q, Yang GH, Ding ZB, Fan J, Zhou J. High expressions of vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor predict poor prognosis in alpha-fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma patients after curative resection. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1359-1367
- Okita A, Tsukuda K, Murakami M, Ota T, Doihara H, Suda M, Nakano T, Matsuoka K, Suzuki E, Naito M, Andou A, Shimizu N. Thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase expression levels in tumor and normal tissue specimens of T3 human colorectal carcinoma. *Surg Today* 2006; 36: 348-353
- Kubiak R, Miszczak-Zaborska E, Smolarek M, Wójcik-Krowiranda K, Bartkowiak J. [The thymidine phosphorylase as the platelet-derived endothelial cell growth factor of endometrial cancer] *Ginek Pol* 2009; 80: 596-601
- Nonomura N, Nakai Y, Nakayama M, Inoue H, Nishimura K, Hatanaka E, Arima R, Kishimoto T, Miki T, Kuroda H, Okuyama A. The expression of thymidine phosphorylase is a prognostic predictor for the intravesical recurrence of superficial bladder cancer. *Int J Clin Oncol* 2006; 11: 297-302
- Stavropoulos NE, Bouropoulos C, Ioachim E, Michael M, Hastazeris K, Tsimaris I, Kalogeris D, Liamis Z, Kafarakis V, Stefanaki S, Malamou-Mitsi V. Prognostic significance of thymidine phosphorylase in superficial bladder carcinoma. *Int*

■同行评价

本文探讨血小板衍生内皮生长因子在胰腺癌组织中表达, 有重要临床指导意义, 如能进行病例的随访则意义更大。

- Urol Nephrol 2005; 37: 55-60
- 26 阮水良, 似健敏, 王桂华, 于亚威. 血小板衍生内皮细胞生长因子在胃癌和胃癌前病变中的表达及意义. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 597-600
- 27 陈萃, 陶凯雄, 王国斌. 血小板衍化内皮细胞生长因子在结直肠癌中的表达及意义. 腹部外科 2005; 18: 52-54
- 28 陈哲京, 倪泉兴, 傅德良, 张启瑜. 胰腺癌血管生成特征与血小板源内皮细胞生长因子表达关系的研究. 中华普通外科杂志 2004; 19: 705-706

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2008 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	7	41	-0.99	0.043	41	-0.92
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	5432	1	3.71	0.792	6	0.52
G803	肝脏	586	25	-0.49	0.594	11	0.14
G938	国际呼吸杂志	645	22	-0.44	0.294	34	-0.43
G415	国际内分泌代谢杂志	663	20	-0.43	0.379	28	-0.27
G501	临床肝胆病杂志	582	27	-0.50	0.441	22	-0.15
G658	临床荟萃	1709	8	0.48	0.356	32	-0.32
G257	临床内科杂志	875	16	-0.24	0.412	24	-0.21
G855	临床消化病杂志	314	32	-0.73	0.294	34	-0.43
G261	临床心血管病杂志	836	17	-0.28	0.371	29	-0.29
G293	临床血液学杂志	408	31	-0.65	0.329	33	-0.37
G491	岭南心血管病杂志	161	39	-0.86	0.158	40	-0.70
G662	内科急危重症杂志	308	34	-0.73	0.279	36	-0.46
G523	内科理论与实践	34	40	-0.97	0.171	39	-0.67
G746	实用肝脏病杂志	312	33	-0.73	0.562	14	0.08
G190	世界华人消化杂志	2480	6	1.15	0.547	17	0.05
G800	胃肠病学	619	23	-0.46	0.621	10	0.19
G326	胃肠病学和肝病学杂志	580	28	-0.50	0.415	23	-0.20
G083	心肺血管病杂志	246	37	-0.79	0.361	31	-0.31
G419	心血管病学进展	585	26	-0.49	0.410	25	-0.21
G260	心脏杂志	553	29	-0.52	0.406	26	-0.22
G610	胰腺病学	268	35	-0.77	0.366	30	-0.30
G234	中国动脉硬化杂志	934	15	-0.19	0.557	16	0.07
G267	中国实用内科杂志	2309	7	1.00	0.487	20	-0.06
G211	中国糖尿病杂志	1567	11	0.36	0.570	13	0.10
G380	中国心血管杂志	256	36	-0.78	0.225	37	-0.57
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	657	21	-0.43	0.562	14	0.08
G633	中国血液净化	680	19	-0.41	0.546	18	0.05
G119	中国循环杂志	694	18	-0.40	0.406	26	-0.22
G231	中华肝脏病杂志	3283	4	1.84	1.119	2	1.15
G235	中华高血压杂志	1168	14	0.01	0.730	8	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	166	38	-0.86	0.207	38	-0.60
G876	中华老年心脑血管病杂志	588	24	-0.49	0.442	21	-0.15
G155	中华内分泌代谢杂志	1612	10	0.40	0.897	5	0.73
G156	中华内科杂志	3484	3	2.02	0.788	7	0.52
G161	中华肾脏病杂志	1643	9	0.42	1.068	3	1.05
G285	中华消化内镜杂志	1314	13	0.14	0.578	12	0.11
G168	中华消化杂志	2571	5	1.23	1.025	4	0.97
G892	中华心率失常学杂志	494	30	-0.57	0.657	9	0.26
G170	中华心血管病杂志	4186	2	2.63	1.375	1	1.64
G172	中华血液学杂志	1501	12	0.30	0.489	19	-0.06
	平均值	1154			0.520		

以上数据摘自2009年版《中国科技期刊引证报告》(核心版). 科学技术文献出版社, 177-178.

瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中的研究进展

袁聪, 郑城婷, 许保, 杨丽

袁聪, 郑城婷, 许保, 杨丽, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

作者贡献分布: 文献检索分析由袁聪、郑城婷及许保完成; 撰写由袁聪完成; 选题及审校由杨丽完成。

通讯作者: 杨丽, 教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院消化内科. lila.yang@medmail.com.cn

电话: 028-81812276

收稿日期: 2009-11-09 修回日期: 2009-12-02

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Advances in understanding the role of leptin, adiponectin and resistin in liver fibrogenesis

Cong Yuan, Cheng-Ting Zheng, Bao Xu, Li Yang

Cong Yuan, Cheng-Ting Zheng, Bao Xu, Li Yang, Department of Gastroenterology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Professor Li Yang, Department of Gastroenterology, West China Hospital of Sichuan University, 37 Wainanguoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. lila.yang@medmail.com.cn

Received: 2009-11-09 Revised: 2009-12-02

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

Liver fibrosis is a wound healing reaction in response to a variety of chronic liver insults and is characterized by excessive extracellular matrix deposition within the liver. The term "adipocytokines" represents a group of polypeptide molecules produced primarily by adipose tissue. Accumulating evidence demonstrates that adipocytokines play a pivotal role in the pathogenesis of chronic liver diseases, such as nonalcoholic fatty liver disease. In this article, we will summarize the recent findings concerning the role of adipocytokines, such as leptin, adiponectin and resistin, in liver fibrogenesis.

Key Words: Leptin; Adiponectin; Resistin; Liver fibrosis; Hepatic stellate cell

Yuan C, Zheng CT, Xu B, Yang L. Advances in understanding the role of leptin, adiponectin and resistin in liver fibrogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 149-154

摘要

肝纤维化是肝脏对各种慢性损伤的一种反应,

以肝脏细胞外基质异常过度沉积为特征. 脂肪细胞因子主要指由脂肪组织分泌的一类多肽分子, 其在慢性肝病如非酒精性脂肪性肝病的发病过程中具有重要作用. 本文就瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中的作用作一综述.

关键词: 瘦素; 脂联素; 抵抗素; 肝纤维化; 肝星状细胞

袁聪, 郑城婷, 许保, 杨丽. 瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(2): 149-154

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/149.asp>

0 引言

肝纤维化作为慢性肝病的重要阶段, 以过多的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积为特征, 其病因包括: 肝炎病毒感染、乙醇、药物、免疫、肥胖等. 与腹型肥胖和胰岛素抵抗关系密切的非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)^[1,2]现已成为一种常见的慢性肝病, 他包括单纯性脂肪变性(simple steatosis, SS)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化. 其中, NASH以脂肪变性、炎症和纤维化为特征^[3]. NAFLD作为代谢综合征在肝脏的表现, 研究表明NAFLD患者的肝脏炎症和纤维化程度与腹部脂肪组织含量密切相关^[4]. 不仅如此, 代谢综合征还会增加慢性乙型肝炎患者发生肝硬化的风险^[5]. 越来越多的研究表明脂肪组织不仅参与能量代谢, 而且具有活跃的内分泌功能, 能分泌多种脂肪细胞因子, 对外周器官如肝脏产生重要影响^[6]. 本文就瘦素(leptin)、脂联素(adiponectin)和抵抗素(resistin)在肝纤维化中的作用进行综述.

1 脂肪组织的内分泌功能

脂肪组织有白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)之分. BAT主要见于新生儿. WAT由脂肪细胞、前脂肪细胞、巨噬细胞、内皮细胞和白细胞等组成. 在成人, WAT主要有三大功能: (1)贮

■背景资料

NAFLD包括单纯性脂肪变性(SS)、非酒精性脂肪肝炎(NASH)和肝硬化, 其发病机制复杂. 其中脂肪细胞因子在其发病过程中具有重要作用. 研究脂肪细胞因子在肝纤维化中的作用机制将为NAFLD的诊断和治疗提供新的方向.

■同行评议者

陈洪, 副教授, 东南大学附属中大医院消化科

■研究前沿

随着研究的不断深入,越来越多的脂肪细胞因子被发现参与肝纤维化的发生,但其作用机制尚需要进一步阐明。而瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中的作用机制研究成为热点之一。

存能量;(2)水解甘油三酯,提供游离脂肪酸,为组织提供能量;(3)分泌细胞因子,如瘦素、脂联素、内脂素、apelin、vaspin、hepcidine、chemerin、omentin等,统称为脂肪细胞因子(adipocytokines)^[6,7]。有些脂肪细胞因子主要由脂肪细胞分泌,有些则由基质细胞成分如巨噬细胞、成纤维细胞和单核细胞等产生^[7]。这些细胞因子通过自分泌、旁分泌、内分泌等形式,发挥广泛的生物学效应,如能量平衡、前脂肪细胞的分化、胰岛素敏感性、炎症和纤维化等^[6,8]。不同部位如血管周围和心脏周围等的脂肪组织可能在不同的疾病中发挥着各自的调节作用,而腹部脂肪组织的分泌产物可通过门静脉直接到达肝脏,在肝脏疾病中发挥重要作用^[7]。

2 脂肪细胞因子与肝纤维化

2.1 瘦素与肝纤维化 瘦素是由Zhang等^[9]在1994年利用定位克隆(positional cloning)技术发现的一种肽类激素,由肥胖基因(ob)编码。人ob基因位于7号染色体的长臂(7q31.3),由3个外显子和2个内含子构成。瘦素是一种分泌蛋白,由167个氨基酸组成,相对分子质量为16 kDa。瘦素必须与相应受体(ob-R)结合才能发挥作用。目前发现ob-R有a、b、c、d、e和f 6种亚型^[10],其中ob-Rb为长型受体,也是功能性受体,通过激活JAK2/STAT3通路介导瘦素的大多数生物学效应;ob-Re是可溶性受体,与循环中的瘦素形成复合物,通过调节游离与结合的瘦素比例可改变其生物学活性^[11];其余为短型受体。早期的研究发现,瘦素通过作用于中枢神经系统对食欲和脂肪含量起重要的调节作用。

动物实验发现,瘦素具有促肝纤维化效应。Ikejima等^[12]发现,在四氯化碳(CCl₄)和硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的C57BL/6 ♂小鼠急、慢性肝损伤模型中,注射外源性瘦素能进一步增强肝脏转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-β1和I型前胶原的表达。Honda等^[13]应用先天缺乏瘦素的ob基因敲除(ob/ob)小鼠为动物模型,发现TAA几乎不能诱导其肝纤维化的发生以及I型前胶原的表达。Leclercq等^[14]研究也发现,经高脂饲料喂养或进行CCl₄诱导肝损伤,ob/ob小鼠并没有出现肝纤维化,也未检测到I型胶原表达上调;但给小鼠补充外源性瘦素使其恢复至生理水平后,ob/ob小鼠则发生了肝纤维化。在瘦素受体敲除(fa/fa) Zucker大鼠模型中,TAA也几乎不能诱导肝纤维化的发生^[15]。Zucker

大鼠经胆管结扎术(bile duct ligation, BDL)后,同样未引起肝纤维化^[16]。在TAA诱导的小鼠肝纤维化模型中,瘦素拮抗剂竞争性抑制瘦素的作用后,肝纤维化程度得到明显改善^[17]。这表明无论是代谢性、肝后性还是中毒性慢性肝损伤,瘦素都是肝纤维化发生的重要因素。另外,给予胆碱-蛋氨酸缺乏(methionine and choline deficient, MCD)饲料喂养后,瘦素受体敲除(db/db)小鼠则能发生与野生型相当或更明显的肝纤维化^[18]。此型小鼠只表达瘦素短型受体,提示短型受体也能充分介导瘦素的促纤维化效应。

鉴于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)作为肝纤维化时细胞外基质的主要来源细胞,许多学者进行了大量研究以探讨瘦素发挥促纤维化效应的细胞及分子机制。目前,一种观点认为瘦素直接作用于HSC并激活下游信号途径导致ECM沉积;另一种观点则认为,由于枯否细胞(kupffer cell, KC)及窦内皮细胞(sinusoidal endothelial cell, SEC)存在功能性瘦素受体,瘦素刺激这些细胞释放促纤维化因子如TGF-β1,后者再激活HSC^[19]。Saxena等^[20]发现,正常大鼠HSC及其细胞株(T6)均表达ob-Rb,此功能性受体在静息的HSC呈低表达,而在活化后表达增强。在外源性瘦素刺激下,HSC的I型前胶原基因表达及STAT3磷酸化增加。在人肝星状细胞株LX-2中,Cao等^[21-23]先后发现瘦素能诱导其表达TIMP-1和I型胶原,并抑制MMP-1的表达;瘦素还能调节CTGF的表达^[24]。Elinav等^[17]也发现原代大鼠HSC表达ob-Rb,瘦素可直接诱导HSC表达I型胶原和α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)。这些研究均提示瘦素对HSC存在直接效应。然而,Ikejima等^[15]却发现HSC表达的是非功能性ob-Ra,并不是ob-Rb,瘦素不能促进HSC的STAT3磷酸化与I型前胶原基因表达。他们发现KC及SEC存在功能性ob-Rb,瘦素刺激其高表达TGF-β1,后者诱导HSC表达促纤维化因子。Ding等^[16]报道,激活的HSC可分泌大量的瘦素。因此,推测瘦素可能通过与周围细胞的相互作用发挥其效应,HSC可能是肝内瘦素的细胞来源之一,而不是瘦素作用的直接效应细胞。最近的研究的确表明,体外培养的原代HSC不能被瘦素激活,而是由KC介导实现的。Wang等^[19]将体外培养的大鼠HSC与瘦素孵育后,发现除了能引起HSC增殖和I型胶原表达外,HSC的α-SMA表达并不上调,但是用瘦素刺激KC后的条件培养基培养HSC,就能显著上调I型胶原、

TIMP-1、TGF- β 1、CTGF以及 α -SMA的表达。然而,用瘦素处理的SEC条件培养基却不能上调这些促纤维化因子的表达,也不能激活HSC。另外,瘦素能直接作用于KC,上调CTGF的表达^[19]。瘦素也能促进HSC表达去甲肾上腺素,并激活血管紧张素系统导致肝纤维化^[25]。目前,瘦素的促纤维化作用机制仍未完全阐明,已有的实验结果也存在诸多差异,尚有待进一步的研究以探讨多个细胞之间的相互作用。

瘦素还具有促炎症效应。通过NF- κ B介导上调单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein, MCP)-1,后者可进一步使单核细胞和活化的T淋巴细胞聚集,增强肝脏损伤的炎症反应^[26]。瘦素也能促进血管生成,他可刺激HSC表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[26]。

许多临床研究探讨了血清瘦素水平与肝纤维化、肝硬化的相关性。Bolukbas等^[27]检测了乙型肝炎和丙型肝炎后肝硬化与正常对照组的血清瘦素水平,发现肝硬化者其水平明显升高。另外酒精性肝硬化患者血清瘦素水平也升高^[28]。然而,有关NAFLD患者血清瘦素水平的报道结果却不尽一致。Uygun等^[29]报道,与1级NASH患者相比,2级和3级患者有更高的血清瘦素水平。Chitturi等^[30]也在NASH患者中检测到高水平的血清瘦素,但他们发现瘦素水平与肝脏脂肪变性直接相关,而不是肝脏炎症和纤维化严重程度的独立预测因子。也有研究发现NASH患者与单纯脂肪肝患者血清瘦素水平没有区别^[31]。这些研究结果的差异,提示血清瘦素水平尚不能作为肝纤维化的血清学指标。

2.2 脂联素与肝纤维化 脂联素是由apM1基因编码的蛋白质,含244个氨基酸残基,该基因定位于3q27。此蛋白质主要由脂肪细胞分泌,有低分子量(low molecular weight, LMW)、中分子量(medium molecular weight, MMW)和高分子量(high molecular weight, HMW)多聚体3种形式存在^[32]。脂联素主要有AdipoR1和AdipoR2两种受体。AdipoR1广泛分布于多种组织和器官,主要表达于骨骼肌,AdipoR2主要存在于肝脏。另外,T-钙黏蛋白(T-cadherin)也是脂联素受体^[33]。脂联素与其受体结合后,发挥多种重要的生物学作用,参与血脂血糖代谢、炎症等病理生理过程,增强胰岛素敏感性以及抗高血糖和抗动脉粥样硬化等^[34]。

已有的研究表明,脂联素具有保护肝脏

和抗肝纤维化作用。在动物模型中,无论是酒精性肝病小鼠还是NAFLD小鼠,血清中的脂联素水平均明显下降^[35]。补充外源性脂联素后,肝脏肿大和脂肪变性明显改善,肝脏炎症缓解,血清ALT水平下降。这些效应是脂联素通过诱导脂肪酸氧化、抑制脂肪酸合成、降低肝脏TNF- α 表达以及拮抗TNF- α 的效应实现的^[35]。Kamada等^[36]发现,与野生型小鼠相比,脂联素基因敲除小鼠在CCl₄诱导下出现更明显的肝纤维化,TGF- β 1和CTGF表达增强。如果在CCl₄处理前或处理过程中注射腺病毒载体,过表达脂联素则能预防或减轻野生型小鼠肝纤维化的发生。在MCD饲料喂养的C57BL/6小鼠NASH模型中,通过腺病毒载体抑制肝脏AdipoR2的表达水平后,肝脏脂肪变性、炎症和纤维化加重;而过表达肝脏AdipoR2水平后,上述病理改变得到明显缓解^[37]。提示脂联素和肝脏AdipoR2信号途径在NASH的发生过程中发挥重要的保护作用。细胞实验发现^[16,38],HSC表达脂联素受体,脂联素通过这些受体发挥抗纤维化效应。脂联素抑制血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)-BB引起的HSC增殖和迁移;通过抑制Smad2核转位,减弱TGF- β 1引起的促纤维化基因的表达^[36]。Ding等^[16]发现,静息的HSC大量分泌脂联素,而活化后其分泌受到明显抑制;激活的HSC经质粒转染后,脂联素能显著减弱HSC的增殖和 α -SMA的表达。

临床数据表明,在慢性肝病的不同阶段,血清脂联素水平出现相应的变化。Aygun等^[39]发现,在伴有肝脏酶学升高的NAFLD患者中,血清脂联素水平降低;随着NASH患者肝脏炎症程度的加重其血清水平进一步降低。Musso等^[40]也检测到NASH患者的血清脂联素水平较正常人群明显降低。然而,Sohara等^[41]检测了38例(酒精性1例、乙型肝炎3例、丙型肝炎31例和不明原因3例)肝硬化患者的血清脂联素水平后,发现肝硬化者较正常人群明显升高,升高的程度随着肝硬化(Child-Pugh分级)的加重而增加。Hui等^[42]发现,与慢性乙型肝炎后肝纤维化者相比,出现肝硬化的患者有更高的血清脂联素水平,而且血清脂联素水平与纤维化程度呈正相关。他们还发现肝硬化者血清中MMW脂联素水平选择性升高。鉴于不同分子质量脂联素对不同的受体亲和力不同,下游信号通路也存在差别,推测肝硬化可能与HMW和MMW脂联素比例失衡有

■ 相关报道

Ikejima等发现,在四氯化碳(CCl₄)和硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的C57BL/6小鼠急、慢性肝损伤模型中,注射外源性瘦素能进一步增强肝脏转化生长因子(TGF)- β 1和I型前胶原的表达。Szalowska等发现无论是在mRNA水平还是蛋白水平,抵抗素在肝脏的表达均高于脂肪组织。

■应用要点

本文提示,有效的干预和调节脂肪细胞因子的表达模式及其信号通路,可能为慢性肝病的治疗提供新的途径。

关^[42]. Sohara等^[41]认为肝硬化者血清脂联素水平的升高是脂肪细胞生成和肝脏代谢失衡引起的. Tacke等^[43]也检测到慢性肝病患者血清脂联素升高,结合BDL小鼠模型血清脂联素水平升高,证实经胆道排泄是脂联素清除的途径之一. 推测肝硬化者胆汁分泌障碍可能是导致血清脂联素水平升高的原因之一. 林家煜等^[44]认为肝硬化者存在脂联素抵抗,这可能也是导致其血清水平升高的原因.

也有学者检测了脂联素及其受体在肝脏的表达情况. Kaser等^[45]发现无论是mRNA水平还是蛋白水平,与SS患者相比,NASH患者的肝脏脂联素和AdipoR2表达均降低. NASH患者AdipoR2的mRNA表达水平与肝纤维化程度呈负相关. 他们还发现脂联素主要分布于内皮细胞,AdipoR2主要位于肝细胞,提示脂联素可能通过旁分泌途径参与NASH的发病过程. Ma等^[46]也发现NASH患者的肝脏脂联素表达水平较SS患者下降;脂联素与肝脏炎症和纤维化程度呈负相关. 然而,Hui等^[42]在肝纤维化和肝硬化患者的肝脏组织中均未检测到脂联素mRNA的表达,但用免疫组织化学方法发现在肝硬化者中脂联素蛋白表达比肝纤维化者增强. 他们认为这是肝脏从循环中摄取脂联素的结果.

2.3 抵抗素与肝纤维化 抵抗素是2001年由Stepan等^[47]发现的一种脂肪细胞因子. 人抵抗素基因定位于19p13.3,其蛋白质由108个氨基酸组成,相对分子质量为12.5 kDa. 此因子主要由脂肪细胞分泌,具有对抗胰岛素作用,影响葡萄糖代谢和脂代谢^[48]. Szalowska等^[49]发现无论是在mRNA水平还是蛋白水平,抵抗素在肝脏的表达均高于脂肪组织. 提示抵抗素的表达也并不仅限于脂肪组织.

在动物模型中,无论是ob/ob小鼠、db/db小鼠还是高脂饲料喂养的肥胖小鼠模型中,血清抵抗素水平都升高^[47]. 胰岛素增敏剂罗格列酮可降低肥胖小鼠的抵抗素水平^[47].

NAFLD患者血清抵抗素水平升高,抵抗素浓度直接与NASH的炎症程度呈正相关^[50]. 与健康人群相比,肝硬化者的血清抵抗素水平明显升高^[51],并且随着肝硬化程度加重(Child-Pugh分级)而逐渐增加^[52]. Tiftkci等^[53]报道,慢性丙型肝炎患者的血清抵抗素水平较正常者明显升高,但随着肝纤维化程度的加重,其血清水平却逐渐降低,二者呈负相关.

在正常人肝脏组织,抵抗素呈低表达,而

在慢性丙型肝炎和酒精性肝炎患者表达增强; NASH患者的肝脏抵抗素表达增强没有前两者明显^[54]. 在酒精性肝炎患者,肝脏抵抗素的表达水平与肝脏炎症和纤维化程度相关. 抵抗素可直接作用于HSC发挥促炎症效应,通过激活核因子NF- κ B增强MCP-1和IL-8的表达^[54]. 目前,有关抵抗素与慢性肝病的报道有限,尚需要更多的研究以探讨抵抗素在肝纤维化中的作用.

3 结论

大量的基础研究和临床试验均发现脂肪细胞因子与慢性肝病如NAFLD关系密切. 肝纤维化作为慢性肝病的重要阶段,如果致病因素持续存在则可导致终末期肝病. 随着研究的不断深入,越来越多的脂肪细胞因子被发现参与肝纤维化的发生,但其作用机制尚需要进一步阐明. 有效的干预和调节脂肪细胞因子的表达模式及其信号通路,可能为慢性肝病的治疗提供新的途径.

4 参考文献

- 1 Malaguarnera M, Di Rosa M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Molecular mechanisms involved in NAFLD progression. *J Mol Med* 2009; 87: 679-695
- 2 Uchil D, Pipalia D, Chawla M, Patel R, Maniar S, Narayani, Juneja A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)--the hepatic component of metabolic syndrome. *J Assoc Physicians India* 2009; 57: 201-204
- 3 Lanthier N, Horsmans Y, Leclercq IA. The metabolic syndrome: how it may influence hepatic stellate cell activation and hepatic fibrosis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12: 404-411
- 4 van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, London R, Peduto T, Chisholm DJ, George J. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology* 2008; 48: 449-457
- 5 Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan HY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Metabolic syndrome increases the risk of liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Gut* 2009; 58: 111-117
- 6 Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1847-1856
- 7 Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases. *Hepatology* 2009; 50: 957-969
- 8 Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 2008; 14: 741-751
- 9 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432
- 10 Vázquez-Vela ME, Torres N, Tovar AR. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Arch Med Res* 2008; 39: 715-728
- 11 Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev*

- Physiol* 2008; 70: 537-556
- 12 Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology* 2001; 34: 288-297
 - 13 Honda H, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Lang T, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin is required for fibrogenic responses induced by thioacetamide in the murine liver. *Hepatology* 2002; 36: 12-21
 - 14 Leclercq IA, Farrell GC, Schriemer R, Robertson GR. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol* 2002; 37: 206-213
 - 15 Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang YJ, Lang T, Fukuda T, Yamashina S, Kitamura T, Sato N. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology* 2002; 122: 1399-1410
 - 16 Ding X, Saxena NK, Lin S, Xu A, Srinivasan S, Anania FA. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005; 166: 1655-1669
 - 17 Elinav E, Ali M, Bruck R, Brazowski E, Phillips A, Shapira Y, Katz M, Solomon G, Halpern Z, Gertler A. Competitive inhibition of leptin signaling results in amelioration of liver fibrosis through modulation of stellate cell function. *Hepatology* 2009; 49: 278-286
 - 18 Sahai A, Malladi P, Pan X, Paul R, Melin-Aldana H, Green RM, Whittington PF. Obese and diabetic db/db mice develop marked liver fibrosis in a model of nonalcoholic steatohepatitis: role of short-form leptin receptors and osteopontin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G1035-G1043
 - 19 Wang J, Leclercq I, Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009; 137: 713-723
 - 20 Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-771
 - 21 Cao Q, Mak KM, Ren C, Lieber CS. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H₂O₂-dependent MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004; 279: 4292-4304
 - 22 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Leptin enhances alpha1(I) collagen gene expression in LX-2 human hepatic stellate cells through JAK-mediated H₂O₂-dependent MAPK pathways. *J Cell Biochem* 2006; 97: 188-197
 - 23 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Leptin represses matrix metalloproteinase-1 gene expression in LX2 human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2007; 46: 124-133
 - 24 Hora C, Negro F, Leandro G, Oneta CM, Rubbia-Brandt L, Muellhaupt B, Helbling B, Malinverni R, Gonvers JJ, Dufour JF. Connective tissue growth factor, steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2008; 28: 370-376
 - 25 沈红, 郑培永, 季光, 邢练军. 脂肪细胞因子在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1212-1217
 - 26 Aleffi S, Petrai I, Bertolani C, Parola M, Colombatto S, Novo E, Vizzutti F, Anania FA, Milani S, Rombouts K, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 42: 1339-1348
 - 27 Bolukbas FF, Bolukbas C, Horoz M, Gumus M, Erdogan M, Zeyrek F, Yayla A, Ovunc O. Child-Pugh classification dependent alterations in serum leptin levels among cirrhotic patients: a case controlled study. *BMC Gastroenterol* 2004; 4: 23
 - 28 Henriksen JH, Holst JJ, Møller S, Brinch K, Bendtsen F. Increased circulating leptin in alcoholic cirrhosis: relation to release and disposal. *Hepatology* 1999; 29: 1818-1824
 - 29 Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, Deveci MS, Bagci S, Gulsen M, Karaeren N, Dagalp K. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3584-3589
 - 30 Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology* 2002; 36: 403-409
 - 31 Chalasani N, Crabb DW, Cummings OW, Kwo PY, Asghar A, Pandya PK, Considine RV. Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis? *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2771-2776
 - 32 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1784-1792
 - 33 Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10308-10313
 - 34 Giatromanolaki A, Kotsiou S, Koukourakis MI, Sivridis E. Angiogenic factor expression in hepatic cirrhosis. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 67187
 - 35 Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112: 91-100
 - 36 Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H, Saji Y, Yoshida Y, Fukui K, Maeda N, Nishizawa H, Nagaretani H, Okamoto Y, Kihara S, Miyagawa J, Shinomura Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology* 2003; 125: 1796-1807
 - 37 Tomita K, Oike Y, Teratani T, Taguchi T, Noguchi M, Suzuki T, Mizutani A, Yokoyama H, Irie R, Sumimoto H, Takayanagi A, Miyashita K, Akao M, Tabata M, Tamiya G, Ohkura T, Hibi T. Hepatic AdipoR2 signaling plays a protective role against progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2008; 48: 458-473
 - 38 Caligiuri A, Bertolani C, Guerra CT, Aleffi S, Galastri S, Trappoliere M, Vizzutti F, Gelmini S, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Adenosine monophosphate-activated protein kinase modulates the activated phenotype of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2008; 47: 668-676
 - 39 Aygun C, Senturk O, Hulagu S, Uraz S, Celebi A, Konduk T, Mutlu B, Canturk Z. Serum levels of hepatoprotective peptide adiponectin in non-

■同行评价

本文综述了脂肪细胞因子瘦素、脂联素和抵抗素在肝纤维化中作用的研究进展, 内容丰富、新颖, 有一定的参考价值。

- alcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 175-180
- 40 Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Fagà E, Pacini G, De Michieli F, Rabbione L, Premoli A, Cassader M, Pagano G. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 1175-1183
 - 41 Sohara N, Takagi H, Kakizaki S, Sato K, Mori M. Elevated plasma adiponectin concentrations in patients with liver cirrhosis correlate with plasma insulin levels. *Liver Int* 2005; 25: 28-32
 - 42 Hui CK, Zhang HY, Lee NP, Chan W, Yueng YH, Leung KW, Lu L, Leung N, Lo CM, Fan ST, Luk JM, Xu A, Lam KS, Kwong YL, Lau GK. Serum adiponectin is increased in advancing liver fibrosis and declines with reduction in fibrosis in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2007; 47: 191-202
 - 43 Tacke F, Wüstefeld T, Horn R, Luedde T, Srinivas Rao A, Manns MP, Trautwein C, Brabant G. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 2005; 42: 666-673
 - 44 林家煜, 施亚雄, 许曼英. 脂联素抵抗研究进展. 国际内分泌代谢杂志 2009; 29: 211-213
 - 45 Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, Ebenbichler CF, Patsch JR, Tilg H. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005; 54: 117-121
 - 46 Ma H, Gomez V, Lu L, Yang X, Wu X, Xiao SY. Expression of adiponectin and its receptors in livers of morbidly obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 233-237
 - 47 Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312
 - 48 Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004; 255: 439-447
 - 49 Szalowska E, Elferink MG, Hoek A, Groothuis GM, Vonk RJ. Resistin is more abundant in liver than adipose tissue and is not up-regulated by lipopolysaccharide. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3051-3057
 - 50 Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, Donnini D, Faggian D, Mussap M, Plebani M, Avellini C, Federspil G, Sechi LA, Vettor R. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1081-1086
 - 51 Bahr MJ, Ockenga J, Böker KH, Manns MP, Tietge UJ. Elevated resistin levels in cirrhosis are associated with the proinflammatory state and altered hepatic glucose metabolism but not with insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: E199-E206
 - 52 Kakizaki S, Sohara N, Yamazaki Y, Horiguchi N, Kanda D, Kabeya K, Kataikai K, Sato K, Takagi H, Mori M. Elevated plasma resistin concentrations in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 73-77
 - 53 Tiftikci A, Atug O, Yilmaz Y, Eren F, Ozdemir FT, Yapali S, Ozdogan O, Celikel CA, Imeryuz N, Tozun N. Serum levels of adipokines in patients with chronic HCV infection: relationship with steatosis and fibrosis. *Arch Med Res* 2009; 40: 294-298
 - 54 Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, Bataller R, Aleffi S, DeFranco R, Mazzinghi B, Romagnani P, Milani S, Ginés P, Colmenero J, Parola M, Gelmini S, Tarquini R, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Resistin as an intrahepatic cytokine: overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 2006; 169: 2042-2053

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或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80余种, 统计文献量达32400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12400余种。本版还加大了专家评审力度, 5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

Glypican-3与原发性肝癌关系研究进展

罗飞兵, 张焜和

罗飞兵, 张焜和, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省消化疾病重点实验室 江西省南昌市 330006
江西省教育厅科技基金资助项目, No. 2006-61
作者贡献分布: 罗飞兵完成综述初稿; 张焜和审核修改.
通讯作者: 张焜和, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化疾病重点实验室. yfyzkh@sina.com
收稿日期: 2009-10-25 修回日期: 2009-12-03
接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Advances in the relationship between glypican-3 and primary hepatic carcinoma

Fei-Bing Luo, Kun-He Zhang

Fei-Bing Luo, Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiangxi Provincial Key Laboratory of Digestive Diseases, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Jiangxi Provincial Educational Department, No. 2006-61
Correspondence to: Professor Kun-He Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Zheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yfyzkh@sina.com
Received: 2009-10-25 Revised: 2009-12-03
Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

Glypican-3 (GPC3) is a membrane heparin sulfate proteoglycan that is expressed abundantly in the fetal liver, inactive in the normal adult liver and frequently reactivated in hepatocellular carcinoma (HCC). Serum soluble GPC3 is a new diagnostic and prognostic biomarker for HCC. GPC3 is also a potential target for targeted therapy of HCC. The expression of GPC3 is upregulated at the early stage of HCC, which is associated with sulfatase-2, zinc-fingers and homeoboxes 2 (ZHX2) and alpha-fetoprotein regulator 2 (AFR2). GPC3 overexpression can activate integrin, insulin-like growth factor and Wnt signaling to promote HCC development.

Key Words: Glypican-3; Hepatocellular carcinoma; Diagnosis; Targeted therapy; Molecular mechanism

Luo FB, Zhang KH. Advances in the relationship between glypican-3 and primary hepatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 155-159

摘要

Glypican-3(GPC3)为膜性硫酸乙酰肝素多糖蛋白, 在胎儿肝脏表达丰富, 在成人肝脏不表达, 于肝癌发生时常常再激活. 血清中可溶性GPC3可作为生物标志物用于肝癌诊断和预后评估. GPC3还有望作为肝癌靶向治疗的新靶点. 在肝细胞癌早期GPC3表达就开始上调, 硫酸酯酶-2、锌指和同源框2和甲胎蛋白调节素2等可能与GPC3表达上调有关, 上调后激活整合素、胰岛素样生长因子和Wnt信号通路等促进肝癌细胞生长.

关键词: Glypican-3; 肝细胞癌; 诊断; 靶向治疗; 分子机制

罗飞兵, 张焜和. Glypican-3与原发性肝癌关系研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(2): 155-159
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/155.asp>

0 引言

磷脂酰肌醇蛋白多糖-3(glypican-3, GPC3)为Glypican家族的一员, 相对分子质量约66 kDa, 其基本结构包含核心蛋白、硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)链和糖基化磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)^[1]. GPC3在核心蛋白下游富含半胱氨酸结构区的下端, 即第358位精氨酸和359位丝氨酸处可以被酶切割而分成2段, 使N-端约含40 kDa的GPC3蛋白成为可溶性蛋白片段而分泌入血. GPC3在胚胎及胎儿期组织器官的形成和发育阶段扮演着重要角色, 主要起负性调控作用, 防止组织器官生长过大并在整体上调节身体大小^[2]. 成人GPC3异常表达与多种肿瘤的发生发展关系密切, 在乳腺癌和卵巢癌中为表达缺失, 在肾癌、肺鳞癌、甲状腺癌、梅克尔细胞癌、胃癌、大肠癌等呈过表达. 在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)早期, GPC3即呈高表达, 并认为对HCC具有早期诊断价值. 本文重点就GPC3在HCC的发生发展及其临床意义的研究进展作一综述.

1 GPC3在肝细胞癌中表达特点及诊断价值

在胚胎和胎儿期, GPC3的表达有明显的器官组

■背景资料

硫酸乙酰肝素多糖蛋白包括多配体蛋白聚糖(syndecans)、磷脂酰肌醇蛋白多糖(glypicans)、基底膜蛋白多糖(perlecan)、集簇蛋白(agrins)等. 脊椎动物的Glypican家族包括6个成员, 他们的基本结构相似. 人类Glypican-3基因于1996年发现, 因其与肝癌关系密切, 应用前景良好, 成为研究热点.

■同行评议者

刘成海, 研究员, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

■ 研发前沿

GPC3在肝癌组织中的表达具有良好的敏感性和特异性,他在肝癌诊断、治疗及预后评估中的价值是目前应用研究的重点,而他在肝癌发生发展中分子机制是目前的基础研究的前沿。

组织特异性和分化时相特异性。肝实质细胞在整个胎儿期均有明显表达,而出生后到成人阶段,除在胎盘、乳腺、间皮、卵巢、肺及肾组织有弱表达外,其他正常组织无明显表达^[3]。1997年Hsu等^[4]首先报道GPC3 mRNA在HCC组织中高表达,随后越来越多的研究者证实,在HCC组织中,不管是GPC3 mRNA还是蛋白均呈过表达,并在HCC的早期即已发生^[5,6]。

1.1 肝癌组织的GPC3表达 GPC3在肝癌组织与良性肝病组织的表达差异明显。Llovet等^[7]报道,在丙型肝炎后肝硬化背景的早期肝癌组织中(<2 cm的肝癌结节)GPC3表达率100%,其他良性肝病和正常肝组织中表达率为0。缪辉来等^[6]研究显示:肝癌组织GPC3阳性表达率为81.5%,而癌旁及远肝癌组织无表达。Wang等^[8]用基于组织芯片的免疫组织化学染色检测肝癌组织GPC3,发现有肝硬化背景的肝癌组织阳性率达90%,而正常肝脏背景下的肝癌组织阳性率为64%,肝脏高级别腺瘤和早期肝癌组织阳性率为48%,良性结节或低级别腺瘤组织阳性率仅3%,可以很好地把肝脏良性结节或肝脏腺瘤和肝癌区分开来,据此认为GPC3是早期肝癌诊断标志物,这与Wang等^[9]的结论一致。Di Tommaso等^[10]研究显示,GPC3对早期肝癌诊断的敏感性是69%,特异性是91%。

原发性肝癌主要为HCC,少部分为胆管细胞癌,GPC3可以很好的区分2类肝癌。Shirakawa等^[11]比较了HCC和ICC(肝内胆管癌)组织中GPC3表达情况,发现HCC表达率78.3%,而ICC无表达。

不过,Abdul-AI等^[12]认为GPC3用于肝癌诊断时应谨慎:虽然轻度丙型肝炎标本GPC3表达均为阴性,但83.6%的慢性重度丙型肝炎活组织标本可检测到GPC3表达。

1.2 肝癌患者血清中GPC3的水平 Capurro等^[13]检测了肝癌患者的血清GPC3,53%(18/34)的肝癌患者升高,低于肝癌组织阳性率(72%),20例肝硬化患者中只有1例升高,正常对照和肝炎均为阴性。Nakatsura等^[14]研究显示,肝癌患者血清GPC3蛋白的阳性率为40.0%(16/40),肝硬化患者、慢性肝炎和健康对照均为阴性(0/13、0/34、0/60)。周伟等^[15]检测血清GPC3的含量,以30 μg/L为诊断界值时,诊断肝癌的敏感性和特异性分别为40%和93%,明显低于HCC组织的免疫组织化学法检测结果,也不如传统的AFP检测。缪辉来等^[6]的研究也得到类似结果,血

清GPC3蛋白检测的敏感性为55.8%(肝癌组织81.5%),特异性为100%。Beale等^[16]研究认为,血清GPC3检测不能监测酒精性和非酒精性脂肪肝患者是否发展为肝癌患者。血清GPC3阳性率不及组织学检测高,因此建立比现有方法更敏感的血清GPC3检测新技术以提高其诊断价值可能是目前需要解决的问题之一。

1.3 血清AFP阴性肝癌的GPC3表达 在AFP阴性肝癌中,GPC3也有较高的表达率。Ding等^[17]检测了41例AFP阴性的肝癌组织及其癌旁组织的GPC3 mRNA,癌组织表达率为73.17%,癌旁组织中只有9.76%,且为弱表达;大肝癌(>5 cm)的表达率为79.31%,小肝癌(≤5 cm)的表达率为41.67%;低分化癌(III-IV级)的表达率为76.47%,高分化癌(I-II级)的表达率为42.86%;免疫组织化学显示GPC3主要在肝癌细胞中表达,正常肝细胞、胆管细胞、血管内皮细胞、Ito细胞及成纤维细胞均呈阴性。值得注意的是,血清中GPC3与AFP水平之间没有明显相关性^[13,18],可以在一定程度上弥补AFP的不足。

1.4 GPC3的表达与肝癌患者的预后 GPC3的表达状况与肝癌患者的预后相关。Shirakawa等^[19]将107例肝癌患者的手术切除标本行免疫组织化学染色分为GPC3阳性组和阴性组,随访5年,发现GPC3阳性组死亡率明显高于阴性组(87.7% vs 54.5%);在接受手术切除治疗的80例患者中,GPC3阴性患者5年内没有1例死亡(0/16);多因素分析显示,GPC3的表达情况是肝癌独立的预后相关因素。有关GPC3与肝癌预后的关系研究报道较少,两者之间的关系有待更多的资料证实。

2 GPC3促HCC生长的机制

2.1 HCC GPC3表达上调的机制 GPC3在正常情况下起负性调控生长作用。GPC3基因突变和功能丧失时,导致过度生长和畸变综合征(simpson-golabi-behmel syndrome, SGBS)^[20],表现为肝脏和其他器官过度生长,并增加患某些肿瘤的机率,如HCC、Wilms瘤等^[21]。Liu等^[22]研究显示,切除肝脏2 d后GPC3表达上调,第5天达到高峰;正常肝细胞当GPC3蛋白和mRNA表达达到高峰时,细胞分裂增殖开始下降,阻断GPC3表达则促进肝细胞生长。但肝癌细胞与正常肝细胞不同,GPC3表达不呈现负性调控作用。GPC3表达上调的机制复杂。Lai等^[23]研究发现,敲除了硫酸酯酶2(sulfatase-2)基因的

Huh细胞系其GPC3表达明显下降,并在裸鼠体内实验得到同样的结果,而上调硫酸酯酶2的表达, GPC3的表达也增强,故认为硫酸酯酶2可上调GPC3表达. Morford等^[24]通过动物实验发现,转录抑制因子锌指和同源框2(zinc-fingers and homeoboxes 2, Zhx2)能抑制成年鼠肝脏GPC3的表达,而在HCC中Zhx2基因通常呈表达沉默状态^[25],可能正是由于失去了Zhx2的抑制作用使得GPC3出现过度表达. 另外, CCl₄损伤肝脏可激活GPC3表达,并受甲胎蛋白调节素2(alpha-fetoprotein regulator 2, Afr2)调控^[24].

2.2 GPC3促进肝癌生长的信号通路 Kwack等^[26]发现GPC3可抑制成纤维细胞生长因子2介导的肝癌细胞增殖,同时降低肝癌细胞与I型胶原、纤维连接蛋白之间的黏附力,增强细胞的迁移和侵袭能力. Kittaka等^[27]证实GPC3蛋白是激活整合素(integrin)信号通路的关键蛋白之一,通过此信号通路可促进肝癌细胞的增殖和增强其侵袭力. 但王冰等^[28]将携带GPC3基因的重组真核表达载体(pEGFP-N2-GPC3)转染人肝癌细胞系SK-Hep-1后,发现细胞的增殖力和黏附力明显下降,而侵袭力则增强,认为GPC3能抑制肝癌细胞的增殖和黏附,促进其转移,这与Capurro等^[29]的研究不完全一致,可能与选用的肝癌细胞系不同有关. Cheng等^[30]研究显示,转染GPC3基因的NIH3T3细胞系GPC3蛋白过表达,细胞呈失控性生长,将低表达GPC3的PLC-PRF-5肝癌细胞系转为高表达,其生长速度明显增快,而敲除了GPC3基因的HuH-7细胞系生长受抑,并发现GPC3 N-末端富含脯氨酸的结构域可特异性地结合胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)受体,激活IGF信号通路,从而促进肝癌细胞生长. Capurro等^[29]发现GPC3核心蛋白能与Wnts(如Wnt3a)形成复合物,表达GPC3的肝癌细胞对Wnt3a的结合能力更强,提示GPC3能增强肝癌细胞对Wnt的反应性. 另外发现GPC3能抑制肝癌细胞 β -catenin的降解,导致细胞质 β -catenin大量堆积. 以上提示GPC3通过激活Wnt信号通路而促进肝癌细胞生长.

近期有研究者发现GPC3与刺猬分子信号通路(Hh)关系密切. 已知Hh通路在胚胎发育期对胚胎生长和形体控制起着十分重要的作用,与细胞生长、分化及肿瘤的成长密切相关;在胚胎发育成熟后, Hh通路对肠道干细胞的增殖亦有重要的调节作用. 持续的Hh信号通路激活可诱发组织器官过生长,并可诱发内胚性肿瘤.

Capurro等^[31]研究发现,无GPC3表达的裸鼠胚胎中, Hh信号通路是增强的,在正常胚胎鼠的纤维原细胞中, GPC3通过高亲和地结合Hh蛋白而竞争性地抑制其与相应受体结合,并促进刺猬蛋白内吞和降解,从而负性调控Hh信号通路,且认为SGBS患者至少部分原因归于Hh信号通路的过度激活^[32]. 但GPC3促HCC生长机制是否与Hh信号通路有关尚无文献报道.

3 GPC3对HCC靶向治疗价值

作为HCC表达上调的基因之一, GPC3为拓展HCC治疗手段提供了新的思路. Komori等^[33]发现GPC3144-152(FVGEFFTDV)肽片段可在HLA-A2.1转基因鼠中诱导相应的反应性细胞毒T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL),却不产生自身免疫反应,接种此CTL细胞可抑制肝癌细胞在小鼠体内生长. Ishiguro等^[34]在裸鼠的肝癌实验中发现,抗GPC3抗体GC33能明显降低表达GPC3的肝癌鼠血清GPC3和AFP水平,对表达GPC3的肝癌细胞和移植于鼠体内的Hun-7人肝癌细胞具有杀伤作用,其机制是抗体依赖的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)和/或补体依赖的细胞毒作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)^[35],并与局部的巨噬细胞关系密切^[36]. 有关GPC3在肝癌靶向治疗中的价值有待更进一步的研究.

4 结论

GPC3属膜性硫酸乙酰肝素多糖蛋白,在胚胎及胎儿期负性调控组织器官的发育,出生后异常表达与肿瘤的发生发展关系密切. 在HCC组织中GPC3呈高表达状态,且肝癌早期即可检出,在AFP阴性肝癌也有一定的表达率,故认为GPC3可用于早期肝癌的诊断. 血清GPC3的阳性率不及肝癌组织免疫组织化学染色高,也低于AFP的阳性率,因此建立和完善检测新方法是推进GPC3临床诊断应用的关键. 研究也初步显示GPC3可作为肝癌生物治疗的新靶标,在肝癌的预后判断中也有一定的价值. 肝细胞癌GPC3表达上调的机制尚不完全清楚,可能与硫酸酯酶-2、Zhx2和Afr2等有关,上调后可能通过激活整合素、胰岛素样生长因子和Wnt信号通路等促进肝癌细胞生长. 总之,深入研究GPC3促进HCC发生发展的分子机制,探讨GPC3在HCC诊断、治疗和预后判断中的价值具有重要意义.

■创新盘点

本文综述了GPC3与肝癌在应用研究和基础研究方面的最新进展,前者包括GPC3与肝癌的诊断、靶向治疗和预后评估,后者涉及GPC3在肝细胞癌中表达上调的分子机制及促肝癌生长的相关信号通路.

■应用要点

本文提示, 血清GPC3检测对肝癌的诊断价值不及AFP, 但部分AFP阴性肝细胞癌可检出GPC3, 两者联合检测可相互补充。在肝细胞预后评估方面, GPC3是独立的相关因素。

5 参考文献

- De Cat B, David G. Developmental roles of the glypicans. *Semin Cell Dev Biol* 2001; 12: 117-125
- Oliver F, Christians JK, Liu X, Rhind S, Verma V, Davison C, Brown SD, Denny P, Keightley PD. Regulatory variation at glypican-3 underlies a major growth QTL in mice. *PLoS Biol* 2005; 3: e135
- 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
- Hsu HC, Cheng W, Lai PL. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution. *Cancer Res* 1997; 57: 5179-5184
- Libbrecht L, Severi T, Cassiman D, Vander Borgh S, Pirenne J, Nevens F, Verslype C, van Pelt J, Roskams T. Glypican-3 expression distinguishes small hepatocellular carcinomas from cirrhosis, dysplastic nodules, and focal nodular hyperplasia-like nodules. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 1405-1411
- 缪辉来, 谢贵林, 温继育, 陈念平, 陈明, 包仕廷. Glypican-3蛋白在肝细胞癌患者血清和组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2311-2315
- 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
- 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
- Wang HL, Anatelli F, Zhai QJ, Adley B, Chuang ST, Yang XJ. Glypican-3 as a useful diagnostic marker that distinguishes hepatocellular carcinoma from benign hepatocellular mass lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 1723-1728
- Di Tommaso L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morengi E, Montorsi M, Torzilli G, Tommasini M, Terracciano L, Tornillo L, Vecchione R, Roncalli M. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 725-734
- Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 649-656
- Abdul-AI HM, Makhlof 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
- Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, Filmus J. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2003; 125: 89-97
- Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, Monji M, Komori H, Motomura Y, Hosaka S, Beppu T, Ishiko T, Kamohara H, Ashihara H, Katagiri T, Furukawa Y, Fujiyama S, Ogawa M, Nakamura Y, Nishimura Y. Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306: 16-25
- 周伟, 郭霞, 曹志刚, 赵新泰, 屠红. 血清Glypican-3检测在肝癌诊断中的临床意义. *肿瘤* 2007; 27: 679-682
- Beale G, Chattopadhyay D, Gray J, Stewart S, Hudson M, Day C, Trerotoli P, Giannelli G, Manas D, Reeves H. AFP, PIVKALII, GP3, SCCA-1 and follistatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *BMC Cancer* 2008; 8: 200
- Ding GH, Wang HY, Chen H, Wu MC, Man XB, Cong WM, Yang JH, Cheng SQ, Li N, Shen L. Expression of the Glypican-3 Gene in alpha-fetoprotein-negative Human hepatocellular carcinoma. *Chin-Germ J Clin Oncol* 2005; 4: 262-266
- Filmus J, Capurro M. Glypican-3 and alphafetoprotein as diagnostic tests for hepatocellular carcinoma. *Mol Diagn* 2004; 8: 207-212
- 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
- Pilia G, Hughes-Benzie RM, MacKenzie A, Baybayan P, Chen EY, Huber R, Neri G, Cao A, Forabosco A, Schlessinger D. Mutations in GPC3, a glypican gene, cause the Simpson-Golabi-Behmle overgrowth syndrome. *Nat Genet* 1996; 12: 241-247
- Lapunzina P. Risk of tumorigenesis in overgrowth syndromes: a comprehensive review. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005; 137C: 53-71
- Liu B, Paranjpe S, Bowen WC, Bell AW, Luo JH, Yu YP, Mars WM, Michalopoulos GK. Investigation of the role of glypican 3 in liver regeneration and hepatocyte proliferation. *Am J Pathol* 2009; 175: 717-724
- Lai JP, Sandhu DS, Yu C, Han T, Moser CD, Jackson KK, Guerrero RB, Aderca I, Isomoto H, Garrity-Park MM, Zou H, Shire AM, Nagorney DM, Sanderson SO, Adjei AA, Lee JS, Thorgeirsson SS, Roberts LR. Sulfatase 2 up-regulates glypican 3, promotes fibroblast growth factor signaling, and decreases survival in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 1211-1222
- Morford LA, Davis C, Jin L, Dobierzewska A, Peterson ML, Spear BT. The oncofetal gene glypican 3 is regulated in the postnatal liver by zinc fingers and homeoboxes 2 and in the regenerating liver by alpha-fetoprotein regulator 2. *Hepatology* 2007; 46: 1541-1547
- Lv Z, Zhang M, Bi J, Xu F, Hu S, Wen J. Promoter hypermethylation of a novel gene, ZHX2, in hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 740-746
- Kwack MH, Choi BY, Sung YK. Cellular changes resulting from forced expression of glypican-3 in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cells* 2006; 21: 224-228
- Kittaka N, Takemasa I, Takeda Y, Marubashi S, Nagano H, Umeshita K, Dono K, Matsubara K, Matsuura N, Monden M. Molecular mapping of human hepatocellular carcinoma provides deeper

- biological insight from genomic data. *Eur J Cancer* 2008; 44: 885-897
- 28 王冰, 林山, 王烈. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3基因对肝癌细胞SK-Hep-1黏附和侵袭的影响. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2008; 15: 474-477
- 29 Capurro MI, Xiang YY, Lobe C, Filmus J. Glypican-3 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by stimulating canonical Wnt signaling. *Cancer Res* 2005; 65: 6245-6254
- 30 Cheng W, Tseng CJ, Lin TT, Cheng I, Pan HW, Hsu HC, Lee YM. Glypican-3-mediated oncogenesis involves the Insulin-like growth factor-signaling pathway. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1319-1326
- 31 Capurro MI, Xu P, Shi W, Li F, Jia A, Filmus J. Glypican-3 inhibits Hedgehog signaling during development by competing with patched for Hedgehog binding. *Dev Cell* 2008; 14: 700-711
- 32 Capurro MI, Li F, Filmus J. Overgrowth of a mouse model of Simpson-Golabi-Behmel syndrome is partly mediated by Indian hedgehog. *EMBO Rep* 2009; 10: 901-907
- 33 Komori H, Nakatsura T, Senju S, Yoshitake Y, Motomura Y, Ikuta Y, Fukuma D, Yokomine K, Harao M, Beppu T, Matsui M, Torigoe T, Sato N, Baba H, Nishimura Y. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2689-2697
- 34 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
- 35 Nakano K, Orita T, Nezu J, Yoshino T, Ohizumi I, Sugimoto M, Furugaki K, Kinoshita Y, Ishiguro T, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H, Yamada-Okabe H, Tsuchiya M. Anti-glypican 3 antibodies cause ADCC against human hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378: 279-284
- 36 Takai H, Kato A, Kinoshita Y, Ishiguro T, Takai Y, Ohtani Y, Sugimoto M, Suzuki M. Histopathological analyses of the antitumor activity of anti-glypican-3 antibody (GC33) in human liver cancer xenograft models: The contribution of macrophages. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 930-938

■同行评价

本文主要围绕GPC3与原发性肝癌的关系, 综述GPC3在肝细胞癌中的表达特点、促HCC生长机制、HCC靶向治疗及预后评估价值等, 有参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被PMC收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology*, WJG)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26)

克罗恩病的糖、脂类和蛋白质代谢异常

吴涛, 季光

■背景资料

炎症性肠病(IBD)包括克罗恩病(CD)和溃疡性结肠炎(UC), 他起因于不适当的免疫应答、遗传易感个体、共生的微生物抗原, 并可被特定的环境因素所诱发。

吴涛, 上海中医药大学中医方证与系统生物学研究中心 上海市 201203

季光, 上海中医药大学脾胃病研究所 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032

国家自然科学基金资助项目, No. 30873260

上海市优秀学科带头人计划基金资助项目, No. 09XD1403800

上海市教委重点学科基金资助项目, No. J50305

上海高校优秀青年教师科研专项基金资助项目, No. 08063

作者贡献分布: 本文综述由吴涛完成; 季光审校。

通讯作者: 季光, 教授, 主任医师, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科. jiliver@vip.sina.com

电话: 021-64286261 传真: 021-64286261

收稿日期: 2009-10-26 修回日期: 2009-11-30

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Abnormal glucose, lipid and protein metabolism in patients with Crohn's disease

Tao Wu, Guang Ji

Tao Wu, Center of Chinese Medicine Therapy and Systems Biology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Guang Ji, Institute of Digestive Diseases, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30873260; the Program of Shanghai Subject Chief Scientist, No. 09XD1403800; the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, No. J50305; and the Scientific Research Special Foundation for Cultivating Excellent Young Teachers in Shanghai Colleges, No. 08063

Correspondence to: Professor Guang Ji, Institute of Digestive Diseases, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com

Received: 2009-10-26 Revised: 2009-11-30

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), consisting of Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), poses a great threat to human health. It results from an inappropriate immune response, in genetically susceptible individuals, to microbial antigens of commensal microorganisms. This paper reviews abnormal glucose, lipid and protein metabolism in patients with CD and highlights the application of metabonomics in biomarker revelation for CD.

■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科

Key Words: Crohn's disease; Glucose metabolism; Lipid metabolism; Protein metabolism

Wu T, Ji G. Abnormal glucose, lipid and protein metabolism in patients with Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 160-168

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 其威胁着人类的健康。他起因于不适当的免疫应答、遗传易感个体及共生的微生物抗原, 并可被特定的环境因素所诱发。本文主要综述了CD的糖、脂类及蛋白质代谢异常及代谢组学平台在揭示CD生物学标志和发病机制中的意义。

关键词: 克罗恩病; 糖代谢; 脂类代谢; 蛋白质代谢

吴涛, 季光. 克罗恩病的糖、脂类和蛋白质代谢异常. *世界华人消化杂志* 2010; 18(2): 160-168

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/160.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 他起因于不适当的免疫应答、遗传易感个体、共生的微生物抗原, 并可被特定的环境因素所诱发。该病主要作用在胃肠道, 基本影响着全身的器官功能。欧洲从1945年开始CD发病率明显增高, 并在20世纪80年代报道了CD的高发病率、UC的低发病率^[1]。1990年后CD的发病率从1988-1990年的5.2/10万上升至1997-1999年的6.4/10万。然而, 亚洲、东欧、南美洲在1990年以前发病率较低, 但近十年发病率明显增高^[2-5]。Baumgart认为IBD的炎症发生机制是树突状细胞被TNF- α 、IFN- γ 、IL-12/18诱导的T细胞所激活和极化^[6]。IL-12、IFN- γ 的产生过多导致了鼠类IBD炎症和人类CD肠道炎症的发生; 此外在鼠类模型中发现抗炎症因子TGF- β 的分泌不足与之有关, 并表明模型中炎症的发生与失衡相关, 这种失衡是出现正面免疫原性或

者炎症的应答、否定的耐受源或者抗炎的黏膜免疫应答^[7]。另外肠道微生物异常的应答反应是导致IBD的关键因素^[8]。而且, 肠道微生物群在疾病发展过程中显示出关键的作用。正常生理条件下复杂的微生物定位于黏膜表面以保证必要的功能, 但在易感个体中亦可能导致IBD。猜测IBD的慢性炎症在某些情况下是对异常黏附的侵袭性微生物的正常免疫应答, 或者是对正常共生性微生物的过分免疫应答是十分合理的^[9]。Malin等^[10]显示增强的大分子物质的吸收与CD的临床活性相关, 黏膜屏障功能的损害是CD的第2个现象。Asakura等^[11]认为IBD发生机制的4个步骤是: 第1步是肠道微生物与肠道内皮细胞通过受体相互作用; 第2步是巨噬细胞、树突状细胞、黏膜淋巴细胞相互作用; 第3步是淋巴细胞和血管内皮细胞相互作用; 第4步是淋巴细胞与产生前炎症细胞因子或自由基或黏膜损伤与修复的粒细胞相互作用。尽管关于IBD发病机制研究愈来愈多, 但目前为止潜在的生物学变化仍然未能完全阐明。CD是一种慢性复发性疾病, 尤其是活动期伴随着代谢的紊乱。本文主要综述了CD的糖、脂类和蛋白质代谢异常及代谢组学平台在揭示CD生物学标志和发病机制中的意义。

1 糖代谢异常

Capristo等^[12]通过对静止期UC和CD患者各10例的BMI、脂肪量、基础代谢率和胰岛素敏感性的观察发现: CD患者的BMI、脂肪量、呼吸商值比UC和正常对照组低; 周围组织的糖摄入在两组中没有差别; 各组间糖储存和氧化没有区别。因此IBD患者在静止期与正常人有相似的全身糖摄入和氧化, 可能缘于无脂肪物质的储藏和低血及组织细胞因子的浓度。Das等^[13]提出应用糖和钾及胰岛素可能对IBD的治疗有效的假说, 原因是胰岛素具有抑制TNF- α 和超氧阴离子的产生作用, 加强NO的合成, 并通过刺激NO抑制细胞间黏附因子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的表达, 这些提示胰岛素可以作为一个抗炎分子。

Belmiro等^[14]对炎症和非炎症CD患者的肠黏膜中葡糖氨基聚糖类(glycosaminoglycans, GAGs)进行了生物化学和免疫组织化学分析, 结果发现在炎症CD患者结肠组织中发现的GAGs合成增加, 并推测其可能是恢复肠黏膜完整性的潜在机制之一。并有学者认为在活动期IBD中

炎症介质的浓度增高, 可能与IR相关; 且广泛用于IBD治疗的糖皮质激素类也很显然与IR相关。

2 脂类代谢异常

慢性炎症、肠吸收受损、肠切除术对CD的脂类代谢均有一定的影响。CD活动期伴随着食物摄入的减少、水、矿物质和代谢紊乱。在许多急性疾病存在脂类代谢紊乱, 且低胆固醇血症是其消极的预后指标。引起CD患者血清胆固醇浓度降低的原因较多, 许多研究报道同时存在胆固醇合成和吸收的影响, 一般采用合成的标志物(胆固醇水平)和吸收的标志物(血清非胆固醇脂类: 角鲨烯、7-烯胆烷醇、谷甾醇、菜籽甾醇)进行定量分析。近十年来临床研究发现脂类代谢和全身性炎症中具有相关性。

2.1 胆固醇异常改变 Mingrone等^[15]研究表明增加的脂质过氧化可以解释CD患者中脂肪储备物的减少, 提示足够的脂肪饮食对CD的营养治疗可能有效。Hrabovský等检测了24例活动期CD患者(CDAI>150)自住院后第3、14、28天的总胆固醇、LDL、HDL、TG的水平, 同时检测了角鲨烯、7-烯胆烷醇、谷甾醇、菜籽甾醇的浓度, 采用100例志愿者血液标本进行对照, 结果发现: 所有基本的脂类代谢的参数水平都下降; 7-烯胆烷醇水平明显降低、角鲨烯明显升高; 菜籽甾醇水平明显降低, 但降低的血清谷甾醇水平无统计学差异^[16,17]。表明活动期CD患者出现明显的脂质紊乱; 同时出现明显的低胆固醇血症, 并伴随着胆固醇合成和吸收过程的变化。

2.2 脂肪酸异常改变 脂肪酸作为转录的激活者、并构成炎症介质的前体, 在肠细胞中表现出营养和保护效应。CD患者脂肪酸代谢参与了免疫反应和炎症的过程, 脂肪酸的改变与疾病的临床过程相关。已有研究表明活动期IBD患者出现血清多不饱和脂肪酸(plasma polyunsaturated fatty acid pattern, PUFA)的异常, 包括n3的升高和n6的降低。

Esteve-Comas等^[18]用GC方法测定了73例活动期IBD患者血清脂肪酸的类型, 并以107例正常人作为对照; 并同时研究了不同的血清脂肪酸类型对IBD活动期的影响。结果发现, UC和CD患者血清脂肪酸类型相似; UC和CD患者中C18:3 n3、C22:6 n3(docosahexaenoic acid, DHA)明显高于正常人, 而C20:3 n6则低于正常人; 在更严重的疾病中, 血清PUFA的浓度包括去饱和指数出现明显的逐步降低, 甚至在有些

■ 研发前沿

尽管关于IBD发病机制研究愈来愈多, 但目前为止潜在的生物学变化仍然未能完全阐明。而代谢组学的发展为CD的发病机制和治疗研究提供了新的思路。

■相关报道

Marchesi等采用¹H NMR高分辨率核磁共振波谱法和多变量模式识别技术,对CD和UC患者粪便进行代谢组学观察.结果提示IBD患者出现肠道菌群的变化和吸收障碍;CD的炎症反应较UC更加广泛,且涉及整个肠道;CD患者中甘油的共振态具有显著的特征,但是正常组和UC组则显示出低的强度.

炎症疾病的患者中血清n3脂肪酸类(C18:3 n3、C22:6 n3)从不低于正常人.这些结果提示,活动期IBD患者中PUFA的合成增加可能与消耗增多是共同存在的;PUFA参与组织类花生酸类的合成、细胞膜的功能,包括免疫活性细胞,与疾病的发生机制相关.结果也同样质疑了用n3 PUFA治疗IBD的机制.为验证在IBD的初期PUFA的代谢是否出现缺乏,Esteve-Comas等^[19]研究了3组患者,24例未行结肠切除手术的静止期UC患者,15例行结肠切除手术的UC患者,27例CD患者,用半毛细管气液相色谱法(semi-capillary column gas-liquid chromatography)分析测定了3组患者血清中的脂肪酸.结果发现静止期UC和CD患者的C22:6 n3的浓度和百分比、不饱和指数明显高于行结肠切除手术的UC患者;未行结肠切除手术的静止期UC,行结肠切除手术的UC患者的C22:6 n3的浓度和百分比、不饱和指数较CD患者持续升高.这些结果提示,非活动期IBD中PUFA的合成可能是n3复合物增高的原因;而活动期更加显而易见的原因是营养不良、激素类物质的应用和炎症的发生;且非手术和行手术的UC患者均出现值的升高,提示IBD中存在PUFA代谢的异常. Böhner等^[20]采用GC方法检测了CD患者活检回肠和结肠黏膜组织标本中脂肪酸的表型分布,并以内镜肉眼下正常的结肠作为对照.在发生炎症的回肠和结肠黏膜中脂肪酸分布较对照组主要是C18:2 n6和C18:3 n3的明显下降,并伴随PUFA的增加,以及整个脂肪酸不饱和指数的增加;在发生炎症的结肠和肉眼正常的结肠组织中均出现饱和脂肪酸(C18:0)的增加和单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acids, C18:1 n9)的降低.这些结果表明CD患者中PUFA的分布改变是小肠和大肠黏膜炎症的特征;CD患者的结肠脂肪酸代谢是渐渐改变的,主要表现出饱和和单不饱和脂肪酸的变化. Schmidt等^[21]研究了IBD患者中AA代谢情况和细胞内钙离子浓度,结果发现白三烯B4(leukotriene B4, LTB4)和细胞内钙浓度的升高促成了IBD的病理生理学发展. Shoda等^[22]研究了n3 PUFAs对三硝基苯磺酸(trinitro-benzene sulfonic acid, TNB)诱导的CD大鼠模型的治疗效果.结果显示加入紫苏油(perilla oil, POE)的脂肪饮食可以减少结肠损伤,且与抑制血清LTB4相关;表明 α -亚麻酸(alpha-linolenic acid, α -LA; POE为其中一种)在实验性CD中控制肠道炎症优于C20:5 n3(eicosapentaenoic acid, EPA)和C22:6 n3. Inui等^[23]采用TNB灌胃

造模大鼠IBD,并分别给予等热量的葡萄糖溶液(glucose solution, FF)、大豆油(soybean oil emulsion, SOE)和POE.结果发现血清总胆固醇和磷脂浓度降低POE<FF, SOE组;与FF, SOE组比较,POE组结肠磷脂类中的AA明显降低、EPA的水平明显升高;结肠的厚度、损伤计分和LTB4水平POE组最低.这些结果表明 α -亚麻酸通过改变结肠磷脂类中脂肪酸的组成来抑制结肠中LTB4的合成,且POE在改善结肠的炎症方面是有效的. Pereira等^[24]研究发现不饱和磷脂酰胆碱在活动期CD患者血清中明显增加,但疾病为静止期时为正常水平.这与活动期CD黏膜磷脂类包括不饱和脂肪酸的增加是相一致的,促使了AA合成并渗入血清内. Kuroki等^[25]用GC方法测定了20例CD患者的不同的血清脂肪酸,并以18例正常人作为对照;这些患者在6 mo内未服用任何营养剂且没有肠切除术病史;其中8例病变部位在小肠,3例病变部位在大肠,9例病变部位在大肠和小肠.结果发现, C20:4 n6、C20:5 n3、C22:0、C22:6 n3、总n3 PUFA、总PUFA的血清浓度和百分比明显低于正常组;必需脂肪酸(C18:2 n6, C18:3 n3)和C20:3 n9两组差别没有统计学意义;与CDAI相关的9个脂肪酸中, C20:5 n3和总n3 PUFA显示出明显的负相关.结果显示CD必需脂肪酸缺乏症较少见, n3 PUFA可能与疾病的发展相关.

Geerling等^[26]比较了CD患者与正常对照组的血清脂类和脂肪组织中脂肪摄入和脂肪酸组成的定性和定量分析.结果发现CD患者与对照组脂肪摄入的定性定量没有差别;血清脂类或脂肪组织中亚油酸和 α -亚麻酸的比例没有差别;总n3 PUFA的比例降低,其中C22:5 n3明显增高, C22:6 n3、AA明显降低;在CD久病患者中比新诊断CD患者脂肪酸的分布异常更加明显. Geerling等^[27]进行了1项随机双盲安慰剂对照研究,CD患者分为安慰剂、抗氧化剂(antioxidants, AO)、AO/n3脂肪酸3组,治疗3 mo.结果发现给予AO后血清硒、VitC、VitE、SOD活性、抗氧化状态明显改善;与对照组比较,血清中 β 胡萝卜素、硒、VitC、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)在给药前明显较低;然而给予AO后这些指标与对照组无明显差异(除了GPx).表明AO/n3脂肪酸组明显降低AA的比例,增加血清脂类和脂肪组织中C20:5 n3、C22:6 n3的比例;抗氧化剂的给予能明显改善CD患者的抗氧化状态;AO/n3脂肪酸明显

改变类花生酸的比例以降低炎症反应的发生。Alzoughaibi等^[28]研究发现AA代谢产物介导了CD患者肠道平滑肌细胞(human intestinal smooth muscle, HISM)中IL-8对LA的应答。环加氧酶途径和脂氧合酶途径均参与其中; LA并不通过激活NF- κ B来增加IL-8, 但只有在NF- κ B激活的情况下LA才增加IL-8。表明AA代谢产物通过增强NF- κ B依赖的IL-8的转录来增加了IL-8的产生。Trebbles等^[29]采用GC方法对52例CD患者的PBMC和血清磷脂类物质进行分析, 并用ELISA方法检测PBMC中的PGE2和IFN- γ 的表达情况。结果发现, CD患者PBMC中n3 PUFA增高、AA降低; PGE2、IFN- γ 低于正常组。Heimerl等^[30]采用基因序列分析、实时RT-PCR方法等研究了调控IBD患者脂肪酸吸收和内源性脂肪酸合成的基因表达情况。结果提示UC患者脂肪酸合酶表达的降低至少部分是由于在促炎细胞因子的存在下肝X受体(liver X receptor, LXR)表达和功能的丧失所致; 脂肪酸代谢基因表达的改变可以促进UC的病理生理学的发展。

以上的研究表明CD患者中脂肪酸表型的异常不是必需氨基酸吸收不良的结果, 而是代谢异常的结果。这些结果对于理解CD的病理生理学改变来说非常重要, 且表明在治疗CD时可以适当补充脂肪酸。

3 蛋白质代谢异常

3.1 C反应蛋白(C-reactive protein, CRP) 评价CD的活动性对于临床治疗来说十分重要, CRP是炎症和组织损伤的敏感的标志物。

Vucelić等^[31]对61例UC和30例CD患者研究发现活动期患者血清CRP浓度明显增高。López Morante等^[32]研究了22例UC和18例CD患者, 在评价疾病的活动度方面, CD患者CRP水平较UC患者更加敏感(98.6% vs 71.4%)和特异(95% vs 84.6%); CD患者CRP水平明显高于UC患者(57.7 mg/dL \pm 55.7 mg/dL vs 16.3 mg/dL \pm 18.8 mg/dL), 尤其是重症感染患者(104.8 mg/dL \pm 54.3 mg/dL vs 29.0 mg/dL \pm 24.2 mg/dL)。表明CRP在评价CD活动性方面具有一定意义, 尤其是对于静止期或者低活动度CD。Chamouard等^[33]研究了150例活动期和静止期CD患者的CRP和CD活动指数(van hees index, VHI)。结果发现49%的CD患者CRP > 20 mg/L, CRP与VHI明显相关。Yang等^[34]对85例CD患者的CRP水平研究发现, CRP水平与ESR相关, 但与CDAI、内镜活动度、病理改

变、低白蛋白血症和贫血无相关性; 活动期CD的CRP明显升高, 尤其是重症和结肠病变CD患者; 当药物有效控制CD的活动性时CRP明显下降, 且CRP水平与NF- κ Bp65平行变化。Filik等^[35]研究了115例CD患者的CDAI、CRP和黏膜损伤程度间的关系。内镜下疾病的活动度与CRP的增高相关; CRP在评价CD活动度时比CDAI更加灵敏; 但认为CDAI和CRP不是疾病活动度的可靠指标。

Thalmaier等^[36]采用限制性片段长度多态性方法(restriction fragment length polymorphism, RFLP)对241例CD患者研究发现CRP+1059G/C的等位基因C与CD患者减少的血清CRP水平、增加的回肠末端病变相关。Karoui等^[37]研究了103例CD患者(77例患者处于活动期)的CRP水平, 结果发现CRP蛋白水平与CD疾病活动度是相关的, 他在提示疾病处于中度或者重度方面具有一定意义。Franchimont等^[38]则认为处于活动期且低血清CRP水平的CD患者病变部位主要是在回肠。Denis等^[39]选择CDAI > 150且CRP正常范围的CD患者作为研究对象, 结果发现这些患者仅见轻微的肠黏膜损害。Koelewijn等^[40]研究发现CD复发患者CRP水平随着疾病的临床过程发展而增加。

3.2 热休克蛋白(heat shock protein, HSP) HSP由一些应激因素所诱导, 是自身免疫失调的潜在抗原。Stahl等^[41]采用Western blot结合激光密度分析定量法研究了IBD患者HSP90的表达, 并采用免疫组织化学方法检测HSP90的定位。结果显示: IBD患者肠黏膜HSP90表达明显高于正常组, 在IBD患者正常与发生炎症的黏膜间没有差别; 免疫组织化学发现在上皮细胞、单核细胞、巨细胞、神经细胞和小血管内皮细胞可检测到HSP90的表达, 但与正常组比较染色的强度并没有明显差别。这些提示, 在IBD患者中HSP90的潜在保护性和免疫功能不太可能存在。

而相关研究则认为HSP70对IBD患者肠道炎症反应具有保护作用。Klausz等^[42]研究了133例CD患者, 并以75例正常人作为对照。结果发现HSP70-2的等位基因A与CD相关, 提示基因型评价的临床价值; CD患者防御机制的遗传学诊断与HSP70-2的基因多态性相关, 而与CD14或者IL-10基因无相关性。Debler等^[43]为验证HSP70-2 PstI基因多态性在白种人CD患者中的作用, 纳入61例CD患者进行研究, 并以61例正常人作为对照。结果发现伴随HSP70-2 PstI基因多态性的

■创新盘点

CD是一种慢性复发性疾病, 尤其是活动期伴随着代谢的紊乱。该文主要综述了CD的糖、脂类和蛋白质代谢异常及代谢组学平台在揭示CD生物学标志和发病机制中的意义。

■应用要点

本文提示, 深入对CD代谢异常的研究可以促进对CD发病机制的认识, 而代谢组学方法可为胃肠疾病提供新的无创伤性的诊断, 并将为CD的治疗提供新的途径。

白种人CD患者出现更为严重的CD, 如穿孔、脓肿、瘘管形成、肿瘤等, 尤其是纯合型BB增加了手术的危险性. Nam等^[44]亦发现HSP70-2的单核苷酸基因多态性与CD的严重临床表现相关, 尤其是BB基因型患者. Zouiten-Mekki等^[45]采用RFLP分析了突尼斯148例CD患者和81例正常人的HSP70-2 PstI的基因型. 发现该类人群中CD和HSP70-2基因型无相关性; PstI等位基因A与疾病的表型并不相关.

3.3 胶原 肠道狭窄的病因学中细胞外基质成分尤其是胶原的沉积占了重要的作用. Matthes等^[46]用原位杂交方法, 研究了IBD患者中胶原的代谢. 结果发现, CD和UC患者组织中胶原转录物较正常对照组明显增高, 提示胶原的重新合成增加; 但是CD和UC两者中胶原酶mRNA转录物的表达有明显的区别, 在CD中没有发现胶原酶I、IV表达的区别; 相反, 在UC中胶原酶较正常组和CD患者活组织中都有明显的增加.

3.4 游离蛋白S 多病灶性肠梗塞大部分是由于小血管的血栓形成, 可能是CD的发病机制之一. 游离蛋白S的缺乏可能促进了血栓的形成. Aadland等^[47]研究了54例CD患者的血清游离蛋白S, 其中31例患者(57.4%)低于正常值; 而C4b结合蛋白和蛋白C与正常组相似; 游离蛋白S并不与疾病的活动性、手术或者并发症、肠外表现、治疗相关. 提示蛋白S/蛋白C/血栓调节系统在CD患者中受损, 而且在CD及其血栓并发症的发展中起重要作用.

3.5 $\alpha 2$ 巨球蛋白($\alpha 2$ -macroglobulin, AMG) Becker等^[48]研究发现AMG在正常人粪便中只是痕量出现; 而IBD患者中大量增加, 他反应了IBD的活动度. 表明其可以作为IBD活动度的生物标志, 并对诊断和治疗有潜在的意义和价值.

3.6 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF-I)及其结合蛋白5(IGF binding protein-5, IGFBP-5) Zimmermann等^[49]研究发现IGF-I及其IGFBP-5在实验性CD的炎症和纤维化肠中高表达; 体外平滑肌细胞和成纤维细胞中IGF-I诱导细胞增殖和胶原合成增加. 并收集了行肠切除的CD患者的肠组织, 分别用核糖核酸酶保护测定法(RNase protection assay)和Northern blot法定量分析了IGF-I和IGFBP-5 mRNAs的表达, 原位杂交方法定位测定mRNA的表达, Western blot检测蛋白的表达. 结果发现: IGF-I和IGFBP-5 mRNAs的表达在炎症/纤维化的肠中高于正常肠组织; IGF-I mRNA表达在黏膜固有层的多细

胞类型, 黏膜下层和肌层的成纤维细胞样细胞中; IGFBP-5 mRNA在平滑肌细胞的黏膜肌层, 和整个肠道的成纤维细胞样细胞中高表达; 组织中IGFBP-5的表达与I型胶原相关. 这些结果与IGF-I作用于平滑肌细胞和成纤维细胞/肌成纤维细胞以促进胶原的合成和细胞的增殖相一致, 其作用可被IGFBP-5所调节.

3.7 IL-18结合蛋白(IL-18 binding protein, IL-18BP) 肠道内皮细胞和吞噬细胞是黏膜下层IL-18BP的主要来源, 而且其产生也发现与其他类型的内皮细胞和吞噬细胞相关. Corbaz等^[50]从活动期CD患者活组织中发现IL-18BP转录产物和蛋白明显增加, 并伴随着IL-18的上调; 同时分析了游离或结合IL-18的IL-18BP4种亚型的表达情况, 发现未结合IL-18BP亚型a和c、无活性的亚型d在活动期和对照组中表达然而亚型b并未检测到; 同时检测到IL-18/IL-18BP复合物; 有趣的是, 尽管其大部分结合, 即使在IL-18BP亚型a和c存在下, 仍然在活动期CD患者活组织中检测到游离的IL-18. 这些结果表明在活动期CD患者肠组织中存在适当的中和亚型, 并显示出IL-18/IL-18BP生物学特性的复杂性.

3.8 胰腺炎相关蛋白(pan-creatitis-associated protein, PAP) PAP是胰腺弹力蛋白, 同时也表达在回肠但不表达于结肠中. 小肠炎症患者中PAP血清浓度的增加主要是因为未正确治疗乳糜泻. Desjeux等^[51]为测定PAP是否是活动期CD患者定位于回肠的血清标志物, 进行了1项多中心前瞻性研究, 将124例CD患者分为4组, 分别为: (1)静止期回结肠病变(38例); (2)活动期回结肠病变(45例); (3)静止期病变部位仅在回肠(18例); (4)活动期结肠病变患者(28例). 另外选取54例正常人作为对照. 分别对CDAI、CRP、病变部位、血清PAP水平进行检测. 结果发现血清PAP水平的增高(>50 $\mu\text{g/L}$)明显与疾病的活动度和定位于回肠相关.

3.9 单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) MCP-1被认为在单核细胞募集反应和IBD炎症中起重要作用. Herfarth等^[52]采用ELISA方法对31例CD患者活检标本匀浆中MCP-1浓度进行检测, 并分析内镜下炎症积分; 采用RFLP方法检测了179例CD患者的MCP-1基因分型, 并以正常人作为对照. 结果发现组织中MCP-1浓度与炎症积分相关; 与对照组相比不同MCP-1等位基因的基因频率并无差别; G/A、G/G基因型在迟发型CD患者中明显减少,

且这两种基因型很少出现肠痿. 表明CD患者肠道炎症程度与组织中MCP-1水平相关, 且不同的MCP-1基因分型表现出不同的疾病状态.

3.10 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK) CD患者出现持续的成纤维细胞的激活, 且导致了黏附分子表达的增加. MAPK是在炎症中控制ICAM-1表达的关键的信号通路. 为研究MAPK在CD患者中调控ICAM-1的作用, Beddy等^[53]采用从CD患者活检组织中提取的成纤维细胞作为研究对象, 并以结肠癌患者的正常结肠作为对照; 分别采用细胞计数和Western blot方法检测细胞表面和整个细胞中ICAM-1的表达情况; 细胞被TNF- α 和IL-1 β 所激活, 并分别用对Jun氨基末端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK)、P38、P42/44激酶的抑制剂进行预处理. 结果发现从CD患者活检组织中提取的成纤维细胞中ICAM-1的表达明显增加; TNF- α 和IL-1 β 通过JNK通路上调ICAM-1的表达. 炎症通路中特定的抑制可能为CD的治疗提供新的靶点.

3.11 骨桥蛋白(osteopontin, OPN) Agnholt等^[54]研究发现血清OPN水平, 与CD炎症相关; 体外CD患者T细胞培养显示OPN激活的IL-10的产生少于正常对照组, 表明IL-10缺乏促进了CD患者的免疫调节失调, 尤其在OPN激活后.

3.12 谷氨酰胺(glutamine, Gln)和精氨酸(arginine, Arg) Gln和Arg是具有调节免疫活性的必需氨基酸. 为评价两者是单独或者结合起来影响细胞因子的释放, Lecleire等^[55]对10例活动期CD患者的结肠镜活检肠组织进行研究, 用Arg(0.1、2 mmol/L)和Gln(0.6、10 mmol/L)的两种剂量(生理和药理)共同孵育18 h. ELISA方法检测细胞因子(IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IL-1 β , IFN- γ)的浓度; 奈基乙二胺方法检测NO的产生; 免疫印迹法检测NF- κ Bp65亚单位、TNF- α 的抑制剂和MAPK的表达. 研究结果表明合并应用药理剂量的Arg、Gln可以降低活动期结肠CD患者活组织中NF- κ B和MAPK途径中的TNF- α 及主要前炎症细胞因子的释放. 但这些结果仍然需要前瞻性的研究去评价肠内合并补给Arg、Gln是否对活动期CD有效.

3.13 钙黏蛋白(E-cadherin, CDH1) CDH1在维持肠黏膜屏障的完整性中起关键的作用, CD患者中他的细胞定位被破坏. Muise等^[56]为验证CDH1基因多态性是否与CD相关, 采用源于HapMap和CD的20 Tag SNPs的候选基因

方法检测, 并用HapMap、MDCK-1、Caco2细胞验证其功能. 结果发现, CDH1基因多态性与CD相关, CD患者肠上皮细胞中钙黏蛋白聚集增加, 且培养细胞中钙黏蛋白的表达导致了细胞内不正常的聚集, 钙黏蛋白和 β -catenin(连环蛋白)血清膜定位受损. 这便解释了CD患者中通透性增加. 因此, 研究CDH1的基因多态性对于深入理解CD的发病机制是非常重要的.

3.14 脂联素 CD的一个特征是肠系膜脂肪组织过度增生. 脂细胞和特定的蛋白在CD的发病机制中起了一定的作用. Yamamoto等^[57]采用ELISA和实时定量PCR方法进行检测22例CD患者肠系膜脂细胞的脂联素的表达, 并以行肠切除术后后的结肠癌患者作为对照. 结果发现在过度增生的脂肪组织中的脂细胞产生和分泌脂联素, 脂联素可能与调节CD的肠道炎症相关.

3.15 钙网蛋白和乳铁蛋白 Sipponen等^[58]对77例CD患者研究发现, 在内镜表现的基础上评价CD的活动度较CDAI、CRP更为敏感的替代标志物是粪便中的钙网蛋白和乳铁蛋白.

3.16 蛋白丢失性肠病 蛋白丢失性肠病是CD少见但较严重的并发症, 主要发生在营养大量丢失或者肝肾功能衰竭时, 主要的特征是低白蛋白血症. 明显的肠渗漏可能由于黏膜损伤增加的淋巴管压力所引起, 可通过检测粪便中不同放射标记的大分子物质的排除或者 α 1抗胰蛋白酶清除率来判断蛋白的情况^[59].

4 代谢组学与CD

代谢组学, 是新兴出现的组学方法学, 主要研究小分子代谢物; 是通过对易获得的人类体液如尿液、血液、唾液进行定量和无创伤性的分析. 目前代谢组学主要采用MS、GC-MS、LC-MS、CE-MS、NMR等进行代谢物的分析.

Marchesi等^[60]采用1H NMR高分辨率核磁共振波谱法和多变量模式识别技术, 对CD和UC患者粪便进行代谢组学观察. 结果发现, 两组患者粪便中丁酸、乙酸、甲胺、三甲胺(trimethylamine, TMA)较正常人水平降低, 提示肠道菌群的变化; 而且大量的氨基酸在两组患者粪便中出现, 提示由IBD或者蛋白丢失性肠病引起了吸收障碍; CD患者粪便中代谢物的差别明显高于正常组, 提示CD的炎症反应较UC更加广泛, 并且涉及整个肠道; CD患者中甘油的共振态具有显著的特征, 但是正常组和UC组则显示出低的强度. Murdoch等^[61]采用代谢组学的方法研究

■名词解释

代谢组学: 是最近出现的组学方法学, 主要研究小分子代谢物, 是通过对易获得的人类体液如尿液、血液、唾液进行定量和无创伤性的分析, 主要采用MS、GC-MS、LC-MS、CE-MS、NMR等方法.

同行评价

本文综述了克罗恩病的糖、脂类、蛋白质异常,内容有一定的新颖性和可读性。

显示,肠内微生物群调整了哺乳动物尿液代谢的指纹图谱;并收集IL-10^{-/-}小鼠4、6、8、12、16、20周龄的尿液,采用核磁共振分析其代谢产物、主成分和最小判别分析法分析,结果显示8周龄IL-10^{-/-}小鼠,一些代谢产物包括TMA和岩藻糖明显的改变,并伴随着严重的组织损伤。Martin等^[62]研究显示IL-10^{-/-}小鼠8 wk后出现慢性炎症,并伴随盲肠和空肠形态学改变,黏膜层和黏膜下层的炎性细胞浸润。血清图谱提示能量代谢的失衡、脂蛋白和糖基化蛋白的代谢受损;小鼠VLDL水平的降低、LDL和PUFA的升高,与IBD的病因学是相关的;而且高水平的乳酸、丙酮酸、柠檬酸盐和低血糖提示脂肪酸氧化和糖酵解增强,然而游离脂肪酸的高水平反映出肌肉萎缩、蛋白质类的破坏和氨基酸的互换产生能量。

5 结论

目前为止,CD的发病机制仍未完全阐明。虽然许多研究已经促进对该病的发病机制和治疗的理解,但是没有特效的治疗药物。深入对CD代谢异常的研究可以促进对CD发病机制的认识。且早期的诊断十分重要,可以避免治疗的延迟。代谢组学可为胃肠疾病提供新的无创伤性的诊断,进一步阐明CD的发病机制,并将为CD的治疗提供新的途径。

6 参考文献

- Molinié F, Gower-Rousseau C, Yzet T, Merle V, Grandbastien B, Marti R, Lerebours E, Dupas JL, Colombel JF, Salomez JL, Cortot A. Opposite evolution in incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Northern France (1988-1999). *Gut* 2004; 53: 843-848
- Lakatos PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6102-6108
- Yang SK, Hong WS, Min YI, Kim HY, Yoo JY, Rhee PL, Rhee JC, Chang DK, Song IS, Jung SA, Park EB, Yoo HM, Lee DK, Kim YK. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in the Songpa-Kangdong District, Seoul, Korea, 1986-1997. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1037-1042
- Ouyang Q, Tandon R, Goh KL, Ooi CJ, Ogata H, Fiocchi C. The emergence of inflammatory bowel disease in the Asian Pacific region. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 408-413
- Zheng JJ, Zhu XS, Huangfu Z, Gao ZX, Guo ZR, Wang Z. Crohn's disease in mainland China: a systematic analysis of 50 years of research. *Chin J Dig Dis* 2005; 6: 175-181
- Baumgart DC. The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 123-133
- Strober W, Lúdvíksson BR, Fuss IJ. The pathogenesis of mucosal inflammation in murine models of inflammatory bowel disease and Crohn disease. *Ann Intern Med* 1998; 128: 848-856
- Horwitz BH. The straw that stirs the drink: insight into the pathogenesis of inflammatory bowel disease revealed through the study of microflora-induced inflammation in genetically modified mice. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 490-500
- Tlaskalová-Hogenová H, Štěpánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, Kozáková H, Rossmann P, Bártořá J, Sokol D, Funda DP, Borovská D, Reháková Z, Sinkora J, Hofman J, Drastich P, Kokesová A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2004; 93: 97-108
- Malin M, Isolauri E, Pikkarainen P, Karikoski R, Isolauri J. Enhanced absorption of macromolecules. A secondary factor in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1423-1428
- Asakura H, Suzuki K, Honma T. Recent advances in basic and clinical aspects of inflammatory bowel disease: which steps in the mucosal inflammation should we block for the treatment of inflammatory bowel disease? *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2145-2149
- Capristo E, Mingrone G, Addolorato G, Greco AV, Gasbarrini G. Glucose metabolism and insulin sensitivity in inactive inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 209-217
- Das UN. Can glucose-insulin-potassium regimen suppress inflammatory bowel disease? *Med Hypotheses* 2001; 57: 183-185
- Belmiro CL, Souza HS, Elia CC, Castelo-Branco MT, Silva FR, Machado RL, Pavão MS. Biochemical and immunohistochemical analysis of glycosaminoglycans in inflamed and non-inflamed intestinal mucosa of patients with Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2005; 20: 295-304
- Mingrone G, Greco AV, Benedetti G, Capristo E, Semeraro R, Zoli G, Gasbarrini G. Increased resting lipid oxidation in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 72-76
- Hrabovský V, Zádák Z, Bláha V, Hyspler R, Karlík T. [Changes in lipid metabolism in patients in the active phase of Crohn's disease] *Vnitr Lek* 2007; 53: 1035-1039
- Hrabovský V, Zádák Z, Bláha V, Hyspler R, Karlík T, Martínek A, Mendlová A. Cholesterol metabolism in active Crohn's disease. *Wien Klin Wochenschr* 2009; 121: 270-275
- Esteve-Comas M, Ramírez M, Fernández-Bañares F, Abad-Lacruz A, Gil A, Cabré E, González-Huix F, Moreno J, Humbert P, Guílera M. Plasma polyunsaturated fatty acid pattern in active inflammatory bowel disease. *Gut* 1992; 33: 1365-1369
- Esteve-Comas M, Núñez MC, Fernández-Bañares F, Abad-Lacruz A, Gil A, Cabré E, González-Huix F, Bertrán X, Gassull MA. Abnormal plasma polyunsaturated fatty acid pattern in non-active inflammatory bowel disease. *Gut* 1993; 34: 1370-1373
- Bühner S, Nagel E, Körber J, Vogelsang H, Linn T, Pichlmayr R. Ileal and colonic fatty acid profiles in patients with active Crohn's disease. *Gut* 1994; 35:

- 1424-1428
- 21 Schmidt C, Kosché E, Baumeister B, Vetter H. Arachidonic acid metabolism and intracellular calcium concentration in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 865-869
- 22 Shoda R, Matsueda K, Yamato S, Umeda N. Therapeutic efficacy of N-3 polyunsaturated fatty acid in experimental Crohn's disease. *J Gastroenterol* 1995; 30 Suppl 8: 98-101
- 23 Inui K, Fukuta Y, Ikeda A, Kameda H, Kokuba Y, Sato M. The effect of alpha-linolenic acid-rich emulsion on fatty acid metabolism and leukotriene generation of the colon in a rat model with inflammatory bowel disease. *Ann Nutr Metab* 1996; 40: 175-182
- 24 Pereira SP, Cassell TB, Engelman JL, Sladen GE, Murphy GM, Dowling RH. Plasma arachidonic acid-rich phospholipids in Crohn's disease: response to treatment. *Clin Sci (Lond)* 1996; 91: 509-512
- 25 Kuroki F, Iida M, Matsumoto T, Aoyagi K, Kanamoto K, Fujishima M. Serum n3 polyunsaturated fatty acids are depleted in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1137-1141
- 26 Geerling BJ, v Houwelingen AC, Badart-Smook A, Stockbrügger RW, Brummer RJ. Fat intake and fatty acid profile in plasma phospholipids and adipose tissue in patients with Crohn's disease, compared with controls. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 410-417
- 27 Geerling BJ, Badart-Smook A, van Deursen C, van Houwelingen AC, Russel MG, Stockbrügger RW, Brummer RJ. Nutritional supplementation with N-3 fatty acids and antioxidants in patients with Crohn's disease in remission: effects on antioxidant status and fatty acid profile. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 77-84
- 28 Alzoughaibi MA, Walsh SW, Willey A, Yager DR, Fowler AA 3rd, Graham MF. Linoleic acid induces interleukin-8 production by Crohn's human intestinal smooth muscle cells via arachidonic acid metabolites. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G528-G537
- 29 Trebble TM, Arden NK, Wootton SA, Mullee MA, Calder PC, Burdge GC, Fine DR, Stroud MA. Peripheral blood mononuclear cell fatty acid composition and inflammatory mediator production in adult Crohn's disease. *Clin Nutr* 2004; 23: 647-655
- 30 Heimerl S, Moehle C, Zahn A, Boettcher A, Stremmel W, Langmann T, Schmitz G. Alterations in intestinal fatty acid metabolism in inflammatory bowel disease. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 341-350
- 31 Vucelić B, Krznarić Z, Sentić M, Milicić D, Korać B, Cvorišćec D, Stavljenić A. [Value of C-reactive protein in the evaluation of activity in ulcerative colitis and Crohn's disease] *Lijec Vjesn* 1990; 112: 281-284
- 32 López Morante AJ, Sáez-Royuela F, Yuguero del Moral L, Martín Lorente JL, Ojeda Giménez C. [The usefulness of reactive protein C in managing patients with ulcerative colitis and Crohn's disease] *Rev Esp Enferm Dig* 1993; 83: 5-9
- 33 Chamouard P, Richert Z, Meyer N, Rahmi G, Baumann R. Diagnostic value of C-reactive protein for predicting activity level of Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 882-887
- 34 Yang CH, Chen XY, Yang F, Ran ZH, Liu WZ, Xiao SD. [Correlation of C-reactive protein with activity of Crohn's disease] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 1253-1255
- 35 Filik L, Dagli U, Ulker A. C-reactive protein and monitoring the activity of Crohn's disease. *Adv Ther* 2006; 23: 655-662
- 36 Thalmaier D, Dambacher J, Seiderer J, Konrad A, Schachinger V, Pfennig S, Otte JM, Crispin A, Göke B, Ochsenkühn T, Lohse P, Brand S. The +1059G/C polymorphism in the C-reactive protein (CRP) gene is associated with involvement of the terminal ileum and decreased serum CRP levels in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1105-1115
- 37 Karoui S, Ouerdiane S, Serghini M, Jomni T, Kallel L, Fekih M, Boubaker J, Filali A. Correlation between levels of C-reactive protein and clinical activity in Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 1006-1010
- 38 Franchimont D. C-reactive protein: informative or misleading marker of Crohn's disease? *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 501-502
- 39 Denis MA, Reenaers C, Fontaine F, Belaïche J, Louis E. Assessment of endoscopic activity index and biological inflammatory markers in clinically active Crohn's disease with normal C-reactive protein serum level. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1100-1105
- 40 Koelewijn CL, Schwartz MP, Samsom M, Oldenburg B. C-reactive protein levels during a relapse of Crohn's disease are associated with the clinical course of the disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 85-89
- 41 Stahl M, Ludwig D, Fellermann K, Stange EF. Intestinal expression of human heat shock protein 90 in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 1079-1087
- 42 Klausz G, Molnár T, Nagy F, Gyulai Z, Boda K, Lonovics J, Mándi Y. Polymorphism of the heat-shock protein gene Hsp70-2, but not polymorphisms of the IL-10 and CD14 genes, is associated with the outcome of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 1197-1204
- 43 Debler J, Schiemann U, Seybold U, Mussack T, Landauer N, Ladurner R, Gross M. Heat-shock protein HSP70-2 genotypes in patients with Crohn's disease: a more severe clinical course with intestinal complications in presence of the PstI-polymorphism. *Eur J Med Res* 2003; 8: 120-124
- 44 Nam SY, Kim N, Kim JS, Lim SH, Jung HC, Song IS. Heat shock protein gene 70-2 polymorphism is differentially associated with the clinical phenotypes of ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1032-1038
- 45 Zouiten-Mekki L, Karoui S, Kharrat M, Fekih M, Matri S, Boubaker J, Filali A, Chaabouni H. Crohn's disease and polymorphism of heat shock protein gene HSP70-2 in the Tunisian population. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 225-228
- 46 Matthes H, Stallmach A, Matthes B, Herbst H, Schuppan D, Riecken EO. [Indications for different collagen metabolism in Crohn disease and ulcerative colitis] *Med Klin (Munich)* 1993; 88: 185-192
- 47 Aadland E, Odegaard OR, Røseth A, Try K. Free protein S deficiency in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 957-960
- 48 Becker K, Niederau C, Frieling T. Fecal excretion of

- alpha 2-macroglobulin: a novel marker for disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Z Gastroenterol* 1999; 37: 597-605
- 49 Zimmermann EM, Li L, Hou YT, Mohapatra NK, Pucilowska JB. Insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 5 in Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1022-G1029
- 50 Corbaz A, ten Hove T, Herren S, Graber P, Schwartsburd B, Belzer I, Harrison J, Plitz T, Kosco-Vilbois MH, Kim SH, Dinarello CA, Novick D, van Deventer S, Chvatchko Y. IL-18-binding protein expression by endothelial cells and macrophages is up-regulated during active Crohn's disease. *J Immunol* 2002; 168: 3608-3616
- 51 Desjeux A, Barthet M, Barthelémy S, Dagorn JC, Hastier P, Heresbach D, Bernard JP, Grimaud JC. Serum measurements of pancreatitis associated protein in active Crohn's disease with ileal location. *Gastroenterol Clin Biol* 2002; 26: 23-28
- 52 Herfarth H, Göke M, Hellerbrand C, Mühlbauer M, Vogl D, Schölmerich J, Rogler G. Polymorphism of monocyte chemoattractant protein 1 in Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 401-405
- 53 Beddy DJ, Watson WR, Fitzpatrick JM, O'Connell PR. Critical involvement of stress-activated mitogen-activated protein kinases in the regulation of intracellular adhesion molecule-1 in serosal fibroblasts isolated from patients with Crohn's disease. *J Am Coll Surg* 2004; 199: 234-242
- 54 Agnholt J, Kelsen J, Schack L, Hvas CL, Dahlerup JF, Sørensen ES. Osteopontin, a protein with cytokine-like properties, is associated with inflammation in Crohn's disease. *Scand J Immunol* 2007; 65: 453-460
- 55 Lecleire S, Hassan A, Marion-Letellier R, Antonietti M, Savoye G, Bôle-Feysot C, Lerebours E, Ducrotté P, Déchelotte P, Coëffier M. Combined glutamine and arginine decrease proinflammatory cytokine production by biopsies from Crohn's patients in association with changes in nuclear factor-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J Nutr* 2008; 138: 2481-2486
- 56 Muise AM, Walters TD, Glowacka WK, Griffiths AM, Ngan BY, Lan H, Xu W, Silverberg MS, Rotin D. Polymorphisms in E-cadherin (CDH1) result in a mis-localised cytoplasmic protein that is associated with Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1121-1127
- 57 Yamamoto K, Kiyohara T, Murayama Y, Kihara S, Okamoto Y, Funahashi T, Ito T, Nezu R, Tsutsui S, Miyagawa JI, Tamura S, Matsuzawa Y, Shimomura I, Shinomura Y. Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 789-796
- 58 Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 40-46
- 59 Ferrante M, Penninckx F, De Hertogh G, Geboes K, D'Hoore A, Noman M, Vermeire S, Rutgeerts P, Van Assche G. Protein-losing enteropathy in Crohn's disease. *Acta Gastroenterol Belg* 2006; 69: 384-389
- 60 Marchesi JR, Holmes E, Khan F, Kochhar S, Scanlan P, Shanahan F, Wilson ID, Wang Y. Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease. *J Proteome Res* 2007; 6: 546-551
- 61 Murdoch TB, Fu H, MacFarlane S, Sydnora BC, Fedorak RN, Slupsky CM. Urinary metabolic profiles of inflammatory bowel disease in interleukin-10 gene-deficient mice. *Anal Chem* 2008; 80: 5524-5531
- 62 Martin FP, Rezzi S, Philippe D, Tornier L, Messlik A, Hölzlwimmer G, Baur P, Quintanilla-Fend L, Loh G, Blaut M, Blum S, Kochhar S, Haller D. Metabolic assessment of gradual development of moderate experimental colitis in IL-10 deficient mice. *J Proteome Res* 2009; 8: 2376-2387

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

舒肝颗粒对大鼠肝星状细胞增殖及胶原分泌的影响

李志, 漆红, 李昌平

李志, 泸州医学院附属中医医院消化内科 四川省泸州市 646000

漆红, 遂宁市中心医院消化内科 四川省遂宁市 629000

李昌平, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
四川省卫生厅科研基金资助项目, No. 030079

作者贡献分布: 此课题由李昌平与李志设计; 研究过程、数据分析及论文写作由李志与漆红完成。

通讯作者: 李昌平, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 646000, 四川省泸州市, 泸州医学院附属医院消化内科。

1ichangping88@hotmail.com

电话: 0830-2392753 传真: 0830-2392753

收稿日期: 2009-06-22 修回日期: 2009-11-14

接受日期: 2009-11-23 在线出版日期: 2010-01-18

Shugan Granule inhibits hepatic stellate cell proliferation and collagen production

Zhi Li, Hong Qi, Chang-Ping Li

Zhi Li, Department of Gastroenterology, the Second Hospital (TCM) Affiliated to Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Hong Qi, Department of Gastroenterology, Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan Province, China

Chang-Ping Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of the Health Department of Sichuan Province, No. 030079

Correspondence to: Professor Chang-Ping Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1ichangping88@hotmail.com

Received: 2009-06-22 Revised: 2009-11-14

Accepted: 2009-11-23 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To observe the effects of Shugan Granule on hepatic stellate cell (HSC) proliferation and collagen production.

METHODS: Cultured HSC-T6 cells were divided into three groups: blank control group, normal control group and Shugan Granule intervention group. The blank control group and normal control group were cultured in serum-free RPMI 1640 medium, while the Shugan Granule intervention group was cultured in serum-free RPMI 1640 medium containing different concentrations of Shugan Granule (0.56, 0.28, 0.14, 0.07, 0.035, 0.018 and 0.009 g/L, respectively).

Cell proliferation was measured by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) colorimetric assay. The contents of type I, III and IV collagen were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: After 48 hours of incubation, Shugan Granule at concentrations of 0.56, 0.28, 0.14, 0.07, 0.035, 0.018 and 0.009 g/L reduced the rates of cell growth by 48.59%, 38.24%, 28.12%, 21.55%, 8.47%, 7.26% and 0.33%, respectively, showing concentration-dependent inhibitory effects. The reduced rate of cell growth was more significant in the Shugan Granule intervention group than in the normal control group. The contents of type I, III and IV collagen in culture supernatants were significantly lower in the Shugan Granule intervention group than in the normal control group ($5.437 \mu\text{g/L} \pm 0.043 \mu\text{g/L}$ vs $13.817 \mu\text{g/L} \pm 0.787 \mu\text{g/L}$, $3.26 \mu\text{g/L} \pm 0.217 \mu\text{g/L}$ vs $8.629 \mu\text{g/L} \pm 0.178 \mu\text{g/L}$, and $2.187 \mu\text{g/L} \pm 0.245 \mu\text{g/L}$ vs $5.29 \mu\text{g/L} \pm 0.315 \mu\text{g/L}$, respectively; all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Shugan Granule can inhibit HSC proliferation and collagen production. This may explain why Shugan Granule can prevent liver fibrosis.

Key Words: Shugan Granule; Hepatic stellatae cell; Liver fibrosis

Li Z, Qi H, Li CP. Shugan Granule inhibits hepatic stellate cell proliferation and collagen production. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 169-172

摘要

目的: 观察舒肝颗粒对肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)增殖及胶原分泌的影响。

方法: 体外培养HSC-T6。设空白对照组、正常对照组和舒肝颗粒干预组, 其中, 舒肝颗粒干预组设7个浓度梯度, 前两者加入无血清的RPMI 1640细胞培养液, 后者加入含舒肝颗粒的无血清RPMI 1640细胞培养液, 药物终浓度分别为0.56、0.28、0.14、0.07、0.035、0.018和0.009 g/L。采用MTT法检测细胞增殖,

■背景资料

HSC的活化增殖是肝纤维化形成的中心环节, ECM过量产生和沉积是形成肝纤维化, 并最终导致肝硬化、肝功能衰竭的主要原因。

■同行评议者

徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

■研究前沿

舒肝颗粒采用现代工艺精制而成,具有补虚逐瘀,清热解毒,软坚散结的功效,对酒精性肝病尤其是酒精性肝纤维化具有良好效果,但其抗肝纤维化的作用机制有待进一步研究。

ELISA法检测 I、Ⅲ及Ⅳ型胶原含量。

结果: 经48 h, 舒肝颗粒干预组HSC抑制率分别为48.59%、38.24%、28.12%、21.15%、8.47%、7.26%和0.33%, 明显高于正常对照组, 且呈剂量效应关系。舒肝颗粒干预组细胞上清液中 I、Ⅲ、Ⅳ型胶原含量较正常对照组明显降低($5.437 \mu\text{g/L} \pm 0.043 \mu\text{g/L}$ 、 $3.26 \mu\text{g/L} \pm 0.217 \mu\text{g/L}$ 、 $2.187 \mu\text{g/L} \pm 0.245 \mu\text{g/L}$ vs $13.817 \mu\text{g/L} \pm 0.787 \mu\text{g/L}$ 、 $8.629 \mu\text{g/L} \pm 0.178 \mu\text{g/L}$ 、 $5.29 \mu\text{g/L} \pm 0.315 \mu\text{g/L}$, 均 $P < 0.01$)。

结论: 舒肝颗粒可通过抑制HSC增殖和胶原蛋白的分泌, 减少胶原纤维在肝脏内的沉积, 这可能是其抗肝纤维化的作用机制之一。

关键词: 舒肝颗粒; 肝星状细胞; 肝纤维化

李志, 漆红, 李昌平. 舒肝颗粒对大鼠肝星状细胞增殖及胶原分泌的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 169-172

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/169.asp>

0 引言

舒肝颗粒具有补虚逐瘀, 清热解毒, 软坚散结的功效, 对酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)尤其是酒精性肝纤维化具有良好效果, 已为动物实验和临床试验所证实^[1]。为进一步阐明其抗肝纤维化的作用机制, 本研究将观察其对体外培养的大鼠肝星状细胞(hepatic stellatae cell, HSC)增殖及胶原分泌的影响, 为临床治疗提供新的实验依据, 同时也为下一步制剂开发奠定坚实的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 HSC-T6购自上海中医药大学肝病研究所, 其表型为活化的HSC。特级胎牛血清购自北京元亨圣马生物技术研究所, 批号: 05110816。RPMI 1640培养基购自Gibco公司, 批号: 1272921。噻唑蓝(MTT)购自Sigma公司, 批号: W2128。ELISA试剂盒胶原 I、Ⅲ、Ⅳ购自Sigma公司, 批号: 0602015。舒肝颗粒由泸州医学院附属医院药物研究所提供, 处方为: 黄芪、丹参、党参、白术、三棱、莪术、川芎、鳖甲、茵陈、虎杖、甘草, 每包10 g。

1.2 方法

1.2.1 药物处理: 参照杨玲等方法^[2,3], 由于直接加药法和含药血清法所得结果一致, 故采用无血清RPMI 1640细胞培养液溶解舒肝颗粒, 37℃恒温水浴箱中加热30 min, 离心观察颗粒完全溶

解, 调节pH值和渗透压, 制成144 g/L提取液, 经0.45 μm滤器过滤除菌后, 4℃贮存备用。

1.2.2 HSC-T6的培养与传代: 采用含100 kU/L青霉素、100 kU/L链霉素、100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液, 在37℃、50 mL/L CO₂及饱和湿度条件下培养, 隔天换液, 待细胞将近长满培养瓶底时, 用2.5 g/L胰蛋白酶消化, 按1:3传代。所有实验均取对数生长期细胞。

1.2.3 MTT法观察舒肝颗粒对HSC增殖的影响: 采用96孔板, 每孔植入 1×10^4 个细胞, 设空白对照组、正常对照组和舒肝颗粒干预组, 其中, 舒肝颗粒干预组设7个浓度梯度, 并分别设4个复孔。24 h后吸出培养液, 正常对照组和空白对照组每孔各加入200 μL无血清的RPMI 1640细胞培养液, 舒肝颗粒干预组根据预实验确定的药物浓度每孔各加入200 μL含舒肝颗粒的无血清的RPMI 1640细胞培养液, 药物终浓度分别为0.56、0.28、0.14、0.07、0.035、0.018和0.009 g/L。48 h后吸出培养液, 各孔加入200 μL浓度为0.05%的MTT, 37℃孵育4 h, 去上清液, 各孔加入200 μL二甲亚砜(DMSO), 震荡10 min, 混匀以溶解被还原的MTT结晶, 在酶标仪上检测波长为490 nm吸光度值($A_{490\text{nm}}$), 计算不同浓度药物作用下细胞的抑制率。存活率 = (药物组A值/对照组A值) × 100%, 抑制率 = [1 - (药物组A值/对照组A值)] × 100%。选择48 h HSC抑制率小于10%的任意浓度作为以下实验所用药物浓度(该浓度药物对HSC-T6细胞生长无明显影响)。

1.2.4 ELISA法检测细胞上清液中 I、Ⅲ、Ⅳ型胶原含量: HSC-T6细胞均匀接种到8个100 mL培养瓶中, 放置在37℃、50 mL/L CO₂及饱和湿度条件下培养箱中进行培养, 同时设正常对照组和舒肝颗粒干预组。待细胞将近长满培养瓶底时, 吸出培养液, 正常对照组换用无血清的RPMI 1640细胞培养液, 舒肝颗粒干预组换用含舒肝颗粒的无血清的RPMI 1640细胞培养液。继续培养48 h后收集上清液, ELISA法检测 I、Ⅲ、Ⅳ型胶原含量, 分别按试剂盒使用说明书处理。

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件进行数据的分析处理, 实验数据用mean ± SD表示, 两组均数的比较采用t检验。

2 结果

2.1 舒肝颗粒对HSC-T6细胞增殖的影响 舒肝颗粒干预组HSC的抑制率48 h时明显高于正常对照组, 且呈明显的剂量效应关系(表1)。

表 1 不同浓度舒肝颗粒对大鼠HSC增殖的影响 (mean ± SD)

分组	孔数	剂量(g/L)	抑制率(%)	存活率(%)	A值
正常对照组	4	—	—	100.00	0.668 ± 0.005
舒肝颗粒组(g/L)					
0.009	4	0.009	0.30	99.70	0.666 ± 0.003
0.018	4	0.018	7.19	92.81	0.620 ± 0.007
0.035	4	0.035	8.53	91.47	0.611 ± 0.004
0.07	4	0.070	21.11	78.89	0.527 ± 0.005
0.14	4	0.140	28.14	71.86	0.480 ± 0.009
0.28	4	0.280	38.17	61.83	0.413 ± 0.005
0.56	4	0.560	48.65	51.35	0.343 ± 0.006

表 2 舒肝颗粒对大鼠HSC胶原分泌的影响 (n = 4, mean ± SD, μg/L)

分组	I 型胶原	III 型胶原	IV 型胶原
正常对照组	13.817 ± 0.787	8.629 ± 0.178	5.290 ± 0.315
舒肝颗粒组	5.437 ± 0.043	3.260 ± 0.217	2.187 ± 0.245
t值	21.269	38.333	15.533
P值	0.000	0.000	0.000

■应用要点

本研究显示, 舒肝颗粒可抑制HSC的增殖以及胶原I、III、IV的分泌, 进一步提示其具有抗肝纤维化的作用, 为本方的临床应用奠定了良好基础。

2.2 镜下细胞生长状况的同步观察 0.28-0.56 g/L浓度时, 可见细胞轻度破坏, 细胞生长缓慢, 但胞膜完整, 胞质、胞核颜色有所加深, 胞质减少, 胞核缩小, 透亮度下降, 细胞形态欠佳, 多数聚集成岛状, 亦有散在细胞贴壁生长, 培养液基本清澈。0.07-0.14 g/L浓度时, 细胞较上损伤较轻, 多数细胞生长较好, 细胞形态基本正常, 细胞连接成片状, 密度较正常略低。0.009-0.035 g/L浓度时, 细胞无明显破坏, 生长致密, 形态正常。

2.3 细胞上清液中I、III、IV型胶原含量 选择对HSC-T6细胞生长无明显影响的浓度(细胞抑制率小于10%)0.018 g/L作为实验用药浓度。与正常对照组相比, 舒肝颗粒干预组48 h时细胞上清液中I、III、IV型胶原含量明显降低($P < 0.01$, 表2)。

3 讨论

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变, HSC的活化增殖是肝纤维化形成的中心环节, 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过量产生和沉积是形成肝纤维化, 最终导致肝硬化、肝功能衰竭的主要原因。因此, 可从抑制HSC活化增殖、促进HSC凋亡、抑制胶原合成分泌、促进胶原降解进行抗肝纤维化治疗。

舒肝颗粒的研制主要针对ALD尤其是酒精性肝纤维化的防治, 其组方思路为: 结合传统中

医中药理论和乙醇及其代谢产物乙醛等物质对肝脏的影响, 我们认为ALD及其酒精性肝纤维化属于中医的胁痛、积聚、肝癖等范畴, 病因为酒, 而酒为醇酿之品, 易生湿热, 久则成毒, 损伤血络, 因此病机为湿、热、毒、瘀互结入络, 邪毒较甚, 肝木横逆克脾土, 久则伤肾, 气血亏损。依据上述理论我们采用补虚逐瘀, 清热解毒, 软坚散结方法, 并结合现代中药药理学, 选用黄芪补脾益气, 丹参活血化瘀, 共为君药; 党参, 白术补中益气, 燥湿健脾, 三棱、莪术, 川芎破血逐瘀、理气止痛, 助丹参活血化瘀为臣; 鳖甲滋阴潜阳、软坚散结, 茵陈、虎杖清热利湿解毒, 又能活血, 共为佐使。全方采用现代工艺精制而成。其中主药丹参及其提取物具有一系列重要的药理作用如抗炎、抗氧化、抑制HSC活化增殖、诱导HSC凋亡等作用^[4-9]; 黄芪可抑制大鼠HSC增殖及I型、III型、IV型胶原的分泌, 能抑制肌成纤维细胞的生长和增殖, 尤其对核分裂有明显抑制作用, 促进已形成的肝纤维化组织重新吸收, 减轻肝内胶原纤维的沉积, 有效地促进受损的免疫功能复常^[10]。全方经动物实验和临床研究发现其对ALD尤其是酒精性肝纤维化确有很好的疗效^[1]。本研究从细胞分子水平证实其能抑制HSC的增殖, 且抑制程度与药物剂量呈一定依赖关系; 能抑制胶原蛋白的分泌, 可能与直接抑制HSC活化增殖从而间接减少胶原合成和

■同行评价

本文探讨了舒肝颗粒对大鼠HSC增殖及胶原分泌的影响,有一定的可读性。

直接抑制HSC合成胶原两种机制有关,进一步提示其具有抗肝纤维化作用,与我们的动物实验和临床研究结果一致。但肝纤维化形成是一个多因素的复杂的过程,舒肝颗粒作为多成分、多环节、多途径、多靶点的中药,除上述作用外,可能还有促进HSC凋亡和胶原降解、调节相关细胞活性因子、调控细胞内信号传导等作用,因此尚需进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 朱本贵,李昌平,陈霞,尹思源,肖顺汉. 舒肝颗粒对酒精性肝纤维化的疗效及其机制的实验研究. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 8-11
- 2 杨玲,张赤志,朱清静,杨胜兰. 抗纤软肝颗粒对肝星状细胞增殖的影响. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 323-325
- 3 杨玲,朱清静,笪邦红,张赤志. 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达. 世界华人消化杂志 2004; 12: 347-350
- 4 Liu P, Liu CH, Wang HN, Hu YY, Liu C. Effect

of salvianolic acid B on collagen production and mitogen-activated protein kinase activity in rat hepatic stellate cells. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 733-738

- 5 Zhang XL, Liu L, Jiang HQ. Salvia miltiorrhiza monomer IH764-3 induces hepatic stellate cell apoptosis via caspase-3 activation. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 515-519
- 6 Yao XX, Tang YW, Yao DM, Xiu HM. Effects of Yigan Decoction on proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 511-514
- 7 张亚平,姚希贤,刘晓玲,赵霞. 复方中药益肝康抑制肝星状细胞增殖的作用机制. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1272-1276
- 8 王晓玲,刘平,崔云华,胡旭东,李伯勤,应馨萍. 丹酚酸对刺激的肝星状细胞增殖的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 476-480
- 9 李冬,戴立里,余斌斌,姜中华. 丹参素对大鼠肝星状细胞增殖、凋亡及NF- κ B活性的影响. 第三军医大学学报 2009; 31: 724-728
- 10 马红,王宝恩,马雪梅. 黄芪抑制大鼠肝星状细胞增殖及胶原分泌的研究. 中国中医药信息杂志 2001; 8: 35-36

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森-路透公布 2008 年 WJG 影响因子 2.081

本刊讯 据汤姆森-路透科技信息集团2009-06-19发布《期刊引证报告》(*Journal Citation Reports*)的统计结果: *World Journal of Gastroenterology*(WJG)的总被引次数(TC): 10 822; 影响因子(IF): 2.081; 即年指数: 0.274; 论文数量: 1112; 半衰期: 3.1; 特征因子(EF): 0.05006. 特征因子这个指标是今年期刊引证报告里新加的一个指标. 与影响因子不同的是,这个指标不仅考察了引文的数量,而且考虑了施引期刊的影响力,即:某期刊如果越多地被高影响力的期刊引用,则该期刊的影响力也越高. 正如Google考虑超链接的来源,特征因子也充分考虑引文的来源,并在计算中赋予不同施引期刊的引文以不同的权重. 特征因子分值的计算基于过去5年中期刊发表的论文在期刊引证报告统计当年的被引用情况. 与影响因子比较,期刊特征因子分值的优点主要有: (1)特征因子考虑了期刊论文发表后5年的引用时段,而影响因子只统计了2年的引文时段,后者不能客观地反映期刊论文的引用高峰年份; (2)特征因子对期刊引证的统计包括自然科学和社会科学,更为全面、完整; (3)特征因子的计算扣除了期刊的自引; (4)特征因子的计算基于随机的引文链接,通过特征因子分值可以较为合理地测度科研人员用于阅读不同期刊的时间. 在55种国际胃肠病学和肝病学期刊中, WJG的EF, TC和IF分别名列第6, 9, 32位. (WJG编辑部主任:程剑侠 2009-06-19)

MicroRNA在人结肠癌干细胞中的表达谱

邹健, 于晓峰, 虞阳, 张颖, 史冬梅, 董洁, 李天奇, 刘雪静

邹健, 于晓峰, 虞阳, 张颖, 史冬梅, 刘雪静, 复旦大学附属华东医院消化科 上海市 200040
董洁, 复旦大学附属华东医院呼吸科 上海市 200040
李天奇, 复旦大学附属华东医院内科 上海市 200040
复旦大学青年科学基金资助项目, No. 08FQ49
作者贡献分布: 此课题由邹健设计; 研究过程由邹健、于晓峰、虞阳、张颖、史冬梅、董洁、李天奇及刘雪静操作完成; 数据分析由邹健与董洁完成; 论文写作由邹健完成。
通讯作者: 邹健, 200040, 上海市延安西路221号, 复旦大学附属华东医院消化科, apollozou@hotmail.com
电话: 021-62483180
收稿日期: 2009-10-31 修回日期: 2009-11-21
接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2010-01-18

Expression profile of microRNAs in human colon cancer stem cells

Jian Zou, Xiao-Feng Yu, Yang Yu, Ying Zhang, Dong-Mei Shi, Jie Dong, Tian-Qi Li, Xue-Jing Liu

Jian Zou, Xiao-Feng Yu, Yang Yu, Ying Zhang, Dong-Mei Shi, Xue-Jing Liu, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China

Jie Dong, Department of Respiratory Medicine, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China

Tian-Qi Li, Department of Cardiology, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China

Supported by: the Youth Science Foundation of Fudan University, No. 08FQ49

Correspondence to: Jian Zou, Department of Gastroenterology, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, 221 Yanan Western Road, Shanghai 200040, China. apollozou@hotmail.com

Received: 2009-10-31 Revised: 2009-11-21

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To identify microRNAs differentially expressed in human colon cancer stem cells to provide a basis for further study of the role of microRNAs in the differentiation of colon cancer stem cells.

METHODS: MicroRNA microarray was used to detect the differential expression of microRNAs between human colon cancer stem cells and differentiated colon cancer cells. Real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to verify the differential expression of candidate microRNAs

obtained from microarray experiment. Bioinformatic software tools were used to predict the target genes of identified microRNAs.

RESULTS: Compared with differentiated colon cancer cells, 35 microRNAs (hsa-miR-192, hsa-miR-29b, hsa-miR-215, hsa-miR-194, hsa-miR-33a, hsa-miR-32, etc.) were upregulated more than 1.5-fold, and 11 microRNAs (hsa-miR-93, hsa-miR-1231, hsa-miR-Plus-F1080, hsa-miR-524-3p, hsa-miR-886-3p, hsa-miR-561, etc.) were downregulated in colon cancer stem cells. The results of real-time quantitative RT-PCR were consistent with those of microRNA microarray. The common mRNA targets of obviously upregulated microRNAs were AFF2, MTF1, RUNDC2C and ZFX4, while those of obviously downregulated microRNAs were ONECUT2, SH3TC2, PTPRT, RNABP10, NR3C1, RGSL1, RNASEL and TANC2.

CONCLUSION: Some microRNAs are differentially expressed and may play important roles during the differentiation of colon cancer stem cells towards colon cancer cells.

Key Words: MicroRNA; Stem cell; Colon cancer; Expression profile

Zou J, Yu XF, Yu Y, Zhang Y, Shi DM, Dong J, Li TQ, Liu XJ. Expression profile of microRNAs in human colon cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 173-178

摘要

目的: 探讨微小RNA(microRNA, miRNA)在人结肠癌干细胞中的表达, 为进一步研究miRNA调控结肠癌干细胞向结肠癌细胞分化的分子机制奠定基础。

方法: 应用miRNA表达谱芯片检测人结肠癌干细胞和已分化结肠癌细胞中miRNA的表达谱。利用实时定量PCR技术检测两种细胞中差异表达的miRNA, 验证miRNA芯片结果的可靠性。应用软件对筛选出的显著差异表达miRNA的靶基因进行预测。

■背景资料

肿瘤中存在一类数目极少的干细胞样细胞群, 具有无限增殖的能力和向多向分化的潜能, 是肿瘤发生发展、侵袭转移和复发耐药的根本动力, 称之为肿瘤干细胞(CSC)。微小RNA(miRNA)是一类非编码的小分子RNA, 他与靶mRNA的3'非翻译区互补配对, 从而抑制蛋白质合成或诱导mRNA降解。研究发现miRNA对肿瘤干细胞的增殖和分化起重要的调控作用。

■同行评议者

曹秀峰, 教授, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心; 刘宝瑞, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

■ 研究前沿

大量研究发现,在多种人类肿瘤都存在miRNA的表达异常现象,后者起着癌基因或抑癌基因的作用。但是,对于miRNA在肿瘤干细胞中的表达以及其在增殖和定向分化中的调控机制亟待研究。

结果:与已分化结肠癌细胞相比,人结肠癌干细胞中表达上调超过1.5倍的miRNA有35个,为: hsa-miR-192, hsa-miR-29b, hsa-miR-215, hsa-miR-194, hsa-miR-33a, hsa-miR-32等;表达下调超过1.5倍的miRNA有11个,为: hsa-miR-93, hsa-miR-1231, hsa-miR-524-3p, hsa-miR-886-3p等。PCR技术验证,与miRNA芯片结果相符合。表达显著上调miRNA的共同靶mRNA有: AFF2、MTF1、RUNDC2C和ZFHX4。表达显著下调miRNA的共同靶mRNA有: ONECUT2、SH3TC2、PTPRT、RNABP10、NR3C1、RGSL1、RNASEL和TANC2。

结论:筛选出的差异表达miRNA可能参与结肠癌的发病,为该病诊治提供了新的思路。其共同靶基因可能具有重要的调控结肠癌干细胞生长和分化的作用。

关键词:微小RNA; 结肠癌; 干细胞; 表达谱

郭健, 于晓峰, 虞阳, 张颖, 史冬梅, 董洁, 李天奇, 刘雪静. MicroRNA在人结肠癌干细胞中的表达谱. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 173-178

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/173.asp>

0 引言

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是在造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)、白血病干细胞(leukemic stem cell, LSC)概念的基础上总结延伸出来的,这一概念试图从一个全新的角度诠释癌细胞的起源、癌组织的异质性、部分癌细胞的永生性和转移能力差异等肿瘤生物学行为,一经提出立即引起广大科研工作者的浓厚兴趣^[1-5]。微小RNA(microRNA, miRNA)是一种包含19-25个碱基的单链非编码小分子RNA,由具有发夹结构的70-90个碱基大小的单链RNA前体经过酶切加工后生成。miRNA参与生命过程中一系列的重要进程,包括发育、造血、器官形成、凋亡、细胞增殖,甚至肿瘤发生^[6-8]。近年,有研究显示miRNA参与肿瘤干细胞的自我更新、多能性维持、分化和分裂增殖等过程的调控^[9,10]。本研究采用miRNA表达谱芯片技术对前期分离的人结肠癌干细胞,以及已分化的结肠癌细胞中miRNA表达谱进行检测,以发现可能参与调控结肠癌干细胞定向分化为结肠癌细胞的相关miRNA,为阐明结肠癌干细胞向结肠癌细胞分化的miRNA调控机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞株(SW1116)购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。人结肠癌干细胞株(SW1116csc)为本课题组前期应用无血清的肿瘤干细胞培养基,从SW1116细胞株中分离出,并对其进行了纯化和鉴定。SW1116csc细胞置于含各种生长因子的无血清DMEM/F12(1:1, Invitrogen-Gibco)培养基中培养; SW1116细胞培养于含100 mL/L胎牛血清的DMEM/F12(1:1)培养基中。两种细胞在含50 mL/L CO₂、950 mL/L空气的CO₂孵箱中,在37℃、95%湿度条件下培养。

1.2 方法

1.2.1 细胞总RNA的抽提及质量检测: SW1116细胞按每毫升 1×10^4 个细胞、每瓶5 mL接种于25 cm²培养瓶,48 h后采用TRIzol试剂(Invitrogen)按操作说明书抽取总RNA。SW1116csc细胞每瓶 1×10^5 个,悬浮培养96 h后,离心收集细胞抽取总RNA。每瓶细胞加入1 mL TRIzol,吸取细胞裂解液转入Eppendoff管,加入200 μ L氯仿,混匀后置室温5 min, 4℃, 12 000 g离心15 min。吸取上层水相至新Eppendoff管,加入0.5 mL异丙醇,混匀,4℃, 12 000 g离心10 min使RNA沉淀,倾去上清液,750 mL/L乙醇洗涤,空气中干燥15 min。加入50 μ L无RNA酶的去离子水,重新溶解RNA,紫外/可见分光光度计(Ultaspec 2000型, Pharmacia Biotech)测定RNA浓度。甲醛变性凝胶电泳检测RNA纯度。RNA产物置-70℃冰箱保存。

1.2.2 miRNA芯片检测结肠癌干细胞表达谱:应用丹麦Exiqon公司生产的miRNA芯片miRCURYTM LNA Array(v13.0)进行检测,每张miRNA芯片中包含有至少1 700个特异性探针、435个Exiqon特有的miRPlusTM探针(提供miRBase数据库外的新miRNA信息)、对照探针以及无探针的空白对照,可以检测Sanger miRBase 13.0数据库中人、小鼠、大鼠全部miRNA(其中人约847条,小鼠约609条,大鼠约351条)。每个探针在芯片内重复4次,即每张芯片对同一样本重复检测4次。分别取5 μ g上述2种细胞样本的总RNA,采用miRCURYTM Hy3TM/Hy5TM Power labeling kit(Exiqon)标记H荧光, RNeasy Mini Kit(Qiagen)浓缩标记样品,然后应用miRCURYTM Array microarray kit(Exiqon)和Hybridization Chamber II(Ambion)进行芯片杂交。具体步骤按各试剂说明书进行。杂交后芯片用Axon GenePix 4000B microarray scanner(Molecular Devices)进行图像扫描,所得数据使

表 1 实时定量RT-PCR引物序列

引物	5'→3'
hsa-miR-93-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGCTACCT
hsa-miR-93-F	ACACTCCAGCTGGGCAAAGTGCTGTTCTGTCG
hsa-miR-1231-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGCAGCT
hsa-miR-1231-F	ACACTCCAGCTGGGGTGTCTGGGCGGAC
hsa-miR-32-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTGCAAC
hsa-miR-32-F	ACACTCCAGCTGGGTATTGCACATTACTAA
hsa-miR-33a-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTGCAAT
hsa-miR-33a-F	ACACTCCAGCTGGGGTGCATTGTAGTTGC
hsa-miR-194-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCCACA
hsa-miR-194-F	ACACTCCAGCTGGGTGTAACAGCAACTCCA
hsa-miR-215-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGTCTGT
hsa-miR-215-F	ACACTCCAGCTGGGATGACCTATGAATTG
hsa-miR-29b-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGAACACT
hsa-miR-29b-F	ACACTCCAGCTGGGTAGCACCATTGAAATC
hsa-miR-192-RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGGCTGT
hsa-miR-192-F	ACACTCCAGCTGGGCTGACCTATGAATTG
URP	TGGTGTCTGGAGTCG
U6	F-CTCGCTTCGGCAGCAC R-AACGCTTCACGAATTTGCGT

■ 相关报道

目前已发现的miRNA表达异常现象有: 弥漫性大B细胞淋巴瘤中miR-155表达上调、胰腺癌中miR-221表达上调、肺癌中的let-7表达下调、结肠直肠癌中的miR-143和miR-145表达下调、慢性淋巴细胞白血病患者中的miR-15a和miR-16-1表达下调等。在某些肿瘤干细胞中也已证实存在特异性miRNA的表达。

用Genepix Pro V6.0软件(Molecular Devices)分析, 通过原始值减去背景值来做修正, 并用中值做标准化, 分别计算出两种样本中miRNA的标准值及比值。

1.2.3 荧光实时定量PCR检测目的miRNA表达量: 取100 ng总RNA, 应用miRNA Isolation Kit(Ambion)分离小于100 nt的小分子RNA, 然后应用SuperScript III Reverse Transcriptase Kit(Invitrogen)逆转录合成cDNA, 再进行定量PCR检测。引物序列见表1, PCR条件: 95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 72 °C 3 s, 共40个循环。采用U6 RNA作为内标, 进行归一化。样品目的基因的相对表达率(relative expression, RE)采用 $\Delta\Delta CT$ 方法计算, $RE = 2^{\Delta\Delta CT}$ (CT表示反应荧光强度显著大于背景值时的循环数, $\Delta CT_{sample} = CT_{sample} - CT_{U6sample}$, $\Delta CT_{control} = CT_{control} - CT_{U6control}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{sample} - \Delta CT_{control}$)。

1.2.4 差异表达miRNA的生物信息学分析: 对于显著差异表达的miRNA, 应用miRanda、mirBase、TargetScan和PicTar软件联合进行生物信息学分析。搜索明显差异表达miRNA预测的作用靶基因, 对共同的靶基因进行综合预测, 选取至少3种软件的共同结果。

2 结果

2.1 RNA的质量检测 提取RNA的 A_{260}/A_{280} 值为1.8-2.0, 从甲醛变性琼脂糖凝胶电泳结果来看,

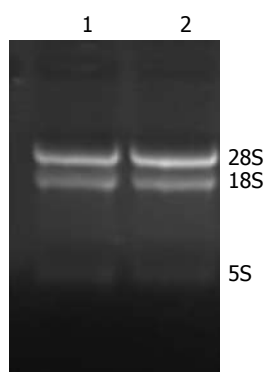


图 1 两种细胞中总RNA凝胶电泳图。1: SW1116csc细胞; 2: SW1116细胞。

其18S和28S条带都很清晰, 亮度比约为2:1, 说明总RNA纯度基本达到实验要求且无明显降解(图1)。

2.2 miRNA芯片检测结果 杂交后的miRNA芯片(图2)经扫描、软件分析及标准化处理后, 结果显示与已分化结肠癌细胞相比, 结肠癌干细胞中表达上调超过1.5倍的miRNA有35个, 分别为: hsa-miR-192、hsa-miR-29b、hsa-miR-215、hsa-miR-194、hsa-miR-33a、hsa-miR-32等; 表达下调超过1.5倍的miRNA有11个: hsa-miR-93、hsa-miR-1231、hsa-miRplus-F1080、hsa-miR-524-3p、hsa-miR-886-3p、hsa-miR-561等(表2)。

2.3 实时定量PCR检测目的miRNA表达量 取上述miRNA芯片检测的2种细胞总RNA为模板, 实时定量PCR检测在芯片结果中显著差异表达的miRNA(图3)。提示定量PCR与miRNA芯片结果

■创新盘点

本研究通过对前期分离的人结肠癌干细胞miRNA表达谱进行检测,发现了多条表达改变的 miRNA,为阐明结肠癌干细胞向结肠癌细胞定向分化的miRNA调控机制奠定了基础。

表 2 结肠癌干细胞中差异表达的miRNA

miRNA	SW1116csc 信号强度	SW1116 信号强度	表达改 变倍数
hsa-miR-93	0.46	8.13	0.06
hsa-miR-1231	0.02	0.08	0.22
hsa-miRPlus-F1080	0.01	0.05	0.23
hsa-miR-524-3p	0.05	0.16	0.34
hsa-miR-886-3p	3.34	8.37	0.40
hsa-miR-561	0.02	0.04	0.45
hsa-miR-497	0.01	0.03	0.51
hsa-miR-23a	11.92	22.51	0.53
hsa-miR-886-5p	2.89	5.18	0.56
hsa-miRPlus-A1087	0.47	0.79	0.59
hsa-miRPlus-E1170	30.71	49.93	0.61
hsa-miRPlus-E1102	0.42	0.28	1.50
hsa-miR-138-2	0.39	0.26	1.50
hsa-miR-31	0.45	0.30	1.52
hsa-miR-17	2.50	1.64	1.52
hsa-miR-374a	5.40	3.55	1.52
hsa-miR-424	3.38	2.21	1.53
hsa-miRPlus-F1181	0.64	0.42	1.53
hsa-miRPlus-E1238	0.28	0.18	1.54
hsa-miR-542-3p	0.38	0.24	1.56
hsa-miR-582-3p	0.27	0.17	1.57
hsa-miR-584	0.28	0.17	1.61
hsa-miR-522	0.29	0.18	1.64
hsa-miR-590-5p	0.41	0.25	1.67
hsa-miR-487b	2.88	1.72	1.68
hsa-miR-29c	1.53	0.89	1.72
hsa-miR-96	2.39	1.34	1.78
hsa-miR-193a-3p	22.24	12.50	1.78
hsa-miR-20a	0.74	0.41	1.79
hsa-miR-301a	2.28	1.27	1.80
hsa-miRPlus-E1106	0.56	0.31	1.82
hsa-miR-30e	1.21	0.65	1.86
hsa-miR-874	0.20	0.10	1.99
hsa-miR-19a	17.38	8.71	2.00
hsa-miR-519a	1.73	0.77	2.24
hsa-miRPlus-A1065	0.30	0.13	2.32
hsa-miR-521	0.94	0.40	2.36
hsa-miR-876-5p	0.23	0.10	2.37
hsa-miR-493	0.28	0.11	2.53
hsa-miR-101	4.92	1.28	3.85
hsa-miR-32	1.89	0.35	5.48
hsa-miR-33a	3.97	0.64	6.16
hsa-miR-194	0.79	0.11	7.11
hsa-miR-215	0.97	0.11	9.09
hsa-miR-29b	3.00	0.33	9.20
hsa-miR-192	1.47	0.14	10.67

基本一致,表明miRNA芯片的结果具有可靠性。

2.4 生物信息学分析结果 表达显著上调的



图 2 荧光标记的miRNA芯片杂交图。

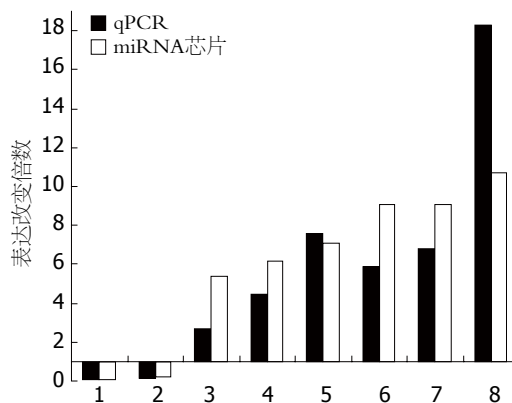


图 3 实时定量PCR与miRNA芯片结果. 1: hsa-miR-93; 2: hsa-miR-1231; 3: hsa-miR-32; 4: hsa-miR-33a; 5: hsa-miR-194; 6: hsa-miR-215; 7: hsa-miR-29b; 8: hsa-miR-192.

miRNA(hsa-miR-192, hsa-miR-29b, hsa-miR-215, hsa-miR-194, hsa-miR-33a, hsa-miR-32)共同靶 mRNA有: AFF2、MTF1、RUNDC2C和ZFHX4. 表达显著下调的miRNA(hsa-miR-93, hsa-miR-1231, hsa-miR-524-3p, hsa-miR-886-3p)共同靶mRNA有: ONECUT2、SH3TC2、PTPRT、RNABP10、NR3C1、RGSL1、RNASEL和TANC2.

3 讨论

miRNA作为一类成熟状态下只有22 nt左右的非编码单链小RNA,广泛存在于从线虫、植物、动物到人类的多种生物中,其在个体生长发育、细胞增殖凋亡、炎症和肿瘤等多种生理病理过程中起着十分重要的作用,受到广泛关注. 从Du等^[11]在线虫中发现第1个miRNA(lin-4)开始,截止2009-09,已经在115个物种中发现miRNA共约10 883个,其中人类约800个(数据来源于MiRBase Sequence Database 14, <http://www.mirbase.org/>),据估计这些miRNA具有调控人类至少30%基因的潜能^[12].

大量研究发现,在多种人类肿瘤都存在miRNA的表达异常现象. 如:弥漫性大B细胞淋巴瘤中miR-155表达上调^[13]、胰腺癌中miR-221表达上调^[14]、肺癌中的let-7表达下调^[15,16]、结

肠直肠癌中的miR-143和miR-145表达下调^[17]、慢性淋巴细胞白血病中的miR-15a^[18]和miR-16-1表达下调^[19]等,提示miRNA在肿瘤的发生发展中可能发挥类似癌基因或抑癌基因的作用。在正常情况下,成熟的miRNA通过调控靶基因mRNA的翻译或其稳定性来参与正常细胞稳态的维持,故而miRNA的异常表达可能导致其相应靶基因转录后水平的表达异常。目前,对miRNA在肿瘤发生发展中的具体作用机制还不是太清楚,认为其主要作用机制为:miRNA通过RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)与靶基因mRNA的3'端UTR区互补结合^[20],当两者能完全互补配对结合时,导致靶基因mRNA的降解,这种现象在植物中多见;在动物中则多数是通过两者的不完全互补结合,抑制靶基因mRNA的翻译,进而影响靶基因蛋白的表达。

近年来,有学者研究发现在胚胎干细胞(ES细胞)分化过程中,一些miRNA是未分化ES细胞所特有的,并随着细胞分化而逐渐下调,提示miRNA可能在维持ES细胞全能性和自我更新能力中起重要作用,而这类miRNA也可作为ES细胞的分子标志^[21,22]。此外,在造血细胞、脂肪、神经、肌肉和心肌细胞分化过程中也发现miRNA的参与并发挥着关键作用^[23-27]。如发现肌肉特异性miR-206是调控肌细胞和心肌细胞发育的关键分子^[23,24];在造血干细胞分化过程中;沿不同谱系发育受不同的miRNA调控,miR-146调控淋巴系前体向T细胞、NK细胞和B细胞分化,miR-155/24a/17则调控髓系前体向粒细胞、巨噬细胞和红细胞发育^[25]。但是,对于miRNA在肿瘤干细胞中的表达情况,目前研究比较少。本研究采用miRNA表达谱芯片技术筛选人结肠癌干细胞分化相关miRNA,通过检测发现表达改变的miRNA有46个,其中:表达上调的miRNA 35个;表达下调11个。这些miRNA有可能对结肠癌干细胞的分化起重要的调控作用。通过miRanda、mirBase、TargetScan和PicTar软件检索,发现了表达显著改变miRNA的共同作用的靶基因。结肠癌干细胞向结肠癌细胞的定向分化,有可能通过这些基因起作用,其作用机制需要更进一步的实验来阐明。

总之,本研究通过对前期分离的人结肠癌干细胞miRNA表达谱进行检测,发现了多条表达改变的特异性miRNA,并进行了初步验证,为阐明结肠癌干细胞向结肠癌细胞定向分化的

miRNA调控机制奠定了基础。

4 参考文献

- O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110
- Eramo A, Lotti F, Sette G, Pilozzi E, Biffoni M, Di Virgilio A, Conticello C, Ruco L, Peschle C, De Maria R. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 2008; 15: 504-514
- Yang ZF, Ngai P, Ho DW, Yu WC, Ng MN, Lau CK, Li ML, Tam KH, Lam CT, Poon RT, Fan ST. Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer. *Hepatology* 2008; 47: 919-928
- Schatton T, Murphy GF, Frank NY, Yamaura K, Waaga-Gasser AM, Gasser M, Zhan Q, Jordan S, Duncan LM, Weishaupt C, Fuhlbrigge RC, Kupper TS, Sayegh MH, Frank MH. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature* 2008; 451: 345-349
- Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037
- Hatfield S, Ruohola-Baker H. microRNA and stem cell function. *Cell Tissue Res* 2008; 331: 57-66
- 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
- Yu F, Yao H, Zhu P, Zhang X, Pan Q, Gong C, Huang Y, Hu X, Su F, Lieberman J, Song E. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007; 131: 1109-1123
- Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division. *Cell* 2005; 122: 6-7
- Zhang B, Pan X, Anderson TA. MicroRNA: a new player in stem cells. *J Cell Physiol* 2006; 209: 266-269
- Du T, Zamore PD. microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development* 2005; 132: 4645-4652
- Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115: 787-798
- Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, Lund E, Dahlberg JE. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3627-3632
- Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1046-1054
- Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120: 635-647
- Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced

■应用要点

本研究发现人结肠癌干细胞分化相关miRNA中表达改变的有46个,其中,表达上调的miRNA有35个,表达下调11个。并发现了表达显著改变miRNA的共同作用的靶基因。有可能作为肿瘤治疗的新的靶位点,为结肠癌的诊治提供了新的思路。

■同行评价

本文研究了MicroRNA在人结肠癌干细胞中的表达谱,选题新颖、简明而有特色,结论具有较好的应用价值和可读性。

- expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-3756
- 17 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
- 18 Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD, Shimizu M, Cimmino A, Zupo S, Dono M, Dell'Aquila ML, Alder H, Rassenti L, Kipps TJ, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 11755-11760
- 19 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2999-3004
- 20 Tang F, Hajkova P, O'Carroll D, Lee C, Tarakhovsky A, Lao K, Surani MA. MicroRNAs are tightly associated with RNA-induced gene silencing complexes in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372: 24-29
- 21 Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. Embryonic stem cell-specific MicroRNAs. *Dev Cell* 2003; 5: 351-358
- 22 Suh MR, Lee Y, Kim JY, Kim SK, Moon SH, Lee JY, Cha KY, Chung HM, Yoon HS, Moon SY, Kim VN, Kim KS. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. *Dev Biol* 2004; 270: 488-498
- 23 Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U, Malhotra A, Dutta A. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. *J Cell Biol* 2006; 174: 677-687
- 24 Politz JC, Zhang F, Pederson T. MicroRNA-206 colocalizes with ribosome-rich regions in both the nucleolus and cytoplasm of rat myogenic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 18957-18962
- 25 Georgantas RW 3rd, Hildreth R, Morisot S, Alder J, Liu CG, Heimfeld S, Calin GA, Croce CM, Civin CI. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 2750-2755
- 26 Wulczyn FG, Smirnova L, Rybak A, Brandt C, Kwidzinski E, Ninnemann O, Strehle M, Seiler A, Schumacher S, Nitsch R. Post-transcriptional regulation of the let-7 microRNA during neural cell specification. *FASEB J* 2007; 21: 415-426
- 27 Boutz PL, Chawla G, Stoilov P, Black DL. MicroRNAs regulate the expression of the alternative splicing factor nPTB during muscle development. *Genes Dev* 2007; 21: 71-84

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗

朱 鸣, 唐 杰, 杨春敏, 曹传平

朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142

作者贡献分布: 此课题要由朱鸣设计; 数据分析及论文写作由朱鸣完成; 唐杰、杨春敏及曹传平共同完成内镜的检查及治疗。

通讯作者: 朱鸣, 主治医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科。zm669922@163.com
电话: 010-66928118-6232

收稿日期: 2009-11-09 修回日期: 2009-12-03

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Pathological analysis, endoscopic therapy and follow-up observation of common gastric polyps in aged people

Ming Zhu, Jie Tang, Chun-Min Yang, Chuan-Ping Cao

Ming Zhu, Jie Tang, Chun-Min Yang, Chuan-Ping Cao, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Correspondence to: Ming Zhu, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zm669922@163.com

Received: 2009-11-09 Revised: 2009-12-03

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To analyze the endoscopic and pathological characteristics of common gastric polyps in aged people and evaluate the efficacy of endoscopic therapy in elderly patients with common gastric polyps.

METHODS: A total of 2 571 aged people who underwent gastroscopy at our hospital from July 1, 2006 to July 1, 2009 were retrospectively analyzed. Common gastric polyps were observed gastroscopically. The majority of common gastric polyps were removed gastroscopically, and the specimens were subjected to pathological examination. Twenty-seven patients were followed up for 6 to 30 months.

RESULTS: One hundred and twenty patients (4.77%) were discovered to have common gastric polyps, of which 59.71% were aged between 60 and 69 years old; 52.50% had Yamata type II disease; 57.50% had gastric polyps with a diameter ≤ 0.5 cm; 68.33% (82) had single polyp, and

31.67% (38) had multiple polyps; 21.67% (26) had single polyp present in the antrum, 18.33% (22) in the fundus, and 17.50% (21) in the gastric body. Pathological examination was performed in 115 patients. Inflammatory/hyperplastic, fundic-gland, and adenomatous polyps were found in 63.33%, 25.00% and 7.50% of these patients, respectively. One hundred and eighteen patients underwent endoscopic therapy. During the follow-up period in 27 patients, 7 patients developed recurrent gastric polyps, of which 5 had multiple polyps, and 6 had inflammatory/hyperplastic polyps.

CONCLUSION: The endoscopic detection rate of gastric polyps in aged people is fairly high. Inflammatory/hyperplastic and fundic-gland polyps are the most common types of gastric polyps in aged people. Single gastric polyp, mainly found in the gastric antrum and fundus, is more common than multiple ones. Multiple polyps appear to have a higher recurrent rate than single polyp.

Key Words: Aged people; Gastric polyp; Endoscopy; Pathology; Therapy

Zhu M, Tang J, Yang CM, Cao CP. Pathological analysis, endoscopic therapy and follow-up observation of common gastric polyps in aged people. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 179-183

摘要

目的: 分析老年人胃息肉的内镜、病理特点及进行内镜疗效观察。

方法: 对2006-07-01/2009-07-01在我院做胃镜检查的老年人2 517例进行回顾性分析, 对所发现的常见类型胃息肉进行内镜下观察, 大部分予以内镜下切除, 标本送病理检查。对其中27例进行随访观察, 随访时间为6-30 mo。

结果: 发现常见类型胃息肉患者120例, 检出率为4.77%。59.17%的胃息肉患者年龄60-69岁, 52.50%为山田Ⅱ型, 57.50%为 ≤ 0.5 cm。单发息肉82例(68.33%), 多发息肉38例(31.67%); 单发息肉较多见于胃窦部26例(21.67%), 其

■背景资料

胃息肉是临床上的一种常见病, 有一定的恶变倾向, 与息肉大小、数目、病理类型、息肉外形等有关。一般认为, 腺瘤性息肉带有更多与胃癌相同的生物学性质, 可能容易癌变, 但许多研究也发现炎性增生性息肉有癌变倾向, 而认为胃底腺息肉可能与泵抑制剂的使用有关。

■同行评议者

冯志杰, 主任医师, 河北医科大学第二医院消化内科

■相关报道

有研究认为胃底腺息肉发病可能与泵抑制剂的使用有关,并且随泵抑制剂的停止使用而消退,所以,推测其发病原因与胃酸分泌的抑制有关。

次为胃底部22例(18.33%)及胃体部21例(17.50%)。对115例进行病理检查,其中炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉分别占63.33%、25.00%、7.50%。118例给予内镜下治疗。27例有随访资料,7例复发,其中5例为多发息肉,6例为炎性增生性息肉。

结论:老年人有较高的胃息肉检出率,病理上炎性增生性息肉及胃底腺息肉较常见。胃息肉单发多见,多位于胃窦、胃底、胃体部,多发息肉治疗后可能容易复发。

关键词: 老年人; 胃息肉; 内镜; 病理; 治疗

朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平. 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗. 世界华人消化杂志. 2010; 18(2): 179-183
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/179.asp>

0 引言

胃息肉是临床上的一种常见病,其症状不明显、病因不明确、早期诊断不易。胃癌是常见的恶性肿瘤之一,胃息肉有恶变的倾向^[1],老年人更是恶性肿瘤的高发人群。我院2006-07-01/2009-07-01接受胃镜检查的老年患者2 517例,发现胃息肉者120例。我们在内镜下观察胃息肉的大小、形态,做病理分析,对绝大部分息肉进行了内镜下治疗,并对其中27例进行了随访观察。

1 材料和方法

1.1 材料 2006-07-01/2009-07-01在我院做胃镜的老年患者2 517例,120例经内镜诊断为胃息肉,其中炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉。其中男59例(49.17%),女61例(50.83%);年龄最大者83岁,平均68.04岁±6.35岁。

1.2 方法

1.2.1 内镜下观察:由内镜医师对受检者的食管、胃底、胃体、胃窦和十二指肠进行全方位观察,观察胃息肉的大小、形态、个数、部位等。用日本山田分类法进行形态分类^[2]。

1.2.2 病理检查:绝大部分息肉均在基底部活检或直接活检摘除并行病理检查,多发息肉患者取有代表性的数个息肉做病理检查。病理标本送空军总医院病理科常规石蜡切片检查,病理分型按文献分类^[3],由有经验的病理科医生进行分类,并记录每一类型息肉组织本身是否伴有肠化生、萎缩及不典型增生。

1.2.3 内镜下治疗:根据胃息肉的大小及其蒂的形态,采取不同的治疗方法:<0.5 cm者行内镜

下钳除,>0.5 cm扁平无蒂者以高频电灼除,>0.5 cm有蒂者以高频电圈套摘除,术后负压吸引,观察无出血异常情况后退镜。术后给予禁食1 d,流质饮食3 d,抑酸补液等治疗,所有患者均未发生出血、穿孔等并发症。

1.2.4 随访观察:嘱所有胃息肉患者6-12 mo复查胃镜,但仅27例患者有随访资料,随访时间为6-30 mo。

2 结果

2.1 一般情况 胃息肉患者120例,检出率为4.77%,胃息肉患者年龄分布见表1,59.16%的胃息肉患者年龄为60-69岁,炎性增生性及胃底腺息肉以60-69岁多见,但腺瘤性息肉在70-79岁人群中多见(表1)。

2.2 胃息肉的形态及其病理分类 52.50%为山田II型,炎性增生性及胃底腺息肉以山田II型多见,腺瘤性息肉以山田I型多见(表2)。

2.3 胃息肉的大小及其病理分类 57.50%的息肉≤0.5 cm,炎性增生性及胃底腺息肉以≤0.5 cm者多见,腺瘤性息肉以1.1-2.0 cm者多见,>2.0 cm者3例,均为炎性增生性息肉(表3)。

2.4 胃息肉的病理分类及好发部位 对115例进行病理检查,其中炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉分别占63.33%、25.0%、7.50%,其分别的好发部位见表4,其中炎性增生性息肉好发于胃体及胃窦部,腺瘤性息肉好发于胃窦,胃底腺息肉好发于胃体、胃底。14例伴肠上皮化生,2例为腺瘤性息肉伴发,12例为炎性增生性息肉伴发。1例伴不典型增生,为腺瘤性息肉伴发。1例伴萎缩改变,为炎性增生性息肉。

2.5 胃息肉的个数 单发息肉82例(68.33%),多发息肉38例(31.67%),最多为17个息肉。

2.6 胃息肉的治疗及随访 共118例给予内镜下治疗,其中活检钳除50例,高频电灼34例,高频电圈套摘除34例。27例有随访资料,7例复发,其中2例为单发息肉复发,5例为多发息肉治疗后复发,病理类型1例为胃底腺息肉,6例为炎性增生性息肉,复发后继续内镜下治疗。

3 讨论

在胃镜下胃息肉分别呈丘形、半球形、球形、卵圆形或手指状突起,表面光滑,也有糜烂出血者,颜色与周围黏膜相同,也可有充血发红或颜色略淡者,无蒂者多见。本研究中老年人胃息肉的检出率为4.77%,与国内文献报道相似^[4,5],发

表 1 老年人胃息肉年龄分布及病理类型 $n(\%)$

年龄(岁)	炎性增生性	腺瘤性	胃底腺	未做病理	合计
60-69	45(37.50)	3(2.50)	19(15.83)	4(3.33)	71(59.16)
70-79	27(22.50)	5(4.17)	11(9.17)	1(0.83)	44(36.67)
80-83	4(3.33)	1(0.83)	0(0.00)	0(0.00)	5(4.17)
合计	76(63.33)	9(7.50)	30(25.00)	5(4.17)	120(100.00)

表 2 老年人胃息肉的形态及病理类型 $n(\%)$

形态	炎性增生性	腺瘤性	胃底腺	未做病理	合计
I 型	29(24.17)	5(4.17)	4(3.33)	1(0.83)	39(32.50)
II 型	38(31.67)	2(1.67)	21(17.50)	2(1.67)	63(52.50)
III 型	7(5.83)	2(1.67)	5(4.17)	1(0.83)	15(12.50)
IV 型	2(1.67)	0(0.00)	0(0.00)	1(0.83)	3(2.50)
合计	76(63.33)	9(7.50)	30(25.00)	5(4.17)	120(100.00)

表 3 老年人胃息肉的大小及病理类型 $n(\%)$

大小(cm)	炎性增生性	腺瘤性	胃底腺	未做病理	合计
≤0.5	41(34.17)	3(2.50)	22(18.33)	3(2.50)	69(57.50)
0.6-1.0	26(21.67)	2(1.67)	8(6.67)	2(1.67)	38(31.67)
1.1-2.0	6(5.00)	4(3.33)	0(0.00)	0(0.00)	10(8.33)
>2.0	3(2.50)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(2.50)
合计	76(63.33)	9(7.50)	30(25.00)	5(4.17)	120(100.00)

表 4 老年人胃息肉病理类型及部位分布 $n(\%)$

	炎性增生性	腺瘤性	胃底腺	未做病理	合计
贲门	11(9.17)	1(0.83)	1(0.83)	1(0.83)	14(13.78)
胃底	13(10.83)	1(0.83)	12(10.00)	2(1.67)	28(23.33)
胃体	25(20.83)	0(0.00)	10(8.33)	2(1.67)	37(30.83)
胃角	0(1.28)	0(0.26)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
胃窦	24(20.00)	7(5.83)	1(0.83)	0(0.00)	32(26.67)
多部位	3(2.50)	0(0.00)	6(5.00)	0(0.00)	9(7.50)
合计	76(63.33)	9(7.50)	30(25.00)	5(4.17)	120(100.00)

病率无性别差异, 60-69岁为高发年龄. 好发部位为胃体、胃窦及胃底部, ≤0.5 cm者多见, 形态上以山田 II 型多见, 常见病理类型依次为炎性增生性息肉、胃底腺息肉、腺瘤性息肉.

胃息肉依据组织病理学特征分为炎性增生性息肉、腺瘤性息肉、胃底腺息肉、炎性纤维性息肉、错构瘤性息肉等, 以炎性增生性息肉、腺瘤性息肉、胃底腺息肉多见^[6]. 本研究未计入较少见类型的息肉. 病理分型中发现炎性增生性息肉多见, 其次为胃底腺息肉, 腺瘤性息

肉最少.

炎性增生性息肉外观呈半球型、球形或椭圆形, 有蒂或无蒂, 表面光滑或略分叶, 顶端黏膜有时糜烂或成浅溃疡. 显微镜下, 其腺体隐窝变长、扭曲或囊性扩张, 腺体稍有增多及排列紊乱. 增生腺体上皮细胞呈单层, 整齐排列于细胞的基底部, 不具异型性, 核分裂少见, 间质较多, 内有少量慢性炎细胞浸润. 本研究发现老年人炎性增生性息肉最多见, 占63.33%, 好发年龄为60-69岁, 形态以山田 II 型多见, 其次为 I 型,

■应用要点
本文发现老年人有较高的胃息肉检出率, 病理上炎性增生性息肉及胃底腺息肉较常见. 同时, 提示多发息肉患者易形成胃息肉, 需加强随访观察.

■同行评价

本文分析了2 517例进行胃镜检查的老年人的病例资料,病例充足,结论有一定的临床意义。

多 ≤ 0.5 cm,但 > 2 cm的3例胃息肉均为炎性增生性,多见于胃体及胃窦部。炎性增生性息肉常见于伴胃黏膜炎症及萎缩的患者^[7]。一般认为,炎性息肉恶变率较低,但许多研究也发现炎性增生性息肉有癌变倾向^[8,9]。本研究发现14例伴肠上皮化生的老年人胃息肉中,炎性增生性占12例,1例伴萎缩者亦为炎性增生性息肉,说明炎性增生性息肉也应加强随访。

胃底腺息肉是在西方国家中最常见的息肉类型^[10],在胃镜下形态一般为光滑、无蒂、高度 < 0.5 cm,常见部位为泌酸腺黏膜,可单发或多发。镜下,多包含1个或多个囊状扩张的胃腺,当扩张程度较大时,腺上皮细胞较难辨认。本研究发现老年人胃底腺息肉好发年龄为60-69岁,形态以山田Ⅱ型多见,多 ≤ 0.5 cm,多见于胃底及胃体部。近年来胃底腺息肉的发病率逐渐增高,本研究中老年人胃底腺息肉的比例为25.0%。胃底腺息肉发病原因目前尚不清楚,有研究认为可能与泵抑制剂的使用有关^[11],并且随泵抑制剂的停止使用而消退^[12],所以,推测其发病原因与胃酸分泌的抑制有关^[13,14]。但是,也有学者不认同这种观点^[15]。有研究认为不典型增生与胃底腺息肉有关^[16],但是,本研究中未发现老年人胃底腺息肉伴肠化及不典型增生。

腺瘤性息肉表面常呈多叶状,也可以是光滑或有浅表糜烂。显微镜下,腺体增生密集,间质少,腺上皮细胞增生旺盛,排列拥挤。细胞核具有不同程度的异型性,表现为核染色质增多、浓染,呈笔杆状单层或多层排列在腺体上皮的基底部或上移,但其上移高度一般不超过胞质的2/3,核分裂多见。本研究发现老年人腺瘤性息肉在70-79岁多见,形态以山田Ⅰ为多,多在1.1-2.0 cm,未发现 > 2 cm的息肉,常见于胃窦部。据报道,腺瘤性息肉的癌变率较高^[17]。张秀荣等^[18]应用流式细胞术对57例正常胃黏膜、胃息肉和胃癌组织进行细胞DNA定量分析,DNA非整倍体检出率及细胞增殖指数,炎性息肉和增生性息肉组明显低于胃癌组,而腺瘤性息肉组与胃癌组近似。提示炎性和增生性息肉属良性增生性病变,而腺瘤性息肉带有更多与胃癌相同的生物学性质,可能容易癌变。本研究发现14例伴肠上皮化生的老年人胃息肉中,腺瘤性占1例,1例伴不典型增生者,为腺瘤性息肉。

癌变与息肉大小、息肉数目、病理类型、息肉外形等有关,息肉存在时间长者,且多发性, > 2 cm,特别是进行性增大,形态异常,广基底腺

瘤性异型上皮,黏膜色泽改变,附近黏膜与息肉黏膜界线不清等,恶变的可能性大^[2]。Ginsberg等^[19]的研究发现所有的胃上皮息肉均有恶变潜能,因此对胃息肉的患者,无论息肉大小及性质如何,均应及时处理,并尽可能随访观察,这样有利于防止胃癌的形成。本研究中共118例给予内镜下治疗,无1例出现出血或穿孔等并发症。说明,内镜下治疗胃息肉安全有效,是治疗胃息肉的首选方法。另外,考虑到炎性增生性息肉与胃黏膜炎症及萎缩有关,建议同时治疗炎症与萎缩。而胃底腺息肉患者应询问是否有长期应用抑制胃酸药物的病史。

本研究中27例患者有随访资料,7例复发,其中2例为单发息肉复发,5例为多发息肉治疗后复发,说明多发息肉患者易形成胃息肉,需加强随访观察。

4 参考文献

- 1 Weiss MM, Kuipers EJ, Postma C, Snijders AM, Stolte M, Vieth M, Pinkel D, Meuwissen SG, Albertson D, Meijer GA. Genome wide array comparative genomic hybridisation analysis of premalignant lesions of the stomach. *Mol Pathol* 2003; 56: 293-298
- 2 白贤女, 王彦铭, 王超. 胃息肉. 黑龙江医学杂志 2004; 28: 827-830
- 3 Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640
- 4 徐世平, 张子其, 王孟薇. 115例老年人胃息肉临床及病理观察. 中华老年医学杂志 2000; 19: 271-273
- 5 熊枝繁, 曹仕琼, 谢红英, 陆峰. 126例老年人胃息肉临床、内镜及病理分析. 临床荟萃 2002; 17: 1436-1438
- 6 Carmack SW, Genta RM, Graham DY, Lauwers GY. Management of gastric polyps: a pathology-based guide for gastroenterologists. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 331-341
- 7 Dirschmid K, Platz-Baudin C, Stolte M. Why is the hyperplastic polyp a marker for the precancerous condition of the gastric mucosa? *Virchows Arch* 2006; 448: 80-84
- 8 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234
- 9 Yao T, Kajiwarra M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022
- 10 Carmack SW, Genta RM, Schuler CM, Saboorian MH. The current spectrum of gastric polyps: a 1-year national study of over 120,000 patients. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1524-1532
- 11 Genta RM, Schuler CM, Robiou CI, Lash RH. No association between gastric fundic gland polyps and gastrointestinal neoplasia in a study of over 100,000 patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7:

- 849-854
- 12 Kim JS, Chae HS, Kim HK, Cho YS, Park YW, Son HS, Han SW, Choi KY. [Spontaneous resolution of multiple fundic gland polyps after cessation of treatment with omeprazole] *Korean J Gastroenterol* 2008; 51: 305-308
- 13 el-Zimaity HM, Jackson FW, Graham DY. Fundic gland polyps developing during omeprazole therapy. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1858-1860
- 14 Raghunath AS, O'Morain C, McLoughlin RC. Review article: the long-term use of proton-pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 Suppl 1: 55-63
- 15 Declich P, Omazzi B, Tavani E, Bellone S, Gozzini C, Bortoli A, Prada A. Fundic gland polyps and PPI: the Mozart effect of gastrointestinal pathology? *Pol J Pathol* 2006; 57: 181-182
- 16 Bertoni G, Sassatelli R, Nigrisoli E, Pennazio M, Tansini P, Arrigoni A, Rossini FP, Ponz de Leon M, Bedogni G. Dysplastic changes in gastric fundic gland polyps of patients with familial adenomatous polyposis. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 192-197
- 17 曾健, 黎乐群, 肖强. 胃息肉恶变的临床病理因素分析. *综合临床医学* 1997; 13: 309
- 18 张秀荣, 李春启. 不同病理类型胃息肉的细胞DNA定量研究. *中华消化内镜杂志* 1997; 14: 356
- 19 Ginsberg GG, Al-Kawas FH, Fleischer DE, Reilly HF, Benjamin SB. Gastric polyps: relationship of size and histology to cancer risk. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 714-717

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (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.

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, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将修改后的稿件及光盘寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

MSCT多期增强扫描诊断肝门区胆管癌15例

张天柱, 杨文魁

■背景资料

肝门胆管癌又称Klatskin瘤, 主要起源于左右肝管及其汇合处的胆管上皮, 占肝外胆管癌的58%-75%, 95%以上为腺癌, 早期诊断较困难, 患者就诊时已为晚期, 是影像学诊断的难点之一。

张天柱, 河南省安阳市人民医院放射科 河南省安阳市455001

杨文魁, 河南省郑州市第五人民医院放射科 河南省郑州市450000

作者贡献分布: 张天柱与杨文魁对此文所作贡献均等; 此论文由张天柱设计; 资料收集整理由张天柱与杨文魁共同完成; 论文写作由张天柱与杨文魁完成。

通讯作者: 杨文魁, 450000, 河南省郑州市, 郑州市第五人民医院放射科. 353917641@qq.com

收稿日期: 2009-10-16 修回日期: 2009-12-05

接受日期: 2009-12-14 在线出版日期: 2010-01-18

Diagnosis of dynamic contrast-enhanced MSCT for hilar cholangiocarcinoma: an analysis of 15 cases

Tian-Zhu Zhang, Wen-Kui Yang

Tian-Zhu Zhang, Department of Radiology, Anyang People's Hospital, Anyang 455001, Henan Province, China
Wen-Kui Yang, Department of Radiology, the 5th People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Correspondence to: Wen-Kui Yang, Department of Radiology, the 5th People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. 353917641@qq.com

Received: 2009-10-16 Revised: 2009-12-05

Accepted: 2009-12-14 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of dynamic contrast-enhanced multi-slice spiral computed tomography (MSCT) for hilar cholangiocarcinoma.

METHODS: The clinical data and MDCT imaging data of 15 patients with pathologically confirmed hilar cholangiocarcinoma were retrospectively analyzed. All patients underwent plain and four-phase dynamic contrast-enhanced MSCT.

RESULTS: According to MSCT findings, 15 cases of hilar cholangiocarcinoma were divided into three types: mass-forming, nodular and ductal infiltrating. All cases showed isodensity or hypodensity on plain CT. The imaging characteristics of seven cases of mass-forming hilar cholangiocarcinoma included peripheral uneven enhancement on arterial phase and marked

enhancement on late arterial phase and portal venous phase. The imaging characteristics of five cases of nodular hilar cholangiocarcinoma included hilar nodule less than 2 cm, peripheral ring-like enhancement on arterial phase, marked delayed enhancement on portal venous phase and gradual filling of the central area. The imaging characteristics of three cases of ductal infiltrating hilar cholangiocarcinoma included irregular thickening of the bile duct wall by more than 2 mm, and marked ring-like enhancement on arterial and portal venous phase. Two cases of ductal infiltrating hilar cholangiocarcinoma showed delayed enhancement.

CONCLUSION: Dynamic contrast-enhanced MSCT is an important diagnostic tool for hilar cholangiocarcinoma.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Hepatic hilum; Tomography; X-ray computed tomography

Zhang TZ, Yang WK. Diagnosis of dynamic contrast-enhanced MSCT for hilar cholangiocarcinoma: an analysis of 15 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 184-188

摘要

目的: 评价MSCT多期动态增强扫描对肝门胆管癌的诊断价值。

方法: 回顾性分析15例经病理确诊的肝门区胆管癌的临床资料及MSCT图像特征, 所有病例均行平扫及四期动态增强扫描(即早动脉期、晚动脉期、门脉期及延迟期)。

结果: 15例肝门胆管癌按CT表现形式分为肿块型、结节型及管壁浸润型, 所有病灶均表现为等密度或略低密度。7例肿块型动脉期肿块边缘呈轻度不均匀强化, 晚动脉期、门静脉期及延迟期病灶进一步强化; 5例结节型多表现为肝门部<2 cm的结节, 动脉期主要为边缘环状强化, 门静脉期及延迟期持续明显强化, 且向中心部充填; 3例管壁浸润型表现为肝门部胆管壁局限性不规则增厚>2 mm, 增厚的胆管壁四期扫描均呈明显环状强化, 其中2例表现为延迟强化。

■同行评议者

胡红杰, 主任医师, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院放射科

结论: MSCT四期动态增强扫描对于肝门区胆管细胞癌具有较高的诊断价值。

关键词: 胆管癌; 肝门; 体层摄影术; X线计算机

张天柱, 杨文魁. MSCT多期增强扫描诊断肝门区胆管癌15例. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 184-188

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/184.asp>

0 引言

肝门胆管癌又称Klatskin瘤, 是指原发于左肝管、右肝管、左右肝管分叉部和肝总管上段的癌。占肝外胆管癌的58%-75%。肿瘤早期多沿胆管壁生长, 生长部位隐蔽, 早期诊断较困难。患者就诊时已为晚期, 是影像学诊断的难点之一^[1]。本文回顾性分析了15例经手术病理证实的肝门胆管癌病例, 旨在探讨肝门胆管癌MSCT四期动态增强扫描的特征及薄层重建的诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料 2008-05/10我院收治的经病理确诊的肝门区胆管细胞癌15例, 其中男8例, 女7例, 年龄42-78(平均年龄63.5)岁。临床表现为不同程度的黄疸, 右上腹胀痛, 纳差, 恶心, 呕吐, 体质量减轻等症状。实验室检查: 血清总胆红素和直接胆红素升高者13例, CA19-9升高者11例, 2例CEA阳性, 1例AFP升高。8例行ERCP检查, 其中7例活检组织发现癌细胞, 另1例未发现癌细胞, 后经手术病理证实; 手术切除7例, 手术探查加姑息治疗4例, 经皮支架植入加放疗4例。病理: 高分化腺癌4例, 中分化腺癌5例, 低分化腺癌3例, 乳头状腺癌2例, 结节硬化型腺癌1例。

1.2 方法

1.2.1 检查: 采用SOMATOM sensation16排螺旋CT机扫描。CT检查前6-8 h禁食, 扫描前30 min喝水800-1 000 mL, 部分病例检查前10 min肌肉注射654-220 mg; 扫描范围自肝顶至胰腺下缘先行平扫, 而后行四期增强扫描, 即早动脉期(采用人工触发, 触发阈值150 Hu, 延迟15 s左右), 晚动脉期(延迟25-30 s), 门脉期(延迟55-60 s), 延迟期(13例延迟5-15 min, 2例延迟20 min)。采用高压注射器经肘前静脉注射非离子型对比剂欧乃派克(350 mgI/mL)90 mL, 注射流率3.5 mL/s; 扫描参数: 120 kV, 250 mAs, 准直宽度16 mm×1.5 mm。

1.2.2 图像分析: 对扫描数据进行图像重建和后处理, 轴位像重建层厚2 mm, 并行多平面重建(MPR)及曲面重建(CPR), 全方位显示病灶及其

与周围组织的关系, 以期提高诊断的准确性和全面性。由两位经验丰富的放射科诊断医师对图像进行分析会诊, 并取得一致诊断意见。分析内容包括胆管梗阻的部位和原因, 病变的大小、形态、密度、范围及强化特点, 肝内外胆管扩张的程度和形态特征, 是否伴有肝叶萎缩, 有无肝内转移, 肝门区血管有无受侵, 有无肝门部和腹膜后淋巴结转移。对比分析不同延迟时间扫描显示病变能力差别。

2 结果

2.1 直接征象 15例肝门区胆管癌中, 肿块型占多数(7/15)(图1), 均位于左右肝管汇合区; 其次为结节型(5/15)(图2), 位于左肝管者3例, 位于右肝管及左右肝管汇合处各1例, 管壁浸润型3例(图3), 其中1例侵犯胆囊。与正常肝实质相比, 各型肝门区胆管癌CT表现如下。

2.1.1 肿块型: 7例, 主要表现为肝门部肿块, 大小2.8-6.5(平均3.7) cm。病变平扫呈等或略低密度, 边界欠清, 边缘不规则, 增强扫描动脉期和门脉期呈轻度或中度不均匀强化, 周边部强化较显著, 延迟期多明显强化(5/7), 边界变清, 呈相对高密度(图1), 2例常规四期扫描均呈中度不均匀强化, 中心区密度略低, 强化密度变化不明显, 与正常肝实质相比呈相对略低密度。

2.1.2 结节型: 5例, 表现为肝门部胆管走行区结节, 大小为1.1-1.9(平均1.6) cm。平扫多呈类圆形、椭圆形等密度(3/5)或略低密度影, 向腔内突出, 密度较均匀, 边缘光整或欠光整, 增强扫描动脉期及门脉期呈轻度到中度强化, 多数周边强化较明显, 类似环状强化(3/5), 另外1例均匀强化, 1例不均匀强化。

2.1.3 管壁浸润型: 3例, 表现为胆管局限性不规则增厚, 管腔变窄, 四期增强扫描呈中度到明显强化, 可见“圆环征”, 其中1例呈渐进性强化, 延迟期密度较前两期略增高, CT值增加约8-10 Hu。

2.2 间接征象

2.2.1 肝内外胆管扩张: 15例肝门区胆管癌均可见梗阻部位以上胆管不同程度的肝内胆管扩张, 呈软藤状、枯枝状、蟹足状或不规则形, 扩张胆管在梗阻处突然中断, 多为中度(管径10-15 mm)(6/12)或重度扩张(管径>15 mm)(4/12)。

2.2.2 肝叶萎缩: 15例肝门区胆管癌中3例肝左叶萎缩, 其中肿块型2例, 结节型1例, 萎缩肝叶内仍可见扩张胆管影。

■ 相关报道

多数学者认为肝门胆管癌为乏血供, 而包绕腺腔密集纤维基质滞留对比剂的时间要比肿瘤实质长, 故CT增强时, 早期往往呈现低密度或等密度, 而在延迟图像上呈现高密度或相对高密度, 此即胆管癌延迟强化的病理基础。

■应用要点

本研究提示, MSCT四期动态增强扫描明显提高了肝门区胆管癌诊断及定位的准确率, 降低了小病灶的漏诊及误诊率, 具有较高的临床价值。

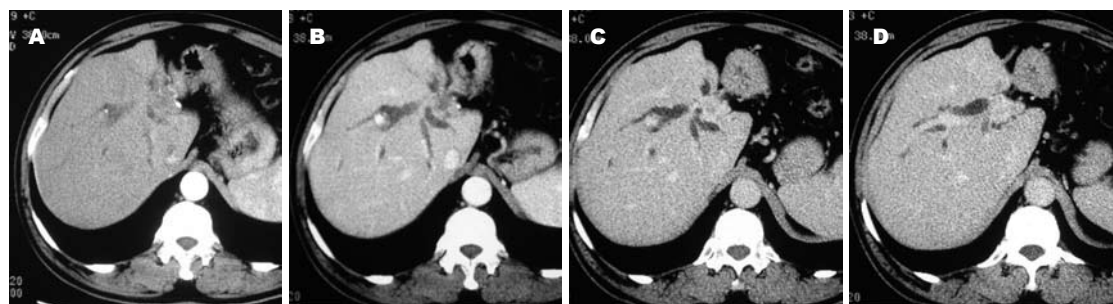


图1 肝门区肿块型胆管癌。A: 早动脉期肝门区可见略低密度肿块影, 边界不清, 肝内胆管扩张; B: 晚动脉期肝门区肿块边缘不均匀轻度强化; C: 门脉期肝门区肿块进一步强化并向中心延伸; D: 延迟4 min肝门区肿块进一步强化, 趋于均匀, 较正常肝实质高。

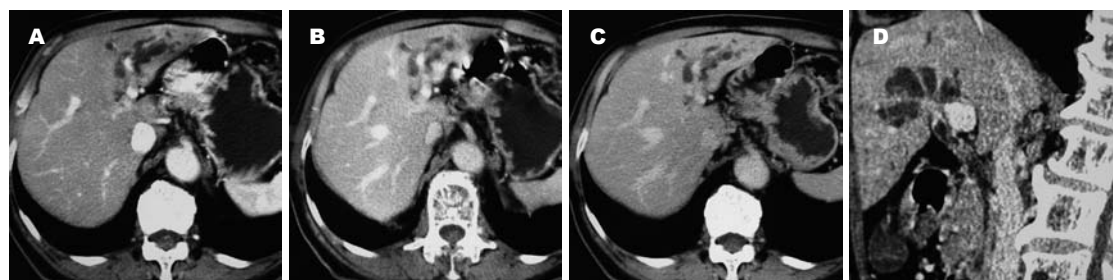


图2 肝门区结节型胆管癌。A: 动脉期左肝管末端可见一类椭圆形强化结节影, 大小约1.4 cm × 1.0 cm, 肝左叶胆管扩张; B: 门脉期结节影进一步强化, 与肝实质相近; C: 延迟3 min结节影强化程度进一步增高, 高于肝实质; D: MPR图像显示左肝管末端占位, 两端胆管扩张。

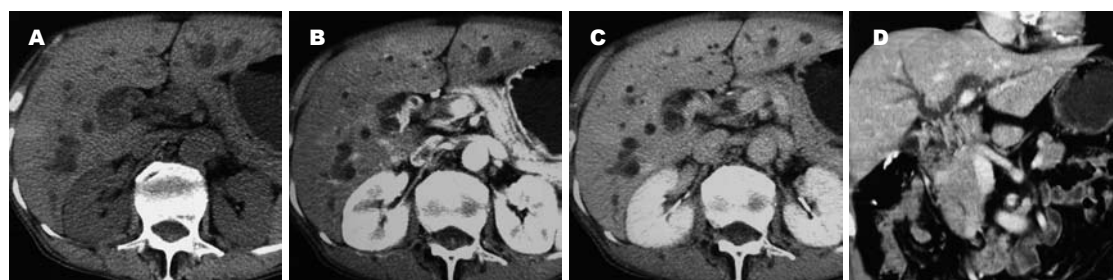


图3 肝门区管壁浸润型胆管癌。A: 平扫显示肝内胆管明显扩张, 肝门区未见明显占位征象; B: 晚动脉期扩张肝总管管壁明显增厚, 环中度强化, 呈“圆环征”; C: 延迟6 min肝总管增厚管壁强化均匀, 与周围血管密度相近; D: MPR图像显示肝总管管壁增厚, 远段阻塞, 左右肝管及其分支明显扩张。

2.3 伴随征象 肝门区胆管癌可伴有肝门区或腹膜后淋巴结转移, 肝内转移, 门脉癌栓, 肝内胆管结石, 胆囊萎缩, 2例伴有肝硬化, 其中1例伴肝左叶多发原发性肝癌。

2.4 CT诊断符合率 15例肝门区胆管癌中, 13例肝门区胆管癌CT诊断与病理结果相符, 误诊2例1例为腹膜后多发淋巴结肿大, CT诊断考虑为转移, 但术后病理为反应性淋巴结肿大, 未见癌细胞; 另外1例原发灶误诊为肝细胞肝癌伴肝门部淋巴结转移、左右肝管受压及肝内胆管扩张, 但术后病理结果显示肝门区肿块为胆管细胞癌。

3 讨论

肝门胆管癌主要起源于左右肝管及其汇合处的

胆管上皮, 约占肝外胆管癌的58%-75%, 95%以上为腺癌, 本组15例均为腺癌。癌组织在管壁内呈浸润性生长, 侵及邻近胆管, 常导致纤维组织增生, 使受累胆管壁增厚和管腔狭窄。肝门部胆管癌的临床分型常用Bismuth-Corlette分型: I型肿瘤位于肝总管分叉处, 左右肝管之间相通; II型肿瘤占据左右肝管汇合部, 两者之间无通道; III型肿瘤侵犯一侧肝管, 累及右肝管者为IIIa型, 累及左肝管者为IIIb型; IV型肿瘤左右肝管均受累。临床上根据癌肿对肝动脉和门静脉的侵犯, 可将胆管癌的病期分为4期。I期: 肿瘤限于胆管, 无门静脉及肝动脉侵犯; II期: 肿瘤累及单侧的门静脉及肝动脉; IIIa期: 肿瘤累及一侧肝动脉及门静脉的分叉部; IIIb期: 肿瘤累及一侧

门静脉及肝固有动脉; IV期: 肿瘤累及肝固有动脉及门静脉的分叉部; 准确的临床分型及分期对于治疗方案的选择至关重要. 肝门区胆管癌临床上主要表现为高位进行性梗阻性黄疸. 典型的肝门胆管癌肿瘤小, 生长缓慢, 局部浸润生长, 恶性度高, 如果不经治疗, 出现症状后生存期约3 mo^[2]. 因此早期诊断, 可明显提高外科手术切除率, 或早期行内支架引流, 缓解患者症状, 延长生存期.

由于肝门部解剖结构复杂, 毗邻的血管较多, 胆管走行不规则、变异多, 且肝门胆管癌病灶常较小, 又受部分容积效应的影响, 常规CT尽管采用动态扫描技术, 对肿块本身的显示率仍然较低, 为40%-70%^[1]. MSCT由于其探测器的多层排列, 时间及空间分辨率明显提高, 可常规行多期、薄层容积扫描, 另外MSCT强大的后处理功能可以多平面、全方位观察病变, 弥补了常规螺旋CT的不足, 图像质量明显提高, 对于肝门胆管癌, 特别是病灶较小(<2 cm)的肝门胆管癌, 在发现病灶和周围结构显示方面有明显优势. 本组5例<2 cm的结节型及3例管壁浸润型肝门胆管癌, 轴位图像及MPR重建图像均能清楚显示结节及胆管壁不规则增厚, 同时能清楚地观察到各期扫描病灶的强化特点及周围血管的侵犯情况, 明显提高了诊断的准确率, 降低了小病灶的漏诊率.

MSCT多期扫描明显提高肝门区胆管癌诊断准确率. 以往单排螺旋CT扫描速度较慢, 增强扫描期相相对单一, 对于强化特征不典型的病灶, 与肝门区其他病变如肝门部肝癌鉴别困难, 常规多期增强扫描更能全面观察病灶的强化特征, 整体了解病灶的强化曲线, 明显提高了诊断准确性. 本组15例肝门区胆管癌均行常规四期增强扫描, 加扫晚动脉期能够进一步明确病灶的强化特点, 有利于肝门区胆管癌与肝门区肝细胞肝癌的鉴别. 本组15例肝门区胆管癌仅有一例肿块型肝门胆管癌误诊为原发性肝细胞肝癌, 原因为病灶体积较大, 血供丰富, 5 min未见明显延迟强化, 将扩张肝内胆管诊断为左右肝管受肿瘤压迫所致.

多平面重建(MPR)技术明显提高肝门区胆管癌的定位准确率. MPR技术可以病灶为中心进行冠状位、矢状位以及任意平面的图像重建, 清晰显示病变的大小、形态以及与周围组织的关系, 特别是对于解剖结构复杂的肝门区占位, 多平面重建可清晰显示病变的位置及范围, 周

围有无侵犯血管及淋巴结转移, 为进行准确的临床分型及分期提供可靠依据, 有助于术前对肿块的可切除性进行评估以及术中更彻底地清除病灶. 此外, MPR像与薄层轴位图像相结合更有利于发现较小的病变. 有学者认为^[3], MSCT对于胆管癌病灶的定位准确率明显提高; 邻近组织器官的侵犯及远处转移的符合率亦有所提高, 但仍较术中所见有所差距, 其原因考虑: (1)腹部脏器多而密集, 肿块浸润周围脂肪间隙或腹膜肠系膜结构使脏器间分界欠清, 而误诊为脏器受侵; (2)肿块形态多欠规则, 肿大的淋巴结与肿块邻近或融合及较小的转移淋巴结CT较难显示; (3)有单个较大淋巴结误为转移, 病检为反应性增生.

CT多期增强扫描延迟强化是胆管癌最重要的CT征象. 多数学者认为肝门胆管癌多为乏血供, 而包绕腺腔密集的纤维基质储留对比剂的时间要比肿瘤实质长, 故CT增强时, 早期往往呈现低密度或等密度, 而在延迟图像上呈现高密度或相对高密度, 此即胆管癌延迟强化的病理基础^[4]. 本组15例中, 9例早动脉期呈轻中度强化, 以周边不均匀强化为主, 晚动脉期15例病灶均有不同程度强化. 病灶较小的结节型和管壁浸润型肝门区胆管癌动脉期强化更明显, 常为明显环状和结节状强化, 本组8例中6例(75%)呈环状强化, 1例呈结节样强化, 这可能是因为较小的肿瘤纤维基质和坏死成分较少、血供相对丰富. 另外, 胆管壁局限性不规则增厚>2 mm伴不均匀强化, 也是诊断肝门胆管癌的可靠依据, 尤其当无肿块或结节时, 可结合其他征象作出诊断. 而且本组12例肿块型和结节型肝门胆管癌中, 有9例显示肿块或结节的上下方胆管壁不规则增厚伴不均匀强化, 此征象亦符合胆管癌可沿着胆管壁浸润性生长的病理特征. 其他CT表现有肝内胆管明显扩张, 扩张的左右肝管在肝门处截断或呈鼠尾状, 门静脉及肝动脉的受侵及肝叶萎缩等.

肝门区的肿块型胆管癌应和邻近肝门的肝内胆管细胞癌、肝细胞肝癌以及肝门区转移性的肿大淋巴结相鉴别. 肝内胆管细胞癌一般体积较大, 边界不清, 中心区易出现坏死性低密度区, 强化表现多样, 可呈结节状或周边强化, 常累及一叶肝内胆管扩张, MPR可以清晰显示病灶位置及侵犯范围, 有利于病变的准确定位. 肝细胞肝癌多期增强多表现为典型的“速升速降”密度曲线, 且原发性肝癌门静脉癌栓常见,

■同行评价

本文探讨了MSCT多期增强扫描对肝门区胆管细胞癌的诊断价值, 属病例总结, 有一定的参考意义, 缺点是病例偏少.

而肝门区胆管癌只会侵犯门静脉,导致管腔变细狭窄,不会出现门静脉癌栓,另外结合肝硬化背景及AFP检查,不难鉴别;肝门转移性淋巴结多来自胃肠道、胆囊、胰腺等肿瘤,压迫肝总管或胆管分叉部引起高位梗阻,增强时淋巴结强化不明显或无强化^[5],部分可呈轻中度环形强化,其造成的胆管扩张程度一般较胆管癌轻,无胆管壁不规则增厚及腔内肿块形成,且常可在肝内或腹腔其他部位发现原发病灶。

管壁浸润型胆管癌应和一些良性病变引起的胆管狭窄相鉴别,尤其是硬化性胆管炎。胆管癌浸润引起的管壁增厚多为不对称性或偏心性,亦可出现环状增厚,胆管狭窄多呈鼠尾状或突然截断;而炎症造成的管壁增厚一般较均匀,且范围一般较广泛,肝内外胆管节段性不连续的扩张和狭窄,无侵犯及转移表现。有学者认为^[6,7]肝门区胆管管壁厚度超过5 mm,胆总管壁厚度超过1.5 mm,应高度怀疑胆总管癌的可能性,若低于此限度,则应考虑炎性增厚。

结节型胆管癌应和胆管结石相鉴别,后者一般密度较高,但少数可呈等密度或略低密度,增强扫描时由于容积效应的影响可能会造成病灶强化的假象而误诊为胆管癌。反之,对于一些强

化不明显的胆管癌可能会误诊为结石,此时应结合超声检查。

总之,MSCT四期动态增强扫描明显提高了肝门区胆管癌诊断及定位的准确率,降低了小病灶的漏诊及误诊率,具有较高的临床价值。

4 参考文献

- 1 杨立, 杨州, 赵绍宏, 聂永康, 应逸凤, 赵红, 方捷, 蔡祖龙. 肝门区胆管细胞癌的多层螺旋CT表现. 中华放射学杂志 2005; 39: 81-84
- 2 Liu YL, Kong XQ, Xu HB, Peng ZJ, Yu Q, Xiong Y. Evaluation of MRI in Diagnosing Hilar Cholangiocarcinoma. *Chin-Germ J Clin Oncol* 2005; 4: 199-202
- 3 李慧, 曹觉, 龙学颖, 刘慧, 朱智明. 胆管细胞癌CT征象分析及MSCT诊断价值的评估. 中国普通外科杂志 2007; 16: 662-665
- 4 Guthrie JA, Ward J, Robinson PJ. Hilar cholangiocarcinomas: T2-weighted spin-echo and gadolinium-enhanced FLASH MR imaging. *Radiology* 1996; 201: 347-351
- 5 许开喜, 嵇晓东. 肝门型胆管癌的CT诊断. 实用放射学杂志 2004; 20: 656-658
- 6 Schulte SJ, Baron RL, Teefey SA, Rohrmann CA Jr, Freeny PC, Shuman WP, Foster MA. CT of the extrahepatic bile ducts: wall thickness and contrast enhancement in normal and abnormal ducts. *AJR Am J Roentgenol* 1990; 154: 79-85
- 7 张晓锦, 祝安惠. 肝门胆管癌CT诊断与手术及病理对照. 中国临床医学影像杂志 2005; 16: 631-633

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布 《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

本刊讯 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位。2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位。大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价。《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

异甘草酸镁对肝切除术后的保肝作用

张宪祥, 张炳远, 吴力群, 孙传东

张宪祥, 张炳远, 孙传东, 青岛大学医学院附属医院普外二科 山东省青岛市 266003

吴力群, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科 山东省青岛市 266003

作者贡献分布: 张宪祥与张炳远对此文所作贡献均等; 此课题由张炳远与吴力群设计; 研究过程由张宪祥、张炳远、吴力群及孙传东操作完成; 数据分析由张宪祥、吴力群及孙传东完成; 本论文写作由张宪祥与张炳远完成。

通讯作者: 张宪祥, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院普外二科. xianxiang1115@163.com

收稿日期: 2009-11-03 修回日期: 2009-12-02

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Protective effects of magnesium isoglycyrrhizinate on liver function in patients after liver resection

Xian-Xiang Zhang, Bing-Yuan Zhang, Li-Qun Wu, Chuan-Dong Sun

Xian-Xiang Zhang, Bing-Yuan Zhang, Chuan-Dong Sun, Department of General Surgery (Division II), the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Li-Qun Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Xian-Xiang Zhang, Department of General Surgery (Division II), the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Shinan District, Qingdao 266003, Shandong Province, China. xianxiang1115@163.com

Received: 2009-11-03 Revised: 2009-12-02

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To investigate the protective effects of magnesium isoglycyrrhizinate on liver function in patients after liver resection.

METHODS: Sixty-four patients undergoing liver resection were randomly divided into experimental group and control group. The experimental group was given magnesium isoglycyrrhizinate 150 mg at the beginning of the operation and postoperatively for 7 days, while the control group was not given the drug. The fasting ALT, AST, TBIL, DBIL, GGT and ALP levels were determined before operation and on days 1, 3 and 7 after operation.

RESULTS: Postoperative ALT and AST (except

on day 3) levels in the experimental group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$ or 0.01). On day 7 after operation, serum ALT levels returned to normal in 20 patients (64.5%) in the experimental group. Adverse reactions such as pseudohyperaldosteronism did not occur during the treatment course.

CONCLUSION: Magnesium isoglycyrrhizinate can inhibit the rapid increase in the levels of liver enzymes, particularly serum transaminase, and reduce complications in patients after hepatectomy, and is therefore suitable for perioperative use in these patients.

Key Words: Magnesium isoglycyrrhizinate; Liver resection; Liver function

Zhang XX, Zhang BY, Wu LQ, Sun CD. Protective effects of magnesium isoglycyrrhizinate on liver function in patients after liver resection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 189-194

摘要

目的: 探讨异甘草酸镁对肝切除术后肝功能的保护作用。

方法: 肝切除病例64例, 随机分为试验组和对照组, 试验组手术开始时给予异甘草酸镁150 mg, 术后连续用药7 d, 对照组为空白对照。分别于术前和术后1、3、7 d测定空腹外周静脉血清ALT、AST、TBIL、DBIL、GGT、ALP的含量。

结果: 试验组术后ALT、AST(除了第3天)明显低于对照组($P < 0.05$ 或 0.01), 至术后第7天时, 试验组有20例患者的血清ALT水平降至正常(64.5%), 试验过程中未出现假性醛固酮症等不良反应。

结论: 异甘草酸镁可降低肝切除术后肝酶尤其是血清转氨酶的急剧增高, 减少并发症的发生, 适合在肝脏围手术期使用。

关键词: 异甘草酸镁; 肝切除; 肝功能

■背景资料

异甘草酸镁为多功能的肝细胞保护剂, 可用于多种原因所致的肝功能异常, 目前已广泛应用于对慢性病毒性肝炎和药物性肝损伤的治疗, 但对肝胆手术所致肝细胞损伤的治疗保护作用尚无临床研究资料。

■同行评议者

刘凤斌, 教授, 广州中医药大学第一附属医院消化内科

■研究前沿

异甘草酸镁目前已被广泛应用于临床,但应用领域仍主要局限在慢性病毒性肝炎和药物性肝损伤患者的治疗,外科领域应用尚少,究其原因,是缺乏大样本的临床研究报告,其保肝降酶的机制仍有待进一步的深入研究。

张宪祥, 张炳远, 吴力群, 孙传东. 异甘草酸镁对肝切除术后保肝作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 189-194
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/189.asp>

0 引言

异甘草酸镁是从天然植物甘草中提取的甘草酸经过碱催化异构化后成盐精制而得^[1],为单一的18 α -异构体甘草酸,具有较强的抗炎、保护肝细胞膜及改善肝功能的作用。异甘草酸镁为多功能的肝细胞保护剂,可用于多种原因所致的肝功能异常,目前已被广泛应用于对慢性病毒性肝炎和药物性肝损伤的治疗,但对肝胆手术所致肝细胞损伤的治疗保护作用尚无临床研究资料。本研究探讨异甘草酸镁对临床肝切除患者是否具有改善肝功能的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 2007-10/2008-03我科施行的肝切除术患者64例,男34例,女30例,平均年龄为51.8(28-68)岁。其中原发性肝癌35例,胆石病24例,肝血管瘤3例,肝局灶性结节性增生1例,肝囊肿1例。术前肝功能评估均为Child-Pugh A级,且术前血清ALT \leq 2倍正常值;术前无急性肝炎,无心、肺、肾功能不全及其他全身系统疾病;术中最低收缩压 \geq 60 mmHg。按随机数字表将病例分为试验组和对照组。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 试验组手术开始(切皮)时即给予异甘草酸镁注射液150 mg加入到10%葡萄糖注射液250 mL中静脉滴注(糖尿病患者按相应比例给予胰岛素)。术后每日静脉给予异甘草酸镁注射液150 mg,连续用药7 d。对照组为空白对照,仅给予三磷酸腺苷二钠-氯化镁注射液(苷美)和钾镁液治疗。当血清白蛋白低于35 g/L时,可适当补充外源性白蛋白。出现手术并发症时给予相应处理。

1.2.2 测定指标和方法: 分别于术前和术后1、3、7 d测定空腹外周静脉血清ALT、AST、TBIL、DBIL、GGT、ALP的含量。血样统一由本院生化室检测,使用仪器为美国雅培AEROSSET型全自动生化分析仪。

统计学处理 应用SPSS10.0统计软件进行数据分析,计量资料结果用mean \pm SD表示,方法采用 t 检验或协方差分析;计数资料采用卡方检验,结果以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般临床资料 本研究64例患者,按照随

机数字表分为试验组31例和对照组33例,分别比较两组患者在年龄、性别、身高、体质量、肝硬化等方面的一般资料,均无统计学差异,两组具有可比性(表1)。

2.2 肝切除术后两组肝功能指标的变化 应用异甘草酸镁治疗组(试验组)与空白对照组术后血清ALT、AST、TBIL、DBIL、GGT、ALP均有不同程度的升高,但对照组ALT、AST升高更为明显,两组相比较,术后第1、3、7天ALT及术后第1、7天AST试验组均明显低于对照组,有统计学意义(均 $P<0.05$);两组术后TBIL、DBIL、GGT、ALP比较,均无显著差异($P>0.05$,表2)。

2.3 术中相关因素对试验组和对照组术后血清转氨酶的影响 分别将对照组和试验组分为肝门阻断组与未阻断组,肝脏转位组与未转位组。在对照组中,阻断组与未阻断组术后血清转氨酶均升高,但阻断组术后第1、3、7天ALT、AST均明显高于未阻断组,有统计学意义;在试验组中,阻断组与未阻断组术后血清转氨酶亦均升高,阻断组术后第1天ALT及术后第1、3、7天AST均明显高于未阻断组,有统计学意义(表3);在对照组中,转位组与未转位组术后血清转氨酶均升高,转位组术后第1天ALT及术后第1、3天AST均明显高于未转位组,有统计学意义;在试验组中,转位组与未转位组术后血清转氨酶亦均升高,但两组比较,术后ALT、AST均无显著差别(表4)。肝断面面积与术后第1天AST有相关性,与术后第1、3、7天ALT及术后第3、7天AST均没有相关性(表5)。

2.4 两组术后恢复 两组术后第7天血清ALT降至正常范围者: 治疗组64.5%,对照组36.4%,二者差异显著($P=0.024$,表6)。两组术后并发症发生率无显著差异($P>0.05$) (两组中胸腔积液和切口感染各出现1例)。两组患者的并发症均经积极治疗而治愈,无手术死亡。原发性肝癌行肝切除患者术后平均住院天数治疗组为9.8 d,对照组为10.6 d,二者比较无统计学意义。在整个试验过程中治疗组未出现甘草酸制剂常见的假性醛固酮症的不良反应(如血压升高、电解质改变等)。

3 讨论

人体内转氨酶有20多种,临床上应用最多的为ALT和AST,许多脏器和组织都含有这两种转氨酶,两者分布的次序大致是肝 \rightarrow 肾 \rightarrow 心 \rightarrow 肌肉和心 \rightarrow 肝 \rightarrow 肌肉 \rightarrow 肾,只要有1%的肝细胞破坏,其所释放的转氨酶即足以使血清中转氨酶水平

表 1 对照组与试验组一般资料

指标	对照组	试验组	<i>t</i> 值或 χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	50.9±8.6	52.8±9.4	<i>t</i> = -0.842	0.403
性别				
男	19	15	χ^2 = 0.542	0.462
女	14	16		
身高(cm)	166.9±6.8	164.8±8.8	<i>t</i> = 1.063	0.292
体质量(kg)	68.0±10.5	62.9±11.5	<i>t</i> = 1.837	0.071
肝硬化				
有	17	14	χ^2 = 0.258	0.611
无	16	17		
肝门阻断				
肝门未阻断组	19	21	χ^2 = 0.822	0.663
肝门阻断<20 min	6	5		
肝门阻断>20 min	8	5		
肝脏转位				
有	16	13	χ^2 = 0.277	0.599
无	17	18		
肝断面面积(cm ²)	43.1±22.8	52.0±31.3	<i>t</i> = -1.318	0.192
出血量(mL)	900.0±787.0	832.3±708.7	<i>t</i> = 0.361	0.719
手术时间(min)	167.1±57.1	174.1±69.0	<i>t</i> = -0.448	0.656
手术方式				
半肝切除组	10	9		
联合肝段切除组	14	15	χ^2 = 0.275	0.872
肝段或局部切除组	9	7		

■创新盘点

本文从外科领域研究异甘草酸镁的保肝作用, 开保肝治疗之先河, 为临床外科医师治疗肝切除术后肝损害提供了新选择和新思路。

升高1倍; 在肝内, 转氨酶主要含于肝细胞内, 胞内/外酶活性为5 000:1, 肝细胞变性坏死时, 肝内酶释放入血, 引起血清中转氨酶活力升高。因此血清转氨酶测定被认为是反映肝细胞损害的标准试验, 血清转氨酶是反映肝功能损害的最敏感指标, 可用于评估肝细胞损害的严重程度。因原发性肝癌、肝内胆管结石等行肝部分切除的患者术后常出现一定程度的肝功能损害, 尤其伴有肝硬化时, 肝功能损害更为明显, 在临床上表现为术后血清转氨酶的一过性升高^[2]。肝切除术中肝门阻断和肝脏转位等可造成肝脏的缺血和再灌注损伤^[3], 导致炎性细胞大量激活, 细胞因子和炎性介质释放以及氧自由基的产生^[4], 并诱发不同程度的全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIR)^[5], 从而出现肝细胞膜的损伤, 长时间或反复间歇阻断者尤甚, 易形成手术后长时间的肝炎状态^[6]。同时肝硬化患者体内因胃肠道黏膜淤血、水肿, 肠道细菌过度生长繁殖和肠壁通透性增加, 肠壁局部免疫防御功能下降, 使肠腔内细菌发生移位经过肠系膜淋巴结进入循环系统, 产生菌血症和内毒素血症^[7], 同时肝切除和肝门阻断时也会产生内

毒素血症, 引起肝细胞的明显损伤, 导致术后肝功能损害。此外, 肝切除术后ALT、AST较手术前的急剧增高还与手术创伤应激、麻醉药物应用、肝切缘组织坏死及术中血液动力学不稳定及术中失血、输血等因素有密切的关系。因此, 如何在术中保护肝脏功能, 防止手术并发症, 促进患者尽早康复, 是肝脏手术围手术期的重要内容。

我们的研究显示, 在对照组中, 阻断组与未阻断组、转位组与未转位组术后血清转氨酶均升高, 但阻断组和转位组术后血清转氨酶均明显高于未阻断组; 在试验组中, 阻断组术后血清转氨酶亦明显高于未阻断组, 而转位组与未转位组比较, 术后ALT、AST均无显著差别, 可能与异甘草酸镁的保肝降酶作用有关系。肝断面面积与术后第1天AST有正相关性, 与术后第1、3、7天ALT及术后第3、7天AST均没有相关性。结果提示, 肝门阻断和肝脏转位会造成肝切除术后血清转氨酶的明显升高, 导致肝切除患者术后出现一过性的肝功能损害, 是影响肝切除术后转氨酶升高的主要因素。

甘草酸制剂是目前临床上应用比较广泛的

■应用要点

本研究提示, 异甘草酸镁可明显降低肝切除术后肝酶尤其是血清转氨酶的急剧增高, 对恢复术后肝脏功能、促进患者康复、减少并发症的发生具有积极的意义, 适合在肝脏围手术期使用。

表 2 两组术后肝功能指标的比较 (mean ± SD)

肝功能指标	术后时间(d)	试验组(n = 31)	对照组(n = 33)	P值	P值
ALT(U/L)	1	206.0 ± 143.0	384.0 ± 239.0	10.514	0.002
	3	140.0 ± 107.0	250.0 ± 196.0	5.310	0.025
	7	51.0 ± 25.0	93.0 ± 55.0	12.009	0.001
AST(U/L)	1	192.0 ± 139.0	306.0 ± 189.0	5.265	0.025
	3	72.0 ± 59.0	97.0 ± 80.0	0.764	0.386
	7	25.0 ± 9.0	35.0 ± 17.0	5.435	0.023
TBIL(μmol/L)	1	23.2 ± 12.1	23.0 ± 10.1	0.146	0.704
	3	20.8 ± 12.6	20.4 ± 9.3	0.084	0.773
	7	15.0 ± 6.7	14.9 ± 6.8	0.323	0.572
DBIL(μmol/L)	1	9.1 ± 5.1	9.0 ± 5.2	0.796	0.376
	3	9.4 ± 5.1	8.8 ± 4.9	0.783	0.380
	7	7.2 ± 3.5	7.5 ± 3.8	0.002	0.966
GGT(U/L)	1	68.7 ± 133.3	62.7 ± 58.0	0.033	0.856
	3	54.4 ± 80.1	58.8 ± 40.7	0.066	0.798
	7	98.0 ± 99.2	105.1 ± 62.3	0.230	0.633
ALP(U/L)	1	94.9 ± 98.0	81.5 ± 47.1	0.719	0.400
	3	91.9 ± 57.5	82.3 ± 36.3	0.980	0.326
	7	106.1 ± 61.5	102.2 ± 48.8	0.063	0.803

表 3 两组阻断与未阻断术后血清转氨酶水平 (mean ± SD)

转氨酶 (U/L)	术后时间(d)	对照组				试验组			
		阻断组(n = 14)	未阻断组(n = 19)	P值	P值	阻断组(n = 10)	未阻断组(n = 21)	P值	P值
ALT	1	532 ± 240	275 ± 174	3.570	0.001	312 ± 168	155 ± 97	2.757	0.017
	3	365 ± 214	165 ± 132	3.097	0.006	205 ± 138	109 ± 75	2.050	0.064
	7	125 ± 62	69 ± 34	3.062	0.006	68 ± 22	42 ± 23	2.950	0.006
AST	1	454 ± 181	196 ± 99	4.834	0.000	310 ± 171	136 ± 74	3.085	0.011
	3	151 ± 87	57 ± 43	3.678	0.002	106 ± 83	56 ± 36	1.805	0.099
	7	45 ± 20	27 ± 11	2.941	0.008	32 ± 6	21 ± 7	4.024	0.000

一类降酶保肝药物, 甘草酸由一分子甘草次酸(属药理活性分子)和两分子葡萄糖醛酸组成, 以18α和18β两种立体异构体的形式存在, 他通过作用于激素受体, 影响离子通道(抑制钙离子内流), 激活或抑制酶的活性, 调节物质代谢和胆碱能神经的兴奋性, 具有肾上腺素皮质激素样作用, 且还有明显的抗炎、减轻免疫病理反应作用^[8]。国内外多项研究表明, 甘草酸制剂具有较强的抗病毒, 保护肝细胞, 降低血清ALT、AST和血清胆红素水平的作用^[9], 被广泛应用于多种疾病的治疗, 尤其是肝脏疾病。近年来的研究显示, 他还具有明显的抗纤维化^[10]、抗生物氧化和抗细胞凋亡^[11]等功效。异甘草酸镁是近年来研发的第4代甘草酸制剂, 是甘草酸经过碱催化异构化后成盐精制而得, 其为单一的18α-异构体甘草酸, 较甘草酸制剂的第3代产品甘草酸二铵

(18α和18β的混合制剂)具有亲脂性好、肝脏靶向性高和不良反应少等优点, 具有更强的保肝抗炎、免疫抑制、利胆退黄、解毒、抗生物氧化等生物功效, 能稳定肝细胞膜, 清除体内氧自由基, 抑制肝炎病毒的复制, 减轻肝细胞的炎症和坏死, 促进肝细胞的再生和修复, 并能疏通肝内毛细胆管, 促进胆汁分泌排泄, 增加胆汁流速, 促进黄疸消退及转氨酶下降。药效学试验证明, 异甘草酸镁对D-氨基半乳糖引起大鼠急性肝损伤具有防治作用, 能阻止动物血清转氨酶升高, 减轻肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润; 对CCl₄引起大鼠慢性肝损伤和Gal/FCA诱发小鼠慢性免疫性肝损害具有治疗效果, 能降低血清转氨酶及血清NO水平, 减轻肝组织炎症活动度及纤维化程度, 减轻肝组织损害。已完成的针对异甘草酸镁的II期、III期临床试验证实, 异甘草酸

表 4 两组转位与未转位术后血清转氨酶水平 (mean ± SD)

转氨酶 (U/L)	术后 时间(d)	对照组				试验组			
		转位组(n = 16)	未转位组(n = 17)	t值	P值	转位组(n = 13)	未转位组(n = 18)	t值	P值
ALT	1	496 ± 229	278 ± 201	2.916	0.007	260 ± 160	166 ± 119	1.897	0.068
	3	309 ± 186	194 ± 194	1.732	0.093	159 ± 93	126 ± 117	0.851	0.402
	7	96 ± 50	91 ± 61	0.244	0.808	53 ± 21	49 ± 29	0.475	0.638
AST	1	400 ± 200	216 ± 127	3.166	0.003	255 ± 172	147 ± 90	2.067	0.055
	3	115 ± 71	80 ± 86	1.251	0.220	92 ± 73	57 ± 44	1.646	0.111
	7	34 ± 17	36 ± 18	-0.362	0.720	26 ± 8	24 ± 9	0.653	0.519

■同行评价

异甘草酸镁是具有较强的抗炎、保护肝细胞膜及改善肝功能的作用, 本文探讨其对肝切除术后患者的疗效, 证明了其护肝作用, 具有一定的实用价值。

表 5 肝断面面积与术后血清转氨酶的关系

转氨酶 (U/L)	术后 时间(d)	对照组(n = 33)		试验组(n = 31)	
		t值	P值	t值	P值
ALT	1	0.174	0.333	0.039	0.834
	3	0.017	0.924	-0.085	0.651
	7	-0.127	0.482	-0.201	0.287
AST	1	0.279	0.115	0.039	0.836
	3	0.175	0.331	-0.211	0.254
	7	-0.018	0.923	-0.137	0.471

表 6 两组术后第7天血清ALT恢复情况

ALT(U/L)	试验组(n)	对照组(n)	χ ² 值	P值
<60	20	12	5.067	0.024
≥60	11	21		

镁具有更强的抗炎、抗生物氧化、解毒、保护肝细胞膜及改善肝功能作用, 适用于伴有血清ALT升高的慢性肝病, 目前已被广泛应用于对慢性病毒性肝炎和药物性肝损伤的治疗^[12-15], 并取得了很好的疗效。

本研究显示, 应用异甘草酸镁治疗组(试验组)与空白对照组术后ALT、AST、TBIL、DBIL、GGT、ALP均有不同程度的升高, 但对对照组ALT、AST升高更为明显, 试验组术后ALT及AST均明显低于对照组; 至术后第7天时, 试验组大多数患者的血清ALT水平降至正常(64.5%); 在整个试验过程中试验组未出现甘草酸制剂常见的假性醛固酮症的不良反应(如血压升高和电解质改变等), 未见肝切除术后并发症的增加, 提示异甘草酸镁能明显降低肝切除术后患者的血清转氨酶水平, 减轻手术对肝细胞的损害, 有较好的改善肝功能的作用, 且具有很高的临床应用安全性。本研究试验组与对照组术后TBIL、DBIL、GGT、ALP比较, 均无显著差异, 考虑与

所研究样本例数较少有关, 未能体现出异甘草酸镁利胆退黄的生物功效。

总之, 异甘草酸镁可缩短肝切除术后肝脏长时间的肝炎状态, 降低肝切除术后肝酶尤其是血清转氨酶的急剧增高, 对恢复术后肝脏功能、促进患者康复、减少并发症的发生具有积极的意义, 较适合在肝脏围手术期使用。

4 参考文献

- 王骊丽, 黄熙, 张莉. 甘草甜素药代动力学. 世界华人消化杂志 2000; 8: 567-569
- Maruyama H, Harada A, Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T, Nakao A, Takagi H. Duration of liver ischemia and hepatic regeneration after hepatectomy in rats. *J Surg Res* 1995; 58: 290-294
- Shimoda M, Iwasaki Y, Okada T, Sawada T, Kubota K. Protective effect of Sivelestat in a porcine hepatectomy model prepared using an intermittent Pringle method. *Eur J Pharmacol* 2008; 587: 248-252
- Nunes FA, Kumar C, Chance B, Brass CA. Chemiluminescent measurement of increased free radical formation after ischemia/reperfusion. Mechanisms of free radical formation in the liver. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1045-1053
- Lichtman SN, Lemasters JJ. Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 171-187
- Jansen MC, van Wanrooy S, van Hillegersberg R, Rijken AM, van Coevorden F, Prevoo W, van Gulik TM. Assessment of systemic inflammatory response (SIR) in patients undergoing radiofrequency ablation or partial liver resection for liver tumors. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 662-667
- 吴志全, 樊嘉, 周俭, 邱双健, 马曾辰, 周信达, 汤钊猷. 肝癌肝切除时阻断与不阻断入肝血流的比较. 中华肝胆外科杂志 2000; 6: 371-373
- 李昌平, 刘厚钰, 胡德昌, 侯健, 周康. 强力宁对慢性肝炎患者IL-6及TNF-α的影响. 中华传染病杂志 1997; 15: 156-157
- 王慧芬, 苏海滨, 刘鸿凌, 季伟, 李捍卫, 胡瑾华. 甘草酸二铵治疗各类肝病629例临床观察. 中华传染病杂志 2004; 22: 113-115
- 张其胜, 王吉耀, 胡美玉. 甘草酸对肝纤维化Ito细胞I、III型前胶原mRNA表达和胶原沉积的影响. 中华肝脏病杂志 1999; 7: 164-165
- 郭晖, 黄爱龙, 姚云清, 唐霓, 张定凤. 甘草酸二铵抗内毒素体外致肝细胞凋亡的作用. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 159, 162
- 朱静, 高仲阳. 异甘草酸镁治疗慢性乙型肝炎的临床

- 观察. 天津药学 2008; 20: 39-41
- 13 徐强胜, 杨澍, 饶宗华, 田建华, 曾秀忠, 黄哲梅. 异甘草酸镁联合还原型谷胱甘肽治疗DILI疗效观察. 中国热带医学 2009; 9: 1548-1549
- 14 史桂兰, 胡志浩. 甘草酸药理作用及临床应用研究进

展. 天津药学 2001; 13: 10-12

- 15 Sato H, Goto W, Yamamura J, Kurokawa M, Kageyama S, Takahara T, Watanabe A, Shiraki K. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. *Antiviral Res* 1996; 30: 171-177

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行核对, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章从投稿到刊出4 mo内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

胰腺双部位实性假乳头肿瘤1例

程东峰, 沈柏用, 韩宝三, 祝哲诚, 邓侠兴, 彭承宏

程东峰, 沈柏用, 韩宝三, 祝哲诚, 邓侠兴, 彭承宏, 上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科 器官移植中心 消化外科研究所 上海市 200025

作者贡献分布: 彭承宏教授成功进行了该病例的手术治疗及指导论文撰写; 程东峰负责完成了该病例的文献温习及论文撰写; 程东峰、沈柏用、韩宝三、祝哲诚及邓侠兴配合彭教授完成该病例的手术操作、术后的管理等治疗以及病例的收集、整理和指导论文撰写等工作。

通讯作者: 彭承宏, 教授, 主任医师, 200025, 上海市, 上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科, 器官移植中心, 消化外科研究所. chhpeng168@126.com

电话: 021-64370045-360502

收稿日期: 2009-07-05 修回日期: 2009-11-30

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-01-18

Bifocal solid pseudopapillary tumor of the pancreas: a report of one case

Dong-Feng Cheng, Bai-Yong Shen, Bao-San Han, Zhe-Cheng Zhu, Xia-Xing Deng, Cheng-Hong Peng

Dong-Feng Cheng, Bai-Yong Shen, Bao-San Han, Zhe-Cheng Zhu, Xia-Xing Deng, Cheng-Hong Peng, Center for Organ Transplantation & Department of Surgery, Shanghai Institute of Digestive Surgery, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Professor Cheng-Hong Peng, Center for Organ Transplantation & Department of Surgery, Shanghai Institute of Digestive Surgery, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China. chhpeng168@126.com

Received: 2009-07-05 Revised: 2009-11-30

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To analyze the pathological characteristics and origin of bifocal solid pseudopapillary tumor (SPT) of the pancreas.

METHODS: The clinical data of a patient with bifocal SPT of the pancreas, who underwent pancreatoduodenectomy and distal pancreatectomy with splenectomy at our hospital, were retrospectively analyzed. The expression of multiple differentiation markers was detected by immunohistochemistry to evaluate the origin of the tumor.

RESULTS: The postoperative course was uneventful. The postoperative blood glucose levels

ranged from 5.5 to 8.9 mmol/L. The patient restored food intake five days after operation. No postoperative complications occurred. Pathological examination showed different combination ratios of solid and cystic components between the tumors arising from both foci. However, the morphology of neoplastic cells was similar between them. Both of them were diagnosed as SPT of the pancreas. The SPT cells were highly positive for some differentiation markers such as vimentin (VIM), S100, alpha-1 antitrypsin (AAT), cyclin D1, PR, and nestin proteins.

CONCLUSION: Bifocal SPT of the pancreas shows heterogeneous differentiation. SPT may be originated from pancreatic embryonic stem cells and results from immature differentiation of pluripotent stem cells during pancreas genesis.

Key Words: Pancreatic tumor; Solid pseudopapillary tumor of the pancreas

Cheng DF, Shen BY, Han BS, Zhu ZC, Deng XX, Peng CH. Bifocal solid pseudopapillary tumor of the pancreas: a report of one case. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 195-198

摘要

目的: 总结1例胰腺双部位实性假乳头肿瘤(SPT)的临床病理特点, 探讨其可能起源。

方法: 手术行标准胰十二指肠切除术和胰体尾及脾切除术, 分析该病例SPT的临床病理特点, 并行多个抗体的免疫组织化学检查。

结果: 患者术后血糖5.5-8.9 mmol/L, 第5天开始恢复饮食, 未发生胰漏、胆漏及腹腔感染等并发症。大体形态的囊实性比例不尽相同, 但镜下肿瘤细胞形态学一致, 均确诊为SPT, 对各个免疫表型的表达具有异质性, 其中VIM、S100、AAT、CyclinD1、PR及Nestin均呈阳性。

结论: SPT可能起源于胰腺干细胞及与其发育密切相关的胚胎神经嵴的神经前体细胞, 由于细胞发育过程中分化不成熟所致。

■背景资料

胰腺实性假乳头肿瘤(SPT)是一种少见的潜在低度恶性的胰腺肿瘤, 仅占全部胰腺外分泌肿瘤的0.2%-2.7%, 其生长缓慢, 多呈外生性、膨胀性生长, 可延伸至后腹膜形成巨大肿瘤, 易被误诊为“后腹膜恶性肿瘤”, 且有明显的性别趋势, 好发于青春期女性。

■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科; 宋振顺, 教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

■相关报道

Martin等报道SPT对放、化疗罕有敏感者,手术切除是治疗该病的有效方法,SPT手术切除率高,外科治疗效果也明显好于胰腺癌,很少发生肝脏转移,即使有肝脏转移者术后仍能生存4年、11年之久,其病程进展非常缓慢。

关键词: 胰腺肿瘤; 胰腺实性假乳头肿瘤; 胰腺干细胞

程东峰, 沈柏用, 韩宝三, 祝哲诚, 邓侠兴, 彭承宏. 胰腺双部位实性假乳头肿瘤1例. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 195-198

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/195.asp>

0 引言

胰腺实性假乳头肿瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas, SPT)是一种少见的潜在低度恶性的胰腺肿瘤^[1], 仅占全部胰腺外分泌肿瘤的0.2%-2.7%^[2,3], 易被误诊误治^[4], 随着近年来人们对该病有了更为清晰的认识和准确的诊断, 国内外文献报道较以前明显增多^[5], 但尚未见同1病例胰腺双部位实性假乳头肿瘤的报道, 本文就1例罕见的胰腺双部位实性假乳头肿瘤的临床病理特点进行总结, 并探讨其可能起源。

1 材料和方法

1.1 材料 因体检发现胰腺占位4 mo入院, 患者, 女, 无腹痛、腹胀、发热及皮肤巩膜黄染, 近期无明显体质量减轻。B超显示胰头钩突部内见一不均质混合性回声团块, 大小约57 mm×36 mm×55 mm, 形态呈不规则形, 边界不清, 内部回声分布不均, 可见一环状强回声, 胰腺尾部见一巨大混合性回声团块, 大小约99 mm×80 mm×76 mm, 形态呈不规则形, 边界不清, 内部回声分布不均, 其内可见片状高回声及极低回声; 肝右叶边缘见一稍高回声, 大小约11 mm×7 mm, 形态呈类圆形, 边界尚清, 内部回声不均匀, 未见血流信号。CT(001226600)示胰头钩突部、胰体尾圆形肿块, 8 cm×8 cm, 内见环形钙化, 分隔及结节, 增强后强化不明显, 肿块推压脾血管及左肾静脉; 肝右叶包膜下见小片状低密度灶, 增强后周边环形强化, 门脉期呈相对低密度。入院诊断, 胰腺多发性混合性肿块: 胰腺实性假乳头肿瘤可能; 肝右叶结节性病灶。

2009-02-19行胰十二指肠切除+胰尾及脾脏切除术, 行“屋顶式切口”, 术中见胰头4 cm×5 cm肿块, 胰尾7 cm×8 cm囊性占位, 与周围有粘连。以ENDOGIA断胰体行胰尾肿块及脾切除术, 胰头钩突部肿瘤行标准胰十二指肠切除术; 右肝肿块局部切除。标本送冰冻提示胰腺实性假乳头肿瘤, 右肝海绵状血管瘤。

1.2 方法 手术行标准胰十二指肠切除术和胰体尾及脾切除术, 分析该病例SPT的临床病理特点, 将不同组织来源的抗体(如代表神经细胞及神经内分泌细胞来源的抗体NSE和SYN; 代表神经干细胞来源的抗体Nestin和VIM; 代表神经软组织来源的抗体; 代表间叶组织细胞来源的抗体VIM和AAT; 代表上皮细胞来源的抗体CK7等)对本例SPT进行免疫组织化学染色, 二抗用生物素化猪抗多兔免疫球蛋白(或生物素化兔抗鼠免疫球蛋白)二抗, 实验过程中均通过“煮沸”进行抗原修复, 均设阴性对照组(即用PBS代替相应的一抗)和相应的阳性对照组, ABC法进行免疫组织化学实验。

2 结果

患者术后恢复顺利, 监测血糖5.5-8.9 mmol/L, 术后抗菌素使用3 d, 术后第3天体温即低于37.5℃, 术后第5天血白细胞及中性粒细胞均恢复正常, 术后5 d开始恢复饮食, 术后8 d拔除引流管, 术后2 wk痊愈出院, 术后未发生胰漏、胆漏和腹腔感染等并发症。

本例胰腺双部位肿瘤大体形态的囊实性比例不尽相同, 但镜下肿瘤细胞形态学还是一致的, 石蜡病理报告“胰头、胰尾”均确诊为SPT。对各个免疫表型的表达具有异质性, 其中VIM、S100、AAT、CyclinD1、PR及Nestin均呈阳性, 余NSE、SYN、CHG、ER及CK7均阴性(图1), “肝脏肿块”为海绵状血管瘤。

3 讨论

SPT为一种独特的无功能性胰腺肿瘤实体, 于1959年首次报道^[6], 曾有多项临床病理学名称^[7], 1996年WHO将SPT重新分类为生物学行为未定或交界性恶性潜能的肿瘤^[8]。SPT有明显的性别趋势, 好发于青春女性, 本例患者年仅24岁, SPT无特异性的临床症状及体征, 如同本患者, 通常是在体检或放射线检查时偶然发现的^[9], 同时在胰头和胰体尾出现双部位的肿瘤更属罕见, 未见类似报道。

SPT生长缓慢, 多呈外生性、膨胀性生长^[5,10], 可延伸至后腹膜形成巨大肿瘤, 易被误诊为“后腹膜恶性肿瘤”。SPT常为孤立性囊实性肿物, 本例则为罕见的胰头及胰尾同时出现的双部位肿块, 两部位的大体表现不尽相同, 胰头部位的肿块大体表现为以实性区为主的囊实性混合结构, 瘤体中心可见出血、坏死, 边界较清

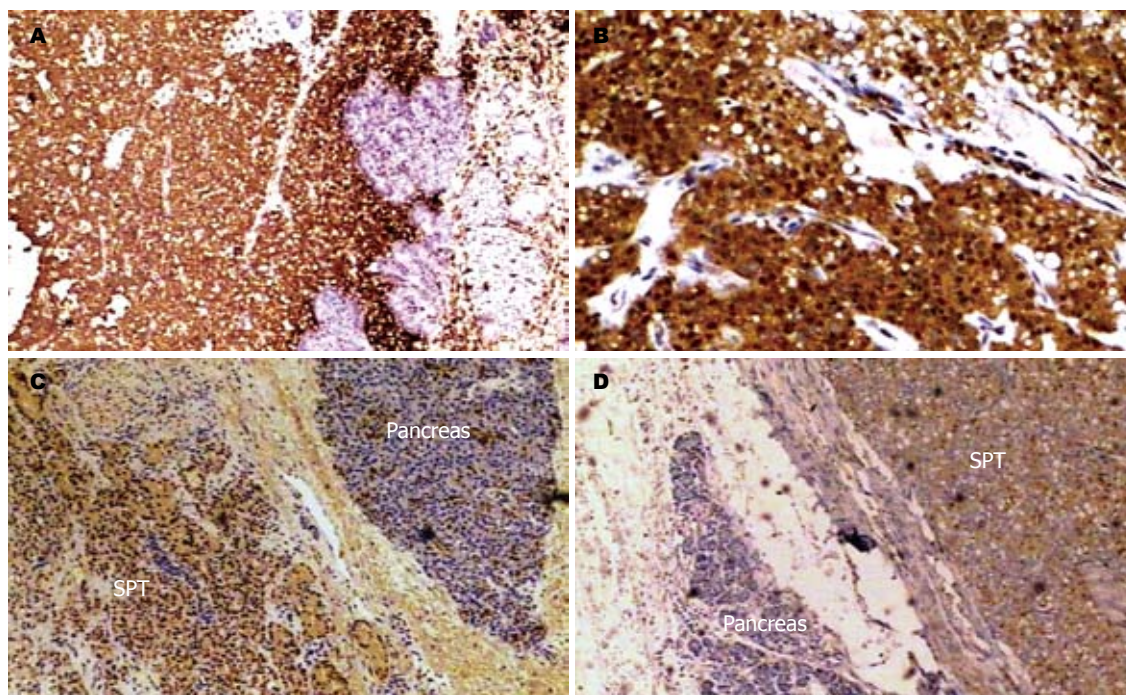


图1 SPT肿瘤细胞VIM、S100、Nestin及CyclinD1的表达(IHC). A: VIM($\times 40$); B: S100($\times 100$); C: CyclinD1($\times 40$); D: Nestin($\times 40$).

■创新盘点

本文就1例罕见的胰腺双部位实性假乳头肿瘤的临床病例病理特点进行总结,并探讨其可能起源,可增加医务人员对该病的临床认识.

楚;而胰体尾的肿块表现为以囊性区为主的囊实性混合结构,局部囊壁有钙化,有完整的包膜.两部位肿瘤的病理特点却是一致的,包括无腺体结构的实质性细胞和丰富血管构成的假乳头结构和区域退行性变性、坏死,可见到多个细胞围绕纤维血管根部形成的假菊花团结构.

SPT对放、化疗罕有敏感者,手术切除是治疗该病的有效方法,SPT手术切除率高,外科治疗效果也明显好于胰腺癌,很少发生肝脏转移,即使有肝脏转移者术后仍能生存4年、11年之久,其病程进展非常缓慢^[5,11].

SPT单部位肿块的手术方式有局部肿块切除术、胰腺节段切除术和肿瘤扩大切除术^[12,13].而本患者是胰头和胰体尾双部位的肿瘤,手术方式为标准胰十二指肠切除、胰体尾及脾切除术,仅留胰体中段约6 cm的胰腺组织,依次行胰肠、胆肠和胃肠吻合,保留部分胰腺实质组织能够保证胰腺的内外分泌功能的维持.

本患者的胰头和胰体尾双部位SPT的免疫组化表达是一样的,对VIM、S100、AAT、CyclinD1和Nestin均为高表达阳性,对NSE、SYN、CHG、ER和CK7均不表达.

Vim(波形蛋白)是神经干细胞的标志蛋白,神经早期发生时需要Vim^[14],也是胰岛干细胞的一个分子标志.神经巢蛋白nestin是一种细胞骨架蛋白,主要在未分化、具有增殖能力的细胞中

表达,nestin阳性细胞具有很强的增殖能力^[15],在细胞分化结束时表达下降^[16],在胰腺发育过程中,nestin只在围绕胰腺上皮的间充质表达,并不在上皮组织中表达且自然过程中nestin阳性细胞不发育为内分泌细胞^[17,18],上述Vim和nestin在胰腺发育过程中的表达特点,提示本例SPT中所存在Vim和nestin的高表达可能源于间叶组织中胰腺干细胞,具有很强的增值分化功能,这也符合本例SPT中CyclinD1的高表达情况,因为CyclinD1的高表达多反映肿瘤的高增值能力^[19].

本例SPT对S100神经蛋白也呈阳性高表达,S100蛋白广泛表达于神经外胚叶、中胚层、外胚层来源的正常组织细胞中^[20],因此SPT也有可能来源于神经巢或胚胎神经嵴细胞,有作者研究也支持此观点^[21].CK7等是上皮细胞性来源的标志物,是导管内皮的特异性标志物,本例SPT中表达为阴性.

可见,本例胰腺双部位肿瘤大体形态的囊实性比例不尽相同,但镜下肿瘤细胞形态学还是一致的,可以确诊为胰腺实性假乳头肿瘤,对各个免疫表型的表达具有异质性,体现了此肿瘤的多形性分化特征,说明了该肿瘤细胞不同于胰腺的任何一种细胞,极可能起源于胰腺多潜能胚胎干细胞及与其发育密切相关的胚胎神经嵴的神经前体细胞.在生理情况下,胰腺干细胞保持相对静止,胰腺干细胞若受某种病理机制

■同行评价

本文报道了胰腺双部位实性假乳头肿瘤的临床病理特点和组织起源分析,属罕见病例,具有一定的临床参考价值。

变化,也有可能向其他异常细胞(如SPT细胞等)演变,出现异常分化或分化不全,进而形成SPT。

4 参考文献

- 1 Kang CM, Kim KS, Choi JS, Kim H, Lee WJ, Kim BR. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas suggesting malignant potential. *Pancreas* 2006; 32: 276-280
- 2 Canzonieri V, Berretta M, Buonadonna A, Libra M, Vasquez E, Barbagallo E, Bearz A, Berretta S. Solid pseudopapillary tumour of the pancreas. *Lancet Oncol* 2003; 4: 255-256
- 3 Santini D, Poli F, Lega S. Solid-papillary tumors of the pancreas: histopathology. *JOP* 2006; 7: 131-136
- 4 Cheng DF, Peng CH, Zhou GW, Tao ZY, Chen X, Lei RQ, Zhang SD, Li HW. Clinical misdiagnosis of solid pseudopapillary tumour of pancreas. *Chin Med J (Engl)* 2005; 118: 922-926
- 5 Martin RC, Klimstra DS, Brennan MF, Conlon KC. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: a surgical enigma? *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 35-40
- 6 Sperti C, Berselli M, Pasquali C, Pastorelli D, Pedrazzoli S. Aggressive behaviour of solid-pseudopapillary tumor of the pancreas in adults: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 960-965
- 7 Klimstra DS, Wenig BM, Heffess CS. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: a typically cystic carcinoma of low malignant potential. *Semin Diagn Pathol* 2000; 17: 66-80
- 8 Huang HL, Shih SC, Chang WH, Wang TE, Chen MJ, Chan YJ. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: clinical experience and literature review. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1403-1409
- 9 Klöppel G, Kosmahl M. Cystic lesions and neoplasms of the pancreas. The features are becoming clearer. *Pancreatol* 2001; 1: 648-655
- 10 Ng KH, Tan PH, Thng CH, Ooi LL. Solid pseudopapillary tumour of the pancreas. *ANZ J Surg* 2003; 73: 410-415
- 11 Gedaly R, Toledano A, Millan G, Essenfeld H, Zambrano VJ. Treatment of liver metastases from a solid pseudopapillary tumor of the pancreas. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 587-590
- 12 Peng CH, Chen DF, Zhou GW, Yang WP, Tao ZY, Lei RQ, Zhang SD, Li HW. The solid-pseudopapillary tumor of pancreas: the clinical characteristics and surgical treatment. *J Surg Res* 2006; 131: 276-282
- 13 Nakagohri T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N. Surgical outcome of solid pseudopapillary tumor of the pancreas. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 318-321
- 14 Sakairi T, Kobayashi K, Goto K, Okada M, Kusakabe M, Tsuchiya T, Sugimoto J, Sano F, Mutai M. Greater expression of transforming growth factor alpha and proliferating cell nuclear antigen staining in mouse hepatoblastomas than hepatocellular carcinomas induced by a diethylnitrosamine-sodium phenobarbital regimen. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 479-482
- 15 Humphrey RK, Bucay N, Beattie GM, Lopez A, Messam CA, Cirulli V, Hayek A. Characterization and isolation of promoter-defined nestin-positive cells from the human fetal pancreas. *Diabetes* 2003; 52: 2519-2525
- 16 Docherty K. Growth and development of the islets of Langerhans: implications for the treatment of diabetes mellitus. *Curr Opin Pharmacol* 2001; 1: 641-650
- 17 Huang H, Tang X. Phenotypic determination and characterization of nestin-positive precursors derived from human fetal pancreas. *Lab Invest* 2003; 83: 539-547
- 18 Treutelaar MK, Skidmore JM, Dias-Leme CL, Hara M, Zhang L, Simeone D, Martin DM, Burant CF. Nestin-lineage cells contribute to the microvasculature but not endocrine cells of the islet. *Diabetes* 2003; 52: 2503-2512
- 19 Sporny S, Slowinska-Klencka D, Ratynska M. Cyclin D1 expression in primary thyroid carcinomas. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26: 815-818
- 20 Takahashi M, Kawaguchi M, Shimada K, Konishi N, Furuya H, Nakashima T. Cyclooxygenase-2 expression in Schwann cells and macrophages in the sciatic nerve after single spinal nerve injury in rats. *Neurosci Lett* 2004; 363: 203-206
- 21 Chen C, Jing W, Gulati P, Vargas H, French SW. Melanocytic differentiation in a solid pseudopapillary tumor of the pancreas. *J Gastroenterol* 2004; 39: 579-583

编辑 李军亮 电编 何基才

腹膜疾病诊断42例

岳宏宇, 刘文天, 邓宝茹, 常毅湘, 方维丽

岳宏宇, 刘文天, 邓宝茹, 常毅湘, 方维丽, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

作者贡献分布: 岳宏宇进行此课题的数据采集、统计分析、总结、论文撰写与修改等; 刘文天对此课题的设计、知识性内容的批评性审阅与修改; 邓宝茹、常毅湘及方维丽实施、操作、技术材料支持等。

通讯作者: 刘文天, 主任医师, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。lwentian@sohu.com

收稿日期: 2009-10-21 修回日期: 2009-12-08

接受日期: 2009-12-14 在线出版日期: 2010-01-18

Diagnosis of patients with peritoneal diseases: an analysis of 42 cases

Hong-Yu Yue, Wen-Tian Liu, Bao-Ru Deng, Yi-Xiang Chang, Wei-Li Fang

Hong-Yu Yue, Wen-Tian Liu, Bao-Ru Deng, Yi-Xiang Chang, Wei-Li Fang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Professor Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. lwentian@sohu.com

Received: 2009-10-21 Revised: 2009-12-08

Accepted: 2009-12-14 Published online: 2010-01-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical value of different methods for diagnosis of peritoneal diseases.

METHODS: A total of 42 patients with peritoneal diseases were included in the study. Measurement of serum tumor markers and computed tomography (CT) were performed in all patients, peritoneocentesis in 40 patients, positron emission tomography (PET)/CT in 9 patients, and ultrasound-guided percutaneous peritoneal biopsy in 13 patients. The sensitivity, specificity and accuracy of each method and the causes of peritoneal diseases were analyzed.

RESULTS: The sensitivity of measurement of serum tumor markers (CEA, CA153, CA19-9, CA242 and CA125) in the diagnosis of metastatic peritoneal tumors was 14.8%, 18.5%, 29.6%, 22.2% and 100%, and the specificity was 80.0%, 93.3%, 93.3%, 93.3% and 0%, respectively. The sensitivity and specificity of exfoliative cytologic

examination in the diagnosis of carcinous ascites were 36% and 100%, respectively. The sensitivity and specificity of ascites adenosine deaminase (ADA) in the diagnosis of tuberculous ascites were 92.3% and 92.5%, respectively. The accuracy of CT, PET/CE and percutaneous peritoneal biopsy was 19%, 78% and 85%, respectively.

CONCLUSION: Serum tumor marker measurement, exfoliative cytologic examination and ascites ADA can help differentiate between carcinous and inflammatory peritoneal diseases. The accuracy of PET/CT and percutaneous peritoneal biopsy is higher than that of CT.

Key Words: Peritoneal disease; Diagnosis; Tomography; Peritoneal biopsy

Yue HY, Liu WT, Deng BR, Chang YX, Fang WL. Diagnosis of patients with peritoneal diseases: an analysis of 42 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 199-203

摘要

目的: 对42例腹膜病变患者临床资料进行分析, 以提高该类疾病的诊断水平。

方法: 42例腹膜病变患者, 男22例, 女20例, 年龄17-89岁, 平均54岁。对所有患者进行CT与血清肿瘤标志物检查、40例行腹穿术、9例行PET/CT检查、13例行超声引导下经皮腹膜活检术。分析腹膜病变的病因和各诊断方法的灵敏性、特异性和准确性。

结果: 血清CEA、CA153、CA19-9、CA242和CA125对腹膜恶性肿瘤诊断的灵敏性分别为14.8%、18.5%、29.6%、22.2%及100%, 特异性分别为80.0%、93.3%、93.3%、93.3%及0%。腹水脱落细胞对腹膜恶性病变诊断的灵敏性为36%, 特异性为100%; 腹水ADA对腹膜结核性病变诊断的灵敏性为92.3%, 特异性为92.5%。8例CT检查结果支持最后诊断, 准确率为19%; 7例PET/CT检查结果支持最后诊断, 准确率为78%; 11例腹膜活检术结果支持最后诊断, 准确率为85%。

结论: 肿瘤标志物、腹水脱落细胞和ADA检

■背景资料

腹膜疾病是一类病因复杂的疾病, 包括腹膜原发或是转移肿瘤, 也包括累及腹膜的各种炎性病变, 该病起病隐匿, 早期表现为腹痛、腹胀、发热、恶心呕吐等症状, 但均缺乏特异性, 关于该类疾病的诊断和鉴别诊断亦缺乏一套比较全面的指导方案。

■同行评议者

袁友红, 副教授, 湖南省人民医院科研部

■研究前沿

经皮腹膜穿刺活检术是诊断不明原因腹水的一种准确性较高的方法, PET/CT越来越多的应用在腹膜肿瘤的诊断及鉴别诊断中, 目前CT、PET/CT和腹膜活检术在不明原因腹膜病变诊断中的价值尚不明确。

查对腹膜炎性与肿瘤性病变的鉴别有一定的辅助意义。PET/CT和腹膜活检对腹膜病变诊断的准确性明显高于CT。

关键词: 腹膜疾病; 诊断; 体层摄影术; 腹膜活检

岳宏宇, 刘文天, 邓宝茹, 常毅湘, 方维丽. 腹膜疾病诊断42例. 世界华人消化杂志 2010; 18(2): 199-203

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/199.asp>

0 引言

累及腹膜的病变一般起病隐匿且病因复杂, 是一种疑难病症, 临床常以腹胀、腹痛为首发症状且不典型, 影像学检查亦缺乏特异性, 很多情况下仅凭一种或几种简单的常规检查方法难以确诊. 本文对近7年来就诊于我院消化科的42例怀疑腹膜病变患者的临床检查资料进行整理和分析, 以提高其诊疗水平。

1 材料和方法

1.1 材料 2002-03/2009-02天津医科大学总医院消化内科住院患者42例, 男22例, 女20例, 年龄17-89(平均年龄54)岁, 病史数十天至数月不等, 主要表现为腹胀、腹痛, 伴发热者17例, 最后确诊为原发性腹膜癌者8例、恶性肿瘤腹膜转移者14例、结核性腹膜炎者13例、腹膜恶性间皮瘤5例、腹膜其他炎性病变者2例。

1.2 方法 42例患者行血清肿瘤标志物(CEA、CA153、CA19-9、CA242及CA125)检查、40例行腹水脱落细胞检查及腺苷脱氨酶(ADA)测定, 42患者均行CT检查, 9例行PET/CT检查, 13例行超声引导下经皮腹膜活检术. 分别对各项检查的敏感性、特异性和准确性进行分析。

2 结果

2.1 患者一般临床资料 42例患者确诊为原发性腹膜癌8例, 其中男2例, 女6例, 平均首发年龄为60岁, 主要症状包含腹痛者6例, 腹胀7例, 发热、恶心呕吐者各2例; 恶性肿瘤腹膜转移患者14例, 其中男9例, 女5例, 平均首发年龄为61岁, 主要症状包含腹痛者10例, 腹胀12例, 发热5例, 恶性呕吐4例; 结核性腹膜炎患者13例, 其中男6例, 女7例, 平均首发年龄为45岁, 主要症状包含腹痛者12例, 腹胀10例, 发热7例, 恶性呕吐者3例; 腹膜间皮瘤患者5例, 男4例, 女1例, 主要症状为腹痛者5例, 腹胀4例, 发热1例. 1例HIV感染腹膜炎患者, 男, 45岁, 主要表现为腹胀、发热

和恶心呕吐, 1例为克罗恩病并有多次开腹手术史致腹膜炎患者, 女, 39岁, 主要表现为腹痛、发热和恶性呕吐等症状(表1)。

2.2 血清肿瘤标志物检查 42例患者中CEA异常增高者7例(16.7%), CA153异常增高6例(14.2%), CA19-9异常增高9例(21.4%), CA242异常增高7例(16.7%), CA125异常增高42例(100%)(表2). 各肿瘤标志物对腹膜恶性肿瘤诊断的敏感性分别为14.8%、18.5%、29.6%、22.2%和100%, 特异性分别为80.0%、93.3%、93.3%、93.3%和0%。

2.3 腹水检查 40例患者中9例(22.5%)腹水中可见肿瘤细胞(表3), 14例(35.0%)ADA值支持结核性, 包括12例结核性腹膜炎患者, 2例腹膜其他炎性病变, 检查结果及分布见表4. 腹水脱落细胞检查细胞对癌性腹水诊断的敏感性为36%, 特异性为100%. 腹水ADA对结核性腹膜炎诊断的敏感性为92.3%, 特异性为92.5%。

2.4 器械检查 42例患者CT均显示不同程度的腹膜病变, 8例患者的检查结果符合最后诊断: 恶性肿瘤腹膜转移者7例, CT均有腹膜增厚、多发结节和肿块及原发灶的异常现象, 2例为胰腺癌转移, 2例腹膜后恶性肿瘤转移, 2例卵巢癌转移, 1例结肠癌转移; 结核性腹膜炎患者1例, CT显示腹膜弥漫性粟粒样结节, 另外34例患者CT显示腹膜及周围脏器病变不典型, 无法确诊, 其诊断的准确性为19%. 9例行PET/CT检查者中, 8例显示腹膜代谢增高, 其中6例提示恶性病变(5例支持最后诊断, 1例经病理确诊为结核性腹膜炎)、2例提示炎性病变(最后确诊为结核性腹膜炎), 1例未显示腹膜示踪剂异常浓集, 最后结合CT及肠镜检查确诊为结肠癌腹膜转移, 其准确性为77.8%(6/8). 13例患者中腹膜活检发现乳头状腺癌3例, 小神经内分泌癌1例, 腺癌1例, 恶性间皮瘤3例(上皮细胞型2例, 混合细胞型1例), 见典型干酪样肉芽肿3例, 确诊为结核, 2例未检测到异常组织, 最后行外科手术确诊为原发性腹膜癌, 该项检查的准确性为84.6%(表5). CT、PET/CT和腹膜活检术对腹膜病变的诊断的准确性差异有统计学意义($\chi^2 = 23.687, P < 0.05$). PET/CT和腹膜活检对腹膜病变诊断的准确性明显高于CT。

2.5 确诊情况 8例原发性腹膜癌患者中4例PET/CT检查结果支持腹膜原发恶性肿瘤, 转入外科行手术明确诊断; 2例经活检病理结合CT检查确诊, 1例活检病理结合PET/CT结果确诊, 1例未行PET/CT和腹膜活检直接转入外科行开腹手术明确诊断. 14例恶性肿瘤腹膜转移患者7例经CT检查找到原发灶及腹膜结节样病变从而确诊, 2例

表 1 腹膜病变患者性别、首发年龄及主要症状 $n(\%)$

	男	女	平均年龄(岁)	腹痛	腹胀	发热	恶心呕吐
腹膜癌	2	6	60	6(75.0)	7(87.5)	2(25.0)	2(25.0)
转移癌	9	5	61	10(71.4)	12(85.7)	5(35.7)	4(28.6)
结核性	6	7	45	12(92.3)	10(76.9)	7(53.8)	3(23.1)
间皮瘤	4	1	53	5(100.0)	4(80.0)	1(20.0)	0(0.0)
其他	1	1	42	1(50.0)	1(50.0)	2(100.0)	2(100.0)

■相关报道

杨冬等报道腹水脱落细胞在恶性肿瘤患者中的检出率为57.8%。邓咏梅等报道以ADA>40 U/L为界, 诊断结核性腹膜炎的灵敏性为87.5%, 特异性为98%。

表 2 血清肿瘤标志物的表达 $n(\%)$

	n	CEA	CA153	CA19-9	CA242	CA125
肿瘤性	27	4(14.8)	5(18.5)	8(29.6)	6(22.2)	27(100.0)
炎性	15	3(20.0)	1(6.7)	1(6.7)	1(6.7)	15(100.0)
总数	42	7(16.7)	6(14.2)	9(21.4)	7(16.7)	42(100.0)

表 3 肿瘤性和炎性腹膜病变中腹水脱落细胞检查 n

	可见肿瘤细胞	未见肿瘤细胞	总计
肿瘤性	9	16	25
炎性	0	15	15
总计	9	31	40

表 4 肿瘤性和炎性腹膜病变中腹水ADA检查 n

	ADA>40	ADA<40	总计
肿瘤性	0	25	25
炎性	14	1	15
总计	14	26	40

表 5 CT、PET/CT和腹膜活检术对腹膜病变检查与最后诊断情况 $n(\%)$

	符合	不符/不明确	总计
CT	8(19.0)	34(81.0)	42
PET/CT	7(77.8)	2(22.2)	9
活检	11(84.6)	2(15.4)	13

结合腹膜活检确诊, 4例经外科手术确诊, 1例经结肠镜检查取活检确诊为结肠癌腹膜转移。13例结核性腹膜炎患者1例经CT检查表现为播散性结核典型的粟粒样结节病变, 从而明确诊断, 2例行PET/CT检查支持炎性病变, 结合实验室检查及临床表现确诊, 3例经腹膜活检确诊, 7例患者结合临床发热盗汗及肿瘤标志物无异常, 腹水ADA高的特点高度怀疑结核性腹膜炎, 最后经诊断性治疗确诊。5例腹膜恶性间皮瘤患者3例经腹膜活检确诊, 2例行外科手术确诊。2例患者为腹膜炎性增厚, 1例为艾滋病患者, 血HIV阳性; 1例为克罗恩病患者, 有腹痛、肠梗阻症状及多次开腹手术史。

3 讨论

腹膜病变大体分炎性和肿瘤性两大类, 炎性以

结核性腹膜炎多见, 肿瘤性主要见于腹膜原发性肿瘤及转移瘤。42例腹膜病变患者最后确诊为原发性腹膜癌者8例, 约占腹膜病变的19%, 恶性肿瘤腹膜转移患者14例, 约33%, 结核性腹膜炎患者13例, 约31%, 间皮瘤患者5例, 约12%, 腹膜其他炎性病变患者2例, 约5%。该类疾病平均发病年龄为54(17-89)岁, 肿瘤性腹膜病变患者发病年龄较大。原发性腹膜癌以女性多见, (男女比例为1:3)腹膜转移瘤和间皮瘤以男性多见(男女比例分别为9:5、4:1)。临床表现无特异性, 发病隐匿, 发现时即为晚期。腹痛、腹胀常为首发症状, 表现呈多样化, 部分患者出现大量顽固性腹水, 少数患者可表现为发热、恶心、呕吐等。

李新辉等报道良恶性腹水患者血清CEA、CA19-9和CA242水平差异有统计学意义, 其敏感性分别为73.6%、87.5%和36.1%, 特异性分别为88.9%、79.6%和98.1%^[1]。与本文统计结果有差异, 可能与肿瘤原发器官不同有关, 也与肿瘤标志物上限值不同有关。本文显示CA125对腹膜病变的敏感性达100%, 但是特异性较低, 文献报道CA125对于腹膜炎性与肿瘤性病变的鉴别没有价值, 但可以作为评价治疗效果的1项检测指标^[2]。血清肿瘤标志物的检查对恶性肿瘤原发灶

■应用要点

本文提示, PET/CT和腹膜活检术诊断准确性高于CT, 多种检查方法结合可以提高对该类疾病的确诊率。

的明确也有一定的辅助意义, 如本文中2例胰腺癌患者CA19-9、CEA均明显升高, 但该指标灵敏性及特异性不高, 其他腹膜病变CA19-9也会有不同程度的增高, 如本文中2例原发性腹膜癌患者及1例结核性腹膜炎患者CA19-9同样增高。由于本文样本量较小, 肿瘤标志物及其数值对于腹膜恶性病变的诊断、鉴别诊断及预后的意义有待于今后进一步研究。杨冬等报道腹水脱落细胞在恶性肿瘤患者中的检出率为57.8%^[3]。该项检查的阳性率与材料送检是否及时、取样方法, 染色质量和检查者的经验等因素相关^[4]。腹水ADA检测对炎性肿瘤性腹膜病变亦有鉴别诊断意义, 邓咏梅等报道以ADA>40 U/L为界, 诊断结核性腹膜炎的灵敏性为87.5%, 特异性为98%^[5], 与本文结果接近。

CT、PET/CT和腹膜活检术可以提高腹膜病变的确诊率。郑晓林等将CT所示腹膜病变分为以下5种表现: 磨玻璃样改变、线装或条带状增厚、粗乱条索与结节、软组织肿块、饼状增厚, 结合病理结果, 以磨玻璃样与粗乱条索、结节改变在鉴别诊断上有意义, 前者主要见于炎症, 后者主要见于肿瘤^[6]。结核性腹膜炎CT最常见表现的是腹膜均匀增厚, 而结节样和不规则增厚多提示恶性肿瘤^[7]。但结核性腹膜炎同时也合并其他形式的腹膜增厚, 如结节样不规则增厚^[5,8], 主要是因为纤维瘢痕与肉芽组织增生粘连所致, 结核性腹膜炎CT表现具有的多样性与肿瘤难以鉴别。腹膜转移瘤中肿瘤多原发于卵巢、胃、胰和结肠, 远处转移见于乳腺、肺等器官, 相应的CT征象可助于原发灶的诊断。对于原发灶较小而不明显者则难以确诊, 多处病灶并存者难以确定原发灶。文献[9]报道CT检查对腹膜转移瘤诊断的敏感性为27.3%, 准确性为47.5%, 而本文敏感性为50%(7/14), 准确性为50%, 敏感性的差异与所选病例类型及数量不同有关。腹膜间皮瘤CT表现为腹膜条索样病变增厚, 无特异性, 难以与腹膜转移性肿瘤、结核腹膜炎、后腹膜肿瘤、胰腺肿瘤及肝硬化腹水相鉴别, 临床误诊率极高^[10]。PET/CT成像原理是从病变的葡萄糖代谢水平增高反应病变的存在, 有报道说其对寻找微小病变部位、原发灶及转移灶较CT有一定的优越性, 可以较早发现腹膜转移瘤^[11], 但病灶很小代谢相对较低同样容易漏诊, 这在活检或是剖腹探查中可以证实^[12]。本文中1例结肠癌患者行CT检查示腹膜增厚密度弥漫性增高, 而PET/CT检查未发现腹膜异常改

变, 只提示结肠炎性病变, 最后在结肠镜下取病例活检证实为结肠肿瘤。另外PET/CT对于炎性和肿瘤性病变的区分存在一定的局限性, 本文中有1例结核性腹膜炎患者PET/CT诊断为恶性肿瘤, 是因为结核肉芽肿性病变中参与炎症反应的细胞代谢活跃高于正常组织所致^[13]。腹膜活检对确定病理类型、诊断疾病有一定的意义, 腹膜活检法简单、方便, 活检速度快, 能够在短时间内完成诊断, 损伤小, 痛苦小, 并发症少, 取材成功率高。黄家森等人报道经皮穿刺腹膜活检对不明原因腹水明确诊断率达73.1%^[14], 较CT检查有一定的优越性。从病理结果看, 腹膜转移癌多为分化程度不同的腺癌或小神经内分泌癌; 原发性腹膜癌与卵巢浆液性乳头状腺癌相似, 以浆液型为主, 分化程度不限, 大多数含有砂粒体; 结核性腹膜炎可见典型的结核结节或淋巴细胞浸润和干酪样肉芽肿; 恶性间皮瘤分为3型: 上皮细胞型、梭形细胞型和混合细胞型, 以上皮细胞型多见, 行免疫组织化学可进一步明确诊断。恶性肿瘤细胞存在多形性的特点, 应在超声引导下多点取活检, 否则可能出现漏诊或是误诊。原发性腹膜癌临床缺乏特异性, 病理类型及镜下特点类似卵巢上皮癌, 误诊率高, 多数误诊为卵巢恶性肿瘤转移及消化系统肿瘤合并腹水, 凭单一的检查方法难以确诊, 需要多种影像学资料或是外科手术等以明确^[15]。

总之, 对于原因不明的腹膜病变患者, 行肿瘤标志物及腹水脱落细胞、ADA等检查, 初步鉴别病变性质, CT检查可以明确某些具有典型特征的肿瘤或是炎性病变, 考虑恶性腹膜转移癌但原发灶不明确或是怀疑腹膜原发恶性肿瘤的患者可进一步行PET/CT检查或是腹膜活检术。本文病例分析结果示PET/CT和腹膜活检术诊断准确性高于CT, 多种检查方法结合可以提高对该类疾病的确诊率。

4 参考文献

- 1 李新辉, 胡晖, 杨杰. C-12多肿瘤标志物检测对良恶性腹水鉴别诊断价值的探讨. 中国医师杂志 2004; 6: 934-936
- 2 Bilgin T, Karabay A, Dolar E, Develioğlu OH. Peritoneal tuberculosis with pelvic abdominal mass, ascites and elevated CA 125 mimicking advanced ovarian carcinoma: a series of 10 cases. *Int J Gynecol Cancer* 2001; 11: 290-294
- 3 杨冬, 王贞. 不明原因腹水患者病因及诊断分析(附65例报告). 临床医学 2007; 27: 35-36
- 4 肖楚梅, 汪波, 石灵春, 张维彬. 影响胸腹水细胞学阳性率的技术因素分析. 临床与实验病理学杂志 2002; 18: 438
- 5 邓咏梅, 时晔, 刘玉兰, 王智峰. 结核性腹水的临床研

- 究(附21例临床病例分析). 中华现代医学杂志 2002; 12: 25-27
- 6 郑晓林, 杨钢林, 黄石川, 刘碧华, 丁荏芬. 腹膜炎性性和肿瘤性病变的CT与病理对照研究. 中华放射学杂志 2004; 38: 974-978
 - 7 Sanai FM, Bzeizi KI. Systematic review: tuberculous peritonitis--presenting features, diagnostic strategies and treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 685-700
 - 8 卢春燕, 闵鹏秋, 杨志刚, 董鹏, 刘再毅, 陈楠, 周瀚. 结核性腹膜炎的螺旋CT特征探讨. 放射学实践 2004; 19: 344-347
 - 9 Zhang M, Jiang X, Zhang M, Xu H, Zhai G, Li B. The Role of 18F-FDG PET/CT in the evaluation of Ascites of Undetermined Origin. *J Nucl Med* 2009; 50: 506-512
 - 10 Krasuski P, Poniecka A, Gal E. The diagnostic challenge of peritoneal mesothelioma. *Arch Gynecol Obstet* 2002; 266: 130-132
 - 11 Nishiyama Y, Yamamoto Y, Yokoe K, Monden T, Sasakawa Y, Tsutsui K, Satoh K, Ohkawa M. Contribution of whole body FDG-PET to the detection of distant metastasis in pancreatic cancer. *Ann Nucl Med* 2005; 19: 491-497
 - 12 Drieskens O, Stroobants S, Gysen M, Vandenbosch G, Mortelmans L, Vergote I. Positron emission tomography with FDG in the detection of peritoneal and retroperitoneal metastases of ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest* 2003; 55: 130-134
 - 13 Metser U, Even-Sapir E. Increased (18)F-fluorodeoxyglucose uptake in benign, nonphysiologic lesions found on whole-body positron emission tomography/computed tomography (PET/CT): accumulated data from four years of experience with PET/CT. *Semin Nucl Med* 2007; 37: 206-222
 - 14 黄家淼, 杨剑, 周仁荣. 经皮穿刺腹膜活检对不明原因腹水的诊断意义. 东南国防医药 2006; 8: 247-248
 - 15 楼南盟, 石红. 12例腹膜原发性浆液性乳头状癌临床诊治分析. 中国妇产科临床杂志 2005; 6: 122-123

■同行评价

本文研究一组少见病例, 且病例数目较多, 为临床提供了较多有意义的信息, 具有一定新颖性和参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}¹, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

巨细胞病毒感染导致非免疫抑制宿主胃溃疡1例

王志斌, 胡立明, 韩海啸

■背景资料

一般认为CMV感染导致严重疾病的患者多具有免疫抑制状态,而本文报道病例中的患者不具有免疫抑制的条件,仍出现较严重的消化系统溃疡。故应重视在正常人群中由CMV引起消化系统疾病的流行病学调查。

王志斌, 胡立明, 韩海啸, 北京中医药大学东方医院消化科北京市 100078

通讯作者: 王志斌, 主治医师, 100078, 北京市, 北京中医药大学东方医院消化内科。wangzhang@gmail.com

电话: 010-67689751

收稿日期: 2009-12-01 修回日期: 2009-12-27

接受日期: 2009-12-29 在线出版日期: 2010-01-18

Cytomegalovirus-associated gastric ulcer in a non-immunosuppressed host

Zhi-Bin Wang, Li-Ming Hu, Hai-Xiao Han

Zhi-Bin Wang, Li-Ming Hu, Hai-Xiao Han, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

Correspondence to: Zhi-Bin Wang, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. wangzhang@gmail.com

Received: 2009-12-01 Revised: 2009-12-27

Accepted: 2009-12-29 Published online: 2010-01-18

Abstract

A case of gastric ulcer associated with cytomegalovirus (CMV) infection in a non-immunosuppressed host was retrospectively analyzed and the relevant literature was reviewed. Of all etiological factors for peptic ulcers, CMV infection is often neglected. In patients presenting with epigastric pain, nausea, vomiting, fever and elevated lymphocyte count, CMV infection should be considered.

Key Words: Cytomegalovirus; Gastric ulcer; Non-immunosuppression

Wang ZB, Hu LM, Han HX. Cytomegalovirus-associated gastric ulcer in a non-immunosuppressed host. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(2): 204-205

摘要

本文回顾性分析巨细胞病毒感染导致非免疫抑制宿主胃溃疡患者1例,并复习相关文献。在引起的消化性溃疡的致病因素中,CMV是容易被忽视的一个因素。临床医师在发现患者存在上腹痛、恶心呕吐同时伴有发热,血常规提示淋巴细胞升高时,在行内镜或上消化道造影,同时应该进一步筛查CMV感染。

关键词: 巨细胞病毒; 胃溃疡; 非免疫抑制

王志斌, 胡立明, 韩海啸. 巨细胞病毒感染导致非免疫抑制宿主胃溃疡1例. *世界华人消化杂志* 2010; 18(2): 204-205

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/204.asp>

0 引言

巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)是一种在全世界人群广泛传播的病毒^[1]。CMV感染对由于肿瘤放化疗、器官移植及因人类免疫缺陷病毒感染而出现继发免疫功能缺陷的患者,是一种严重的感染性疾病,也是目前医学界对于该病毒主要的关注点。一般认为CMV在大部分人群均有感染CMV,但在非免疫抑制宿主(non-immunocompromised host)中较少引起临床疾病^[2]。其中一些患者出现了严重后果,在这些严重病例中,以消化系症状为临床表现的比例最高^[3]。而在非免疫抑制宿主上发现与CMV感染有关的胃溃疡病例也早有报道^[4]。

1 病例报告

女, 31岁, 主因“间断上腹部疼痛伴发热18 d, 加重伴呕吐10 d”入院。发病前曾有很大的工作压力, 后出现上腹部绞痛, 伴发热, 最高38℃, 无恶心呕吐、反酸烧心、黄疸、腹泻及黑便, 疼痛与进食无联系。于我院急诊查: 血常规: WBC $6.2 \times 10^9/L$, RBC $4.0 \times 10^{12}/L$, PLT $250 \times 10^9/L$, HGB 110 g/L, 中性粒细胞比例40%, 淋巴细胞比例52.1%, 予抗感染及补液治疗, 并服“舒威”胶囊, 热退、疼痛有所改善。上述症状反复发作, 多次查血常规均提示淋巴细胞比例显著升高, 最高达62.0%, 患者上述症状逐步加重, 发展为进食后10 min出现恶心呕吐。复查血常规: 仍提示淋巴细胞比例升高53%, ALT 114 U/L, 肝炎分型: 表面抗体及核心抗体阳性, 甲、丙、戊型肝炎相关指标均为阴性, HIV抗体阴性, 胸片未见异常, 立位腹平片: 腹部肠管内见积气; 腹部B超: 胆囊小, 余未见异常。患者既往体健, 无HIV感染病史, 无使用免疫抑制剂。入院后检查回报: 胃镜: 可见胃窦大面积溃疡, 于溃疡边缘取组织送病理检查(胃组织活检病理回报: 胃窦部胃黏

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化内科

膜组织呈慢性炎症, 局部淋巴滤泡形成, 可见大片炎性坏死组织及出血, 部分腺体稀疏), 幽门螺杆菌阳性(++); 外周血白细胞分类 中性粒细胞45%, 淋巴细胞比例42%, 未见异性淋巴细胞; 抗结核抗体阴性; CMV IgM、IgG抗体阳性; 免疫球蛋白: IgE、IgG正常, IgA 4.32 g/L, 补体C3、C4正常. 考虑患者胃溃疡伴幽门螺杆菌感染, 予三联疗法杀灭幽门螺杆菌治疗(奥美拉唑肠溶片 20 mg po Bid、阿莫西林/克拉维酸钾片914 mg po Bid、克拉霉素片0.5 g po Bid). 治疗2 wk后复查胃镜, 镜下见胃窦部大面积溃疡呈缩小趋势, 部分溃疡面呈愈合期表现. 经上述治疗后, 患者腹痛、恶心呕吐均改善, 无再次发热, 予出院. 出院1 mo后复查胃镜可见呈瘢痕期的溃疡, 仍存在黏膜水肿表现, 复查CMV IgG阳性, IgM阴性. 最终诊断CMV感染, 胃溃疡.

2 讨论

虽然CMV感染的自然人群广泛, 但发展为疾病主要见于免疫功能受损人群, 如接受肿瘤放化疗、器官移植的患者以及获得性免疫缺陷综合征患者. 在这些人群中出现因CMV导致消化炎症及溃疡的病例, 国外文献很早就有报道^[5,6]. 但在国内文献中非免疫抑制患者感染CMV的报道病例相对较少.

目前临床最常用的诊断活动性CMV感染的方法是CMV pp65抗原检测和CMV IgM特异性抗体检测. pp65是CMV产生的特异性低基质磷蛋白, 利用单克隆免疫荧光抗体检测方法可在外周血多形核细胞核内检出, 但其检测易出现假阴性结果. 而特异性抗体的产生则有赖于机体特异性体液免疫反应, 若存在免疫功能紊乱也可出现假阴性结果^[7]. 国内研究显示CMV pp65抗原检测略优于IgM特异性抗体检测^[8]. 在局部病变病理染色切片或体液细胞染色涂片中观察到病毒包涵体(inclusion body)也可作为CMV诊断依据^[9]. 随着分子生物学的发展, 以聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)的手段, 在活组织中检测出CMV特征性的DNA片段, 成为了较以上措施更加敏感的手段^[10], 但目前PCR检查存在假阳性率高, 费用昂贵及需具备一定规模条件的实验室等缺点, 不适合大规模推广.

在治疗方面, 文献显示CMV相关的消化炎症或溃疡, 存在自愈性, 部分病例仅给予针对胃炎或溃疡的一般性治疗, 即可在一定的疗程内痊愈^[11]. 在抗病毒药物治疗上, 没有明确的权威的研究说明抗病毒药物在治疗非免疫抑制宿主感染CMV上有潜在的收益, 但文献中许多医生仍选择了使用阿昔洛韦及更昔洛韦等抗病毒药物^[3].

本文讨论的患者疲劳似乎是唯一诱因, 而类比免疫抑制宿主, 很容易使我们猜测免疫力下降是CMV感染发病的内在因素. 王焕玲等的研究显示, 在无论是免疫抑制宿主还是非免疫抑制宿主中, 发生CMV病后, B细胞、NK细胞数量均有下降^[8], 提示即使是非免疫抑制的CMV病患者可能存在着体液免疫功能和机体固有细胞免疫反应的缺陷.

据此病例及复习既往文献, 我们发现当患者出现诸如上腹痛、恶心、呕吐、发热等临床症状时, 只有少数门诊医生可能在第1次接诊时就有针对性的对CMV进行检查, 而对于临床上非免疫抑制宿主的CMV感染又存在自愈性, 且可能存在诸如服用非甾体类抗炎药、饮酒等其他诱因, 那么我们对CMV的忽视就不难理解了. CMV能否作为能明确引起诸如急性胃黏膜病变或消化性溃疡的一个病原学指标, 我想这仍需要作大量的临床观察及普查工作要做.

3 参考文献

- 1 Pomeroy C, Englund JA. Cytomegalovirus: epidemiology and infection control. *Am J Infect Control* 1987; 15: 107-119
- 2 Cohen JL, Corey GR. Cytomegalovirus infection in the normal host. *Medicine (Baltimore)* 1985; 64: 100-114
- 3 Rafailidis PI, Mourtoukou EG, Varbobitis IC, Falagas ME. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Viral J* 2008; 5: 47
- 4 Kinoshita Y, Tojo M, Yano T, Kitajima N, Itoh T, Inadome T, Fukuzaki H, Watanabe M, Chiba T. Cytomegalovirus mononucleosis-associated gastric ulcers in normal host. *Gastroenterol Jpn* 1993; 28: 88-94
- 5 Ayulo M, Aisner SC, Margolis K, Moravec C. Cytomegalovirus-associated gastritis in a compromised host. *JAMA* 1980; 243: 1364
- 6 Levine RS, Warner NE, Johnson CF. Cytomegalic inclusion disease in the gastro-intestinal tract of adults. *Ann Surg* 1964; 159: 37-48
- 7 Stocchi R, Ward KN, Fanin R, Baccarani M, Apperley JF. Management of human cytomegalovirus infection and disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica* 1999; 84: 71-79
- 8 王焕玲, 丘志峰, 盛瑞媛, 赵岩, 朱晓春, 郝英英, 范洪伟, 吕玮, 马小军, 刘正印, 李太生. 巨细胞病毒病50例临床分析. *中华内科杂志* 2004; 43: 600
- 9 Andrade Jde S, Bambirra EA, Lima GF, Moreira EF, De Oliveira CA. Gastric cytomegalic inclusion bodies diagnosed by histologic examination of endoscopic biopsies in patients with gastric ulcer. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 493-496
- 10 Studahl M, Bergström T, Ekland-Sjöberg K, Ricksten A. Detection of cytomegalovirus DNA in cerebrospinal fluid in immunocompetent patients as a sign of active infection. *J Med Virol* 1995; 46: 274-280
- 11 Yokose N, Tanabe Y, An E, Osamura Y, Sugiura T, Hosone M, Kobayashi M. Acute gastric mucosal lesions associated with cytomegalovirus infection in a non-immunocompromised host. *Intern Med* 1995; 34: 883-885

■同行评价

本文是少见病例结合文献进行讨论的报导性文章, 诊断根据充分, 文章简洁, 条理性强, 对临床有一定的参考意义.

《世界华人消化杂志》投稿须知

《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核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)》是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究

报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》和中国知识资源总库收录。2008年度《世界华人消化杂志》总被引频次为2480, 位居内科学类41种期刊的第6位; 影响因子为0.547, 位居内科医学类41种期刊的第17位。《世界华人消化杂志》即年指标0.059, 他引率0.79, 地区分布数29, 基金论文比0.340, 国际论文比0.00, 学科影响指标0.59, 综合评价总分49.5, 位居内科学类41种期刊的第8位。

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, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °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} , Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 1×10^{12} /L, WBC数用 1×10^9 /L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% 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.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(国家科技部, 2009年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《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: 010-85381892, 传真: 010-85381893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) t 检验用小写 t ; (2) F 检验用英文大写 F ; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 ≤ 1000 , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念 and 设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

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 正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1

材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。

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

《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。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(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。

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,则在论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID和DOI编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。参考文献格式如下:

- 1 Jung EM, Clevert DA, Schreyer AG, Schmitt S, Rennert J, Kubale R, Feuerbach S, Jung F. Evaluation of quantitative contrast harmonic imaging to assess malignancy of liver tumors: A prospective controlled two-center study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6356-6364 [PMID: 18081224; DOI: 10.3748/wjg.13.6356]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

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 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 d。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。接受后的稿件作者需缴纳稿件处理费及发表费,文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

5 修回稿须知

5.1 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。

5.2 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,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将修改后的稿件及光盘寄回编辑部,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。

5.3 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: 010-8538-1892
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2010年国内国际会议预告

2010-03-05/09

第六届全国肝病学科新进展高级研修班

会议地点: 海口市

联系方式: jixiacao@yahoo.com.cn

2010-03-20

2010年北京第四届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2010-03-25/28

第二十届亚太肝病学会年会

会议地点: 北京市

联系方式: info@apasl2010beijing.org

2010-04-02/05

第九届全国儿科放射学术大会

会议地点: 南京市

联系方式: gausli@yahoo.com.cn

2010-04-09/12

第二十六届国际放射学大会

会议地点: 上海市

联系方式: icr2010@cma.org.cn

2010-04-14/18

第四十五届欧洲肝脏研究协会会议(EASL)

会议地点: 奥地利, 维也纳

联系方式: <http://www2.kenes.com/liver-congress/pages/home.aspx>

2010-04-16/17

2010消化疾病诊断与鉴别诊断临床思维医师论坛

会议地点: 北京市

联系方式: cmdabm@yahoo.com.cn

2010-05-01/05

美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国, 新奥尔良

联系方式: <http://www.ddw.org/wmspage.cfm?parm1=679>

2010-05-13/16

第四届MDCA肿瘤分子靶向及个体化医疗高峰论坛

会议地点: 北京市

联系方式: 010-58430577

2010-05-13/15

第五届全国疑难及重症肝病大会

会议地点: 南京市

联系方式: office@cnsld.org

2010-05-21/23

第六届中国肿瘤学术大会暨第九届海峡两岸肿瘤学术会议

会议地点: 上海市

联系方式: cco@cco2010.org.cn

2010-05-28/31

2010中国普外科焦点问题学术论坛

会议地点: 兰州市

联系方式: 2010fis@gmail.com

2010-06-04/06

2010国际腹部创伤暨第十届全国脾脏外科学术研讨会

会议地点: 合肥市

联系方式: qiaohaiquan2008@yahoo.com.cn

2010-06-17/21

2010年全国肝脏疾病临床学术大会暨欧洲肝病学会日

会议地点: 厦门市

联系方式: zhgz@vip.163.com

2010-08-18/21

第二十一届世界癌症大会

会议地点: 深圳市

联系方式: bgs@caca.sina.net

2010-08-19/22

第二十二次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: szzyy88@163.com

2010-09-08/12

第九届全国介入放射学学术大会

会议地点: 广州市

联系方式: csir2010@163.com

2010-09-09/11

中华医学会第十一次全国感染病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: infectioncma@163.com

2010-09-10/12

第四届国际肝病学会年会

会议地点: 加拿大, 蒙特利尔

联系方式: info@ilca-online.org

2010-10-23/27

第十八届欧盟胃肠病周

会议地点: 西班牙, 巴塞罗那

联系方式: <http://uegw10.uegf.org/>

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!

曹秀峰 教授

南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

刘平 教授

南京医科大学第一附属医院肿瘤科

陈洪 副教授

东南大学附属中大医院消化科

刘占举 教授

同济大学附属第十人民医院胃肠内科

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

龙学颖 副主任医师

中南大学湘雅医院放射科

丁惠国 主任医师

首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

潘兴华 副主任医师

中国人民解放军成都军区昆明总医院病理实验科

杜祥 教授

复旦大学附属肿瘤医院病理科

邱伟华 副主任医师

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

范学工 教授

中南大学湘雅医院感染病科

宋振顺 教授

中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

冯志杰 主任医师

河北医科大学第二医院消化内科

谭学瑞 教授

汕大医学院第一附属医院院长室

洪天配 教授

北京大学第三医院内分泌科

唐文富 副主任医师

四川大学华西医院中西医结合科

胡红杰 主任医师

浙江大学医学院附属邵逸夫医院放射科

王炳元 教授

中国医科大学附属第一医院消化内科

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

王志刚 副主任医师

上海市第六人民医院普外科

李淑德 主任医师

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

夏冰 教授

武汉大学中南医院消化内科

刘宝瑞 教授

南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

徐列明 教授

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

刘成海 研究员

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

殷正丰 教授

中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

刘凤斌 教授

广州中医药大学第一附属医院消化内科

袁友红 副教授

湖南省人民医院科研部

刘海林 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

张俊 副教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院外科