

肝癌手术的非接触分离技术研究进展

许戈良

许戈良, 安徽医科大学附属省立医院普外科 安徽省合肥市 230001

许戈良, 教授, 主要从事肝脏外科临床与基础研究.

通讯作者: 许戈良, 教授, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属省立医院普外科. xugeliang2007@163.com

电话: 0551-2283916 传真: 0551-2282121

收稿日期: 2009-12-08 修回日期: 2009-12-30

接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in no-touch isolation for the treatment of hepatocellular carcinoma

Ge-Liang Xu

Ge-Liang Xu, Department of General Surgery, Anhui Provincial Hospital, Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Professor Ge-Liang Xu, Department of General Surgery, Anhui Provincial Hospital, Affiliated to Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. xugeliang2007@163.com

Received: 2009-12-08 Revised: 2009-12-30

Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

Lymphovascular ligation before surgical resection of a tumor to avoid the spread of tumor cells is termed no-touch isolation technique. During traditional liver surgery for hepatocellular carcinoma, full mobilization of hepatic lobes to be resected and rotation of the liver are often needed before resection of liver parenchyma for safe extrahepatic control of the hepatic veins and blood vessels in the third porta hepatis. This procedure may lead to ischemia-reperfusion injury, induce the release of pro-angiogenic factors from dormant tumor cells, promote the production of vascular endothelial growth factor (VEGF), and thereby accelerate the outgrowth of micrometastatic lesions. Tumor manipulation during liver surgery may increase the dissemination of tumor cells into the blood circulation or the intrahepatic portal venous system. As no-touch isolation technique can reduce the occurrence of liver injury, intraoperative metastasis and postoperative recurrence, it is a promising strategy for the treatment of HCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Hepatic re-

section; Recurrence; No-touch isolation technique

Xu GL. Advances in no-touch isolation for the treatment of hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(5): 425-427

摘要

为了避免手术时肿瘤细胞的播散, 在切除肿瘤部分前先将肿瘤区域的淋巴、血管结扎、离断, 这种技术称之为“非接触分离技术”. 对于肝癌的手术, 传统的方法是在离断肝实质之前, 充分游离预切除的肝叶, 并旋转肝脏托至切口的前面, 以便在肝外对肝静脉和第三肝门进行控制. 这种手术可能会导致肝脏的缺血再灌注损伤, 诱导休眠期肿瘤细胞释放前血管生成刺激因子促进VEGF水平的上升, 加快其微小灶转移的进展, 而肝脏手术旋转过程中对肿瘤的挤压可能会加重肿瘤细胞随血循环播散或在肝内门静脉系统播散的机率. 肝癌手术的非接触分离技术是一项减少肝脏损害, 防止术中转移和术后复发, 值得深入探讨的新策略.

关键词: 肝癌; 肝切除; 复发; 非接触分离术

许戈良. 肝癌手术的非接触分离技术研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 425-427

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/425.asp>

0 引言

近十多年肝脏外科飞速发展, 围手术期的死亡率大大下降, 手术难度不断上升, 术中出血明显减少. 但是, 肝癌术后复发仍然高居不下, 严重影响患者的长期预后. 尽管涉及肿瘤的病理学、生物学、宿主等因素, 但是手术本身的原因不可忽视.

1 非接触分离技术的概念

为了避免手术时肿瘤细胞的播散, 1952年, Barnes^[1]首次描述了在切除结肠肿瘤部分前先将肿瘤区域的淋巴、血管结扎. Turnbull等^[2]把这种技术称之为“非接触分离技术”, 并证明应用这种技术可以改善结肠肿瘤患者的生存率. Hayashi等^[3]采用

背景资料

为了避免手术时肿瘤细胞的播散, 1952年, Barnes首次描述了在切除结肠肿瘤部分前先将肿瘤区域的淋巴、血管结扎. Turnbull把这种技术称之为“非接触分离技术”, 并证明应用这种技术可以改善结肠肿瘤患者的生存率, 该项技术可减少肝脏缺血再灌注损伤, 防止肝癌术中转移和术后复发, 值得深入的探究.

同行评议者

徐决, 副教授, 上海复旦大学附属中山医院中山医院肝癌研究所肝肿瘤外科

相关报道

Liu等在非接触分离技术的肝癌切除实践中,使用超声刀解剖、暴露肝中静脉的分支,细心结扎,切肝缓慢而谨慎,患者出血的中位数是800 mL,需要输血的仅4例(7%)。他们认为在大多数情况下提拉法可能没有必要。

MASA法(突变等位基因特异性扩增法)对术中接触肿瘤的操作是否会增加癌细胞向门静脉播散进行研究,结果在11例传统切除手术组中8例(73%)有阳性结果,而采用“非接触分离技术”仅有1例患者(14%)有阳性结果。Miyazono等^[4]在对胆道和胰腺肿瘤的研究中证实,采用传统操作切除技术有可能会促进癌细胞的脱离,并增加手术过程循环血液中癌细胞的阳性率。

肝癌术后复发的临床研究近二十年有了较大发展。主要集中在肝癌的切除范围、切除边缘、围手术期输血三大外科领域。大部分研究认为^[5]肝癌术后复发大部分来源于门静脉播散或多中心癌发生,外科切除范围对术后复发没有显著影响,在肝脏储备功能受限患者中,肝实质保留比广泛切除边缘更值得考虑。同样,许多临床、影像和病理专家也证明,很小比例的肝内复发发生于切除边缘附近,外科切除边缘宽度与复发率间无相关性,大、小肝癌中超过1 cm的卫星灶和组织学血管侵袭都是非常普遍^[6,7]。相关的少量研究已探究了术中失血量或围手术期输血量对HCC切除后复发风险的效应,但是,这些研究好像提示输血可能增强余肝中的多中心癌发生而非肝内转移^[8,9]。关于肝癌手术非接触分离技术的概念文献中涉及不多。

2 肝癌手术非接触分离技术的研究

对于原发性肝癌特别是巨大肿瘤,传统手术操作是导致门静脉系统播散的一个重要途径^[7,10],特别是术后早期肝内复发播散可能说明这一点。Matsumata等^[11]在8例患者中用淀粉微球临时栓塞门静脉,试图预防由于手术操作导致肝内肿瘤细胞播散,在术后6-24 mo内未发现有复发。但是,外科操作作为一个危险因素对术后复发的精确意义仍未评估清楚。

当肿瘤侵犯肝脏无论是原发还是转移,肝切除都是最佳方式,虽然每个外科医生所选择的手术方式会有所不同。由于在横断肝脏实质过程中,控制血管,降低术中失血非常重要,因此,多数医生还是喜欢在切除肝实质之前,首先充分、彻底的游离预切除的肝叶,并旋转肝脏托至切口的前面,以便于肝外对肝静脉和第三肝门的小静脉进入到肝脏背面进行控制。在完全控制了入肝和出肝血流后,各种离断肝实质的方法便分别被使用。

Ozawa^[12]第一次注意到,在旋转肝的过程中,导致一个出乎意料结果,由于入肝和出肝

血流的循环变化,动脉血中酮体比率明显减少,从而引发了肝细胞受损。虽然有人认为原发性肿瘤可能会产生抗血管生成因子的产物,从而抑制远距离肿瘤生长,当手术切除原发性肿瘤后,远距离微小转移灶摆脱了控制而发展^[13],但是,手术导致的组织损伤和缺氧也有可能诱导休眠期肿瘤细胞释放前血管生成刺激因子促进VEGF水平的上升^[14]。van der Bilt等^[15]的实验还证实在这种缺血再关注损伤过程中容易造成氧化性应激和早期肝脏组织损害,循环受阻的肝叶与未受阻的肝叶相比,其微小灶转移的进展加速5-6倍。在肝癌患者中,肿瘤细胞渗透入侵静脉或血管是一种常见现象,一些作者^[11,16,17]认为这种现象可能与导致术前血行转移高发有关,而肝脏手术旋转过程中对肿瘤的挤压可能会加重肿瘤细胞随血循环播散或在肝内门静脉系统播散机率。Liu等^[18]采用血清白蛋白mRNA的检测作为在旋转肝脏手术时血循环中出现肝细胞的证据,观察到“非接触分离技术组”比传统手术组血清白蛋白mRNA的检测水平显著降低。前组患者中位数的总体累积生存期>68.1 mo,比后组23.7 mo显著要好。

3 肝癌手术非接触分离技术的要点

肝癌手术“非接触分离技术”与传统手术流程恰好相反。通常术中是B超引导下,在肝脏表面按照B超提示的预切线进行肝脏实质离断,保留肝脏实质内预留的血管,也可以在肝实质切断前,通过肝门上入路控制在Glissonian纤维鞘内的门脉分支。肝实质离断后,分离显露下腔静脉、肝静脉分支,准确结扎、缝扎和离断这些目标血管,最后离断肝周韧带,快速完成肝切除。也有人把这种技术称之为原位肝切除或逆行肝切除。目前这种技术只是被用于巨大肝脏肿瘤并与膈肌发生粘连,利用传统的方法难以完成切除的情况下,旨在提高肿瘤的切除率。很少有人主动通过对各种肝癌进行非接触分离技术来达到防止术中转移和术后复发的目的。

在对肿瘤切除过程中,非接触分离技术手术对整块肝切除是有益的,这里需要精确地解剖、止血,精心维护肝脏组织。他可使肿瘤破裂伴溢出到腹腔和出血的风险降到最低,也避免了被切除肝脏向余肝方向旋转,从而防止后期发生充血或肝门扭转所致的缺血再灌注损伤。Miyazono等^[4]认为,非接触分离技术的手术可能避免由于操作粗暴而使肿瘤发生血液扩散,肺转

移发病率较低和无瘤存活率及长期存活率更好。

但是, 这种技术要求较高, 相对传统技术需要更加的精心和仔细, 切肝相对的困难和危险^[19]。因为, 当发生严重出血, 缺乏从肝脏下面的压迫止血, 将导致继续出血和止血无效。为尽量降低静脉大量出血的风险, 便于肝实质横断, Belghiti 等提出“提拉法”技术来修正非接触分离技术的不足^[20], 他通过一把长血管钳, 沿下腔静脉前表面正中中线, 肝右静脉左侧向上到达肝右静脉及肝中静脉之间, 建立起一个“通道”, 肝切除时通过这个通道用带子把肝脏悬吊起来。使用这种提拉法后, 将静脉大出血的危险最小化。然而, 伸入到下腔静脉前表面器械的盲目操作, 有导致尾状叶肝静脉出血的潜在风险。一旦出血, 控制起来非常困难, 特别是在肝硬化和门静脉高压症患者。Liu 等^[10]在非接触分离技术的肝癌切除实践中, 使用超声刀解剖、暴露肝中静脉的分支, 细心结扎, 切肝缓慢而谨慎, 患者出血的中位数是 800 mL, 需要输血的仅 4 例(7%)。他们认为在大多数情况下提拉法可能没有必要。

4 结论

肝癌手术的非接触分离技术虽然报道不多, 外科操作作为一个危险因素对术后复发的精确意义仍未评估清楚, 但是, 该项技术可减少肝脏缺血再灌注损伤, 防止肝癌术中转移和术后复发, 值得深入的探究。

5 参考文献

- Barnes JP. Physiologic resection of the right colon. *Surg Gynecol Obstet* 1952; 94: 722-726
- Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *Ann Surg* 1967; 166: 420-427
- Hayashi N, Egami H, Kai M, Kurusu Y, Takano S, Ogawa M. No-touch isolation technique reduces intraoperative shedding of tumor cells into the portal vein during resection of colorectal cancer. *Surgery* 1999; 125: 369-374
- Miyazono F, Takao S, Natsugoe S, Uchikura K, Kijima F, Aridome K, Shinchi H, Aikou T. Molecular detection of circulating cancer cells during surgery in patients with biliary-pancreatic cancer. *Am J Surg* 1999; 177: 475-479
- Tung-Ping Poon R, Fan ST, Wong J. Risk factors, prevention, and management of postoperative recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2000; 232: 10-24
- Park YK, Kim BW, Wang HJ, Kim MW. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma meeting Milan criteria in Child-Turcotte-Pugh class a patients with cirrhosis. *Transplant Proc* 2009; 41: 1691-1697
- Shirabe K, Kajiyama K, Harimoto N, Masumoto H, Fukuya T, Ooya M, Maehara Y. Prognosis of hepatocellular carcinoma accompanied by microscopic portal vein invasion. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2632-2637
- Sugita S, Sasaki A, Iwaki K, Uchida H, Kai S, Shibata K, Ohta M, Kitano S. Prognosis and postoperative lymphocyte count in patients with hepatocellular carcinoma who received intraoperative allogenic blood transfusion: a retrospective study. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 339-345
- Shiba H, Ishida Y, Wakiyama S, Iida T, Matsumoto M, Sakamoto T, Ito R, Gocho T, Furukawa K, Fujiwara Y, Hirohara S, Misawa T, Yanaga K. Negative impact of blood transfusion on recurrence and prognosis of hepatocellular carcinoma after hepatic resection. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1636-1642
- Kawano Y, Sasaki A, Kai S, Endo Y, Iwaki K, Uchida H, Shibata K, Ohta M, Kitano S. Prognosis of patients with intrahepatic recurrence after hepatic resection for hepatocellular carcinoma: a retrospective study. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 174-179
- Matsumata T, Kanematsu T, Takenaka K, Sugimachi K. Lack of intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma by temporary portal venous embolization with starch microspheres. *Surgery* 1989; 105: 188-191
- Ozawa K. Liver surgery approached through the mitochondria. Tokyo: Medical Tribune, 1992: 50-101
- O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 1996; 2: 689-692
- van der Bilt JD, Borel Rinkes IH. Surgery and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1654: 95-104
- van der Bilt JD, Kranenburg O, Nijkamp MW, Smakman N, Veenendaal LM, Te Velde EA, Voest EE, van Diest PJ, Borel Rinkes IH. Ischemia/reperfusion accelerates the outgrowth of hepatic micrometastases in a highly standardized murine model. *Hepatology* 2005; 42: 165-175
- Louha M, Nicolet J, Zylberberg H, Sabile A, Vons C, Vona G, Poussin K, Tournebize M, Capron F, Pol S, Franco D, Lacour B, Bréchot C, Paterlini-Bréchot P. Liver resection and needle liver biopsy cause hematogenous dissemination of liver cells. *Hepatology* 1999; 29: 879-82
- Kaibori M, Ishizaki M, Saito T, Matsui K, Kwon AH, Kamiyama Y. Risk factors and outcome of early recurrence after resection of small hepatocellular carcinomas. *Am J Surg* 2009; 198: 39-45
- Liu CL, Fan ST, Cheung ST, Lo CM, Ng IO, Wong J. Anterior approach versus conventional approach right hepatic resection for large hepatocellular carcinoma: a prospective randomized controlled study. *Ann Surg* 2006; 244: 194-203
- 许戈良. 精细肝脏外科的发展. *国际外科学杂志* 2008; 35: 73-75
- Belghiti J, Guevara OA, Noun R, Saldinger PF, Kianmanesh R. Liver hanging maneuver: a safe approach to right hepatectomy without liver mobilization. *J Am Coll Surg* 2001; 193: 109-111

同行评价
本文具有较好的学术价值和一定的临床参考价值。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

生物人工肝用C3A细胞在零下非结冰时的保存

李庆勇, 张清华, 蒋知新, 沙杭, 林虎, 李安全, 龙炫辉, 高毅

背景资料
目前肝功能衰竭病死率达80%左右, 现有病因治疗及支持治疗疗效甚微。肝移植被认为是最高效的治疗手段, 但存在供体严重不足、终生免疫治疗及费用昂贵等缺点。生物人工肝的发展为肝衰竭的治疗提供了新的途径: 通过人工肝支持, 一方面可使可逆肝衰竭患者正常肝细胞再生恢复肝功能, 另一方面可为不可逆肝衰竭患者最终的肝移植赢得宝贵的供肝时间。

李庆勇, 南方医科大学(原第一军医大学)研究生院 广东省广州市 510515
张清华, 蒋知新, 沙杭, 林虎, 李安全, 龙炫辉, 中国人民解放军305医院 北京市 100017
高毅, 南方医科大学珠江医院肝胆二科 广东省广州市 510262
李庆勇, 南方医科大学2008级博士在读, 主要从事老年病的研究。国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目, No. 2006AA02A141
全军医学科研“十一五”计划专项基金资助项目, No. 08Z017
作者贡献分布: 李庆勇与张清华对此文所作贡献均等; 此课题由李庆勇、张清华及高毅设计; 研究过程由李庆勇与张清华完成; 生化指标检测由蒋知新完成; 流式细胞术由李安全完成; 细胞形态观察由沙杭完成; 白蛋白测定由龙炫辉完成; 统计分析由林虎完成; 论文写作由李庆勇完成。
通讯作者: 张清华, 教授, 100017, 北京市西城区文津街甲13号, 中国人民解放军305医院老年病中心。mdlqy@yahoo.com.cn
电话: 010-63096916 传真: 010-63096916
收稿日期: 2009-12-07 修回日期: 2010-01-06
接受日期: 2010-01-11 在线出版日期: 2010-02-18

Subzero nonfreezing storage of C3A hepatocytes for use in bioartificial liver support systems

Qing-Yong Li, Qing-Hua Zhang, Zhi-Xin Jiang, Hang Sha, Hu Lin, An-Quan Li, Xuan-Hui Long, Yi Gao

Qing-Yong Li, Postgraduate College, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Qing-Hua Zhang, Zhi-Xin Jiang, Hang Sha, Hu Lin, An-Quan Li, Xuan-Hui Long, the 305th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100017, China

Yi Gao, Department of Hepatobiliary Surgery (Division II), Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510262, Guangdong Province, China

Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2006AA02A141; and the Special Fund for Military Medical Project during the “11th Five-year Plan” Period, No. 08Z017
Correspondence to: Professor Qing-Hua Zhang, Department of Gerontology, the 305th Hospital of Chinese PLA, 13A Wenjin Street, Xicheng District, Beijing 100017, China. mdlqy@yahoo.com.cn

Received: 2009-12-07 Revised: 2010-01-06

Accepted: 2010-01-11 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To investigate whether subzero nonfreezing storage (-0.8 °C) is superior to conventional cold storage in preservation of C3A hepatocytes for use in bioartificial liver support systems.

METHODS: C3A hepatocytes suspended in University of Wisconsin (UW) solution were divided into three groups: subzero nonfreezing group (-0.8 °C), zero nonfreezing group (0 °C) and control group (4 °C). After 24, 48 and 72 hours of hypothermic storage, cell viability and apoptosis were detected by flow cytometry; intracellular adenosine triphosphate (ATP) content, lactate dehydrogenase (LDH) release, lactic acid production, urea synthesis and albumin secretion were determined; and cell morphological changes were observed.

RESULTS: Compared to the zero nonfreezing group and the control group, after 72 hours of hypothermic storage, the percentage of viable C3A hepatocytes was significantly higher ($86.49\% \pm 2.80\%$ vs $81.50\% \pm 2.83\%$ and $77.83\% \pm 3.40\%$, respectively; both $P < 0.05$), and cell apoptosis rate was significantly lower ($1.26\% \pm 0.84\%$ vs $5.34\% \pm 1.20\%$ and $9.16\% \pm 1.99\%$, respectively; both $P < 0.05$) in the subzero nonfreezing group. Lactic acid and LDH production was more significantly suppressed (lactic acid: $10.38 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 1.40 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$ vs $12.02 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 1.64 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$ and $17.41 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 2.40 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$; LDH: $80.10 \text{ U/L} \pm 11.10 \text{ U/L}$ vs $120.04 \text{ U/L} \pm 14.32 \text{ U/L}$ and $148.98 \text{ U/L} \pm 15.37 \text{ U/L}$, respectively; all $P < 0.05$), and the ability of hepatocytes to synthesize urea and secrete albumin was better maintained in the subzero nonfreezing group (both $P < 0.05$). Moreover, cells in the subzero nonfreezing storage group had lower death rate and better cellular morphology. A burr-like structure around the cell membrane and an intracellular vacuole-like structure were found in cells in the zero nonfreezing group and the control group, but not in the subzero nonfreezing group.

CONCLUSION: Subzero nonfreezing storage (-0.8 °C) of hepatocytes to construct a “ready-to-use” hepatocyte bank like the “blood bank” will efficiently promote the development of bioartificial liver support systems.

Key Words: Bioartificial liver support system; Subzero nonfreezing; Cells apoptosis

同行评议者
朱亮, 副教授, 大连医科大学生理教研室

Li QY, Zhang QH, Jiang ZX, Sha H, Lin H, Li AQ, Long XH, Gao Y. Subzero nonfreezing storage of C3A hepatocytes for use in bioartificial liver support systems. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 428-436

摘要

目的: 探讨零下非结冰保存肝细胞的效果及其与细胞凋亡的关系。

方法: UW液保存的C3A细胞悬液分为3组: -0.8℃组(零下非结冰组), 0℃组(0℃非结冰组), 4℃组(对照组)。低温保存24、48及72 h后, 采用流式细胞术分别测定细胞存活率及凋亡率, 同时测定LDH、乳酸释放, 细胞内ATP含量、尿素合成功能及白蛋白分泌功能, 同时观察细胞形态。

结果: 零下非结冰组较0℃非结冰组及对照组明显提高了低温保存72 h的C3A细胞的存活率($86.49\% \pm 2.80\%$ vs $81.50\% \pm 2.83\%$, $77.83\% \pm 3.40\%$, 均 $P < 0.05$), 降低了细胞凋亡率($1.26\% \pm 0.84\%$ vs $5.34\% \pm 1.20\%$, $9.16\% \pm 1.99\%$, 均 $P < 0.05$); 明显抑制了低温保存72 h乳酸以及LDH释放(乳酸: $10.38 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 1.40 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$ vs $12.02 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 1.64 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$, $17.41 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells} \pm 2.40 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells}$; LDH: $80.10 \text{ U/L} \pm 11.10 \text{ U/L}$ vs $120.04 \text{ U/L} \pm 14.32 \text{ U/L}$, $148.98 \text{ U/L} \pm 15.37 \text{ U/L}$, 均 $P < 0.05$); 更好地维持了低温保存72 h C3A细胞内ATP含量、尿素合成功能、及白蛋白分泌功能(均 $P < 0.05$)。形态上, 零下非结冰组保存细胞死亡比例少, 细胞接触良好, 未见对照组及0℃非结冰组细胞膜周围出现“毛刺”样改变及细胞内的“空泡样”改变。

结论: 在零下非结冰条件下保存肝细胞, 建立一个“血库样”(ready to use)肝细胞库, 可以有效促进生物人工肝的发展。

关键词: 生物人工肝; 零下非结冰; 细胞凋亡

李庆勇, 张清华, 蒋知新, 沙杭, 林虎, 李安全, 龙炫辉, 高毅. 生物人工肝用C3A细胞在零下非结冰时的保存. *世界华人消化杂志* 2010; 18(5): 428-436

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/428.asp>

0 引言

生物人工肝(bioartificial liver support system, BALSS)的发展为肝功能衰竭的治疗开辟了新的途径^[1-3]。而获得高质量、数量足且能够快速临床应用的肝细胞是BALSS的核心^[4]。因此, 探索出一种实用可靠的肝细胞低温保存方法, 建

立一个随时可用(ready to use)的肝细胞库是BALSS普遍推广的基础^[5]。温度是影响低温保存效果的关键因素: 一般而言温度越低, 细胞的代谢活性就越低, 保存时间就越长^[6]。零下非结冰温度(subzero nonfreezing temperature, SZNFT)是指0℃到某溶液冰点之间的温度范围, 一方面可以使代谢降至最低, 不同于常规低温保存(4℃), 另一方面可以避免“冰晶形成”、“细胞凋亡”等低温保存损伤^[7], 理论上SZNF是一种理想的细胞保存形式^[8]。SZNF最早用于供肝的保存, 使供肝的保存时间明显延长^[9], 但供肝的保存混杂有缺血再灌注损伤的影响^[10], 不能完全反应对肝细胞的保存效果。目前, SZNF对人源性肝细胞的保存效果仍然不明确。因此, 本文将用UW液SZNF保存人源性C3A细胞, 同常规低温(4℃及0℃)比较, 以明确SZNF保存肝细胞的效果以及同细胞凋亡的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 C3A永生化的肝细胞株(ATCC, 美国); DMEM/F-12培养基、优级胎牛血清(FBS)、青霉素/链霉素溶液(100×)、重组人表皮生长因子(EGF)、胰岛素溶液、0.25%胰酶及PBS缓冲液(Invitrogen, 美国); UW液(Bristol-Myers Squibb); 50 mL培养瓶、2 mL冻存管及6孔培养板(Costar Corning); 氯化铵(Sigma); Labofuge400R型离心机(Heraeus, 德国); 人白蛋白ELISA试剂盒(R&D, 美国), Mode1450型酶标仪(BIO-RAD, 美国); CK2型倒置显微镜及IX70型倒置荧光显微镜(Olympus, 日本); Annexin V-FITC凋亡试剂盒(南京凯基); Live/Dead活力和细胞毒性分析试剂盒(Invitrogen, 美国); 乳酸测定试剂盒(Boehringer Mannheim), Du530型分光光度计(Beckman, 德国); ATP检测试剂盒(Sigma); Flextek2型全自动酶标仪(阿克苏诺贝尔, 荷兰); DXC800型全自动生化仪及FACScan型流式细胞仪(Beckman coulter, 美国); MIR-151型微电脑程控低温培养箱(温度范围: -10℃-60℃, 温度精度: $\pm 0.1^\circ\text{C}$)及MCO-175型二氧化碳培养箱(SANYO, 日本); 海尔智能温度记录仪(温度范围: -100℃-120℃, 精度 $\pm 0.1^\circ\text{C}$); 超净工作台(北京昌平长城空气净化工程公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组: 制备好UW液保存的C3A细胞悬液分为以下3组: -0.8℃组(零下非结冰组); 0℃组(0℃非结冰组); 4℃组(对照组)。

研发前沿
获得大量的生物转化和分泌功能好且能快速临床应用的肝细胞是生物人工肝的核心。而探索出一种有效的肝细胞低温保存体系, 建立一个“ready to use”肝细胞库, 临床随时可以得到大量高活率有功能的肝细胞, 可有效解决制约人工肝发展的瓶颈, 是人工肝推广的基础。

相关报道

目前肝细胞低温保存分为两大类: (1)-196 °C深低温冻存; (2)4 °C常规低温保存. 为提高低温保存复温后肝细胞的存活率, 学者们对多种冻存保护剂进行了研究, 发现细胞凋亡是除了坏死之外, 低温保存肝细胞死亡的另一个重要途径.

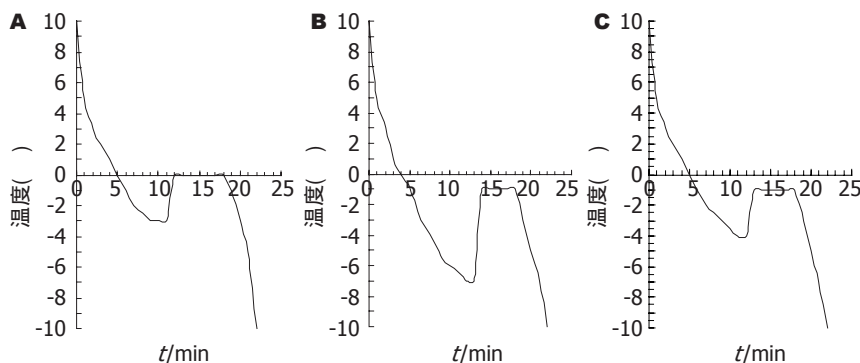


图1 不同溶液的降温曲线及冰点. A: 蒸馏水的冰点是0 °C; B: UW液的冰点是-1 °C, 零下非结冰温度为0 °C (-1 °C); C: C3A细胞冰点为-1 °C, 零下非结冰温度为0 °C (-1 °C).

1.2.2 细胞培养制备: (1)取C3A细胞约 1×10^6 个, 接种到50 mL培养瓶. 所用基础培养基为DMEM/F-12, 同时添加EGF: 20 μ g/L, 胰岛素10 mg/L, 青霉素: 10 kU/L, 链霉素: 10 g/L, 100 mL/L FBS. (2)将培养瓶置于37 °C, 50 mL/L CO₂, 100%湿度的培养箱内培养. (3)倒置显微镜观察80%以上细胞贴壁后换液1次, 以后每24 h换液1次, 直至内壁长满. (4)取内壁长满的1瓶细胞, 吸除培养液, 加0.25%胰酶1-1.5 mL, 于室温消化1-3 min, 同时观察细胞形态, 一旦发现胞质回缩细胞间隙增大, 即刻吸除胰酶, 终止消化. (5)加2 mL含10% FBS的DMEM/F-12培养液, 用吸管反复吹打内壁, 使细胞完全脱离瓶壁. (6)将同批多瓶C3A细胞悬液混合, 取一滴至血细胞计数板, 计算细胞细胞密度, 最终将细胞浓度调至 2×10^9 /L, 分装至2 mL冻存管.

1.2.3 低温保存及复温: (1)2 mL冻存管, 1 000 r/min, 离心2 min, 将含100 mL/L FBS的DMEM/F-12培养液置换为2 mL UW液, 混匀. 分别至-0.8 °C组、0 °C组及4 °C组, 每组6个标本. (2)低温保存24、48及72 h后, 各组均取6个标本, 采用快速复温法, 放入37 °C水浴中震荡1-2 min. (3)复温后的标本1 000 r/min, 离心2 min, 将UW液置换为含100 mL/L FBS的DMEM/F-12培养液2 mL, 混匀, 于37 °C, 50 mL/L CO₂, 100%湿度的培养箱内培养30 min.

1.2.4 复温后各指标的测定: (1)取1 mL C3A细胞悬液, 加入到1 mL含4 mmol/L氯化铵及100 mL/L FBS的DMEM/F-12培养液的6孔培养板中, 于37 °C、50 mL/L CO₂、100%湿度的培养箱内培养24 h后, 一方面: 取上清, 2 000 r/min, 离心20 min, 于全自动生化仪测定尿素的浓度(氯化铵转化试验)及LDH浓度. 同时按照人白蛋白ELISA试剂盒说明, 测定上清人白蛋白含量. 另一方面: 用PBS缓冲液轻轻冲洗6孔板, 按照Live/Dead活力和细胞毒性分析试剂盒要求, 对贴壁细胞荧

光染色, 使用荧光显微镜定性观察0及72 h细胞存活、死亡及细胞形态. (2)取0.5 mL C3A细胞悬液, 1 000 r/min, 离心2 min. 一方面: 取上清, 按照乳酸测定试剂盒的要求, 于分光光度仪测定乳酸含量. 另一方面: 沉淀的细胞按照Annexin V-FITC凋亡试剂盒要求, 于流式细胞仪定量测定细胞存活率、凋亡率及死亡率. (3)取0.5 mL C3A细胞悬液, 按照ATP试剂盒的说明, 于全自动酶标仪测定细胞内ATP含量.

统计学处理 所有计量资料以mean \pm SD表示. 同时点不同组样本均数比较采用One-way ANOVA, 多重比较采用LSD检验, 方差不齐时多重比较采用多个孤立样本非参数分析Kruskal-Wallis检验. 采用SPSS13.0统计软件分析, $P < 0.05$ 有统计学差异.

2 结果

2.1 不同溶液的降温曲线及冰点 不同溶液的降温曲线及冰点不同. 蒸馏水的降温曲线: 当温度缓慢降至-3 °C时, 蒸馏水仍然呈液态, 继续降温, 蒸馏水的温度突然升至0 °C, 冰晶开始形成, 完全结冰后, 蒸馏水的温度随着外界温度的下降而下降. 因此, 蒸馏水的冰点是0 °C(图1A); UW液的降温曲线: 当温度缓慢降至-7 °C时, UW液仍然呈液态, 继续降温, 冰晶开始形成, 温度突然升至-1 °C, 完全结冰后, UW液的温度随着外界温度的下降而下降. 因此, UW液的冰点是-1 °C, 零下非结冰温度为0 °C(-1 °C)(图1B); C3A细胞: 当温度缓慢降至-4 °C时, C3A细胞外无冰晶形成, 继续降温, 冰晶开始形成, 温度升至-1 °C. 因此C3A细胞冰点为-1 °C, C3A细胞的零下非结冰温度为0 °C(-1 °C)(图1C).

2.2 不同低温保存时间细胞存活率、凋亡率及死亡率 新鲜细胞(0 h)存活率为 $95.21\% \pm 0.55\%$, 凋亡率为 $0.72\% \pm 0.19\%$, 死亡率为 $3.39\% \pm 0.47\%$. 随低温保存时间延长, 各组细胞存活率

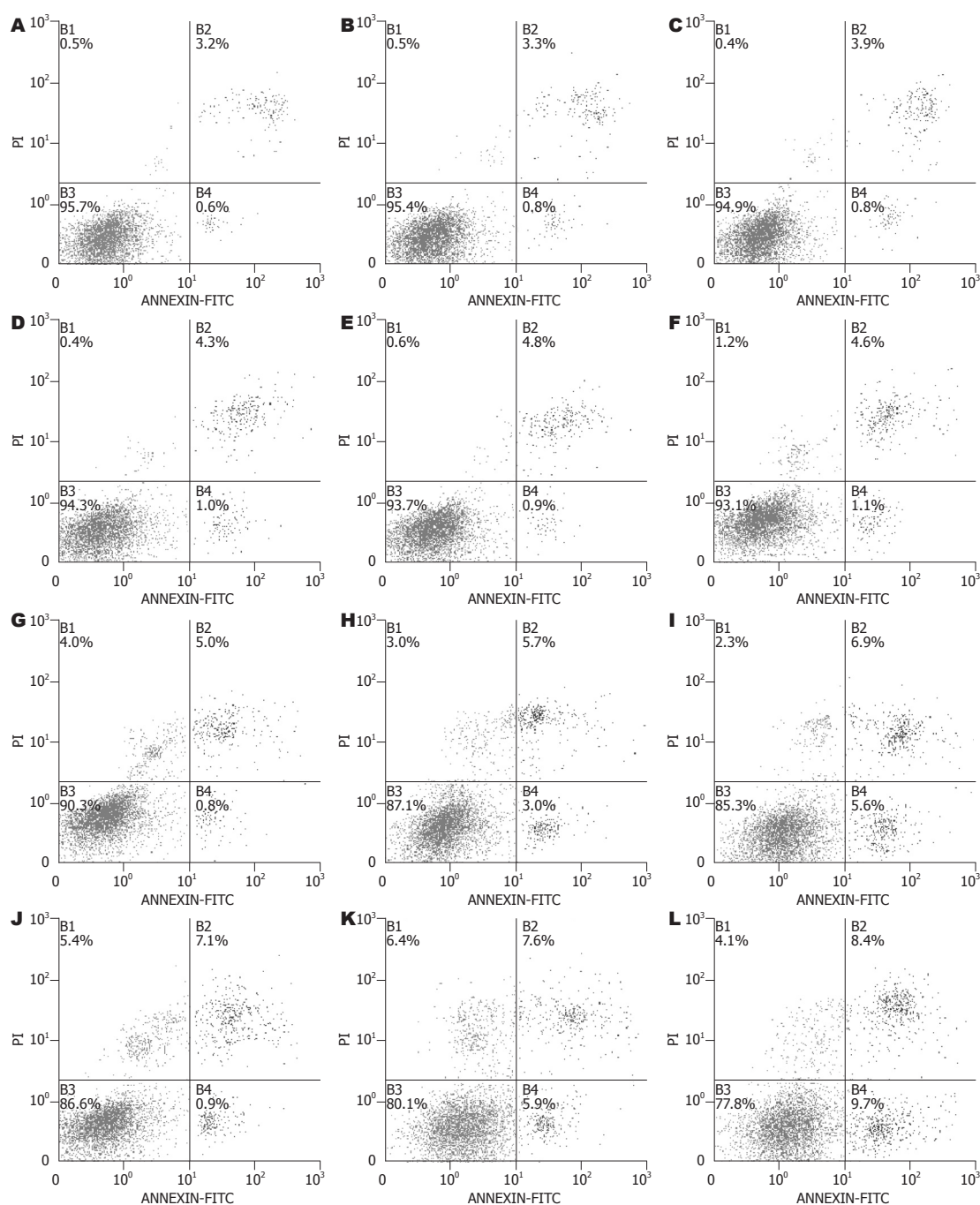


图 2 不同低温保存时间流式细胞仪测定细胞存活率、凋亡率及死亡率(Annexin V-FITC/PI双染, 流式细胞仪分析, 获得4个象限的直方图). B1: (An-PI+)表示操作过程中损伤的细胞; B2: (An+PI+)表示晚期凋亡或者死亡细胞; B3: (An-PI-)表示正常细胞; B4: (An+PI-)表示早期凋亡细胞; A-C: 新鲜细胞(0 h); D: -0.8 °C组24 h; E: 0 °C组24 h; F: 4 °C组24 h; G: -0.8 °C组48 h; H: 0 °C组48 h; I: 4 °C组48 h; J: -0.8 °C组72 h; K: 0 °C组72 h; L: 4 °C组72 h.

呈下降趋势. 48 h, -0.8 °C组细胞存活率同0 °C组及4 °C组相比, 开始出现差异. 低温保存72 h, 细胞存活率均明显下降, 但-0.8 °C组明显优于0 °C组及4 °C组(表1, 图2); 随低温保存时间延长, 各组细胞凋亡率呈上升趋势. 24 h, -0.8 °C组同0 °C组及4 °C组相比, 开始出现差异. 48、72 h, 各组细胞凋亡率明显增加, 但-0.8 °C组明显低于0 °C组及4 °C组(表1, 图2); 各组细胞死亡率呈上升的趋势, 但各时间点, 各组无统计学差异(表1, 图2).

因此, 零下非结冰(-0.8 °C)较0 °C及4 °C明显提高了低温保存C3A细胞的存活率, 而存活率的提高主要是通过降低细胞凋亡实现的.

2.3 不同低温保存时间LDH释放 新鲜细胞LDH释放为(28.43±1.04) U/L. 随低温保存时间延长, 反应细胞损伤程度的LDH释放呈上升趋势. 24 h, -0.8 °C组同0 °C组及4 °C组相比, 开始出现差异. 48、72 h, 各组LDH释放明显增加, 但-0.8 °C组明显低于0 °C组及4 °C组(表2). 因此, 零下非

创新盘点

本文首次用UW液采用零下非结冰温度(-0.8 °C)保存生物人工肝用源性C3A细胞, 同常规低温(4 °C及0 °C)比较, 分析了零下非结冰保存人源肝细胞的效果以及同细胞凋亡的关系.

应用要点

本研究提示,零下非结冰不同于深低温冻存和常规低温保存,是一种有效的肝细胞低温保存方法。采用零下非结冰保存肝细胞,建立一个(ready to use)肝细胞库,可能对人工肝普遍推广有很大的促进作用。

表 1 不同低温保存时间复温后细胞存活率、凋亡率和死亡率 (%)

分组	细胞存活率			细胞凋亡率			细胞死亡率		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
-0.8 组	94.23±0.73	90.24±1.48	86.49±2.80	0.82±0.21	1.05±0.57	1.26±0.84	3.93±0.55	5.51±1.08	7.65±0.89
0 组	93.86±0.74	88.33±1.53 ^a	81.50±2.83 ^a	0.91±0.22	3.01±0.86 ^a	5.34±1.20 ^a	4.26±0.61	5.72±1.12	7.89±1.01
4 组	93.51±0.79	85.16±1.57 ^a	77.83±3.40 ^{bc}	1.05±0.23 ^a	5.04±0.93 ^{bc}	9.16±1.99 ^{bc}	4.39±0.69	5.91±1.03	8.18±1.05

^a*P*<0.05 vs 同时时间点 -0.8 组; ^c*P*<0.05 vs 同时时间点 0 组。

表 2 不同低温保存时间上清LDH值及细胞内ATP含量

分组	LDH值(U/L)			细胞内ATP含量(μg/10 ⁶ cells)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
-0.8 组	43.26±4.23	65.51±9.88	80.10±11.10	10.63±1.35	8.66±1.58	5.36±1.68
0 组	46.71±4.25	81.88±10.06 ^a	120.04±14.32 ^a	9.54±1.36	6.99±1.25 ^a	3.58±1.23 ^a
4 组	49.35±4.86 ^a	93.33±10.71 ^{bc}	148.98±15.37 ^{bc}	8.78±1.73 ^a	5.49±1.19 ^{bc}	1.68±0.88 ^{bc}

^a*P*<0.05 vs 同时时间点 -0.8 组; ^c*P*<0.05 vs 同时时间点 0 组。

表 3 不同低温保存时间乳酸释放及尿素合成

分组	乳酸释放(μg/10 ⁶ cells)			尿素合成(mmol/L)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
-0.8 组	4.62±1.06	6.70±1.16	10.38±1.40	1.00±0.11	0.88±0.10	0.68±0.06
0 组	5.52±1.07	8.16±1.14 ^a	12.02±1.64 ^a	0.94±0.10	0.76±0.12 ^a	0.52±0.07 ^a
4 组	6.35±1.05 ^a	10.13±1.79 ^{bc}	17.41±2.40 ^{bc}	0.88±0.10 ^a	0.67±0.12 ^{bc}	0.40±0.07 ^{bc}

^a*P*<0.05 vs 同时时间点 -0.8 组; ^c*P*<0.05 vs 同时时间点 0 组。

结冰(-0.8℃)明显减轻了细胞低温保存损伤。

2.4 不同低温保存时间细胞内ATP含量 新鲜细胞细胞内ATP含量为(11.70±1.73) μg/10⁶ cells, 随低温保存时间延长, 细胞内ATP含量呈下降趋势。24 h, -0.8℃组同0℃组及4℃组相比, 开始出现差异。低温保存48、72 h, 各组细胞内ATP含量明显降低, -0.8℃组明显优于0℃组及4℃组(表2)。

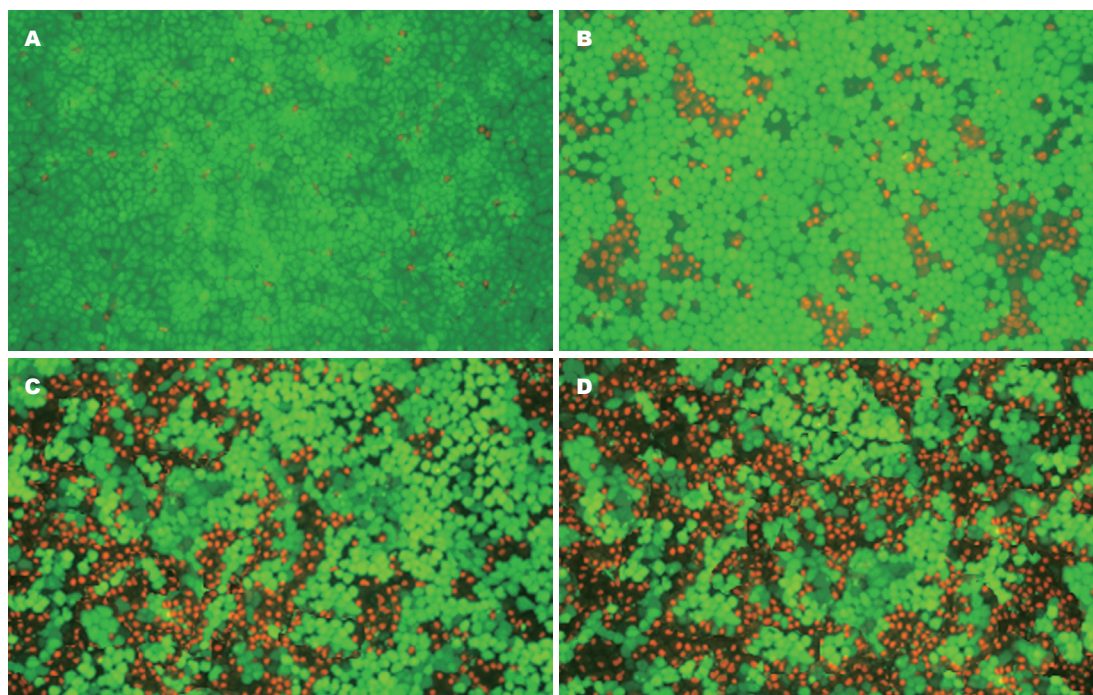
2.5 不同低温保存时间乳酸释放 新鲜细胞为(2.57±0.91) μg/10⁶ cells。随低温保存时间延长, 反应无氧代谢程度的乳酸释放呈现升高的趋势。24 h, -0.8℃组乳酸释放同0℃组及4℃组相比, 开始出现差异。48、72 h, 各组乳酸释放明显增加, -0.8℃组明显低于0℃组及4℃组(表3)。

2.6 不同保存时间尿素合成(氯化铵转化试验) 新鲜细胞尿素合成为1.10 mmol/L±0.18 mmol/L。随着低温保存时间的延长, C3A细胞尿素合成功能呈下降趋势。低温保存24 h, -0.8℃组尿素合

成同0℃组及4℃组相比, 开始出现差异。低温保存48、72 h, 各组尿素合成明显降低, -0.8℃组明显优于0℃组及4℃组(表3)。因此, 零下非结冰(-0.8℃)较好地维持了细胞尿素合成功能。

2.7 不同保存时间白蛋白分泌量 新鲜细胞白蛋白分泌量为2.46 g/L±0.22 g/L。随着低温保存时间的延长, C3A细胞白蛋白分泌功能呈下降趋势。低温保存48 h, -0.8℃组白蛋白分泌功能同0℃组及4℃组相比, 开始出现差异。低温保存72 h, -0.8℃组明显优于0℃组及4℃组(表4)。因此, 零下非结冰(-0.8℃)较好地维持了细胞白蛋白分泌功能。

2.8 细胞形态及定性观察细胞存活死亡 新鲜细胞0 h细胞贴壁良好, 未见悬浮细胞, 细胞接触良好, 死亡细胞少; 低温保存72 h, 4℃组及0℃组细胞较-0.8℃组死亡比例明显增加, 悬浮细胞增多, 细胞间隙变大, 细胞膜周围出现“毛刺”样改变, 细胞内可见“空泡样”改变(图3)。



名词解释
零下非结冰温度: 是指0 °C到某溶液冰点(freezing point)之间的温度范围, 超冷温度是指某溶液冰点到冰晶形成阈值温度之间的温度范围。如本文中UW液降温曲线, 冰点为-1 °C, 冰晶形成阈值温度为-7 °C, 因此UW液零下非结冰温度是: 0 °C-(-1) °C, 超冷温度是: (-1) °C-(-7) °C。

图3 不同低温保存时间荧光显微镜定性观察细胞形态及细胞存活(Live/Dead活力试剂盒, $\times 100$)。钙黄绿素将活细胞染为绿色, 已锭均二聚物-1将死亡细胞染为红色, A: 新鲜细胞0 h(对照); B: -0.8 °C组72 h; C: 0 °C组72 h; D: 4 °C组72 h。

表4 不同低温不同时间下细胞白蛋白分泌量(g/L)

分组	24 h	48 h	72 h
-0.8 °C组	2.29 ± 0.24	2.16 ± 0.19	2.06 ± 0.22
0 °C组	2.24 ± 0.19	1.92 ± 0.27^a	1.84 ± 0.19^a
4 °C组	2.23 ± 0.21	1.83 ± 0.21^a	1.68 ± 0.18^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 同时点-0.8 °C组; ^c $P < 0.05$ vs 同时点0 °C组。

3 讨论

低温保存是基于低温可以延缓细胞代谢速率、阻止细胞能量枯竭从而长时间保存细胞。根据Van't Hoff's定律, 温度每下降10 °C, 大多数细胞的酶活性将下降1.5至2.0倍^[11]。为获得较高的细胞存活率及延长低温保存时间, 许多学者对多种保护剂进行了研究, 但常规低温(4 °C)保存肝细胞48 h后细胞存活率均明显下降^[12,13], 因此, 研究者开始把细胞低温保存转向SZNFT保存或超冷保存^[14]。SZNFT是指0 °C到某溶液冰点(freezing point)之间的温度范围, 而超冷温度是指冰点至冰晶形成阈值温度之间的温度范围。如: 当蒸馏水外界温度缓慢降至0 °C, 蒸馏水并不结冰并保持液态。继续缓慢降温, 当蒸馏水温度降至-3 °C, 冰晶开始形成同时释放热能, 蒸馏水内部的温度突然上升至0 °C, 完全结冰后, 蒸馏水的温度随外界温度的降低而下降并保持

一致。蒸馏水的SZNFT是0 °C, 超冷温度是0 °C-(-3 °C)。UW液的SZNFT是0 °C-(-1 °C), 超冷温度是(-1 °C)-(-7 °C)。C3A细胞的SZNFT是0 °C-(-1 °C), 超冷温度是(-1 °C)-(-4 °C)。为了避免低温保存过程中冰晶形成且将细胞代谢降至最低, 本研究将用UW液于-0.8 °C低温保存C3A细胞且缓慢降温(温度由4 °C降至-0.8 °C时间大于60 min)。

细胞膜及细胞内细胞器质膜的完整性程度是影响细胞功能的重要因素^[15,16]。温度变化可以引起细胞膜脂质双分子位相变换(磷脂酰丝氨酸由脂质双层内侧翻向外侧, 并可与Annexin V特意结合, 是早期细胞凋亡的敏感指标)或者通透性改变(PI不能通过正常细胞膜, 但可以通过晚期凋亡细胞和死亡细胞的不完整细胞膜, 与细胞核核酸结合)等损伤, 从而影响低温保存肝细胞的活性^[17]。本研究通过Annexin V-FITC/PI双染法, 使用流式细胞仪测定细胞存活率及凋亡率发现: -0.8 °C较4 °C及0 °C明显维持了细胞膜的完整性、提高了低温保存48及72 h C3A细胞的存活率, 减少了C3A细胞凋亡率。不同低温保存时间点, -0.8 °C较4 °C及0 °C均明显抑制了反应细胞膜损伤程度的LDH的释放。

细胞内ATP含量及乳酸的释放是反应细胞内无氧代谢的敏感指标^[18]。依靠分解ATP供能

同行评价
本研究为生物人工肝研究中肝细胞保存提供了新的思路和理论依据,有一定的应用价值和参考意义。

在细胞抵抗低温损伤过程中发挥着重要的作用, ATP的耗竭可引起一系列的级联反应并最终导致不可逆的细胞损伤^[19]。本研究发现: SZNf较4℃及0℃明显提高了低温保存72 h C3A细胞内ATP含量, 抑制了72 h细胞乳酸的释放。即4℃并未完全阻断C3A细胞内无氧代谢进程, 也提示SZNf可抑制低温保存过程中降解酶的释放而减轻低温细胞损伤。另外, 细胞内ATP可保护线粒体氧化磷酸化的进行, 减轻低温保存引起的细胞肿胀及细胞内“空泡”形成, 同本研究形态观察的结果基本是一致的: -0.8℃低温保存C3A细胞72 h, 细胞体积较新鲜细胞略变大, 但是未出现4℃及0℃保存C3A细胞引起的细胞膜周围“毛刺”样改变及细胞内“空泡样”改变。Rodríguez等^[20]用UW液保存胶原酶法分离的鼠肝细胞120 h发现: 超冷温度(-4℃)较0℃明显提高了细胞存活率, 减轻了细胞膜低温保存损伤, 可能系-4℃明显抑制了细胞代谢, 提高细胞内ATP含量以及糖原含量有关, 同本研究的结果趋势基本是一致的。理论上, 超冷温度(-4℃)同零下非结冰温度(-0.8℃)相比, 将细胞保存于冰点以下, 可将细胞代谢降的更低, 但是外界温度的微变均有引起冰晶形成的可能, 进而引起不可逆的细胞损伤, 为不安全温度范围, 而零下非结冰将细胞保存于冰点以上, 为安全的温度范围, 可以有效避免冰晶的形成, 两者有无差别目前仍然不明确。

作为BLASS生物材料体外培养的肝细胞, 应具备体内肝细胞氨基清除功能(氯化铵转化试验)及白蛋白分泌等主要功能。而低温保存对不同种属肝细胞氨基清除能力及白蛋白分泌的影响可能不同: Calligaris等^[21]用UW液4℃保存鼠肝细胞72 h, 发现低温保存的肝细胞氨基清除能力和尿素合成能力同新鲜细胞无明显差异。Almada等^[22]进一步用UW液0℃保存鼠肝细胞120 h, 测定尿素合成过程中两重要限速酶(氨甲酰基合成酶 I 及鸟氨酸合成酶)活性及基因的表达。结果显示0℃低温保存肝细胞同新鲜分离鼠肝细胞的尿素合成酶的活性及基因表达无统计学差异。本研究零下非结冰保存C3A细胞, 其氨基清除能力及白蛋白分泌随时间延长呈下降的趋势, 可能系C3A为人源性高分化肿瘤细胞, 其相关酶系分化不完全^[23], 同原代鼠肝细胞相比, 易于受到低温细胞损伤。但是各时间点-0.8℃较4℃及0℃均更好的维持了肝细胞的氨基清除(尿素合成)功能及白蛋白分泌功能。

有关肝细胞在低温保存过程中死亡的机制尚未完全阐明, 除了冰晶形成、渗透压改变及化学改变如pH外, Fu等^[24]在肝细胞深低温冻存复苏后, 采用膜联蛋白相关的TUNEL法、流式细胞术及DNA梯度分析发现: 同未冻存细胞相比, 冻存后洗白凋亡指数明显增加。Kao等^[25]用UW液4℃低温保存鼠肝细胞24 h发现: 同新鲜细胞相比, 低温保存细胞凋亡指数明显增加, 同时伴有热休克蛋白(hot shock protein, HSP)表达的下降。因此, 细胞凋亡是除了坏死之外, 低温保存肝细胞死亡的另一个重要途径。本研究也通过流式细胞术分析发现: 零下非结冰(-0.8℃)较0℃及4℃明显提高了低温保存C3A细胞的存活率, 而存活率的提高主要是通过降低细胞凋亡实现的。

细胞凋亡有两个独立的途径: (1)死亡受体途径^[26-28](外源性途径即由Fas/CD95和TNFR介导的通路)。 (2)线粒体途径^[29-31](内源性途径即Cty.C, Caspase3等介导的通路)。两个途径并不是孤立存在, 具有交互作用, 而且在不同的水平还受多种调控因子的调节: Bcl-2、HSP可以通过不同途径抑制凋亡的发生, 而Bax、Bad则促进凋亡的发生, Bcl-2/Bax比值是衡量细胞凋亡指数的一个指标^[32]。关于低温保存引起细胞凋亡的具体机制仍然不清晰, 但也取得了一定的进展: Fu等^[33]将肝细胞由37℃降至32℃培养12 h, 采用流式细胞术及DNA梯度分析Fas介导的细胞凋亡作用。结果显示, 低温抑制了Fas介导的细胞凋亡。Matsushita等^[34]在冻存前细胞培养液中加入25 mmol/L广谱细胞凋亡蛋白酶抑制剂IDN-1965, 液氮冻存2 wk后复苏, 立即检测细胞凋亡指数(TUNEL法)、Caspase3活性及Cty.C释放。结果: IDN-1965明显提高了细胞存活率, 抑制了Caspase3活性及Cty.C释放。Baust等^[35]液氮冻存人成纤维细胞, 于复苏后0、6、12及24 h测定细胞存活率及Bcl-2/Bax比值, 发现: Bcl-2/Bax比值同冻存诱导的细胞凋亡明显相关。因此, 线粒体途径相关的细胞凋亡在细胞冻存损伤中发挥了重要的作用, 但是零下非结冰是否是通过线粒体途径抑制了低温损伤引起的细胞凋亡仍然不明确, 有待进一步研究。

总之, 同常规低温(4℃及0℃)相比, 使用UW液零下非结冰保存肝细胞可以明显的提高复温后细胞存活率及细胞内ATP含量, 降低低温损伤引起的细胞凋亡, 有效的保护肝细胞尿素合成功能和白蛋白分泌功能。采用零下非

结冰保存肝细胞, 建立一个“血库样”随时可用(ready to use)的肝细胞库, 可以有效地促进BLASS的发展.

4 参考文献

- Demetriou AA, Brown RS Jr, Busuttil RW, Fair J, McGuire BM, Rosenthal P, Am Esch JS 2nd, Lerut J, Nyberg SL, Salizzoni M, Fagan EA, de Hemptinne B, Broelsch CE, Muraca M, Salmeron JM, Rabkin JM, Metselaar HJ, Pratt D, De La Mata M, McChesney LP, Everson GT, Lavin PT, Stevens AC, Pitkin Z, Solomon BA. Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004; 239: 660-667; discussion 667-670
- Gerlach JC, Mutig K, Sauer IM, Schrade P, Efimova E, Mieder T, Naumann G, Grunwald A, Pless G, Mas A, Bachmann S, Neuhaus P, Zeilinger K. Use of primary human liver cells originating from discarded grafts in a bioreactor for liver support therapy and the prospects of culturing adult liver stem cells in bioreactors: a morphologic study. *Transplantation* 2003; 76: 781-786
- 冯洪玲, 李谦, 唐克诚, 杨积明, 王邦茂. 序贯结肠透析联合人工肝治疗慢性重型肝炎25例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3657-3660
- Fiegel HC, Kaufmann PM, Bruns H, Kluth D, Horch RE, Vacanti JP, Kneser U. Hepatic tissue engineering: from transplantation to customized cell-based liver directed therapies from the laboratory. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 56-66
- Lloyd TD, Orr S, Berry DP, Dennison AR. Development of a protocol for cryopreservation of hepatocytes for use in bioartificial liver systems. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34: 165-174
- Llarrull MS, Pizarro MD, Scandizzi AL, Bottai H, Guibert EE, Rodriguez JV. Cold preservation of isolated hepatocytes in UW solution: experimental studies on the respiratory activity at 0 degrees C. *Cryo Letters* 2007; 28: 313-328
- Fleming KK, Hubel A. Cryopreservation of hematopoietic and non-hematopoietic stem cells. *Transfus Apher Sci* 2006; 34: 309-315
- Matsumoto N, Yoshizawa H, Kagamu H, Abe T, Fujita N, Watanabe S, Kuriyama H, Ishiguro T, Tanaka J, Suzuki E, Kobayashi K, Gemma A, Kudoh S, Gejyo F. Successful liquid storage of peripheral blood stem cells at subzero non-freezing temperature. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 777-784
- Soltys KA, Batta AK, Koneru B. Successful nonfreezing, subzero preservation of rat liver with 2,3-butanediol and type I antifreeze protein. *J Surg Res* 2001; 96: 30-34
- Ambros JT, Herrero-Fresneda I, Borau OG, Boira JM. Ischemic preconditioning in solid organ transplantation: from experimental to clinics. *Transpl Int* 2007; 20: 219-229
- Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676
- Shanina IV, Kravchenko LP, Fuller BJ, Grischenko VI. A comparison of a sucrose-based solution with other preservation media for cold storage of isolated hepatocytes. *Cryobiology* 2000; 41: 315-318
- 陈钟, 丁义涛, 张鹤云. 乳猪肝细胞的低温保存. *世界华人消化杂志* 2002; 10: 173-176
- Guibert EE, Almada LL, Mamprin ME, Bellarosa C, Pizarro MD, Tiribelli C, Rodriguez JV. Subzero nonfreezing storage of rat hepatocytes using UW solution and 1,4-butanediol. II- functional testing on rewarming and gene expression of urea cycle enzymes. *Ann Hepatol* 2009; 8: 129-133
- Limaye LS, Kale VP. Cryopreservation of human hematopoietic cells with membrane stabilizers and bioantioxidants as additives in the conventional freezing medium. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10: 709-718
- Sasnoor LM, Kale VP, Limaye LS. Supplementation of conventional freezing medium with a combination of catalase and trehalose results in better protection of surface molecules and functionality of hematopoietic cells. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 553-564
- Katenz E, Vondran FW, Schwartlander R, Pless G, Gong X, Cheng X, Neuhaus P, Sauer IM. Cryopreservation of primary human hepatocytes: the benefit of trehalose as an additional cryoprotective agent. *Liver Transpl* 2007; 13: 38-45
- Dabos KJ, Parkinson JA, Nelson LJ, Sadler IH, Hayes PC, Plevris JN. The effect of hypothermia on primary porcine hepatocyte metabolism monitored by (1H) nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 283-293
- 卢思聪, 吕凌, 张峰. 移植肝的保存. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2805-2808
- Rodríguez JV, Almada LL, Mamprin ME, Guibert EE, Furno G. Subzero nonfreezing storage of rat hepatocytes using modified University of Wisconsin solution (mUW) and 1,4-butanediol. I-effects on cellular metabolites during cold storage. *Ann Hepatol* 2009; 8: 57-62
- Calligaris SD, Almada LL, Guibert EE, Tiribelli C, Rodriguez JV. Ammonium detoxifying activity is maintained after 72 hours of cold preservation of rat hepatocytes in University of Wisconsin (UW) solution. *Cryo Letters* 2002; 23: 245-254
- Almada L, Bellarosa C, Giraudi P, Mamprin M, Mediavilla M, Guibert E, Tiribelli C, Rodríguez J. Gene expression and activity of urea cycle enzymes of rat hepatocytes cold stored up to 120h in University of Wisconsin solution. *Cryobiology* 2006; 52: 393-400
- Kinasiewicz A, Gautier A, Lewinska D, Bukowski J, Legallais C, Weryński A. Culture of C3A cells in alginate beads for fluidized bed bioartificial liver. *Transplant Proc* 2007; 39: 2911-2913
- Fu T, Guo D, Huang X, O'Gorman MR, Huang L, Crawford SE, Soriano HE. Apoptosis occurs in isolated and banked primary mouse hepatocytes. *Cell Transplant* 2001; 10: 59-66
- Kao YH, Goto S, Jawan B, Nakano T, Hsu LW, Lin YC, Pan MC, Lai CY, Sun CK, Cheng YF, Tai MH, Huang HT, Chen CL. Heat preconditioning ameliorates hepatocyte viability after cold preservation and rewarming, and modulates its immunoactivity. *Transpl Immunol* 2008; 18: 220-231
- Keckler MS. Dodging the CTL response: viral evasion of Fas and granzyme induced apoptosis. *Front Biosci* 2007; 12: 725-732
- Wesche-Soldato DE, Chung CS, Gregory SH, Salazar-Mather TP, Ayala CA, Ayala A. CD8+ T cells promote inflammation and apoptosis in the liver after sepsis: role of Fas-FasL. *Am J Pathol* 2007;

- 171: 87-96
- 28 张晓华, 袁柏思, 朱人敏. Fas/FasL在急性胰腺炎肝损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1661-1665
- 29 Kuo HM, Tsai HC, Lin YL, Yang JS, Huang AC, Yang MD, Hsu SC, Chung MC, Gibson Wood W, Chung JG. Mitochondrial-dependent caspase activation pathway is involved in baicalein-induced apoptosis in human hepatoma J5 cells. *Int J Oncol* 2009; 35: 717-724
- 30 Chen J, Delannoy M, Odwin S, He P, Trush MA, Yager JD. Enhanced mitochondrial gene transcript, ATP, bcl-2 protein levels, and altered glutathione distribution in ethinyl estradiol-treated cultured female rat hepatocytes. *Toxicol Sci* 2003; 75: 271-278
- 31 Guha M, Kumar S, Choubey V, Maity P, Bandyopadhyay U. Apoptosis in liver during malaria: role of oxidative stress and implication of mitochondrial pathway. *FASEB J* 2006; 20: 1224-1226
- 32 Ping P, Murphy E. Role of p38 mitogen-activated protein kinases in preconditioning: a detrimental factor or a protective kinase? *Circ Res* 2000; 86: 921-922
- 33 Fu T, Blei AT, Takamura N, Lin T, Guo D, Li H, O'Gorman MR, Soriano HE. Hypothermia inhibits Fas-mediated apoptosis of primary mouse hepatocytes in culture. *Cell Transplant* 2004; 13: 667-676
- 34 Matsushita T, Yagi T, Hardin JA, Cragun JD, Crow FW, Bergen HR 3rd, Gores GJ, Nyberg SL. Apoptotic cell death and function of cryopreserved porcine hepatocytes in a bioartificial liver. *Cell Transplant* 2003; 12: 109-121
- 35 Baust JM, Vogel MJ, Snyder KK, Van Buskirk RG, Baust JG. Activation of Mitochondrial-Associated Apoptosis Contributes to Cryopreservation Failure. *CPT* 2007; 5: 155-163

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 •

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)

重组人p53腺病毒基因经介入后在兔VX2肝癌中表达

罗仕华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 周国锋, 夏向文

罗仕华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 周国锋, 夏向文, 华中科技大学同济医学院附属协和医院介入放射科 湖北省武汉市 430022

罗仕华, 在读博士, 主要从事肝癌介入治疗研究。

作者贡献分布: 罗仕华与郑传胜对此文所作贡献均等; 郑传胜是该研究的负责人; 此课题由罗仕华与郑传胜设计; 研究过程由罗仕华与夏向文操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由罗仕华提供; 病理检测过程由罗仕华与夏向文完成; 数据分析由罗仕华完成; 本文写作由罗仕华与郑传胜完成; 冯敢生、梁惠民及周国锋对本课题的完成给予指导。

通讯作者: 郑传胜, 教授, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院介入放射科. hqzcsxh@sina.com

电话: 027-85726432 传真: 027-85726433

收稿日期: 2009-10-29 修回日期: 2009-12-31

接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Expression of recombinant human adenovirus-p53 gene delivered into rabbit VX2 tumors by interventional methods

Shi-Hua Luo, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Guo-Feng Zhou, Xiang-Wen Xia

Shi-Hua Luo, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Guo-Feng Zhou, Xiang-Wen Xia, Department of Interventional Radiology, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Professor Chuan-Sheng Zheng, Department of Interventional Radiology, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. hqzcsxh@sina.com

Received: 2009-10-29 Revised: 2009-12-31

Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of recombinant human adenovirus-p53 gene (rAd-p53, 1×10^{12} VP) delivered into rabbit VX2 tumors by interventional methods.

METHODS: Thirty New Zealand rabbits were used to establish an animal model of hepatocarcinoma by implantation of the VX2 tumors into the liver. Eleven days after implantation, magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT) scans were performed. Successful implantation was achieved in 27 rabbits. These rabbits were randomly divided into three groups: A,

B and C. Groups A and B were infused through the hepatic artery with rAd-p53 (5×10^6 VP) alone and rAd-p53 (5×10^6 VP) plus lipiodol ultra fluid (0.5 mL), respectively, while group C was injected with rAd-p53 (5×10^6 VP) into tumors by surgery. All model rabbits underwent digital subtraction angiography (DSA) during operation. The expression of P53, Bax and Bcl-2 proteins in tumor and peritumoral tissue was detected by immunohistochemistry at 24 and 72 hours and on 6 days after the operation.

RESULTS: MRI and CT scans showed that successful implantation was achieved in 27 rabbits, and the success rate was 95%. Immunohistochemical analysis indicated that P53, Bax and Bcl-2 proteins were expressed in all the three groups. The expression levels of P53 and Bax reached the peak at 72 hours. The expression levels of P53 and Bax in group C at 72 hours were significantly higher than those in groups A and B (P53: $70.3\% \pm 3.4\%$ vs $62.4\% \pm 3.2\%$ and $65.4\% \pm 2.1\%$; Bax: $43.7\% \pm 2.1\%$ vs $35.7\% \pm 1.3\%$ and $37.6\% \pm 2.4\%$, respectively; all $P < 0.05$). In contrast, the expression level of Bcl-2 in group C at 72 hours was significantly lower than those in groups A and B ($12.0\% \pm 2.6\%$ vs $18.0\% \pm 4.3\%$ and $16.2\% \pm 3.1\%$, respectively; both $P < 0.05$).

CONCLUSION: P53 protein is expressed in rabbit VX2 tumors in a time-dependent manner. The expression level of P53 protein depends on the delivery methods used. The highest expression of P53 protein is achieved by intratumoral injection, followed by infusion of rAd-p53 plus lipiodol ultra fluid and rAd-p53 alone through the hepatic artery.

Key Words: Rabbit VX2 tumor; Hepatocarcinoma model; rAd-p53; Gene expression

Luo SH, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Zhou GF, Xia XW. Expression of recombinant human adenovirus-p53 gene delivered into rabbit VX2 tumors by interventional methods. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 437-442

摘要

目的: 探讨重组人p53腺病毒基因(rAd-p53, 1

背景资料

随着基因工程技术的发展, 基因治疗肿瘤已经成为新的趋势。重组人p53腺病毒基因(rAd-p53)是野生型p53基因重组入腺病毒的重组体, 已经广泛应用于临床。目前介入治疗已成为不可切除肝癌的主要治疗方法, 而经介入引入rAd-p53治疗肝癌可能会成为导入目的基因的一种新途径。

同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

相关报道

rAd-p53基因已经广泛应用于临床,特别是在头颈部肿瘤中的应用,并已经取得了较好的临床效果,患者的带瘤生存率有一定的提高,生活质量得到改善。

$\times 10^{12}$ VP/支)经介入在兔VX2肝癌中的表达特点,为临床应用提供理论依据。

方法: 将30只新西兰大白兔采用移植法建立兔VX2移植性肝癌模型,于移植术11 d行MRI、CT检查。随机抽取27只移植成功的荷瘤兔,平均分成3组: A组: 经肝动脉单纯灌注rAd-p53(5×10^6 VP); B组: rAd-p53(5×10^6 VP)+超液态碘油(每只0.5 mL)经肝动脉灌注; C组: 瘤内rAd-p53(5×10^6 VP)直接导入。所有荷瘤兔术中均行DSA。介入术后24、72 h, 6 d分别处死实验兔,免疫组织化学方法检测肿瘤组织及瘤周P53和Bax、Bcl-2蛋白的表达。

结果: 30只大白兔均经MRI及CT检查,证实有27只肿瘤成功,成功率95%。免疫组织化学检测各组中P53和Bax蛋白均有表达,于72 h达到最高峰,以C组表达率最高,与其他两组有显著性差异(P53: $70.3\% \pm 3.4\%$ vs $62.4\% \pm 3.2\%$, $65.4\% \pm 2.1\%$; Bax: $43.7\% \pm 2.1\%$ vs $35.7\% \pm 1.3\%$, $37.6\% \pm 2.4\%$, 均 $P < 0.05$); C组对Bcl-2蛋白表达率最低,在72 h达最低点,与其他两组有显著性差异($12.0\% \pm 2.6\%$ vs $18.0\% \pm 4.3\%$, $16.2\% \pm 3.1\%$, 均 $P < 0.05$)。

结论: P53、Bax、Bcl-2蛋白在兔VX2肝癌模型中的表达呈现时间曲线关系; 不同rAd-p53介入导入方式P53蛋白表达不同,以瘤内及瘤周直接注射方式表达最高,超液态碘油混合灌注及单纯肝动脉灌注次之。

关键词: 兔VX2肿瘤; 肝癌模型; 重组人p53腺病毒基因; 基因表达

罗仕华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 周国锋, 夏向文. 重组人p53腺病毒基因经介入后在兔VX2肝癌中表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 437-442

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/437.asp>

0 引言

肝癌作为第4大恶性肿瘤,每年患者已逾100万^[1]。在中国,每年约30万人死于原发性肝癌^[2]。兔VX2肝癌细胞因其与人体肝癌细胞生长方式相近,目前被广泛应用于介入治疗的动物实验研究。由于野生型P53蛋白的半衰期很短,在细胞内含量低,所以正常肝细胞内难以检测到P53蛋白的表达^[3]。本实验旨在建立兔VX2移植性肝癌模型,采用介入学方法将抑癌基因p53导入兔VX2移植性肝癌模型内,观察P53、Bax及Bcl-2蛋白表达特点,为临床应用rAd-p53治疗肝癌提

供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 新西兰大白兔30只,雌雄不限,体质量2-2.5 kg,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供; VX2肿瘤细胞由华中科技大学同济医学院肝胆外科穆拉德博士惠赠; 重组人p53腺病毒基因注射液(rAd-p53, 1×10^{12} VP/支)由深圳赛百诺基因技术有限公司惠赠; 超液态碘油为法国Aulnay-sous-Bios公司生产; 兔麻醉用速眠新II注射液购自军事医学科学院军事兽医研究所。

1.2 方法

1.2.1 造模: 参照文献[4]的方法建立兔VX2肝癌模型,术后氨苄青霉素抗炎处理。

1.2.2 分组及治疗: 分别于移植术后11 d行MRI、CT检查,采用Siemens Avanto 1.5 T MRI仪,CT检查采用Somatom Sensation 16螺旋CT扫描仪。所有荷瘤兔均行DSA摄影,DSA使用Siemens Bicolor Top型血管造影机,选用1 mL非离子型对比剂优维显(Ultravist300)推注。将27只经影像检测肿瘤成功荷瘤兔随机平均分为3组, A组: 经肝动脉单纯灌注rAd-p53(5×10^6 VP); B组: rAd-p53(5×10^6 VP)+超液态碘油每只0.5 mL经肝动脉灌注; C组: 瘤内rAd-p53(5×10^6 VP)直接导入。

1.2.3 介入导入: (1)经肝动脉途径: 参照文献方法^[5],在完成影像检查后随即用自制的带有连接管的细针行经肝动脉途径治疗; (2)直接注射途径: 参照文献方法^[6],荷瘤兔在完成影像检查,在直视下用1 mL注射器向瘤内、肿瘤边缘及瘤周注射药物。

1.2.4 免疫组织化学检测: 介入导入术后分别于24 h、72 h、6 d处死实验兔,通过免疫组织化学法检测肿瘤组织及瘤周0.5 cm处P53和Bax、Bcl-2蛋白的表达。取固定于100 g/L中性甲醛1-2 wk的组织标本,将标本固定于标本台上,常规石蜡包埋。兔抗兔P53、Bax及Bcl-2抗体及相应二抗均购自武汉博士德生物工程有限公司; SP试剂盒及3'3'-二氨基联苯胺(浓缩型DAB)显色试剂盒购自美国Santa Cruz公司,北京中杉生物技术有限公司国内分装。免疫组织化学采用Histostain™ S-P(链霉卵白素-过氧化物酶)法免疫组织化学LAB-S技术,用PBS代替一抗作阴性对照,免疫组织化学染色按试剂盒方法进行。每张切片3个视野,400倍,计数100个细胞中阳性细胞数,取均值,以百分数(%)表示,均以平均阳性细胞>10%定为阳性。P53、Bax、Bcl-2结果判

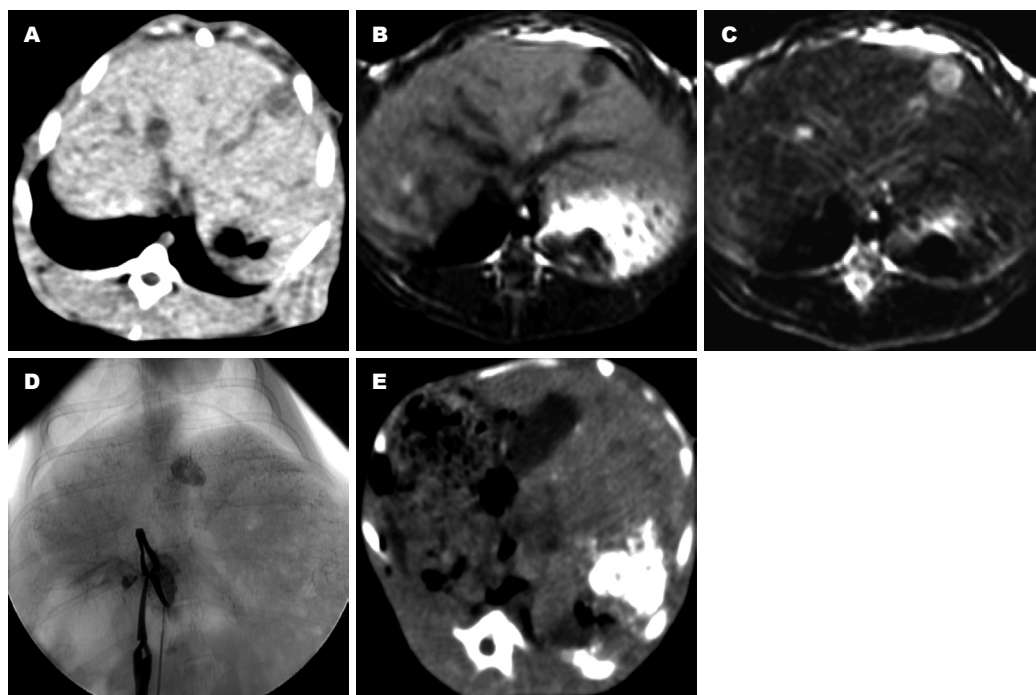


图1 荷瘤兔介入术前影像学表现. A: 肿瘤种植11 d CT像; B: 肿瘤种植11 d T1WI像; C: 肿瘤种植11 d T2WI像; D: 肿瘤种植11 d DSA像; E: 超液态碘油+rAd-*p53*栓塞后.

创新盘点
本研究结合传统肝癌介入疗法导入rAd-*p53*基因, 重点研究了*p53*及其凋亡相关蛋白在肿瘤组织中的表达特点.

断: P53蛋白表达阳性: P53蛋白定位于肿瘤细胞核, 呈棕黄色颗粒状或团块、簇状; Bax蛋白表达阳性: Bax的表达阳性为胞质棕黄色; Bcl-2蛋白表达阳性: Bcl-2蛋白产物定位于肿瘤胞质内, 呈棕黄色染色.

统计学处理 多组间的比较采用方差分析, 多组的两两间比较采用Student-Newman-Keuls法检验, 两组间比较采用成组*t*检验, 对方差不齐者采用秩和检验, 确定 $P < 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 影像学检查 移植术11 d影像检查显示27只种植成功, 2只术后死亡, 1只经影像学检查未明显瘤灶. 瘤灶位于肝左叶, 呈单一肿块. CT平扫呈结节样低密度或等密度, 与周围正常肝组织分界清楚. MRI扫描TW1低信号, TW2高信号, 信号均匀, 边界清楚, 13例肿瘤中心出现不同程度坏死, 与未坏死组织信号对比TW1上表现为更低信号, TW2表现为更高信号, 平均直径为 $8.2 \text{ mm} \pm 0.6 \text{ mm}$. 血管造影显示肿瘤血供主要来自于肝动脉, 为富血管性, 见较多小血管, 其走行不规则, 排列紊乱, 部分供血动脉被瘤体推压成“抱球状”, 可见肿瘤染色, 有时呈结节状染色, 且染色可持续数分钟. 介入导入术后CT平扫示碘油沉积良好(图1).

2.2 基因表达 正常肝细胞内未见P53蛋白表达

(图2A), 在癌细胞核内P53蛋白表达呈棕黄色颗粒状或团块、簇状染色, 且于24 h处于一般水平, 72 h较高, 6 d后复降至一般水平, 表明P53蛋白的表达呈现时间上升下降曲线关系; 三组中, 两两比较有显著性意义($P < 0.05$), 以C组表达水平最高. Bax蛋白表达表现为癌细胞胞质内呈棕黄色颗粒状、簇状染色, 与P53蛋白表达一样具有24 h处于一般水平, 72 h较高, 6 d后复降至一般水平的现象, 表明Bax蛋白的表达呈现时间上升下降曲线关系; 同时, 三组中, 两两比较有显著性意义(均 $P < 0.05$), 以C组表达水平最高. Bcl-2蛋白的表达在癌细胞胞质中呈簇状、条状棕黄色染色, 以24 h及6 d时表达水平较高, 72 h时处于较低水平表达, 呈现时间性下降上升关系, 两两比较有显著性意义($P < 0.05$), 以C组表达水平最低(表1, 图2, 3).

3 讨论

*p53*基因属于一种抑癌基因, 主要参与细胞周期调控, 作为反式作用因子或转录因子调节基因的表达^[7], 还参与细胞间信号传递途径, 以及和细胞生长及迁移有关^[8]. *p53*基因突变或功能缺失是许多肿瘤发生重要原因^[9]. 突变型*p53*基因可灭活野生型*p53*基因的功能, 导致上述功能的丧失, 促进肿瘤的发生^[10]. 导入重组人*p53*腺病毒基因治疗各种肿瘤已广泛应用于临床, 较明显

应用要点
 本研究表明, rAd-*p53*基因与传统介入方法结合能增强介入治疗肝癌的效果. 且 rAd-*p53*基因治疗肝癌以介入导入方法较佳.

表 1 三组免疫组织化学法检测P53、Bax和Bcl-2的表达 (mean \pm SD, %)

分组	P53			Bax			Bcl-2		
	24 h	72 h	6 d	24 h	72 h	6 d	24 h	72 h	6 d
A组	19.6 \pm 5.2	62.4 \pm 3.2	18.7 \pm 3.4	8.5 \pm 1.2	35.7 \pm 1.3	9.8 \pm 2.4	30.4 \pm 3.0	18.0 \pm 4.3	29.6 \pm 4.3
B组	20.2 \pm 4.3	65.4 \pm 2.1	19.6 \pm 4.2	11.3 \pm 2.1	37.6 \pm 2.4	10.3 \pm 2.1	28.3 \pm 2.2	16.2 \pm 3.1	27.7 \pm 3.3
C组	26.5 \pm 6.0	70.3 \pm 3.4	26.3 \pm 4.3	17.6 \pm 2.2	43.7 \pm 2.1	16.8 \pm 1.6	24.2 \pm 4.3	12.0 \pm 2.6	23.8 \pm 2.5
P值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

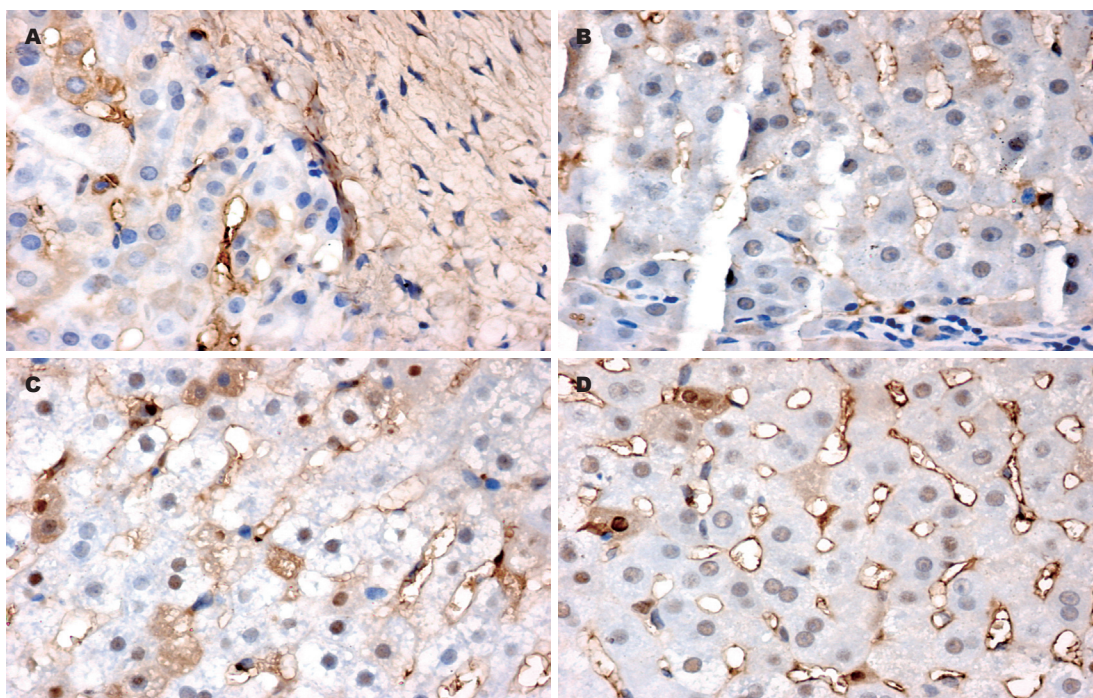
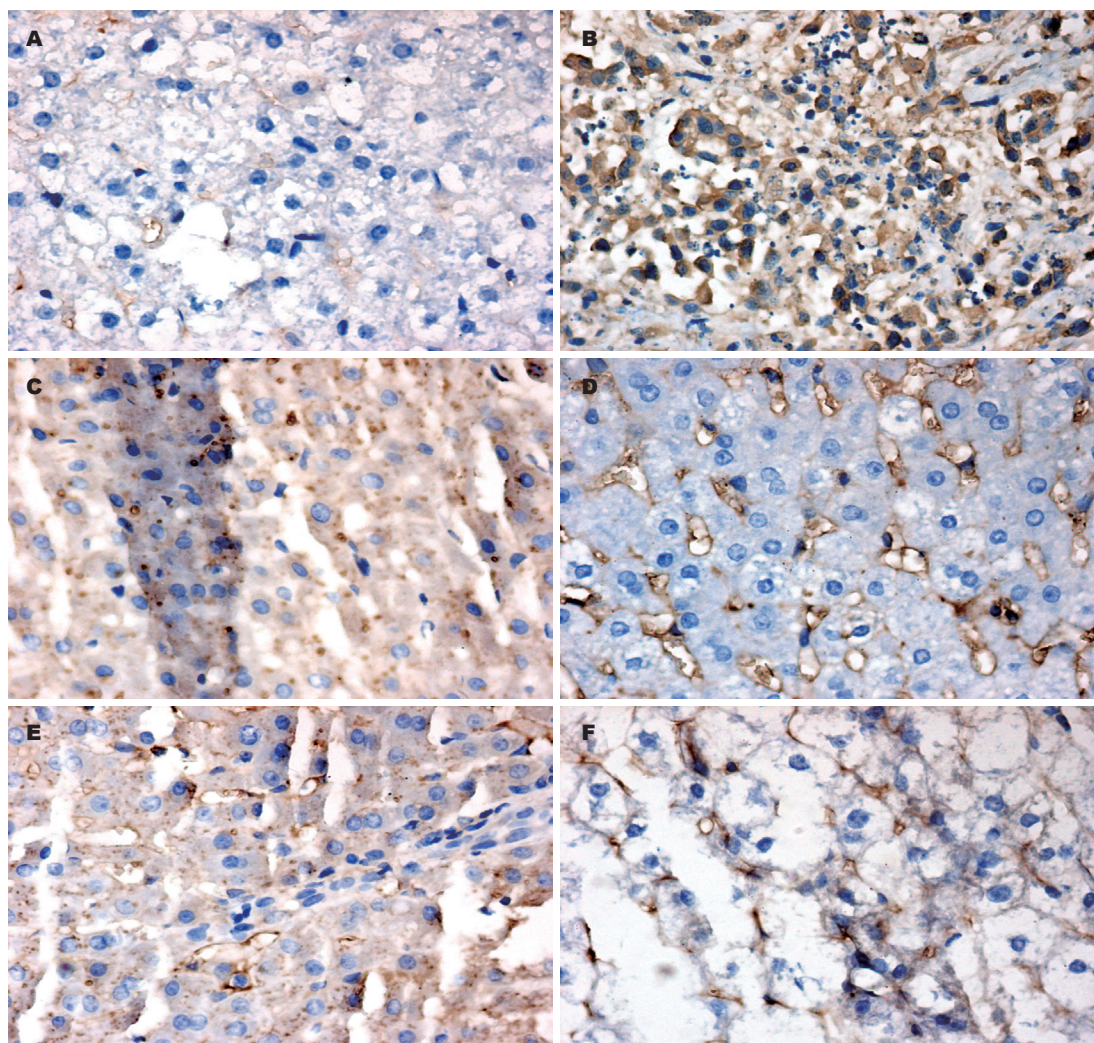


图 2 免疫组织化学法检测P53蛋白在细胞内表达($\times 400$)。A: 肿瘤细胞核内P53表达呈棕黄色正常肝组织无表达; B: A组72 h肿瘤细胞核内表达呈棕黄色; C: B组72 h肿瘤细胞核内表达呈棕黄色; D: C组肿瘤细胞核内表达呈棕黄色。

效果的是头颈部肿瘤, 但存在全身不良反应大, 转染效率不高等特点^[11]。rAd-*p53*治疗各种肿瘤已经广泛应用于临床, 亦有经介入途径导入移植性兔VX2肝癌模型进行实验研究^[12], 但其结果只限于P53蛋白表达与否, 未见报道从动物实验出发将重组人*p53*腺病毒基因导入肝癌组织内来阐明其具体表达特点。

本实验采用重组人*p53*腺病毒基因为目的基因, 以局部靶向给药的方式以期望*p53*基因的定向表达, 一方面可以达到靶向给药浓度, 提高表达效率, 另一方面又能降低外周血药浓度, 从而减轻腺病毒的全身不良反应, 提高基因治疗的安全性。实验结果显示P53蛋白在三组不同的给药方式中均能表达, 表达率高于50%, 表现为VX2肝癌细胞核中棕黄色小体形成。三组中导入rAd-*p53*于肝癌细胞24 h后, P53蛋白在核内已见表达, 72 h可见强阳性表达, 到第6天则已为弱

阳性表达, 呈现时间曲线关系, 造成此类现象的原因可能为当基因片段载入肝癌细胞后, 与P53蛋白的代谢、自身构象所致半衰期短及基因片段已耗尽有关^[13]。目前基因治疗的一大难题是转染的效率不高^[14], 表达效率则更为低^[15], 本实验P53蛋白的表达均已达50%以上, 单纯肝动脉灌注及与超液态碘油混合无明显差异, 而直接瘤周及瘤周注射较高, 表明直接导入方式更适合于基因的表达, 可能与经肝动脉方式导入后基因片段容易随血流分布到肿瘤区域之外, 降低了局部基因片段浓度所致。有学者报道腺病毒基因在临床上全身应用能导致病毒颗粒及转导细胞强烈的免疫反应^[16], 产生急性炎症反应^[17], 从而使腺病毒载体及基因片段受到破坏, 都有可能造成其表达效率降低^[18]。而直接注射方式避免了上述原因, 从而有较高的表达效率, 但此种方式亦有不能使整个肿瘤区域



同行评价
本文对肝癌的不同介入治疗方式进行了研究, 其结果为临床治疗的实施提供了较好的参考。

图3 免疫组织化学法检测Bax、Bcl-2蛋白在细胞内表达($\times 400$)。A, B: A组肿瘤细胞质内72 h表达呈棕黄色; C, D: B组肿瘤细胞质内72 h表达呈棕黄色; E, F: C组肿瘤细胞质内72 h表达呈棕黄色。A, C, E: Bax; B, D, F: Bcl-2。

细胞转染的缺点, 所以直接导入方式与常规肝动脉介入治疗配合应用则可增强肝癌综合治疗效果。实验结果显示仍有部分阴性表达, 其原因可能是导入rAd-p53的量不够, 瘤内注射的药物不能到达整个肿块, 也有可能是腺病毒载体受到破坏转染失败所致。

实验结果显示Bax及Bcl-2蛋白均在肝癌细胞胞质内呈现棕黄色染色。bax及bcl-2基因是由p53基因介导的细胞凋亡调控相关基因^[19]。当p53基因活化表达P53蛋白后, P53蛋白可通过促进bax基因, 胰岛素样生长因子结合蛋白3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGF-BP3)及fas受体基因的转录^[20], 表达出的产物Bax蛋白可与Bcl-2蛋白结合, 阻断他的抑制凋亡作用^[21], 产物IGF-BP3可使胰岛素样生长因子失活, 从而抑制与之有关的抗凋亡信号转导^[22]; fas受体表达则有利于fas介导的细胞凋亡^[23]。本实验发现

三组Bcl-2家族Bax蛋白增高, 在导入P53于肝癌组织细胞24 h后, 肿瘤细胞胞质内已见表达, 72 h可见强阳性表达, 到第6天则已为弱阳性表达。而与之相反的Bcl-2蛋白在导入p53基因于肝癌组织细胞24 h, 肿瘤细胞胞质内阳性表达, 72 h可见弱阳性表达, 到第6天则已为强阳性表达。表明P53蛋白通过Bax、Bcl-2途径诱导肿瘤细胞凋亡机制而使Bax蛋白与P53蛋白的表达同样呈时间曲线关系, 而Bcl-2则相反, 验证了P53蛋白的促进肝癌细胞凋亡的作用。

总之, 经介入途径导入重组人p53腺病毒基因于兔VX2移植性肝癌模型, P53蛋白安全高效表达表达, 呈现时间曲线关系, Bax、Bcl-2蛋白的表达与P53蛋白表达相关; 不同的rAd-p53介入导入方式P53、Bax、Bcl-2蛋白表达不同, 以瘤内及瘤周直接注射方式表达最高, 超液态碘油混合灌注及单纯肝动脉灌注次之。通过对

rAd-p53在兔VX2肝癌中表达特点的观察, 表明rAd-p53于临床应用时, 以直接瘤内及瘤周注射方式效果最好, 亦可与传统碘油混合行栓塞治疗, 但基因表达效果次之。

4 参考文献

- 1 Cha C, DeMatteo RP, Blumgart LH. Surgery and ablative therapy for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: S130-S137
- 2 芮静安. 原发性肝癌的治疗研究新进展. 临床肝胆病杂志 2006; 22: 244-246
- 3 Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. *Lancet Oncol* 2009; 10: 913-919
- 4 周承凯, 梁惠民, 李欣, 柳曦. 实验兔VX2肝肿瘤模型制作及动脉插管技术探讨. 介入放射学杂志 2006; 15: 101-104
- 5 Seol JG, Heo DS, Kim HK, Yoon JH, Choi BI, Lee HS, Kim NK, Kim CY. Selective gene expression in hepatic tumor with trans-arterial delivery of DNA/liposome/transferrin complex. *In Vivo* 2000; 14: 513-517
- 6 官泳松, 孙龙, 周翔平, 李肖, 贺庆, 刘源. 重组人P53腺病毒基因局部注射联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌. 世界华人消化杂志 2005; 13: 125-127
- 7 Spurgers KB, Gold DL, Coombes KR, Bohnenstiehl NL, Mullins B, Meyn RE, Logothetis CJ, McDonnell TJ. Identification of cell cycle regulatory genes as principal targets of p53-mediated transcriptional repression. *J Biol Chem* 2006; 281: 25134-25142
- 8 Zhang Y, Lu H. Signaling to p53: ribosomal proteins find their way. *Cancer Cell* 2009; 16: 369-377
- 9 Bourdon JC. p53 and its isoforms in cancer. *Br J Cancer* 2007; 97: 277-282
- 10 Suad O, Rozenberg H, Brosh R, Diskin-Posner Y, Kessler N, Shimon LJ, Frolov F, Liran A, Rotter V, Shakked Z. Structural basis of restoring sequence-specific DNA binding and transactivation to mutant p53 by suppressor mutations. *J Mol Biol* 2009; 385: 249-265
- 11 Frank DK. Gene therapy for head and neck cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11: 589-606, vi-vii
- 12 Gu T, Li CX, Feng Y, Wang Q, Li CH, Li CF. Trans-arterial gene therapy for hepatocellular carcinoma in a rabbit model. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2113-2117
- 13 Peñuelas I, Mazzolini G, Boán JF, Sangro B, Martí-Clement J, Ruiz M, Ruiz J, Satyamurthy N, Qian C, Barrio JR, Phelps ME, Richter JA, Gambhir SS, Prieto J. Positron emission tomography imaging of adenoviral-mediated transgene expression in liver cancer patients. *Gastroenterology* 2005; 128: 1787-1795
- 14 Farlow SJ, Jerusalmi A, Sano T. Enhanced transduction of colonic cell lines in vitro and the inflamed colon in mice by viral vectors, derived from adeno-associated virus serotype 2, using virus-microbead conjugates bearing lectin. *BMC Biotechnol* 2007; 7: 83
- 15 Kang Y, Zhang X, Jiang W, Wu C, Chen C, Zheng Y, Gu J, Xu C. Tumor-directed gene therapy in mice using a composite nonviral gene delivery system consisting of the piggyBac transposon and polyethylenimine. *BMC Cancer* 2009; 9: 126
- 16 Gérolami R, Cardoso J, Bralet MP, Cuenod CA, Clément O, Tran PL, Bréchet C. Enhanced in vivo adenovirus-mediated gene transfer to rat hepatocarcinomas by selective administration into the hepatic artery. *Gene Ther* 1998; 5: 896-904
- 17 Su C, Cao H, Tan S, Huang Y, Jia X, Jiang L, Wang K, Chen Y, Long J, Liu X, Wu M, Wu X, Qian Q. Toxicology profiles of a novel p53-armed replication-competent oncolytic adenovirus in rodents, felids, and nonhuman primates. *Toxicol Sci* 2008; 106: 242-250
- 18 Krougliak VA, Krougliak N, Eisensmith RC. Stabilization of transgenes delivered by recombinant adenovirus vectors through extrachromosomal replication. *J Gene Med* 2001; 3: 51-58
- 19 Sun T, Chen C, Wu Y, Zhang S, Cui J, Shen P. Modeling the role of p53 pulses in DNA damage-induced cell death decision. *BMC Bioinformatics* 2009; 10: 190
- 20 el-Deiry WS. Regulation of p53 downstream genes. *Semin Cancer Biol* 1998; 8: 345-357
- 21 Tucker CA, Kapanen AI, Chikh G, Hoffman BG, Kyle AH, Wilson IM, Masin D, Gascoyne RD, Bally M, Klasa RJ. Silencing Bcl-2 in models of mantle cell lymphoma is associated with decreases in cyclin D1, nuclear factor-kappaB, p53, bax, and p27 levels. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 749-758
- 22 Tagawa M, Kawamura K, Shimozato O, Ma G, Li Q, Suzuki N, Shimada H, Ochiai T. Virology- and immunology-based gene therapy for cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55: 1420-1425
- 23 Kong XT, Gao H, Stanbridge EJ. Mechanisms of differential activation of target gene promoters by p53 hinge domain mutants with impaired apoptotic function. *J Biol Chem* 2001; 276: 32990-33000

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

Cdc42基因在表皮生长因子促进HepG2细胞丝状伪足形成中的作用

张勇, 江隆昌, 胡青钢, 刘小卫, 熊俊, 郑启昌

张勇, 江隆昌, 胡青钢, 刘小卫, 熊俊, 郑启昌, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022
张勇, 博士, 主治医师, 主要从事肿瘤分子生物学及肝移植方面的研究。

作者贡献分布: 张勇与江隆昌对此文所作贡献均等; 此课题由张勇、江隆昌及郑启昌设计; 研究过程由张勇、江隆昌、胡青钢及刘小卫操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由郑启昌提供; 数据分析由刘小卫与熊俊完成; 本论文写作由张勇与江隆昌完成。

通讯作者: 郑启昌, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。

zqc654@21cn.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2009-11-06 修回日期: 2009-12-02

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-02-18

Involvement of Cdc42 in epidermal growth factor-stimulated formation of filopodia in HepG2 cells

Yong Zhang, Long-Chang Jiang, Qing-Gang Hu, Xiao-Wei Liu, Jun Xiong, Qi-Chang Zheng

Yong Zhang, Long-Chang Jiang, Qing-Gang Hu, Xiao-Wei Liu, Jun Xiong, Qi-Chang Zheng, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Professor Qi-Chang Zheng, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zqc654@21cn.com

Received: 2009-11-06 Revised: 2009-12-02

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To explore the role of Cdc42 in epidermal growth factor (EGF)-stimulated formation of filopodia in HepG2 cells.

METHODS: HepG2 cells were divided into four groups: normal control group, EGF-treated group, small interfering RNA (siRNA) transfection group, and EGF-treated siRNA transfection group. The siRNA targeting the Cdc42 gene was introduced into HepG2 cells by liposome-mediated transfection. The expression of Cdc42 mRNA and protein was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively. Actin-tracker

green fluorescent probe was used to detect the formation of filopodia in HepG2 cells. Cell migration was measured by Transwell migration assay.

RESULTS: No significant differences were noted in the expression levels of total Cdc42 protein and Cdc42 mRNA between the EGF-treated group and the normal control group. However, the expression level of active Cdc42 protein was significantly higher in the EGF-treated group than in the normal control group (0.713 ± 0.021 vs 0.423 ± 0.015 , $P < 0.05$). Transfection of siRNA targeting the Cdc42 gene could not only inhibit the expression of Cdc42 protein and mRNA (0.118 ± 0.017 vs 1.128 ± 0.024 , and 0.351 ± 0.021 vs 0.936 ± 0.024 , respectively; both $P < 0.05$) but also reduce filopodia formation and cell migration in EGF-treated cells (98.43 ± 3.11 vs 61.09 ± 3.58 , 50.53 ± 2.34 and 62.73 ± 2.64 , respectively; all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Cdc42 activation is crucial for EGF-stimulated filopodia formation and cell migration in HepG2 cells.

Key Words: Cell division cycle 42; Epidermal growth factor; Hepatic carcinoma; Small interfering RNA

Zhang Y, Jiang LC, Hu QG, Liu XW, Xiong J, Zheng QC. Involvement of Cdc42 in epidermal growth factor-stimulated formation of filopodia in HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 443-446

摘要

目的: 探讨表皮生长因子(EGF)对HepG2细胞丝状伪足形成和细胞体外侵袭能力的影响以及细胞分裂周期蛋白42(Cdc42)在其中的作用。

方法: 将Cdc42 siRNA转染HepG2细胞株, RT-PCR和Western blot检测EGF组、EGF+siRNA干扰组、siRNA干扰组及空白对照组细胞Cdc42 mRNA转录以及蛋白的表达水平, 微丝绿色荧光探针(actin-tracker green)染色检测HepG2细胞丝状伪足形成, 侵袭小室检测细胞体外侵袭能力。

结果: 经EGF处理后HepG2细胞可见明显丝

背景资料
肝癌是我国发病率最高的恶性肿瘤之一, 肝癌复发和转移一直是影响其治疗效果的重要因素。深入研究肝癌转移和复发机制, 并针对此寻求有效治疗措施成为当今肝癌研究中的重点和难点。

同行评议者
秦建民, 副教授, 上海中医药大学附属普陀医院肝胆外科

研究前沿
最新的活体内图像观察研究揭示了肿瘤细胞迁移是如何受局部微环境所调节以及肿瘤细胞在转移过程中的形状变化。研究显示,细胞伪足在肿瘤转移中起重要作用。这些新发现为肿瘤浸润转移的分子机制提出了新的观点。

状伪足形成, EGF组细胞内Cdc42 mRNA及总蛋白(Total-Cdc42)表达量无显著变化, 但活性Cdc42(Active-Cdc42)显著增高(0.713 ± 0.021 vs 0.423 ± 0.015 , $P < 0.05$), siRNA干扰组Cdc42表达及活性受到明显抑制(0.118 ± 0.017 vs 1.128 ± 0.024 ; 0.351 ± 0.021 vs 0.936 ± 0.024 , 均 $P < 0.05$), 并抑制EGF诱导的细胞丝状伪足形成, EGF组细胞体外侵袭能力显著高于其余各组(98.43 ± 3.11 vs 61.09 ± 3.58 , 50.53 ± 2.34 , 62.73 ± 2.64 , 均 $P < 0.05$)。

结论: EGF通过激活Cdc42诱导HepG2细胞丝状伪足形成并增强其体外侵袭能力。

关键词: 细胞分裂周期蛋白42; 表皮生长因子; 肝癌; RNA干扰

张勇, 江隆昌, 胡青铜, 刘小卫, 熊俊, 郑启昌. Cdc42基因在EGF促进HepG2细胞丝状伪足形成中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 443-446
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/443.asp>

0 引言

肝癌的发病率位于固体肿瘤的第6位, 而我国的患者则占一半以上^[1], 目前肝癌的治疗效果仍然十分不理想。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)具有酪氨酸蛋白激酶活性, 是生长因子家族的主要成员之一。研究证实EGF与肝癌的发生发展密切相关, EGF与其受体结合后能刺激肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞转移^[2-4], 但其具体机制并不十分清楚。细胞分裂周期蛋白42(cell division cycle 42, Cdc42)是Rho GTP超家族酶中的一个亚类, 是细胞骨架运动及物质运输的关键调控因子^[5]。近年来研究发现, Cdc42在多种恶性肿瘤中高表达, 并和肿瘤的发生、侵袭和转移密切相关^[6,7]。本课题旨在研究EGF对诱导肝细胞系HepG2丝状伪足形成的作用以及Cdc42基因在这一过程中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞株HepG2由本实验室保存; TRIzol RNA抽提试剂、聚合酶链反应试剂盒、RPMI 1640培养基、新生牛血清等购自美国Gibco公司; Lipofectamine 2000、Cdc42 siRNA购自Invitrogen公司; 免疫印迹(Western blot)化学发光试剂、硝酸纤维素膜、Cdc42及Anti-Active Cdc42单克隆抗体单克隆抗体购自美国Sigma公司; Cdc42引物由上海生物工程公司合成: 5'-GCC CGTGACCTGAAGGCTGTCA-3', 5'-TGCTTTTATATGATGCCGACACCA-3', 内参3-磷酸甘油醛

脱氢酶(GAPDH)由ToYoBo公司试剂盒提供。预期扩增产物的大小分别为477和264 bp。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及Cdc42 siRNA转染: 将人肝癌细胞株HepG2细胞含10%血清、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素的RPMI 1640培养液中, 3 d传代1次。细胞以2.5 mL培养种入6孔培养板中, 4-6 h后采用脂质体介导方法转染siRNA, 参照说明书提供的资料。每孔加入3 μ L脂质体包裹的siRNA(终浓度为10 nmol/L), 每孔最终体积为1 mL。40 h后更换含血清培养基进行分析。

1.2.2 分组: 将细胞分为EGF组、EGF+siRNA干扰组、siRNA干扰组和空白对照组, 前两组分别加入2 mL EGF(10 μ g/L)作用5 min, 然后收集细胞检测。

1.2.3 Cdc42基因RT-PCR分析: TRIzol试剂提取各组细胞总RNA, 使用紫外分光光度计调整RNA浓度为1 g/L。在9 μ L无RNA酶水中加入1 μ g RNA, Oligo(dT)20 1 μ L, 温度65 $^{\circ}$ C, 10 min后立即置于冰上。加入5 \times RT Buffer 4 μ L, dNTP Mixture(各10 mmol/L)2 μ L, RNase Inhibitor(10 U/ μ L)1 μ L, ReverTra Ace 1 μ L, 反应条件: 42 $^{\circ}$ C, 20 min, 85 $^{\circ}$ C, 5 min, 4 $^{\circ}$ C, 5 min。瞬间离心后置-20 $^{\circ}$ C保存。在25 μ L PCR体系中加入Cdc42上下游引物各1 μ L, TaqDNA聚合酶1 μ L, 循环条件: 94 $^{\circ}$ C, 1 min预变性, 94 $^{\circ}$ C, 30 s, 67 $^{\circ}$ C(GAPDH为55 $^{\circ}$ C)30 s, 72 $^{\circ}$ C, 30 s。共35个循环, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min。PCR产物25 μ L上样琼脂糖凝胶, 50 V电泳30-45 min后照相。

1.2.4 各组细胞cdc42蛋白及活性Cdc42(Active-Cdc42)Western blot定量分析: 将约 1×10^6 细胞加60 μ L去污剂裂解液进行匀浆。置于冰上30 min, 4 $^{\circ}$ C下12 000 r/min离心5 min, 取上清液即为总蛋白抽提物, BCA试剂盒测定蛋白浓度; 蛋白样品(每泳道60 μ g)及蛋白相对分子质量标准进行120 g/L SDS-PAGE电泳, 再将蛋白质点转移到纤维素(NC)膜上, 置于含50 g/L脱脂奶粉的TBST(50 mmol/L Tris-HCL, pH7.6; 150 mmol/L NaCl; 0.1% Tween20)中4 $^{\circ}$ C过夜; 加入以TBST稀释的抗Cdc42及Anti-Active-Cdc42单克隆抗体(1: 200, V/V, 兔抗鼠)和抗GAPDH抗体(1: 500, V/V, 兔抗鼠)后4 $^{\circ}$ C过夜; 次日加入辣根过氧化物酶标记二抗(1: 2000, V/V, 羊抗兔IgG), 37 $^{\circ}$ C摇床下杂交1 h, 洗膜后用ECL试剂盒检测, X光胶片曝光、照相。图像运用Quantitative one软件进行分析。

1.2.5 微丝绿色荧光染色: 收集各组细胞用PBS洗涤细胞2次, PBS配制的3.7%甲醛溶液室温固定细胞10 min。含0.1% Triton X-100的PBS洗

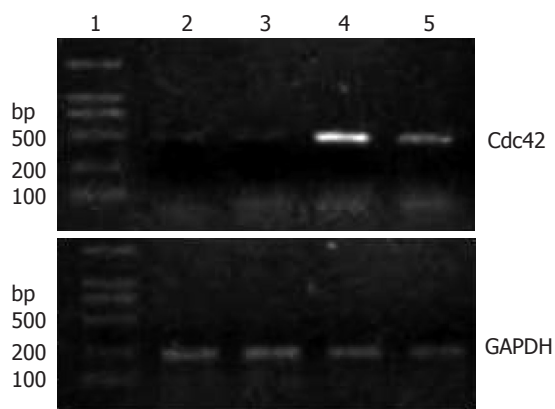


图1 Cdc42 mRNA转录水平. 1: DNA marker; 2: EGF+siRNA转染组; 3: siRNA转染组; 4: EGF组; 5: 空白对照组.

涂2-4次, 每次约5 min, 免疫荧光染色二抗稀释液(P0108)按照1:200的比例稀释Actin-Tracker Green, 把Actin-tracker Green染色工作液按照每个片子约200 μ L的比例滴加到片子上, 室温避光孵育20-60 min. 用免疫染色洗涤液洗2-4次, 每次约5 min, 后用荧光显微镜进行观察.

1.2.6 细胞体外侵袭能力检测: 构建侵袭小室, 加入趋化因子, 每组小孔加入细胞数为 6×10^5 , 37°C , 50 mL/L CO_2 孵育箱中培养16 h, 棉棒擦去膜上细胞和matrigel胶, 取膜固定并染色, 高倍镜下计数膜背面细胞数, 同时以2.5 g/L的胰酶消化后计数贴附于24孔板内的细胞数, 计算穿膜细胞数. 穿膜细胞数 = 膜背面细胞数+贴附于24孔板内细胞数. 重复3次取平均值.

统计学处理 全部资料用SPSS10.0软件进行统计分析, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 各组及组间比较用 t 检验.

2 结果

2.1 各组细胞Cdc42 mRNA的表达 EGF组细胞中Cdc42基因条带灰度为 1.132 ± 0.075 , 空白对照组细胞条带灰度为 1.128 ± 0.024 , 两组转录水平无显著差异($n = 4$, $P > 0.05$), EGF+siRNA组及siRNA组细胞中条带灰度为 0.121 ± 0.013 , 0.118 ± 0.017 , 显著低于前两组($n = 4$, 均 $P < 0.01$, 图1).

2.2 各组细胞总Cdc42蛋白及GTP-cdc42的表达 空白对照组及EGF处理组细胞中Total-Cdc42蛋白条带灰度为 0.936 ± 0.024 及 0.917 ± 0.033 , 无显著性差异($n = 4$, $P > 0.05$), EGF+siRNA转染组及siRNA转染组细胞中Total-Cdc42蛋白灰度为 0.477 ± 0.019 , 0.351 ± 0.021 , 均显著低于前两组($n = 4$, 均 $P < 0.05$). 空白对照组及EGF处理组细胞中Active-Cdc42蛋白条带灰度差异具有显著性意

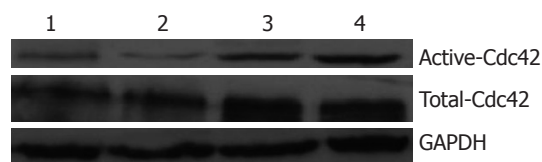


图2 Cdc42蛋白的表达. 1: EGF+siRNA转染组; 2: siRNA转染组; 3: 空白对照组; 4: EGF组.

义(0.423 ± 0.015 vs 0.713 ± 0.021 , $n = 4$, $P < 0.01$, 图2). EGF+siRNA转染组及siRNA转染组细胞中active-Cdc42蛋白表达水平为 0.113 ± 0.015 , 0.098 ± 0.021 , 要显著低于前两组($n = 4$, 均 $P < 0.05$).

2.3 各组细胞微丝绿色荧光染色结果 荧光显微镜观察发现EGF处理细胞形成大量丝状伪足, 而空白对照组、siRNA转染组以及EGF+siRNA转染组细胞未见明显丝状伪足形成(图3).

2.4 细胞体外侵袭能力检测 EGF组、EGF+siRNA干扰组、siRNA干扰组、空白对照组的穿膜细胞数分别为(98.43 ± 3.11)个、(61.09 ± 3.58)个、(50.53 ± 2.34)个和(62.73 ± 2.64)个, EGF组的穿膜细胞数要显著高于其余各组(均 $P < 0.05$).

3 讨论

EGF是细胞外重要的信息物质, 其与靶细胞上特异性EGFR结合诱导受体自身磷酸化, 激活众多的下游信号途径, 从而产生相应的生物学效应. EGF与创伤愈合, 细胞的增殖分化及肿瘤的发生均有密切关系^[8]. 转基因小鼠研究发现当肝脏过表达EGF时可诱导肝癌的形成^[9], 可见EGF在肝癌的形成过程中发挥了重要的作用^[8,10], 但其具体参与途径目前并不十分清楚. 最新的活体内图像观察和侵袭性测定分析发现细胞伪足在肿瘤的侵犯与转移过程中发挥了至关重要的作用^[11]. 细胞伪足包括丝状伪足、片状伪足、侵入性伪足、足体等, 细胞伪足内富含动力型的肌动蛋白, 其内的肌动蛋白呈网络状排列. 丝状伪足和片状伪足在肿瘤侵袭起始阶段起黏附作用^[12]. 本实验发现经EGF处理的HepG2细胞可形成典型的丝状伪足, 且细胞的侵袭能力明显增强, 可见诱导丝状伪足形成是EGF促进肝癌细胞转移的重要途径之一, 肝癌细胞的丝状伪足在侵袭的起始阶段可能起主要作用, 主要功能有包括运动、黏附、摄取营养和吞噬以及支持作用. EGF是通过何种途径诱导肿瘤细胞丝状伪足形成的呢? 有研究发现Rho家族蛋白之一的Cdc42可诱导丝状伪足形成, 因此我们认为EGF很可能是通过调控Cdc42途径诱导HepG2细胞丝状伪足的形成.

应用要点
本研究发现, Cdc42是调控肝癌细胞丝状伪足形成的关键因子, 因此调控Cdc42的活性有可能成为治疗肝癌转移的新途径.

同行评价
本研究立意具有新意, 结论具有较为重要的应用价值和一定的参考价值。

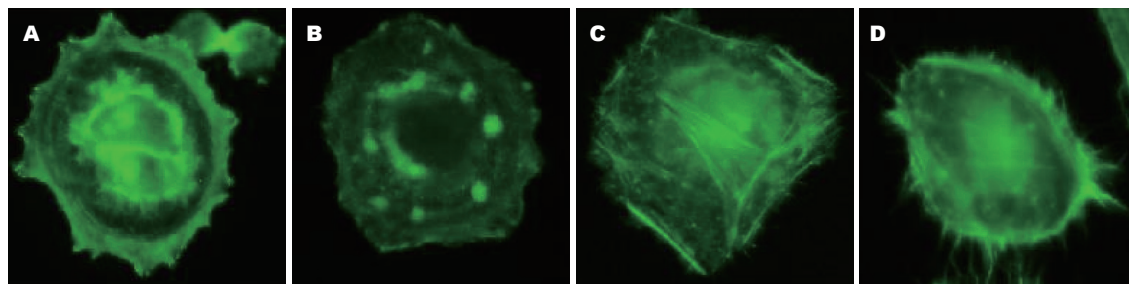


图3 细胞丝状伪足形成($\times 400$)。A: 空白对照组; B: siRNA转染组; C: EGF+siRNA转染组; D: EGF组。

Rho家族蛋白是Ras超家族中最早被克隆出来的蛋白, Rho家族蛋白主要影响细胞骨架的肌动蛋白, 异常活化的Rho家族能启动肿瘤细胞无限增殖、浸润和转移的特性, 直接参与肿瘤的进展^[13], 已有研究发现Rho家族蛋白与肝癌的发病密切相关^[14]。Cdc42是Rho家族蛋白是Ras超家族中小相对分子质量G蛋白的成员之一, 具有GTP酶活性。研究证实Cdc42是细胞骨架肌动蛋白的重要调节因子, 而肌动蛋白的运动是肿瘤细胞伪足形成及肿瘤转移的关键因素。Cdc42蛋白在非活性GDP结合形式和活性GTP结合(active-Cdc42)形式之间循环。Cdc42蛋白与GDP结合形式游离于胞质中; 与GTP结合形式则作用于细胞内的效应因子。本实验发现EGF能显著增加active-Cdc42的量, 但对Cdc42转录及蛋白表达总量影响并不十分显著。通过siRNA干扰抑制HepG2细胞Cdc42表达后能逆转EGF诱导的细胞丝状伪足的形成, 且能显著抑制肿瘤细胞的转移能力。本结果说明GTP结合形式Cdc42在EGF诱导的HepG2细胞伪足形成及肿瘤转移过程中发挥了关键的作用, EGF激活Cdc42的具体途径则有待于进一步研究。

总之, 深入研究EGF对肝癌细胞的生物学作用有利于揭示肝癌的发生、发展尤其是侵袭转移过程中异常的信号转导机制, 可以为肝癌的临床治疗提供新的思路和理论依据。Cdc42基因的功能特点决定其具有潜在的临床意义, 可能使其成为有用的预后指标, 本身的信号途径可能成为肿瘤治疗的新靶点。

4 参考文献

- 1 Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118: 3030-3044
- 2 Kuramochi H, Hayashi K, Nakajima G, Kamikozuru H, Yamamoto M, Danenberg KD, Danenberg PV. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mRNA levels and protein expression levels in primary colorectal cancer and corresponding liver

metastases. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009 Aug 22. [Epub ahead of print]

- 3 Berasain C, Perugorria MJ, Latasa MU, Castillo J, Goñi S, Santamaría M, Prieto J, Avila MA. The epidermal growth factor receptor: a link between inflammation and liver cancer. *Exp Biol Med* (Maywood) 2009; 234: 713-725
- 4 Tobita K, Kijima H, Dowaki S, Kashiwagi H, Ohtani Y, Oida Y, Yamazaki H, Nakamura M, Ueyama Y, Tanaka M, Inokuchi S, Makuuchi H. Epidermal growth factor receptor expression in human pancreatic cancer: Significance for liver metastasis. *Int J Mol Med* 2003; 11: 305-309
- 5 Szczepanowska J. Involvement of Rac/Cdc42/PAK pathway in cytoskeletal rearrangements. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 225-234
- 6 Tsang CM, Lau EP, Di K, Cheung PY, Hau PM, Ching YP, Wong YC, Cheung AL, Wan TS, Tong Y, Tsao SW, Feng Y. Berberine inhibits Rho GTPases and cell migration at low doses but induces G2 arrest and apoptosis at high doses in human cancer cells. *Int J Mol Med* 2009; 24: 131-138
- 7 Zhang S, Schafer-Hales K, Khuri FR, Zhou W, Vertino PM, Marcus AI. The tumor suppressor LKB1 regulates lung cancer cell polarity by mediating cdc42 recruitment and activity. *Cancer Res* 2008; 68: 740-748
- 8 Greulich H, Chen TH, Feng W, Jänne PA, Alvarez JV, Zappaterra M, Bulmer SE, Frank DA, Hahn WC, Sellers WR, Meyerson M. Oncogenic transformation by inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutants. *PLoS Med* 2005; 2: e313
- 9 Tönjes RR, Löhler J, O'Sullivan JF, Kay GF, Schmidt GH, Dalemans W, Pavirani A, Paul D. Autocrine mitogen IgEGF cooperates with c-myc or with the Hcs locus during hepatocarcinogenesis in transgenic mice. *Oncogene* 1995; 10: 765-768
- 10 Borlak J, Meier T, Halter R, Spanel R, Spanel-Borowski K. Epidermal growth factor-induced hepatocellular carcinoma: gene expression profiles in precursor lesions, early stage and solitary tumours. *Oncogene* 2005; 24: 1809-1819
- 11 Faix J, Breitsprecher D, Stradal TE, Rottner K. Filopodia: Complex models for simple rods. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1656-1664
- 12 Mattila PK, Lappalainen P. Filopodia: molecular architecture and cellular functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 446-454
- 13 Chang YW, Bean RR, Jakobi R. Targeting RhoA/Rho kinase and p21-activated kinase signaling to prevent cancer development and progression. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2009; 4: 110-124
- 14 Grise F, Bidaud A, Moreau V. Rho GTPases in hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1795: 137-151

STAT3信号蛋白与食管鳞癌上皮间质转化的关系及其意义

高远, 轩小燕, 张红燕, 王丰, 王志强, 曾庆汝, 李珊珊

高远, 轩小燕, 张红燕, 王丰, 王志强, 曾庆汝, 李珊珊, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省肿瘤病理重点实验室 河南省郑州市 450052

高远, 在读博士, 主要从事肿瘤病理的研究。

河南省医学科技攻关基金资助项目, No. 200801006

作者贡献分布: 高远与李珊珊对此文所作贡献均等; 此课题由李珊珊与高远设计; 研究过程由高远、轩小燕、张红燕、王丰、王志强及曾庆汝操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李珊珊提供; 数据分析由高远完成; 本论文写作由高远与李珊珊完成。

通讯作者: 李珊珊, 教授, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院病理科, 河南省肿瘤病理重点实验室。lsspath@yahoo.com.cn

电话: 0371-65138333

收稿日期: 2009-12-07 修回日期: 2009-12-30

接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Relationship between STAT3 protein expression and epithelial-mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma

Yuan Gao, Xiao-Yan Xuan, Hong-Yan Zhang, Feng Wang, Zhi-Qiang Wang, Qing-Ru Zeng, Shan-Shan Li

Yuan Gao, Xiao-Yan Xuan, Hong-Yan Zhang, Feng Wang, Zhi-Qiang Wang, Qing-Ru Zeng, Shan-Shan Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Supported by: the Key Medical Science and Technology Program of Henan Province, No. 200801006

Correspondence to: Professor Shan-Shan Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, 1 Jianshe Eastern Road, 27 District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lsspath@yahoo.com.cn

Received: 2009-12-07 Revised: 2009-12-30

Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and analyze their relationship with epithelial-mesenchymal transition and tumor infiltration and metastasis.

METHODS: Immunohistochemistry was used to determine the expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and vimentin in 80 ESCC specimens

and matched adjacent non-cancerous tissue specimens.

RESULTS: The positive rates of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and vimentin in ESCC tissue were significantly different from those in adjacent non-cancerous tissue (87.5% vs 70.0%, 72.5% vs 28.8%, 37.5% vs 78.8% and 48.8% vs 0%, respectively; all $P < 0.01$). The expression of STAT3 and p-STAT3 was negatively correlated with E-cadherin expression ($r = -0.410$ and -0.506 , respectively; both $P = 0.000$) but positively with vimentin expression ($r = 0.293$ and 0.321 , respectively; $P = 0.008$ and 0.004 , respectively) in ESCC tissue. The expression of STAT3 and p-STAT3 was significantly associated with depth of tumor invasion (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Overexpression of STAT3 protein may be involved in EMT and tumor invasion and metastasis in ESCC.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Signal transducer and activator of transcription 3; Phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3; Epithelial-mesenchymal transition

Gao Y, Xuan XY, Zhang HY, Wang F, Wang ZQ, Zeng QR, Li SS. Relationship between STAT3 protein expression and epithelial-mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 447-452

摘要

目的: 探讨食管鳞癌中STAT3、p-STAT3蛋白表达与食管鳞癌上皮间质转化的关系及其在食管鳞癌浸润转移中的作用。

方法: 采用免疫组织化学技术检测80例食管鳞癌中STAT3、p-STAT3及上皮间质转化标志物E-cadherin和Vimentin的表达。

结果: 食管鳞癌组织中STAT3、p-STAT3、E-cadherin和Vimentin蛋白阳性率与癌旁正常组织相比有显著性差异(STAT3: 87.5% vs 70.0%; p-STAT3: 72.5% vs 28.8%; E-cadherin: 37.5% vs 78.8%; Vimentin: 48.8% vs 0%, 均

背景资料

食管癌是目前世界死亡率很高的恶性肿瘤之一,在我国多发于河北南部和河南北部安阳地区。到目前为止,食管癌的病因和发病机制尚不清楚,因此探讨食管癌的发生发展乃至浸润转移机制,对降低食管癌的预防和术后治疗都有重要意义。

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
恶性肿瘤的浸润和转移是导致各种治疗方案失败,预后不良,乃至患者死亡的最重要因素。大量研究发现,上皮间质转化(EMT)同恶性肿瘤的浸润转移密切相关。因此,EMT的发生发展机制及与相关调控因子的关系是研究恶性肿瘤浸润转移的重要途径,也是目前研究的热点。

$P < 0.01$)。食管鳞癌组织中STAT3、p-STAT3的表达均与E-cadherin的表达呈负相关($r = -0.410, -0.506$; 均 $P = 0.000$),与Vimentin表达均呈正相关($r = 0.293, 0.321$; $P = 0.008, 0.004$),且与癌组织的浸润深度密切相关(均 $P < 0.05$)。

结论: 信号蛋白STAT3可能参与了食管鳞癌的上皮间质转化过程,并与食管鳞癌的侵袭转移相关。

关键词: 食管鳞癌; 信号转导子和转录活化因子3; 磷酸化信号转导子和转录活化因子3; 上皮间质转化

高远, 轩小燕, 张红燕, 王丰, 王志强, 曾庆汝, 李珊珊. STAT3信号蛋白与食管鳞癌上皮间质转化的关系及其意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 447-452
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/447.asp>

0 引言

上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞失去上皮特征获得间质特征的过程,这一过程同恶性肿瘤的浸润转移密切相关^[1]。通常用来验证EMT发生的分子学标志物包括: 上皮标志物E-cadherin和Cytokeratin表达下降,以及间质标志物N-cadherin和Vimentin表达的增加。信号转导子和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STATs)蛋白是转录因子家族成员,这些多功能蛋白磷酸化激活后,可调节下游靶基因的转录。STAT3基因是该家族现已被公认的癌基因,持续活化的STAT3可调控下游多个与肿瘤细胞增殖、分化、凋亡及浸润转移有关的靶基因的转录,从而在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用。本课题组前期研究已发现STAT3信号蛋白的激活与食管鳞癌的发生发展及恶性演变有关^[2]。本文应用免疫组织化学方法检测了食管鳞癌组织中信号蛋白STAT3及其活化形式p-STAT3以及上皮间质转化标志物E-cadherin和Vimentin的表达。分析了STAT3、p-STAT3与E-cadherin和Vimentin的相关性,探讨STAT3信号通路及其激活与食管鳞癌EMT的关系及在浸润转移中的作用,可望进一步揭示食管鳞癌侵袭与转移的分子生物学机制。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院2007-08/2008-08食管鳞癌手术切除标本80例,正常食管黏膜取自手术切除标本两残端,距癌组织3 cm以上,经病理证实为分化良好的鳞状上皮

及少量固有层成分。标本中男51例,女29例,年龄40-78(60.7 ± 8.1)岁。80例食管癌标本病理组织学类型均为鳞状细胞癌,分化I级21例,II级40例,III级19例;侵及浅层(黏膜下层或浅肌层)16例,侵及深层(深肌层或外膜层)64例;有淋巴结转移者20例,无淋巴结转移者60例。兔抗人STAT3多克隆抗体和兔抗人E-cadherin多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司,兔抗人p-STAT3多克隆抗体购自武汉博士德公司,鼠抗人Vimentin单克隆抗体和免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

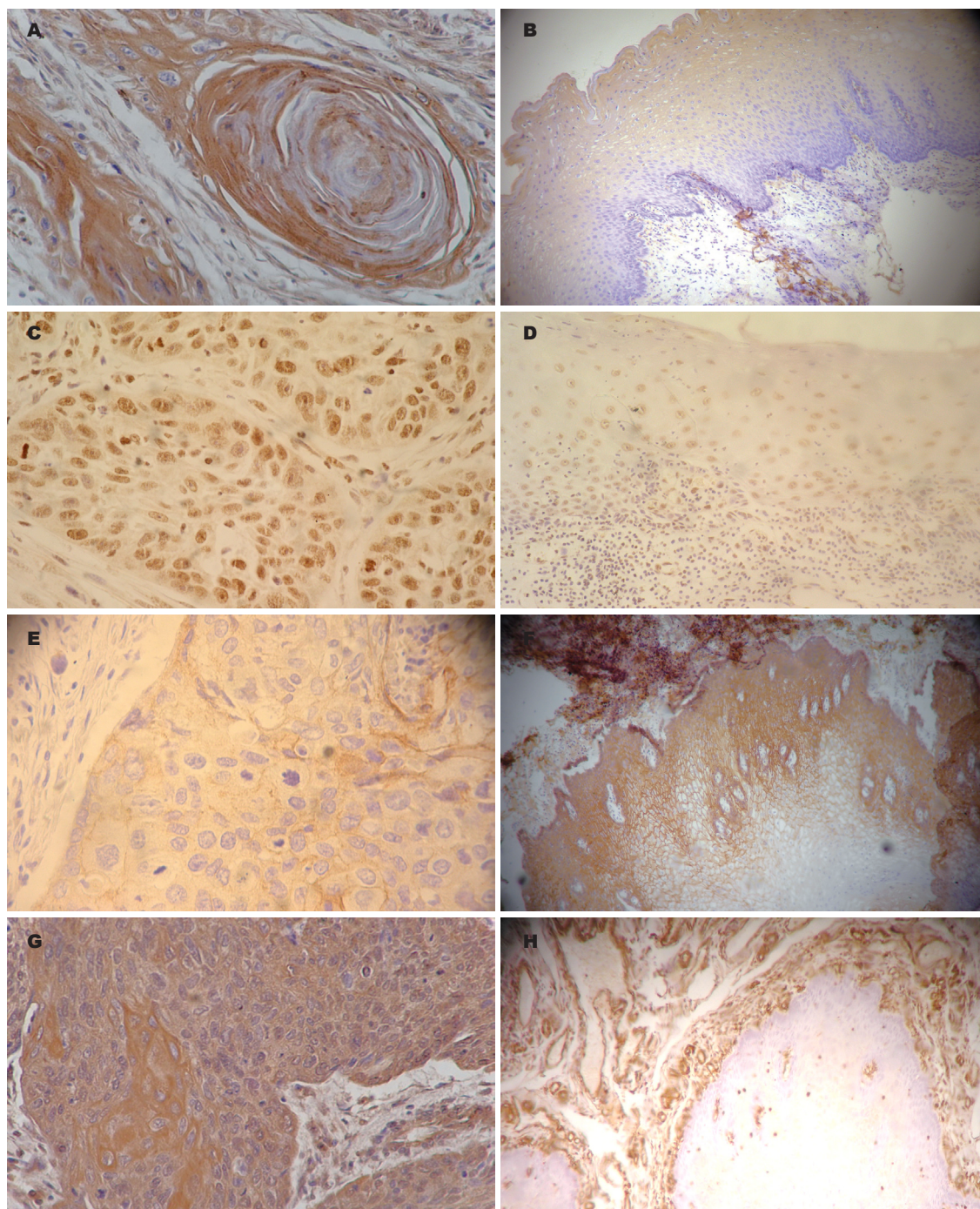
1.2.1 免疫组织化学: 染色采用链酶卵白素-生物素过氧化物酶法(streptavidin peroxides, SP),食管鳞癌标本以40 g/L多聚甲醛固定,常规石蜡包埋。蜡块以4 μm 厚连续切片。常规脱蜡,水化,高压锅修复,一抗工作浓度均为1:200。DAB显色,苏木素复染,中性树胶封片。STAT3和p-STAT3采用已知阳性染色的胃癌组织切片作为阳性对照, E-cadherin采用已知阳性染色的卵巢癌组织切片作为阳性对照, Vimentin采用已知阳性染色的平滑肌组织切片作为阳性对照,均用PBS代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判定: STAT3阳性显色为棕黄色颗粒,位于细胞质和(或)细胞核; p-STAT3以细胞核中有黄色或棕黄色着色的细胞为阳性; Vimentin以细胞质中有黄色或棕黄色着色的细胞为阳性; E-cadherin阳性显色为棕黄色颗粒,主要位于细胞膜,少部分位于细胞质。参照有关文献[3],在高倍视野下(400 \times)随机选取5个视野(每个视野观察不少于200个细胞),按阳性细胞所占的百分比及着色强度进行结果判定: (1)按着色强度评分: 0分为无着色; 1分为浅黄色; 2为黄色; 3分为棕黄色。 (2)按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分: 0分为阴性, 1分为阳性细胞数 $\leq 10\%$, 2分为阳性细胞数11%-50%, 3分为阳性细胞数51%-75%, 4分为阳性细胞数 $> 75\%$ 。取两项评分的乘积作为总积分, 0-3分为阴性(-), 3分以上为阳性(+).

统计学处理 应用SPSS13.0进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验(chi-square)及Fisher精确概率计算法; 两组均数的比较用 t 检验(t -test); 多组均数的比较用方差分析(ANVOA); 相关性分析采用Pearson's相关分析。以 $\alpha = 0.05$ 为显著性。

2 结果

2.1 食管鳞癌组织中STAT3和p-STAT3蛋白的



创新盘点
本研究首次探讨了食管鳞癌中STAT3蛋白、磷酸化STAT3(p-STAT3)蛋白表达与食管鳞癌EMT的关系及其在食管鳞癌浸润转移中的作用。

图1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin和Vimentin免疫组织化学染色(SP法). A, C, E, G: 食管鳞癌中的表达($\times 400$); B, D, F, H: 食管黏膜的表达($\times 200$). A, B: STAT3; C, D: p-STAT3; E, F: E-cadherin; G, H: Vimentin.

表达 食管鳞癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白的阳性表达率明显高于食管正常黏膜组织中的表达(87.5%, 72.5% vs 70%, 28.8%, $P < 0.01$). STAT3蛋白表达和癌组织的分化程度、浸润深度有关($P < 0.05$), 与淋巴结转移无关($P > 0.05$). p-STAT3蛋白表达和癌组织的浸润深度有关($P < 0.05$), 与分化程度及淋巴结转移无关($P > 0.05$, 图1, 表1).

2.2 食管鳞癌组织中E-cadherin和Vimentin蛋白

的表达 E-cadherin在食管鳞癌组织的表达显著低于食管正常黏膜组织中的表达(37.5% vs 78.8%, $P < 0.01$). E-cadherin蛋白表达和癌组织的浸润深度和分化程度有关($P < 0.05$), 与淋巴结转移无关($P > 0.05$). 而食管鳞癌组织中Vimentin蛋白的表达率明显高于食管正常黏膜组织中的表达(48.8% vs 0%, $P < 0.01$). Vimentin蛋白表达和癌组织的分化程度有关($P < 0.05$), 与浸润深度及淋巴结转移无关($P > 0.05$, 图1, 表1).

应用要点

本文研究结果显示, STAT3信号蛋白及其活化与食管鳞癌的发生有关, 且STAT3、p-STAT3与E-cadherin蛋白的表达均呈负相关, 与Vimentin蛋白的表达呈正相关。为进一步揭示食管鳞癌侵袭在转移的分子生物学机制提供理论依据。

表 1 食管鳞癌组织中蛋白STAT3、p-STAT3、E-cadherin和Vimentin的表达与临床病理学特征的关系

临床病理特征	n	STAT3					p-STAT3					E-cadherin					Vimentin				
		-	+	阳性率(%)	χ^2 值	P值	-	+	阳性率(%)	χ^2 值	P值	-	+	阳性率(%)	χ^2 值	P值	-	+	阳性率(%)	χ^2 值	P值
正常黏膜	80	24	56	70.0	7.320	0.007	57	23	28.8	30.63	0.000	17	63	78.8	27.963	0.000	80	0	0.0	51.57	0.000
鳞癌	80	10	70	87.5			22	58	72.5			50	30	37.5			41	39	48.8		
分化程度																					
高	19	6	13	68.4	9.522	0.008	7	12	63.2	1.584	0.453	8	11	57.9	6.423	0.040	14	5	26.3	8.175	0.017
中	40	4	36	90.0			11	29	72.5			25	15	37.5			21	19	47.5		
低	21	0	21	100.0			4	17	81.0			17	4	19.0			6	15	71.4		
浸润深度																					
浅层	16	5	11	68.8	6.429	0.011	8	8	50.0	5.078	0.024	6	10	62.5	5.333	0.021	10	6	37.5	1.013	0.314
深层	64	5	59	92.2			14	50	78.1			44	20	31.2			31	33	51.6		
淋巴结转移																					
有	20	3	17	85.0	0.152	0.696	2	18	90.0	3.009	0.083	14	6	30.0	1.111	0.292	10	10	50.0	0.017	0.897
无	60	7	53	88.3			20	40	66.7			36	24	40.0			31	29	48.3		

表 2 食管鳞癌组织中STAT3和E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性

STAT3	E-cadherin		合计	r值	P值	Vimentin		合计	r值	P值
	+	-				+	-			
+	21	49	70	-0.410	0.000	38	32	70	0.293	0.008
-	9	1	10			1	9	10		
合计	30	50	80			39	41	80		

表 3 食管鳞癌组织中p-STAT3和E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性

p-STAT3	E-cadherin		合计	r值	P值	Vimentin		合计	r值	P值
	+	-				+	-			
+	13	45	58	-0.506	0.000	34	24	58	0.321	0.004
-	17	5	22			5	17	22		
合计	30	50	80			39	41	80		

2.3 食管鳞癌组织中STAT3蛋白与E-cadherin蛋白表达的相关性 70例STAT3蛋白表达阳性的食管鳞癌组织标本中, E-cadherin蛋白阳性表达标本例数为21例, 二者的相关系数为-0.410, 食管鳞癌组织中STAT3蛋白和E-cadherin蛋白表达呈负相关关系($P<0.01$, 图1, 表2)。

2.4 STAT3蛋白与Vimentin蛋白表达的相关性 在70例STAT3蛋白表达阳性的食管鳞癌组织中, Vimentin蛋白的阳性表达高达38例, 二者的相关系数为0.293, 食管鳞癌组织中STAT3蛋白和Vimentin蛋白的表达呈正相关($P<0.01$, 表2)。

2.5 p-STAT3蛋白与E-cadherin蛋白表达的相关性 在58例p-STAT3蛋白阳性表达的标本中, E-cadherin蛋白阳性表达的标本仅为13例, 二者的相关系数为-0.506, 相关性分析显示p-STAT3

蛋白的表达和E-cadherin蛋白的表达呈负相关($P<0.01$, 表3)。

2.6 p-STAT3蛋白与Vimentin蛋白表达的相关性 在58例p-STAT3蛋白阳性表达的标本中, Vimentin蛋白阳性表达的标本为34例, 二者的相关系数为0.321, 相关性分析显示p-STAT3蛋白的表达和Vimentin蛋白的表达呈正相关($P<0.01$, 表3)。

3 讨论

研究表明EMT是一个极其复杂的过程, 包括涉及细胞黏附, 极性, 细胞骨架, 动力学和细胞内信号的多个基因的改变^[4,5], 但其最重要的特征是指上皮细胞在形态学上发生成纤维细胞或间质细胞表型的转变并获得迁移的能力。因此EMT之后使细胞获得了更强的侵袭力。研究表明

EMT与多种信号通路的异常激活有关^[6,7]. STAT3是最近新发现的一种重要的核转录因子^[8],在接受生长因子、细胞因子等细胞外信号刺激后,以活化的p-STAT3形式进入细胞核中,与靶基因启动子上特异的DNA原件相结合,调控一些控制细胞基本生理功能的靶基因的转录,从而影响细胞的增殖、分化、凋亡及浸润转移^[9,10].已有研究证明,STAT3与多种肿瘤的发生有关,如,乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌等.也有研究发现STAT3的表达与胃癌的组织分化程度和淋巴结转移状态相关.前期研究发现siRNA STAT3可以阻断STAT3信号通路,并可能对食管鳞癌细胞株起到抑制增殖的作用^[2],这表明STAT3信号通路可能与食管鳞癌的增殖有关.本文旨在探讨STAT3在食管鳞癌浸润转移中的作用及与食管鳞癌EMT的关系.结果表明,在食管鳞癌组织中STAT3蛋白和其活性形式p-STAT3蛋白的表达远高于食管正常黏膜($P<0.01$),表明STAT3信号蛋白及其活化与食管鳞癌的发生有关.同时随着癌细胞侵袭能力的增强,STAT3和p-STAT3蛋白阳性率增高,浸润至深层(深肌层和外膜)的食管鳞癌组织中STAT3和p-STAT3阳性表达率明显高于浸润至浅层(黏膜和浅肌层)的食管鳞癌组织($P<0.05$).另外本研究发现,STAT3的表达与食管鳞癌的分化程度有关,随着癌分化程度的降低,STAT3蛋白的表达显著增强,但未发现p-STAT3的表达与食管鳞癌分化程度的关系.也未发现STAT3信号蛋白及其活化与食管鳞癌淋巴结转移的关系.

EMT在肿瘤浸润转移中的作用越来越引起人们的关注. Thiery等^[1]研究描述了EMT发生的过程:正常上皮细胞通过表型遗传学的改变或基因突变转化生成癌细胞,癌细胞通过EMT形式局部扩散,基底膜变脆,癌细胞侵入淋巴管和血管,从而发生转移,同时伴随着E-cadherin、Cytokeratins等上皮标志物的减少或缺失, N-cadherin、Vimentin和Demin等间质标志物出现表达. E-cadherin蛋白在各种类型的上皮细胞中均有表达,是维持上皮细胞极性、细胞间黏附连接的主要分子^[11].关于EMT与食管鳞癌浸润转移的研究目前报道较少,本研究结果显示,食管鳞癌组织中E-cadherin蛋白的表达较正常食管黏膜蛋白表达明显降低.同时还显示,STAT3、p-STAT3与E-cadherin蛋白的表达均呈负相关, E-cadherin蛋白阳性率和癌组织的分化程度、浸润深度密切相关($P<0.05$). Vimentin

是细胞中间丝的一种,分布于间质细胞,是间质组织共有的标志物,其阳性标志物定位于细胞质.目前研究发现,尽管Vimentin主要表达于间质来源的细胞及某些未分化细胞,但也可能反常表达于一些上皮源细胞,尤其是上皮源肿瘤细胞^[12].对这种异常表达现象研究后发现,Vimentin与细胞的生长分化状态以及细胞游走迁移有关. Vimentin异常表达可引起细胞骨架蛋白发生变化,导致细胞骨架发生排列变化,从而干扰信号转导通路的工作,导致细胞生物学性状发生改变^[13].本研究显示了Vimentin在食管鳞癌组织中异常高表达,并证实STAT3、p-STAT3与Vimentin蛋白的表达呈正相关. Vimentin在食管鳞癌中的表达和分化程度相关.

Ferrand等^[14]研究发现在结肠癌细胞中, JAK2/STAT3信号转导通路参与调节上皮细胞之间的黏附,可能与恶性病变中EMT有关.同时最近研究显示由TGF- β 1诱导的EMT与蛋白激酶A(PKA)和STAT3的激活有关.抑制PKA可阻断STAT3的激活并抑制TGF- β 1诱导的EMT,缺乏磷酸化的STAT3(非野生型)可以对TGF- β 1引发的EMT产生抑制作用^[15].以上研究显示, STAT3参与EMT发生过程. STAT3是否与食管癌的EMT过程有关及其在食管癌浸润转移中所起的作用如何,目前尚未见报道.

以上结果表明,食管鳞癌中EMT的发生可能与STAT3信号通路的激活相关. STAT3信号通路异常活化并与下游调控基因启动子结合,从而下调E-cadherin的表达并上调Vimentin的表达,最终诱导食管鳞癌EMT的发生.因此, STAT3信号蛋白及其激活在食管鳞癌浸润转移中的作用可能与食管鳞癌EMT有关.

4 参考文献

- 1 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 740-746
- 2 王新华, 李珊珊, 阎爱华, 孙洋, 卢创新, 郭燕萍. 小干扰RNA阻断信号转导和转录激活子3信号对人食管鳞癌细胞株增殖的抑制作用. *中华病理学杂志* 2007; 36: 380-384
- 3 Wang YZ, Wharton W, Garcia R, Kraker A, Jove R, Pledger WJ. Activation of Stat3 preassembled with platelet-derived growth factor beta receptors requires Src kinase activity. *Oncogene* 2000; 19: 2075-2085
- 4 LaGamba D, Nawshad A, Hay ED. Microarray analysis of gene expression during epithelial-mesenchymal transformation. *Dev Dyn* 2005; 234: 132-142
- 5 Dugina VB, Alexandrova AY, Lane K, Bulanov E, Vasiliev JM. The role of the microtubular system in

名词解释

1 上皮间质转化(EMT): 是上皮细胞失去上皮特征获得间质特征的过程,这一过程同恶性肿瘤的浸润转移密切相关,并伴随着上皮标志物E-cadherin、Cytokeratin等表达下降,以及间质标志物N-cadherin、Vimentin等表达的增加.

2 信号转导子和转录活化因子(STATs)蛋白: 是转录因子家族成员,这些多功能蛋白磷酸化激活后,可调节下游靶基因的转录.该家族中的STAT1、STAT3等因子均已被证明与恶性肿瘤的发生发展有关.

同行评价

本文研究了STAT3信号蛋白在食管鳞癌EMT及浸润转移中的作用,对理解食管癌发生发展的分子机制有重要意义。

- the cell response to HGF/SF. *J Cell Sci* 1995; 108 (Pt 4): 1659-1667
- 6 孙洋, 李珊珊, 王新华, 王小军, 阎爱华. 转化生长因子 β 1与食管鳞状细胞瘤上皮间质转化的关系. *中华病理学杂志* 2008; 37: 542-546
- 7 Rosivatz E, Becker I, Specht K, Fricke E, Lubert B, Busch R, Höfler H, Becker KF. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric cancer. *Am J Pathol* 2002; 161: 1881-1891
- 8 Alvarez JV, Greulich H, Sellers WR, Meyerson M, Frank DA. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for the oncogenic effects of non-small-cell lung cancer-associated mutations of the epidermal growth factor receptor. *Cancer Res* 2006; 66: 3162-3168
- 9 Stepkowski SM, Chen W, Ross JA, Nagy ZS, Kirken RA. STAT3: an important regulator of multiple cytokine functions. *Transplantation* 2008; 85: 1372-1377
- 10 梁斌, 王杉, 祝学光, 于永祥, 马向涛, 崔志荣. 转录信号传导子和激活子3在人胃癌组织中的表达及意义. *中华实验外科杂志* 2001; 18: 313-314
- 11 Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 619-627
- 12 Fraga CH, True LD, Kirk D. Enhanced expression of the mesenchymal marker, vimentin, in hyperplastic versus normal human prostatic epithelium. *J Urol* 1998; 159: 270-274
- 13 吴静, 古建鼎. 成纤维细胞和纤维肉瘤细胞的中等纤维构型特点及其意义. *暨南大学学报(自然科学与医学版)* 1995; 4: 819-824
- 14 Ferrand A, Kowalski-Chauvel A, Bertrand C, Pradayrol L, Fourmy D, Dufresne M, Seva C. Involvement of JAK2 upstream of the PI 3-kinase in cell-cell adhesion regulation by gastrin. *Exp Cell Res* 2004; 301: 128-138
- 15 Lo HW, Hsu SC, Xia W, Cao X, Shih JY, Wei Y, Abbruzzese JL, Hortobagyi GN, Hung MC. Epidermal growth factor receptor cooperates with signal transducer and activator of transcription 3 to induce epithelial-mesenchymal transition in cancer cells via up-regulation of TWIST gene expression. *Cancer Res* 2007; 67: 9066-9076

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 •

《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)

肝纤维化及早期肝硬化的超声研究进展

冯彦红, 钱林学, 胡向东

背景资料
对肝纤维化及早期肝硬化诊断和程度判断, 是减少慢性肝病死亡率的关键问题。目前其诊断仍然依靠肝脏穿刺病例组织学检查, 但肝脏活检由于其有创性, 难以在临床广泛推广。因此, 找到一种可以准确评价肝纤维化及早期肝硬化的无创指标, 对临床工作有着及其重要的意义。

冯彦红, 钱林学, 胡向东, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科 北京市 100050
作者贡献分布: 本文由冯彦红查阅文献并总结撰写; 钱林学及胡向东审阅修改并审核成稿。
通讯作者: 钱林学, 教授, 主任医师, 100050, 北京市宣武区永安路95号, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科。
qianlinxue2002@yahoo.com
电话: 010-63138576
收稿日期: 2009-11-16 修回日期: 2009-12-25
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in ultrasonic diagnosis of hepatic fibrosis and early cirrhosis

Yan-Hong Feng, Lin-Xue Qian, Xiang-Dong Hu

Yan-Hong Feng, Lin-Xue Qian, Xiang-Dong Hu, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China
Correspondence to: Professor Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, 95 Yong'an Road, Xuanwu District, Beijing 100050, China. qianlinxue2002@yahoo.com
Received: 2009-11-16 Revised: 2009-12-25
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

With the development of medical ultrasonic technology, sonography has become an important means for diagnosis and evaluation of hepatic fibrosis and early cirrhosis. Two-dimensional sonography is the basic means of ultrasonic diagnosis and can be used to display the appearance and echo of the liver. Color Doppler sonography and Doppler frequency spectrum permit assessment of the portal venous system and detection of portal blood flow. They can be used not only for estimation of hepatic parenchymal changes but also for evaluation of portal hypertension and its complications. Contrast-enhanced ultrasound permits use of a blood-pool tracer and can assess the blood flow perfusion of hepatic parenchyma. Elasticity imaging indirectly reflects tissue pathological changes by measuring tissue elastic modulus. Fibroscan has shown great promise for staging and diagnosing hepatic fibrosis and monitoring the development of hepatic cirrhosis and portal hypertension,

thus offering a new method for noninvasive diagnosis of hepatic diseases. The clinical application of these techniques has greatly improved the diagnosis of hepatic diseases. In this article, we will review the recent advances in ultrasonic diagnosis of hepatic fibrosis and early cirrhosis.

Key Words: Hepatic fibrosis; Hepatic cirrhosis; Ultrasonic diagnosis; Elasticity imaging

Feng YH, Qian LX, Hu XD. Advances in ultrasonic diagnosis of hepatic fibrosis and early cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 454-461

摘要

随着超声医学检测技术的不断提高, 他已成为肝纤维化及早期肝硬化的重要诊断和评价手段。二维超声用于显示肝脏形态及回声, 是超声诊断的基础手段。彩色多普勒和频谱多普勒可以显示门静脉系统血流情况, 不仅可以作为评价肝实质病变程度的指标, 也是判断门脉高压及相关并发症的有效指标。超声造影提供了良好的血池示踪剂, 能够反映肝脏的血流灌注, 从而能够评估肝脏疾病的严重程度。近年来出现的弹性成像通过测量肝组织弹性模量的差异评估肝脏病变程度。Fibroscan在分期诊断慢性丙型肝炎肝纤维化、监测肝硬化门静脉高压发展中表现出了优异的诊断价值, 为无创性诊断肝硬化提供了新的发展方向。以上技术综合应用于临床, 大大提高了肝脏疾病的诊断成功率。本文就超声医学在肝纤维化及早期肝硬化诊断中的作用, 从以上几个方面作一综述。

关键词: 肝纤维化; 肝硬化; 超声诊断; 弹性成像

冯彦红, 钱林学, 胡向东. 肝纤维化及早期肝硬化的超声研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(5): 454-461
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/454.asp>

0 引言

我国约9 300万人感染乙型肝炎病毒, 乙型肝炎表面抗原阳性率占全部人口的7.18%。乙型肝炎发展可导致肝纤维化及肝硬化, 而肝纤维化及

同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

早期肝硬化缺乏典型和特异性的临床症状, 不易发现和诊断. 因此对肝纤维化及早期肝硬化诊断和程度判断, 成为减少慢性肝病死亡率的关键问题. 目前其诊断仍然依靠肝脏穿刺病例组织学检查, 但肝脏活检由于其有创性, 难以在临床广泛推广. 因此, 找到一种可以准确评价肝纤维化及早期肝硬化的无创指标, 对临床工作有着及其重要的意义^[1-5]. 随着超声造影及超声肝脏弹性成像技术的应用, 超声对于肝纤维化及早期肝硬化的诊断越来越被人们重视. 有望成为新的诊断肝纤维化及早期肝硬化的无创手段.

1 二维超声

二维超声主要通过二维图像显示肝脏形态结构及回声改变, 可用于肝纤维化及肝硬化患者的定性诊断. 肝纤维化及早期肝硬化二维超声表现为肝内回声增粗, 分布不均匀, 部分患者可有再生结节回声. 表面不规则, 呈现锯齿状、波纹状或结节样改变, 肝缘变钝. 门静脉内径增宽, 肝内门脉1级2级分支管径扩张, 严重时发生血管扭曲和走向失常. 门脉及其侧支循环可出现扩张、迂曲及重新开放. 肝静脉直径变小, 管腔变细狭窄, 走行不清. 脾脏可呈现中度肿大, 实质回声无明显变化或者轻度增强, 脾静脉在脾门部和脾实质内有明显的扩张征象^[6,7]. 胆囊可由于低蛋白血症、腹水、门脉压力增高、淋巴回流受阻等缘故, 呈现肿大, 伴胆囊壁水肿样增厚, 呈双边影伴有内壁毛糙. 自发性腹膜炎可见腹水内出现絮状回声^[4,8].

尹懿杰^[4]总结397例肝硬化患者的超声表现, 提出二维超声主要用于肝硬化的定性诊断, 对失代偿期患者存在一定局限性, 但对代偿期患者的诊断有重要价值. 他们对该组患者二维超声检测情况显示率排序, 提出在肝硬化代偿组, 二维超声特征性表现的显示率由高到低分别为肝实质回声增强、肝缘变钝、脾脏体积增大、胆囊壁增厚、肝尾状叶肿大呈球形、门脉内径增宽、脾静脉内径增宽、脾静脉走行迂曲、肝脏体积增大、门脉为入肝血流、脾静脉为入肝血流; 而在肝硬化失代偿组, 其显示率由高到低分别为肝实质回声增粗增强、肝表面不平、脾脏体积增大、胆囊壁增厚、腹水、胆囊壁呈现“双边征”、脾静脉内径增宽、脾静脉走行迂曲、门静脉内径增宽、肝实质有结节样改变、脾肝静脉为入肝血流、皮干管们流速减低. 陈煜等曾对102例慢性肝炎患者行B超、CT检查及肝穿刺活检, 将超声图像特征同病例组织学标准进行对照

分析^[8-12]. 结果发现随纤维化分期的加重, 综合肝实质回声、肝表面、肝脏边缘、肝静脉、脾脏面积等5项参数的超声总积分值逐渐升高. 以超声总积分大于10分为界, 诊断肝硬化的敏感性为86.1%, 特异性为95.5%. 由此提出综合多项超声参数而成的超声总积分对诊断早期肝硬化有较高的敏感性和特异性. 有学者统计指出, 超声检查对于早期肝硬化诊断总敏感性为74.1%, 特异性为84%, 对肝表面和肝实质指标研究结论的敏感性分别为82.6%和44.8%, 特异性分别为80%和92.8%^[9]. 较多研究指出, 彩超检查与病理诊断具有较高的符合率^[10].

高频超声作为超声新技术, 较之普通超声具有更高的分辨率, 故近年来也有越来越多的学者将其应用于区分慢性肝病纤维化进程中的细微差别, 旨在提高超声对于肝纤维化及其分期的诊断符合率^[11]. 国内孟繁坤等^[12,13]指出高频超声观察肝实质形态与病理分期之间存在显著相关性, 通过该指标诊断肝纤维化敏感性87.8%, 特异性87.7%, 诊断符合率87.8%. 随后又进一步研究, 发现对于肝纤维化不同病理分期患者, 应用高频超声观察肝包膜、肝实质回声、肝边缘、肝静脉壁形态改变等方面, 随后用半定量法计算积分, 其各组间积分也存在显著差异.

高频超声尤其适用于观察对肝表面被膜形态, 以提供诊断信息. 武金玉等^[14]曾使用高频超声对肝硬化患者肝被膜形态和肝内韧带进行评分观察, 结果发现通过肝被膜形态积分诊断肝硬化, 敏感性91.3%, 特异性85.7%, 正确率89.6%. 从而提出对肝表面被膜厚度及形态的观察, 可灵敏的反应肝纤维化及肝硬化的病理改变, 对提高纤维化及早起肝硬化的诊断有重要参考价值. 但既往也有学者对肝被膜的诊断价值提出异议, Ferry等^[15]则指出部分肝硬化患者并不以肝脏表面的表现为主, 因此不能单纯以肝表面来诊断肝硬化, 以避免丧失诊断信息.

二维超声是超声诊断的基础手段, 在临床工作中用途最为广泛. 但其观察指标在肝纤维化或肝硬化早期往往缺乏特异性, 加之部分患者同时合并脂肪变等因素影响判断^[16], 因此单纯依靠观察肝脏回声强度及形态诊断价值有限^[9,17,18]. 需结合彩色多普勒等其他检查手段方可达到较好效果.

2 彩色多普勒和频谱多普勒

代偿期肝硬化患者在彩色多普勒和频谱多普勒等方面表现可以正常, 随病情进展, 可出现门脉

相关报道
尹懿杰提出, CDFI和频谱多普勒的应用使肝硬化的量化分析成为可能, 这对失代偿期患者的诊断, 特别是对一些重要并发症的提示和预测, 有积极的临床价值. Fibroscan在评价肝硬化并发症及门脉高压方面, 也有着独特的优势. Foucher等分析711例慢性肝病患者的Fibroscan及相关资料, 发现肝硬度测值与Child评分、临床参数(血管曲张、腹水、肝癌)及生化指标(血小板计数、凝血酶原时间等)均显著相关. Fibroscan检测可以减少60%的患者进行上消化道内镜检查.

创新盘点

本文从二维超声、彩色多普勒和频谱多普勒、超声造影、瞬时弹性成像等方面对肝纤维化及早期肝硬化的诊断进行全面阐述,以供临床参考。

血流速度减慢,侧支循环建立,严重者可观察到离肝血流,脐旁静脉、胃壁静脉、食管静脉乃至腹膜后静脉可呈现瘤样扩张。肝肾综合征患者,肾内各级动脉可出现血流阻力偏高^[4]。

尹懿杰^[4]提出,较之二维超声主要用于肝硬化的定性诊断,CDFI和频谱多普勒的应用使肝硬化的量化分析成为可能,这对失代偿期患者的诊断,特别是对一些重要并发症的提示和预测,有积极的临床价值。

彩色多普勒和频谱多普勒主要通过门静脉及脾静脉的血流变化对肝硬化提供诊断依据,主要指标包括门静脉、脾静脉、肝静脉内径,相应血管内血流速度^[19]。肝硬化时,CDFI门静脉内血流可呈双向血流,PW可显示血流速度减低。一般来讲,门脉管径随肝硬化加重而增宽,血流速度、血流量随着肝硬化的加重而下降^[20-23]。多数情况下将门静脉(PV)内径>13 mm,脾静脉(SV)内径>8 mm作为肝硬化诊断标准^[24]。当门脉有血栓形成时,彩色血流出现充盈缺损^[25]。

正常门静脉、脾静脉内径、血流速度及门脉压力都维持在一定范围,肝硬化时随门脉压力增高,可出现门静脉、脾静脉内径扩张,以食管静脉为主的侧支静脉破裂出血,患者最终可死于消化道大出血、肝功能衰竭等并发症^[26,27]。其形成机制较为复杂,主要包括高动力循环状态门脉系统血流增多的前向学说和肝窦间隙压力增大引起机械性梗阻的后向学说^[28-32],以及肝硬化时各种生物活性物质在肝内灭活降低和细胞因子作用,导致门脉血流量增多,压力增高^[33,34]。超声检查因为简单无创、重复性好、准确性高,已成为临床观察肝硬化门脉高压血流动力学变化的最常用方法^[35]。其观察指标包括门静脉的最大内径、血流速度和血流量,胃左静脉的最大内径、血流速度等^[36]。其中血流速度、血流量可以较敏感的反应肝功能损害和门脉高压的进程和代偿状态,胃左静脉内径可作为门脉高压患者出血危险性评估的重要指标。有学者通过评估门脉主干、门脉左支矢状部和右支主干的血流方向、血流速度和流量评估门脉高压患者的肝功能严重程度,结果提出门脉主干血流量、门脉主干血流速度、门脉左支矢状部血流速度随病情变化而差异显著,门脉右支主干变化略显迟钝^[37]。

肝硬化门脉高压患者可出现逆向离肝血流^[38,39],有学者提出离肝血流是一种防止出血的保护性机制^[40],其发生与肝流出道严重梗阻,

动静脉瘘及异常分流等因素有关。Gaiani等^[40]曾报道肝硬化时离肝血流的发生率为3.1%。有学者该参数可作为超声诊断肝硬化的重要指标,对判断基本严重程度及预后有着良好的价值^[19]。

脐静脉再通或扩张作为门体侧支开放的较重要临床表现,也是超声诊断门脉高压实用而敏感的指标,文献报道其发生率分别为5.8%和5.3%,其100%伴有腹水^[41,42]。

另外,也有学者对于肝硬化患者肝静脉频谱和肝功能关系进行了较为深入的探讨,提出其具有显著相关性^[43-46]。Bolondi等^[43]提出如下分型标准,目前指导着国内的相关研究:HV0,三相波或四相波,即两个负向波,一个或两个正向波;HV1,波幅减低且无反向血流;HV2,连续平坦波形,类似门静脉血流。既往有学者经临床研究提出正常与轻度肝纤维化表现为HV0,中度肝纤维化表现为HV1,重度肝纤维化表现为HV2^[47-49]。

近年来,新近开发成功的彩色多普勒流速剖面技术(CDVP)应用于临床,他可以直接测量血管横截面及的瞬间血流量,可较好的反应门静脉的血流动力学状态^[50-52]。王晓艳等研究显示,肝硬化患者门静脉右支血流速度及血流量较正常明显下降,且随病情进展,肝硬化失代偿患者较代偿期患者均明显下降,该结论既往其他研究方法所得的结果一致^[29,52-54]。

总之,门静脉系统的血流动力学变化不仅可以作为评价肝实质病变程度的指标,也是判断门脉高压的有效指标^[55-57]。彩色多普勒和频谱多普勒可提供肝硬化的血流动力学信息,对于临床工作具有重要的参考价值^[58,59]。但也有学者提出,二维超声检查肝脏形态、大小、回声以及彩色多普勒检查肝脏血流动力学指数等指标,始终无法避免仪器及人为干扰对检查结果所造成的影响,因此特异性及敏感性受到限制^[19,60]。因此,超声造影诊断肝硬化仍为临床所强烈需求。

3 超声造影

近年来,超声造影研究肝、肾、乳腺等脏器疾病及肿瘤血管性病变造影的基础及临床报道不断增多^[61]。随着声学造影技术的不断发展,越来越多的研究集中于运用超声造影评估肝脏血流动力学情况,协助肝硬化诊断。超声造影剂微泡的血流动力学与红细胞完全相似,因此作为良好的血池示踪剂,能够反映肝脏的血流灌注,从而能够评估肝脏疾病的严重程度^[3,35,62]。

肝硬化伴随有肝脏微循环和血流动力学改变. 由于肝硬化假小叶形成导致肝内血管床与血流减少, 肝内阻力增加, 门脉血流受阻. 作为肝内高阻力的一种代偿, 肝内肝动脉、门静脉与肝静脉之间出现异常吻合支, 造成肝动脉、门静脉的血液绕过肝血窦直接进入肝静脉系统, 导致肝脏血液通过时间缩短^[63-68]. 另外, 同时由于肝硬化引起的神经、内分泌和局部因素如胰高血糖素、前列腺素和一氧化氮的影响, 全身血流量增加形成高动力循环^[69-72], 可能也是导致相应血流动力学改变的原因.

既往文献报道曾应用肝静脉到达时间 (hepatic vein arrival time, HVAT)、肝静脉渡越时间 (hepatic vein transit time, HVTT)、肝动脉渡越时间 (hepatic artery-vein transit time HAVTT, HVAT-HAAT)、肝静脉显影时间、门脉显影时间等参数作为评估指标^[11,73]. (1)HVAT与HVTT: Albrecht等^[63,64]较早涉足于该领域的研究, 发现正常人和肝硬化患者声学造影后多普勒时间强度曲线有很大差异. 应用超声造影剂观察人的 HVAT, 发现该参数小于24 s诊断肝硬化有100%的敏感性和96%的特异性, 分析其原因可能为肝内动静脉短路所致, 从而提出通过时间分析可作为诊断肝硬化的无创性诊断方法. Abbattista等^[74]提出以HVAT小于17 s作为诊断肝硬化的界值有100%敏感性和93.3%特异性, 并且可重复性较高 (Kappa = 0.9). Blomley等^[75]同时测定颈动脉延迟时间 (CDT), 以HVTT<24 s及CDT<10 s诊断肝硬化, 敏感性为100%, 且可评估其严重程度. Lim等^[76]经研究发现, HVTT诊断肝硬化的敏感性为100%, 特异性为80%, 分辨轻度与较重肝硬化的敏感性为95%, 特异性为86%. Sugimoto等^[65]和 Gaiani等^[66]研究发现, 肝硬化组和对照组的肝动脉及门脉始增时间无明显差别, 而HVTT明显缩短, 因此提出肝硬化时存在的高动力循环以及肺内动静脉分流可能对肝静脉通过时间缩短影响不大, 肝内动静脉分流才是造成肝静脉通过时间缩短的主要原因. 国内陈杰等曾指出, HVTT随纤维化程度的升高而缩短, 可反映S2-S4期的纤维化, 是诊断肝纤维化的良好指标. (2)肝静脉显影时间: 国内刘平等^[77]通过兔纤维化模型, 观察到肝静脉的造影剂通过时间, 即肝静脉显影时间可明显提前, 从而提出肝静脉显影时间变化在一定程度上可以作为肝内细微结构改变的间接征象, 可用于肝纤维化的早期诊断. 华兴等^[72]应用肝静脉显影时间作为评估指标, 对80只大鼠建立肝硬

化模型, 经动物实验证实肝硬化组较正常组肝静脉显影时间明显缩短, 且随造模时间延长有逐渐缩短的趋势, 早期肝硬化组肝静脉显影时间明显长于中晚期肝硬化组. 这一结果与国外Keller等^[78]的研究结果相一致. 他们认为, 肝纤维化与肝硬化导致肝内外分流、肝脏的首次通过减弱以及全身脏器的高动力循环^[79-81], 是造影剂在肝静脉内显影时间明显提前的原因. 而肝静脉显影时间的测定可以在一定程度上反映肝内血流动力学改变, 鉴别肝纤维化及早中晚期肝硬化. Ridolfi等^[82]也进行了肝静脉显影时间的研究, 并结合肝静脉增强峰值时间一起分析, 其结果也证实肝硬化组肝静脉显影时间明显减短, 但还不足以评价肝硬化的严重程度. 回顾以往研究, 该参数究竟是否能够用于评估肝硬化程度, 尚无统一论. (3)HAVTT: Hirota等^[83]较早指出, HAVTT可反映肝内血流循环时间, 其时间间隔可反映肝内血流动力学的变化, 肝硬化者该指标缩短, 患者组与对照组存在显著性差异. 国内李安华等^[84]、张莉等^[85]也通过临床研究得到了同样的结论, 并指出随肝硬化程度的加重, 早起门静脉-肝实质灰阶强度差逐渐增大. 张晓丽等^[3]也应用HAVTT作为评估指标, 并首次应用造影剂到达TIC峰值的70%为HAAT、HVAT, 进行了相关动物实验. 结果发现试验兔造模前后HAVTT有统计学差异, 从而通过动物实验进一步证实HAVTT在试验兔早期肝硬化时明显缩短, 可以作为定性诊断兔早期肝硬化指标. (4)门脉显影时间: 尹珊珊等^[86]经临床研究证实, 肝硬化患者门静脉显影时间和肝实质的增强峰值时间均较正常组延长, 但其时相与患者Child-Paugh分级未发现明显相关性. 王晓艳等^[87]以门脉右支显影时间作为观察对象, 发现该指标肝硬化组明显长于对照组, 肝硬化失代偿组明显长于代偿组. 也有学者提出了超声造影诊断肝硬化的局限性. 如Blomley等^[88]曾指出, 如肝内多发转移灶的时间-亮度曲线与肝硬化患者相同, 肝动脉、肝静脉、门静脉的造影剂通过时间均提前, 则肝内多发转移灶和肝硬化的造影鉴别将成为问题. 可见, 超声造影诊断肝硬化属于近年来诞生的新技术, 尚处于早期阶段, 其应用中出现的诸多问题还有待于在临床工作中进一步探讨和完善.

4 瞬时弹性成像

2003年, Sandrin等^[89]提出用超声波技术测定肝组织弹性或硬度的方法, 称为瞬时弹性测定. 法

应用要点
本研究提示, 在影像学发展的不同阶段, 二维超声、彩色多普勒与频谱多普勒、超声造影、瞬间弹性成像等检查在临床诊断肝硬化的过程中发挥着不可替代的作用. 且瞬间弹性成像作为一种非侵入性诊断肝纤维化及肝硬化的方法, 其发展前景良好, 有望替代肝组织活检, 成为未来肝纤维化和肝硬化诊断的发展方向.

同行评价
本文综述全面, 内容新颖, 具有较好的学术水平和可读性.

国Echosens公司研制出Fibroscan一维瞬时弹性成像系统, 其基本原理为将一维脉冲超声切割波在肝组织内运行的速度换算成弹力数值, 肝组织质地越硬, 超声切割波在肝组织内运行速度也越快, 从而推算出感兴趣区域的弹性模量, 用于提供肝纤维化程度的信息. 该方法样本误差率低, 组内及组间重复性好^[89,90], 且具有无创、快速、可靠的特点, 很快成为检测肝纤维化及肝硬化程度的有效工具, 该领域研究进展也为近年来学术界所广泛关注^[91-93].

近年来, 一些学者对于Fibroscan在肝纤维化诊断中的价值进行了深入研究. Sandrin等^[89]用Fibroscan检测106例丙型肝炎患者, 91例用于研究弹性模量与纤维化程度的关系(67例有效). 瞬时弹性成像得到肝脏的弹性模量结果与纤维化阶段的相关性很好(偏相关系数 $r = 0.71$, $P < 0.01$). Chan等^[94]对比161例慢性乙型肝炎患者肝活检和Fibroscan检测结果, 诊断 $F \geq 1$ 、 $F \geq 3$ 及 $F = 4$ 期的AUROC分别为0.80(95%CI: 0.68-0.92)、0.87(95%CI: 0.82-0.93)和0.93(95%CI: 0.89-0.97). 提出应用Fibroscan可以避免62%和58%的人做肝穿刺检查.

Fibroscan在评价肝硬化并发症及门脉高压方面, 也有着独特的优势. Foucher等^[95]分析711例慢性肝病患者(经病理证实肝硬化95例)的Fibroscan及相关资料, 发现肝硬度测值与Child评分、临床参数(血管曲张、腹水、肝癌)及生化指标(血小板计数、凝血酶原时间等)均显著相关. Kazemi等^[96]应用Fibroscan评价165例肝硬化患者预测食管静脉曲张程度, 结果肝硬度测值与食管静脉曲张中度相关($r = 0.6$). 以上结果提示, Fibroscan检测可以减少60%的患者进行上消化道内镜检查.

与此同时, 也有试验结果体现了瞬间弹性成像诊断肝纤维化在现阶段的局限性. 在Fibroscan应用于慢性丙型肝炎患者的3项大型研究中^[95,97,98], 以肝穿刺活检后METAVIR肝纤维化病理分期为对照标准, 其测定结果均未达到通常认可的好的诊断实验的数值(阳性似然比 >10 和阴性似然比 <0.1). 另外, 瞬时弹性成像的影响因素较多, 可能与性别、年龄、体质量指数(BMI)、糖尿病史、脂肪肝等多种因素相关. 因此, 该方法未来的推广应用, 尚需在实践中进一步完善, 以求对肝硬化的诊断和病情评估做出更加重要的贡献.

5 结论

在影像学发展的不同阶段, 二维超声、彩色多普勒与频谱多普勒、超声造影、瞬间弹性成像等检查在临床诊断肝硬化的过程中发挥着不可替代的作用. 且瞬间弹性成像作为一种非侵入性诊断肝纤维化及肝硬化的方法, 其发展前景良好, 有望替代肝组织活检, 成为未来肝纤维化和肝硬化诊断的发展方向. 其进一步完善和推广, 尚待我们超声工作者进一步研究和努力.

6 参考文献

- 1 Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, Piscaglia F, Siringo S, D'Errico A, Zironi G, Grigioni W, Bolondi L. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 1997; 27: 979-985
- 2 Khan KN, Yamasaki M, Yamasaki K, Inoue O, Yatsushashi H, Koga M, Yano M. Proposed abdominal sonographic staging to predict severity of liver diseases: analysis with peritoneoscopy and histology. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 554-564
- 3 张晓丽, 钱林学, 谭小蓁, 胡向东, 张庆, 龚海马. 超声造影诊断早期肝硬化的实验研究. *中国超声医学杂志* 2009; 25: 539-541
- 4 尹懿杰. 肝炎后肝硬化超声诊断的总结研究. *实用医技杂志* 2004; 11: 144-146
- 5 南月敏, 蒋树林, 姚希贤. 肝硬化病理与发病机制. *中国全科医学* 2003; 6: 364-365
- 6 Aubé C, Oberti F, Koral N, Namour MA, Loisel D, Tanguy JY, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Rifflet H, Maïga MY, Penneau-Fontbonne D, Caron C, Calès P. Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J Hepatol* 1999; 30: 472-478
- 7 Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, Piscaglia F, Siringo S, D'Errico A, Zironi G, Grigioni W, Bolondi L. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 1997; 27: 979-985
- 8 陈煜, 段钟平, 王宝恩, 陈敏华, 钱林学, 贺文, 陈光勇. 超声积分法对肝硬化的早期诊断. *临床肝胆病杂志* 2003; 19: 236-237
- 9 Lin DY, Sheen IS, Chiu CT, Lin SM, Kuo YC, Liaw YF. Ultrasonographic changes of early liver cirrhosis in chronic hepatitis B: a longitudinal study. *J Clin Ultrasound* 1993; 21: 303-308
- 10 温红. 早期肝硬化的彩色多普勒超声诊断价值. *邯郸医学高等专科学校学报* 2005; 18: 454-455
- 11 李娜, 丁红. 超声新技术在评价肝储备功能方面的应用. *临床超声医学杂志* 2008; 10: 685-687.
- 12 孟繁坤, 丁蕾, 曲猛, 郑颖, 葛辉玉, 徐策, 张海英. 高频超声观察肝实质形态的改变对慢性肝病肝纤维化分期的价值. *中国医学影像技术* 2006; 22: 916-918
- 13 孟繁坤, 郑颖, 丁蕾, 徐策, 王金锐. 高频超声检查与病理肝纤维化分期相关性的半定量研究. *中国超声医学杂志* 2007; 23: 846-848
- 14 武金玉, 陈敏华, 戴莹, 严昆, 廖盛日, 杨薇, 王泰岭. 超声对肝纤维化和肝硬化半定量诊断探讨 - 肝被膜形态及肝内韧带观察. *中华超声影像学杂志* 2003; 12:

- 478-481
- 15 Ferral H, Male R, Cardiel M, Munoz L, Quiroz y Ferrari F. Cirrhosis: diagnosis by liver surface analysis with high-frequency ultrasound. *Gastrointest Radiol* 1992; 17: 74-78
- 16 Guimond A, Teletin M, Garo E, D'Sa A, Selloum M, Champy MF, Vonesch JL, Monassier L. Quantitative ultrasonic tissue characterization as a new tool for continuous monitoring of chronic liver remodelling in mice. *Liver Int* 2007; 27: 854-864
- 17 Ladenheim JA, Luba DG, Yao F, Gregory PB, Jeffrey RB, Garcia G. Limitations of liver surface US in the diagnosis of cirrhosis. *Radiology* 1992; 185: 21-23; discussion 23-24
- 18 Sanford NL, Walsh P, Matis C, Baddeley H, Powell LW. Is ultrasonography useful in the assessment of diffuse parenchymal liver disease? *Gastroenterology* 1985; 89: 186-191
- 19 郑起, 徐维刚, 徐智章. 肝硬化门静脉高压彩超测量临床意义探讨. *中华消化杂志* 1997; 17: 303-304
- 20 郑亮, 许巩华, 丁然, 程荣耀. 再评肝硬化彩色多普勒超声测定的血流动力学变化. *中国超声医学杂志* 1999; 15: 228-229
- 21 章芬美, 王灵燕, 张正贤, 朱法望, 徐子宁, 泮农. 门静脉彩色多普勒超声诊断肝硬化的意义. *中国超声医学杂志* 2001; 17: 769-770
- 22 江晓华, 诸琦, 吴云林, 乙芳, 蒋莹. 肝硬化食管静脉曲张张大出血患者门脉血流动力学检测及其临床意义. *安徽医学* 2002; 23: 26-28
- 23 张勇, 段云友, 张莉. 肝硬化患者门静脉、脾静脉血流动力学变化的彩色多普勒超声检测. *中国现代医学杂志* 2007; 17: 1518-1519
- 24 陈灏珠. 实用内科学. 第10版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 1673-1691
- 25 周永昌, 郭万学. 超声医学. 第3版. 北京: 科学技术文献出版社, 1998: 784-789
- 26 Bolognesi M, Sacerdoti D, Merkel C, Bombonato G, Gatta A. Noninvasive grading of the severity of portal hypertension in cirrhotic patients by echo-color-Doppler. *Ultrasound Med Biol* 2001; 27: 901-907
- 27 Fevery J, Nevens F. Oesophageal varices: assessment of the risk of bleeding and mortality. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 842-848
- 28 宋怀宇, 贾涛, 朱菊人. 缙沙坦对肝硬化患者肝血流动力学影响的彩色多普勒观察. *临床肝胆病杂志* 2003; 19: 79-81
- 29 姜慧卿, 张晓岚, 秦玉彩. 肝硬化患者门静脉系统血流动力学改变的彩色多普勒超声研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2001; 10: 343-345
- 30 谭友文, 於学军, 殷玉梅. 肝硬化门静脉高压门脉血流动力学检测及其临床意义. *中华超声影像学杂志* 2001; 10: 151-153
- 31 Kutlu R, Karaman I, Akbulut A, Baysal T, Sigirci A, Alkan A, Aladag M, Seckin Y, Saraç K. Quantitative Doppler evaluation of the splenoportal venous system in various stages of cirrhosis: differences between right and left portal veins. *J Clin Ultrasound* 2002; 30: 537-543
- 32 Bolognesi M, Sacerdoti D, Merkel C, Bombonato G, Gatta A. Noninvasive grading of the severity of portal hypertension in cirrhotic patients by echo-color-Doppler. *Ultrasound Med Biol* 2001; 27: 901-907
- 33 顾长海, 王宇明. 肝功能衰竭. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 309-312
- 34 Li XN, Huang CT, Wang XH, Leng XS, Du RY, Chen YF, Hou X. Changes of blood humoral substances in experimental cirrhosis and their effects on portal hemodynamics. *Chin Med J (Engl)* 1990; 103: 970-977
- 35 Iwao T, Toyonaga A, Oho K, Tayama C, Masumoto H, Sakai T, Sato M, Tanikawa K. Value of Doppler ultrasound parameters of portal vein and hepatic artery in the diagnosis of cirrhosis and portal hypertension. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1012-1017
- 36 邓林云, 史建伟, 肖小鹏. 彩色多普勒超声在门静脉高压分期及出血危险性评估中的应用. *江西医学院学报* 2007; 47: 87-90
- 37 龙奇, 张朝霞, 徐桂影. 门脉高压症肝脏门静脉彩色多普勒血流检测及临床意义. *中国厂矿医学* 2005; 18: 15-16
- 38 云玉珍, 薛利芳. 彩色多普勒观察85例肝硬化门静脉系统血流方向的临床意义. *中国实用内科杂志* 1995; 15: 413
- 39 郑志, 徐维刚, 徐智章. 肝硬化门静脉高压彩超测量临床意义探讨. *中华消化杂志* 1997; 17: 303-304
- 40 Gaiani S, Bolondi L, Li Bassi S, Zironi G, Siringo S, Barbara L. Prevalence of spontaneous hepatofugal portal flow in liver cirrhosis. Clinical and endoscopic correlation in 228 patients. *Gastroenterology* 1991; 100: 160-167
- 41 Ditchfield MR, Gibson RN, Donlan JD, Gibson PR. Duplex Doppler ultrasound signs of portal hypertension: relative diagnostic value of examination of paraumbilical vein, portal vein and spleen. *Australas Radiol* 1992; 36: 102-105
- 42 Gibson PR, Gibson RN, Donlan JD, Ditchfield MR, Bhathal PS. Duplex Doppler ultrasound of the ligamentum teres and portal vein: a clinically useful adjunct in the evaluation of patients with known or suspected chronic liver disease or portal hypertension. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 61-65
- 43 Bolondi L, Li Bassi S, Gaiani S, Zironi G, Benzi G, Santi V, Barbara L. Liver cirrhosis: changes of Doppler waveform of hepatic veins. *Radiology* 1991; 178: 513-516
- 44 Colli A, Cocciolo M, Riva C, Martinez E, Prisco A, Pirola M, Bratina G. Abnormalities of Doppler waveform of the hepatic veins in patients with chronic liver disease: correlation with histologic findings. *AJR Am J Roentgenol* 1994; 162: 833-837
- 45 郑荣琴, 吕明德, 张晓红, 周元平, 梁欣, 卢翠容, 姚集鲁. 肝静脉管径及多普勒频谱与慢性病毒性肝炎肝纤维化的相关性研究. *中国超声医学杂志* 1999; 15: 518-520
- 46 孟繁坤, 郑颖, 葛辉玉, 李芳, 徐策, 丁蕾, 曹海根. 慢性肝炎肝静脉彩色多普勒超声频谱改变与肝纤维化分期相关性的研究. *中华超声影像学杂志* 2006; 15: 297-299
- 47 冯晓洲, 雷小莹. 肝静脉血流频谱变化对慢性肝脏疾病的诊断价值. *西安医科大学学报* 1999; 20: 113-114
- 48 孙琳琳, 张伟. 慢性肝病肝静脉血流频谱与肝纤维化病理分期对比研究. *交通医学* 2002; 16: 335-336
- 49 单茜, 迟坤, 石龙. 慢性肝病肝纤维化的肝静脉血流频谱分析. *中国超声诊断杂志* 2004; 5: 346-347
- 50 段晓煜, 吕明德, 黄洁夫. 运用彩色多普勒流速剖面图测定血流量的实验研究. *中国超声医学杂志* 1997; 13: 4-6
- 51 段晓煜, 吕明德, 黄洁夫. 彩色多普勒流速剖面技术对正常人门脉血流动力学研究. *中国超声医学杂志* 1998; 14: 33-36
- 52 王晓艳, 林礼务, 薛恩生, 何以救, 高上达. 彩色多普勒流速剖面技术对肝硬化程度评价的探讨. *中国超声医学杂志* 2006; 22: 607-610
- 53 Perisic M, Ilic-Mostic T, Stojkovic M, Culafic D, Sarenac R. Doppler hemodynamic study in

- portal hypertension and hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 156-160
- 54 Kayacetin E, Efe D, Doğan C. Portal and splenic hemodynamics in cirrhotic patients: relationship between esophageal variceal bleeding and the severity of hepatic failure. *J Gastroenterol* 2004; 39: 661-667
- 55 Perisić MD, Culafić DjM, Kerkez M. Specificity of splenic blood flow in liver cirrhosis. *Rom J Intern Med* 2005; 43: 141-151
- 56 Yan GZ, Duan YY, Ruan LT, Cao TS, Yuan LJ, Yang YL. Noninvasive quantitative testing of liver function using ultrasonography in patients with cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 15-20
- 57 Vogt W. [Value of ultrasound and doppler sonography in chronic hepatitis and liver cirrhosis] *Praxis* (Bern 1994) 2005; 94: 639-643
- 58 Zoli M, Magalotti D, Bianchi G, Ghigi G, Orlandini C, Grimaldi M, Marchesini G, Pisi E. Functional hepatic flow and Doppler-assessed total hepatic flow in control subjects and in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1995; 23: 129-134
- 59 Mohr H, Gödderz W, Lohse AW, Gerken G, Meyer zum Büschenfelde KH. Duplex ultrasound in diagnosis and monitoring of liver transplant rejection. *Lancet* 1995; 346: 315-316
- 60 Vilgrain V. Ultrasound of diffuse liver disease and portal hypertension. *Eur Radiol* 2001; 11: 1563-1577
- 61 Numata K, Tanaka K, Kiba T, Saito S, Ikeda M, Hara K, Tanaka N, Morimoto M, Iwase S, Sekihara H. Contrast-enhanced, wide-band harmonic gray scale imaging of hepatocellular carcinoma: correlation with helical computed tomographic findings. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 89-98
- 62 Kono Y, Moriyasu F, Nada T, Suginoshta Y, Matsumura T, Kobayashi K, Nakamura T, Chiba T. Gray scale second harmonic imaging of the liver: a preliminary animal study. *Ultrasound Med Biol* 1997; 23: 719-726
- 63 Albrecht T. Contrast media in ultrasonography. The past, the present, the future. A clinical overview. *Radiol Med* 1998; 95: 6-12
- 64 Albrecht T, Blomley MJ, Cosgrove DO, Taylor-Robinson SD, Jayaram V, Eckersley R, Urbank A, Butler-Barnes J, Patel N. Non-invasive diagnosis of hepatic cirrhosis by transit-time analysis of an ultrasound contrast agent. *Lancet* 1999; 353: 1579-1583
- 65 Sugimoto H, Kaneko T, Hirota M, Tezel E, Nakao A. Earlier hepatic vein transit-time measured by contrast ultrasonography reflects intrahepatic hemodynamic changes accompanying cirrhosis. *J Hepatol* 2002; 37: 578-583
- 66 Gaiani S, Serra C, Piscaglia F, Celli N, Rasciti L, Miglioli M, Bolondi L. Effect of Levovist on splanchnic hemodynamics in cirrhotic patients. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 643-648
- 67 Leen E, Goldberg JA, Anderson JR, Robertson J, Moule B, Cooke TG, McArdle CS. Hepatic perfusion changes in patients with liver metastases: comparison with those patients with cirrhosis. *Gut* 1993; 34: 554-557
- 68 Kleber G, Steudel N, Behrmann C, Zipprich A, Hübner G, Lotterer E, Fleig WE. Hepatic arterial flow volume and reserve in patients with cirrhosis: use of intra-arterial Doppler and adenosine infusion. *Gastroenterology* 1999; 116: 906-914
- 69 陆雄, 刘平. 肝纤维化过程中一个重要的病理改变 - 肝窦毛细血管瘤化. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 53-54
- 70 王春平, 韩军. 门静脉高压症形成的细胞分子机制. *传染病信息* 2005; 18: 117-119
- 71 González-Abrales J, García-Pagán JC, Bosch J. Nitric oxide and portal hypertension. *Metab Brain Dis* 2002; 17: 311-324
- 72 华兴, 李锐, 张萍, 郭燕丽, 郭爱民. 声学造影剂肝静脉显影时间分析诊断肝硬化的动态研究. *中国临床医学影像学杂志* 2005; 16: 208-210
- 73 Li PC, Yeh CK, Wang SW. Time-intensity-based volumetric flow measurements: an in vitro study. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 349-358
- 74 Abbattista T, Ridolfi F, Ciabattini E, Marini F, Bendia E, Brunelli E, Busilacchi P. Diagnosis of liver cirrhosis by transit-time analysis at contrast-enhanced ultrasonography. *Radiol Med* 2008; 113: 860-874
- 75 Blomley MJ, Lim AK, Harvey CJ, Patel N, Eckersley RJ, Basilico R, Heckemann R, Urbank A, Cosgrove DO, Taylor-Robinson SD. Liver microbubble transit time compared with histology and Child-Pugh score in diffuse liver disease: a cross sectional study. *Gut* 2003; 52: 1188-1193
- 76 Lim AK, Taylor-Robinson SD, Patel N, Eckersley RJ, Goldin RD, Hamilton G, Foster GR, Thomas HC, Cosgrove DO, Blomley MJ. Hepatic vein transit times using a microbubble agent can predict disease severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut* 2005; 54: 128-133
- 77 刘平, 高云华, 谭开彬, 黄嘉, 马丽慧, 王冬, 何琳, 刘蓉. 声学造影对早期肝纤维化诊断的实验研究. *中国超声医学杂志* 2002; 18: 897-899
- 78 Keller MW, Segal SS, Kaul S, Duling B. The behavior of sonicated albumin microbubbles within the microcirculation: a basis for their use during myocardial contrast echocardiography. *Circ Res* 1989; 65: 458-467
- 79 黄自强. 腹部外科学. 第1版. 长沙: 湖南科技出版社, 1995: 126-130
- 80 程明亮, 杨长青. 肝纤维化的基础研究及临床. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 10-11
- 81 隋建超. 肝硬化时全身血液动力学改变. *临床内科杂志* 1995; 12: 12-13
- 82 Ridolfi F, Abbattista T, Marini F, Vedovelli A, Quagliarini P, Busilacchi P, Brunelli E. Contrast-enhanced ultrasound to evaluate the severity of chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 929-935
- 83 Hirota M, Kaneko T, Sugimoto H, Kure S, Inoue S, Takeda S, Nakao A. Intrahepatic circulatory time analysis of an ultrasound contrast agent in liver cirrhosis. *Liver Int* 2005; 25: 337-342
- 84 李安华, 周建华, 裴小青, 韩峰, 陈孝岳. 声学造影对肝动-静脉渡越时间临床意义的初步研究. *中国超声医学杂志* 2005; 21: 601-603
- 85 张莉, 段云友, 张勇, 王婷, 杨一林, 曹铁生. 超声造影指导肝纤维化分级的初步研究. *中华超声影像学杂志* 2007; 16: 616-619
- 86 尹珊珊, 严昆, 戴莹, 武金玉, 陈敏华. 实时灰阶超声造影对肝硬化定量诊断的初步探讨. *中国医学影像技术* 2004; 20: 731-733
- 87 王晓艳, 林礼务, 薛恩生. 超声造影与流速剖面技术评价肝硬化程度的临床意义. *中华超声影像学杂志* 2006; 15: 809-812
- 88 Blomley MJ, Albrecht T, Cosgrove DO, Jayaram V, Eckersley RJ, Patel N, Taylor-Robinson S, Bauer A, Schlieff R. Liver vascular transit time analyzed with dynamic hepatic venography with bolus injections of an US contrast agent: early experience in seven

- patients with metastases. *Radiology* 1998; 209: 862-866
- 89 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713
- 90 Sandrin L, Tanter M, Catheline S, Fink M. Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2002; 49: 426-435
- 91 Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56: 968-973
- 92 Colletta C, Smirne C, Fabris C, Toniutto P, Rapetti R, Minisini R, Pirisi M. Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases. *Hepatology* 2005; 42: 838-845
- 93 Masaki N, Imamura M, Kikuchi Y, Oka S. Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Hepatol Res* 2006; 35: 135-139
- 94 Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan FK, Sung JJ, Wong VW. Alanine aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2009; 16: 36-44
- 95 Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006; 55: 403-408
- 96 Kazemi F, Kettaneh A, N'kontchou G, Pinto E, Ganne-Carrie N, Trinchet JC, Beaugrand M. Liver stiffness measurement selects patients with cirrhosis at risk of bearing large oesophageal varices. *J Hepatol* 2006; 45: 230-235
- 97 Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54
- 98 Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-350

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 •

《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)

多排螺旋CT门静脉成像对门静脉高压食管、胃底静脉曲张的评价

贺文, 赵丽琴, 马大庆

背景资料
门静脉高压是肝硬化失代偿期的常见并发症, 脾肿大和门静脉-腔静脉间交通支扩张是其常见的病理变化, 食管下段、胃底静脉曲张破裂引发的胃肠道大出血是造成肝硬化患者死亡的主要原因之一。螺旋CT无创伤、操作简单, 可重复性强, 可以获得高质量的图像, 肝硬化门脉高压时, 正确评价门-腔静脉间侧支循环, 对患者的治疗和预后均有重要意义。

贺文, 赵丽琴, 马大庆, 首都医科大学附属北京友谊医院放射科 北京市 100050
北京市教育委员会科技发展计划基金资助项目, No. KM200810025002
作者贡献分布: 本文由赵丽琴完成; 贺文与马大庆审校。
通讯作者: 贺文, 主任医师, 教授, 100050, 北京市, 首都医科大学附属北京友谊医院放射科. hewen1724@sina.com
电话: 010-63138470
收稿日期: 2009-11-16 修回日期: 2009-12-25
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Multi-detector CT portal venography in evaluation of the collateral circulation in portal hypertension

Wen He, Li-Qin Zhao, Da-Qing Ma

Wen He, Li-Qin Zhao, Da-Qing Ma, Department of Radiology, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China
Supported by: the Scientific Research Program of Beijing Municipal Commission of Education, No. KM200810025002
Correspondence to: Professor Wen He, Department of Radiology, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China. hewen1724@sina.com
Received: 2009-11-16 Revised: 2009-12-25
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

Liver cirrhosis often results in portal hypertension. Gastric fundic and esophageal varices are one of the severe complications of portal hypertension and may cause massive hemorrhage of the upper gastrointestinal tract. The evaluation of the collateral circulation in portal hypertension is of important value for the management of patients with portal hypertension. Multi-detector computed tomography portal venography (CTPV) can display the location and shape of gastric varices (GV) and the collateral circulation in GV. In type 1 gastroesophageal varices (GEV1), GV often have a circuitous shape and are primarily supplied by the left gastric vein (LGV), seldom accompanied by gastrosplenic or splenorenal shunts. In type 2 gastroesophageal varices (GEV2), GV are primarily supplied by the posterior gastric

vein (PGV) and/or the short gastric vein (SGV), some accompanied by gastrosplenic or splenorenal shunts. In isolated gastric varices (IGV), GV are primarily supplied by the PGV and/or SGV, often accompanied by gastrosplenic or splenorenal shunts. CTPV can also reveal the relationship between the types of esophageal varices and their collateral circulation. When esophageal varices are mainly located in the submucosa and the wall of the esophagus, they are primarily supplied by the anterior branch-dominant type of left gastric vein. Paraesophageal varices are primarily supplied by the posterior branch-dominant type of left gastric vein. When esophageal varices in the submucosa and the wall of the esophagus are as severe as paraesophageal varices, esophageal varices are primarily supplied by the bilateral type of left gastric vein.

Key Words: Portal vein; Hypertension; Gastric varices; Esophageal varices; Collateral circulation; Tomography; X-ray computer tomography

He W, Zhao LQ, Ma DQ. Multi-detector CT portal venography in evaluation of the collateral circulation in portal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 462-466

摘要

肝硬化失代偿期可引起门静脉高压, 食管胃底静脉曲张是门静脉高压的一个严重并发症, 其破裂可引起胃肠道大出血, 对门静脉高压侧支循环的显示对患者的治疗方式的选择及预后的评估具有重要意义。多排螺旋CT门静脉成像(CTPV)可显示胃底静脉曲张的部位、形态及侧支循环血供的关系, 在GEV1型, GV多为LGV或以LGV为主来供应, 胃和(或)脾-肾分流较少见, GV的形态多为迂曲型。在GEV2型, GV大部分由PGV和(或)SGV供血, 部分病例伴胃和(或)脾-肾分流。IGV型多以PGV和(或)SGV为主要血供, 且较多合并胃和(或)脾-肾分流, GEV2和IGV型GV的形态以结节型和瘤型较多。CTPV可显示食管静脉曲张分型与其侧支循环的关系, EV以位于食管黏膜下、

同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

食管壁为主时, 其血供多为胃左静脉前支优势型; EV为食管旁静脉曲张为主时, 其血供多为后支优势型; EV管壁、黏膜下静脉曲张程度与管旁静脉曲张接近时, 其血供多为前后支均衡型。

关键词: 门静脉; 高血压; 胃底静脉曲张; 食管静脉曲张; 侧支循环; 体层摄影术; X线计算机

贺文, 赵丽琴, 马大庆. 多排螺旋CT门静脉成像对门静脉高压食管、胃底静脉曲张的评价. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 462-466
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/462.asp>

0 引言

门静脉高压是肝硬化失代偿期的常见并发症, 脾肿大和门静脉-腔静脉间交通支扩张是其常见的病理变化, 食管下段、胃底静脉曲张破裂引发的胃肠道大出血是造成肝硬化患者死亡的主要原因之一。肝硬化门脉高压时, 正确评价门-腔静脉间侧支循环, 对患者的治疗和预后均有重要意义。对门-体间侧支循环形成的评价方法, 常用的包括食管钡餐、CT、B超和胃镜等, 但均仅能显示间接征象或显示侧支循环的一部分。门静脉直接造影虽然可以显示门静脉、主要属支和与体静脉间侧支循环形成的情况, 但此项检查为有创检查, 其临床应用受限。作为一种无创性检查, 螺旋CT门静脉成像(computed tomography portal venography, CTPV)显示出了很高的临床价值和应用前景^[1,2]。

1 CT门静脉成像的方法

CTPV的扫描和重建方案扫描方案与设备的性能密切相关。由于需要尽可能地覆盖门静脉属支和侧支循环的走行区域, 扫描范围应包括气管分枝下至髂骨翼水平, 长度约50 cm。为保证重建图像质量, 扫描层厚不得大于2.5 cm; 重建间隔应有20%的重叠, 如2.5 mm层厚, 即为2.0 cm; 螺距系数可为1.0-0.875。在应用8排以上MSCT扫描时, 总扫描时间约20-25 s。扫描延迟时间为60-70 s, 以适应门静脉强化的最佳时相。从上述扫描参数的设定看, 在8排以上的多排螺旋CT机上较容易获得高质量的门静脉CTPV图像^[3]。应用64排螺旋CT, 可以获得更高的空间分辨率, 可以对门静脉系统及其分属支进行立体、直观地显示(图1A), 并对食管旁静脉和食管黏膜下曲张静脉之间的穿支静脉进行显示^[4]。

门静脉血管三维重建的基本方法有最大密

度投影(maximum intensity projection, MIP)、容积重建(volume rendering, VR)和表面阴影重建(shaded surface display, SSD)3种。由于门静脉在增强后密度不是很高, 为了获得较清晰的血管图像, 宜选用MIP法。而VR和SSD法所得图像噪音较大, 不利于静脉血管的显示^[5], 但在显示曲张静脉复杂的空间位置关系方面具有优势。我们在一组43例的病例研究中, 主要应用多平面MIP法重建, 满意显示了门脉及其侧支循环情况, 其中对食管和胃底静脉曲张的显示与胃镜结果对照有很好的相关性^[3]。

2 门静脉侧支循环的解剖及CTPV表现

2.1 胃左静脉 胃左静脉起源于脾静脉和门静脉汇合处附近, 其主干向头侧走行, 在胃上部水平分为前支和后支(图1B)。前支在胃前水平走行, 之后在胃食管交界处形成丛状血管进入曲张静脉, 再流入奇静脉、半奇静脉; 后支(即胃后静脉)向后、向上行走, 随后与食管旁静脉相连, 流入奇静脉、半奇静脉^[1]。CT或多普勒超声成像上, 胃左静脉直径大于5-6 cm即提示门脉高压。

2.2 食管胃底静脉曲张 食管胃底静脉曲张主要是指黏膜下层扩张的血管, 食管静脉曲张通常引流至奇静脉和半奇静脉系统, 食管静脉曲张大多是由胃左静脉供应的, 在肝硬化晚期和左静脉栓塞术后, 可由胃短和胃后静脉供应。在CTPV上, 食管胃底静脉曲张表现为黏膜下团状迂曲扩张的血管, 在冠状位和轴位图像上均可清晰显示(图2)。

2.3 食管周围静脉和食管旁静脉 食管周围静脉是紧贴食管外膜的较小的静脉, 食管旁静脉是与食管外膜分开的较大的静脉, 既往对其评价需要胃左静脉造影或经食管超声检查^[6]。在CTPV上, 食管周围静脉表现为食管壁内的团状扩张血管, 在横断面图像上显示清晰。食管旁静脉表现为与食管下段伴行的迂曲扩张的血管(图1C), 并可追踪其行程至奇静脉或半奇静脉^[4]。食管旁静脉来源于胃左静脉后支, 有作者认为其存在可减少食管静脉曲张出血经食管镜套扎后的复发率, 但也有持相反观点者, 其临床意义有待进一步研究^[7]。

2.4 胃短静脉 胃短静脉起源于脾静脉, 扩张的胃短静脉表现为脾门和胃底部数支缠绕的血管(图3), 单根血管常难以辨认。在胃左静脉栓塞治疗后食管胃底静脉曲张复发的病例, 这支血管成为主要供血血管。

相关报道
研究表明, 脾/胃-肾静脉分流表现为高度迂曲扩张的血管结构, 在轴位图像上较难确定其引流方向, 而通过多平面重建CTPV, 可显示其走行和引流方向。对于存在脾/胃-肾静脉分流, 能否部分地降低门脉压力, 其血流动力学改变尚需进一步研究。

应用要点

本文提示,螺旋CT是显示门体侧支循环的有效的检查手段,对全面了解门体侧支循环有很大帮助。缺点是对细微结构的显示有所不足,不能判断血流方向等。综合影像检查,能更为全面地显示门脉高压的血流动力学改变,可望为临床选择治疗方案提供更详尽和更有价值的信息。

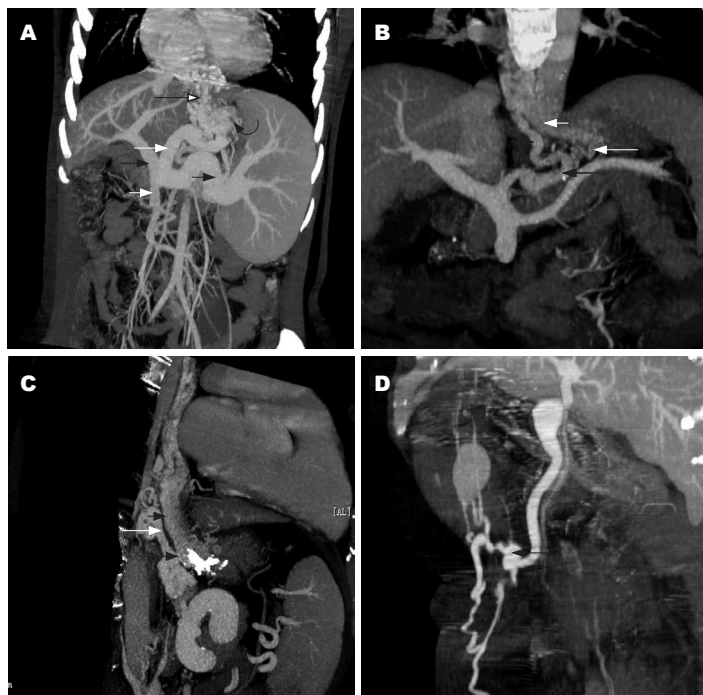


图1 CTPV显示门静脉系统。A: 门静脉系统, 门静脉主干(黑长箭)、脾静脉(黑短箭)、肠系膜上静脉(白短箭)、胃左静脉(白长箭)、胃底静脉曲张(弯箭头)、食管下段静脉曲张(黑空心箭头); B: 胃左静脉, 胃左静脉前支(白长箭)及后支(黑长箭), 分别形成食管周静脉(白短箭)和管旁静脉(黑短箭), 食管静脉曲张为前后支均衡型; C: 食管周静脉(黑短箭)、管旁静脉(白箭)及其交通支(黑长箭); D: 附脐静脉曲张(黑箭)。

2.5 脾/胃-肾静脉分流 脾/胃-肾静脉起于脾门部, 通过迂曲扩张的后腹膜静脉丛与左肾静脉相交通。胃肾静脉分流为胃短静脉或胃后静脉与左肾静脉之间通过后腹膜静脉丛的交通血管形成侧支循环。脾/胃-肾静脉分流表现为高度迂曲扩张的血管结构, 在轴位图像上较难确定其引流方向, 而通过多平面重建CTPV, 可显示其走行和引流方向(图3)。对于存在脾/胃-肾静脉分流, 能否部分地降低门脉压力, 其血流动力学改变尚需进一步研究^[8]。

2.6 附脐静脉、腹壁静脉 脐静脉在出生后永远不能开放, 门脉高压患者圆韧带和镰状韧带中明显的静脉实际上是扩张的附脐静脉。附脐静脉发自门脉左支, 其走行和数量可能发生变化。附脐静脉可与上腹壁静脉和胸内静脉吻合引流至上腔静脉, 或者通过下腹壁静脉再通过髂外静脉流入下腔静脉。在横断面图像上, 附脐静脉和腹壁静脉曲张表现为直径大于2 mm的圆形或管状结构^[1], CTPV可显示其走行和引流方向(图1D)。

3 胃底静脉曲张(GV)的CTPV表现

我们回顾分析了40例肝硬化门静脉高压并发胃底静脉曲张的CTPV资料^[9], 参照Sarin等^[10]的分型, 将40例患者的胃镜下GV按部位分为3型: 食管胃静脉曲张1型(gastroesophageal varices 1, GEV1): 即食管静脉曲张(esophageal varices, EV)伴近贲门侧GV(lgc); 食管胃静脉曲张2型(gastroesophageal varices 2, GEV2)型: 即EV伴远贲门

侧GV(lgf); 孤立性胃静脉曲张型(isolated gastric varices, IGV)(即Sarin分型中的IGV1及IGV2): 曲张静脉位于胃底或胃体部, 无EV。

GV的形态根据其在MSCT上的表现分为3型: 迂曲状、结节状和瘤状。其中迂曲状为曲张的胃底静脉呈条索状, 结节状为曲张静脉呈结节状, 直径 ≤ 2 cm, 而瘤状表现为曲张的静脉呈直径 > 2 cm的类圆形静脉团。

GV在CTPV上的供血静脉分为胃左静脉(left gastric vein, LGV)、胃后静脉(posterior gastric vein, PGV)和(或)胃短静脉(short gastric vein, SGV)、以LGV为主[LGV $>$ PGV和(或)SGV]及以PGV和(或)SGV为主[PGV和(或)SGV $>$ LGV]。

在GEV1型, GV多为LGV或以LGV为主来供应(图3A), 胃和(或)脾-肾分流较少见。胃左静脉可起源于门静脉、脾静脉及门脾角, 主干在胃上部水平分为前支和后支, 前支进入胃底, 形成胃底静脉曲张, 之后在胃食管交界处形成栅状血管进入食管的曲张静脉。后支上行形成食管旁静脉。因此在以LGV为主要血供时, GV多为近贲门侧, 一般合并EV。GV程度较轻, 胃静脉曲张的形态多为迂曲状, 而较少结节状和瘤状。

GEV2型, LGV、SGV和(或)PGV均参与GV的供血, 但大部分由PGV和(或)SGV为主供血, 少部分病例伴胃和(或)脾-肾分流(图4)。IGV型多以PGV和(或)SGV为主要血供, 且较多合并胃和(或)脾-肾分流(图3)。此2型的血供特点可能与PGV及SGV的走行有关。SGV发自脾门, 向胃体

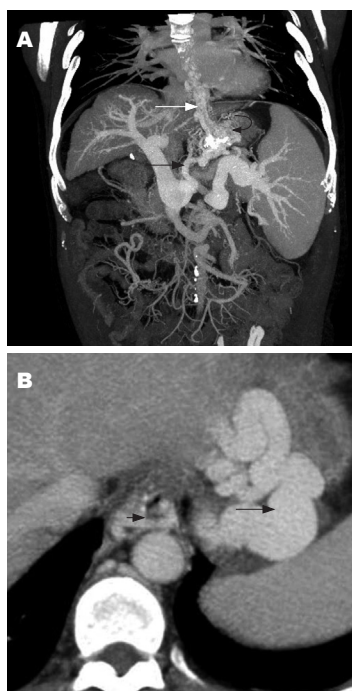


图 2 GEV1型病例. A: 冠状位显示食管静脉曲张(白箭)及胃底静脉曲张(弯箭), 胃底静脉曲张由胃左静脉(黑箭)供应; 食管静脉曲张血供为前支优势型; B: 轴位MIP示食管静脉曲张(黑短箭)及胃底静脉曲张(黑长箭).



图 3 GEV3型病例. 胃底静脉曲张呈瘤状(黑短箭), 可见胃短静脉(白箭)及胃/肾分流(黑长箭).



图 4 GEV2型病例. 胃底静脉曲张呈结节状(黑短箭), 由胃短/后静脉(白短箭)及胃左静脉(黑长箭)供应, 食管静脉曲张(白长箭).

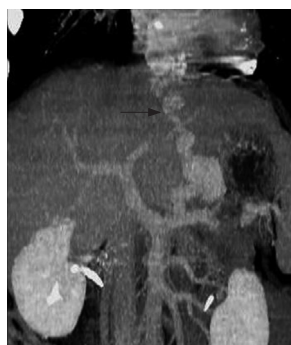


图 5 食管静脉曲张的血供为后支优势性(黑箭示胃左静脉后支).

上部呈单支或多支分布, 当门静脉高压时, SGV同时成为胃底静脉的第2支供应血管, 有时则成为主要血管. 正常人PGV不发育, 仅见于门静脉高压后新形成的短路. 他发源于脾静脉, 走行于脾门附近至胃大弯处^[5]. 据认为他的压力较大, 常形成结节状和瘤状的GV, 且容易合并脾或胃-肾分流^[4]. 有时在CTPV上确切区分PGV、SGV有困难, 常合称为PGV和(或)SGV.

4 食管静脉曲张的CTPV表现

在对食管静脉曲张的范围及严重程度的显示方面, CTPV与胃镜均有很好的-致性, Kappa值为0.938和0.916^[10]. 同时, 在对胃静脉曲张的显示方面, CTPV对曲张静脉的显示率高于胃镜, 分析其原因可能为: 胃静脉曲张位于胃壁肌层内, 而胃镜只能观察到位于黏膜及黏膜下的胃静脉曲张; 胃静脉曲张程度较轻, 因而在胃镜上与粗大的胃黏膜皱襞不易区分.

将EV依据其CTPV下的范围分为4型^[11]: I

型: 黏膜下、管壁静脉曲张. II型: 黏膜下、管壁及管旁静脉曲张同时存在, 且前两者曲张程度重于后者. III型: 三种静脉曲张同时存在, 以管旁静脉曲张程度为重. IV型: 管壁、黏膜下静脉曲张程度与管旁静脉曲张程度近似.

EV的引流静脉分为胃左静脉前支优势型(EV由胃左静脉前支单独供血, 或前、后支同时存在, 但后、前支直径之比小于0.75)、胃左静脉后支优势型(EV由胃左静脉后支单独供血, 或前、后支均存在, 前、后支直径之比小于0.75)、胃左静脉前后支均衡型(胃左静脉前后支同时存在, 直径之比小于0.75)、胃短和(或)胃后静脉参与供应型(胃短和或胃后静脉亦参与EV的供血).

笔者资料显示, 黏膜下与管壁食管静脉曲张多同时存在, 且单纯黏膜下、管壁食管静脉曲张(I型)的情况占优势(22/55), 而管旁静脉曲张与管壁、黏膜下静脉曲张同时存在较少, 其中又以IV型即管壁、黏膜下静脉曲张与管旁静脉曲张程度接近者最少(7/55).

在CTPV上, 食管静脉曲张可有不同的引流血管. 笔者资料一组55例回顾病例分析显示, 食管静脉曲张的血供中, 胃左静脉前支优势型最多(29/55)(图2A), 其次为后支优势型(15/55)(图5), 均衡型相对较少(6/55)(图1B), 胃短和(或)胃后静脉参与供血最少(5/55), 且较易合并胃肾、脾肾静脉分流; 其中1例为EV源于胃静脉曲张, 后者由胃后(短)静脉供血, 因此EV的血供单纯来自于胃后和

同行评价
本文选题具有较好的学术价值, 内容丰富, 有一定的可读性.

(或)胃短静脉,此时胃左静脉未参与形成食管胃静脉曲张的血供,且食管静脉曲张程度较轻。

同时,CTPV上EV的血供与其依据部位所行的分型之间亦有联系。EV为I型和II型时,其血供多为前支优势型;EV为IV型时,其血供多为前后支均衡型;III型的血供多为后支优势型,此时胃左静脉前支发育较差或前支虽存在,但参与曲张静脉形成的程度较轻。对于单纯由胃左静脉后支形成食管管壁、黏膜下及管旁静脉曲张的病例,可能为后支上行形成食管旁静脉,通过深穿支进入管壁和黏膜下,形成管壁、管旁及黏膜下静脉曲张。胃左静脉的解剖特点可以为解释上述关系提供些线索。门静脉高压时,食管静脉曲张的侧支循环静脉可源于胃左静脉前支、后支,有时尚可来源于胃后和(或)胃短静脉。胃左静脉^[12]起源于门静脉、脾静脉或门脾角,正常情况下,其主干在胃上部水平分为前支和后支,前支进入胃底,形成胃底静脉,之后在胃食管交界处形成栅状血管进入食管形成曲张静脉;后支上行形成食管旁静脉^[13]。食管壁内及管旁静脉曲张可通过深穿支相交通^[4]。但前支、后支的走形及发育常有一定的变异,部分胃左静脉的前支可有两支:即贲门支和胃支。

5 CTPV的临床应用价值

目前,对门静脉高压合并上消化道出血有多种治疗手段,包括内科保守疗法、外科手术(分流或断流)、经内镜套扎、放射介入(经颈静脉肝内门-体静脉分流术或胃左静脉栓塞、脾动脉栓塞)等。从对门静脉血流的干预方式看,上述治疗又可分为出血局部治疗、分流术和断流术等。对治疗方案的选择,一般根据病史、肝功能状态、影像学资料或术者习惯术式等因素来决定。由于门静脉直接造影具有一定的危险性,因此不作为治疗前的常规检查,故门静脉系统的整体情况一般不在治疗前为术者所知,这对患者的综合、整体治疗及疗效的长期保持是不利的。门静脉CTPV可以作为常规检查应用,可提供门静脉系统的全面解剖信息,供临床选择治疗方案时综合考虑,还可作为随访观察疗效的手段^[14]。

6 结论

螺旋CT无创伤、操作简单,可重复性强,可以获得高质量的图像,是显示门体侧支循环的有效

的检查手段,对全面了解门体侧支循环有很大帮助。缺点是对细微结构的显示有所不足,不能判断血流方向等。综合影像检查,如结合螺旋CT和内镜下超声等,可能更为全面地显示门脉高压的血流动力学改变,可望为临床选择治疗方案提供更详尽和更有价值的信息。

7 参考文献

- 1 Kang HK, Jeong YY, Choi JH, Choi S, Chung TW, Seo JJ, Kim JK, Yoon W, Park JG. Three-dimensional multi-detector row CT portal venography in the evaluation of portosystemic collateral vessels in liver cirrhosis. *Radiographics* 2002; 22: 1053-1061
- 2 Agarwal A, Jain M. Multidetector CT portal venography in evaluation of portosystemic collateral vessels. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2008; 52: 4-9
- 3 贺文, 于淑霞, 何青. 多层螺旋CT门静脉造影诊断肝硬化门静脉高压. *中国医学影像技术* 2005; 21: 93-96
- 4 Zhao LQ, He W, Chen G. Characteristics of paraesophageal varices: a study with 64-row multidetector computed tomography portal venography. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5331-5335
- 5 Soyer P, Heath D, Bluemke DA, Choti MA, Kuhlman JE, Reichle R, Fishman EK. Three-dimensional helical CT of intrahepatic venous structures: comparison of three rendering techniques. *J Comput Assist Tomogr* 1996; 20: 122-127
- 6 McCormack TT, Rose JD, Smith PM, Johnson AG. Perforating veins and blood flow in oesophageal varices. *Lancet* 1983; 2: 1442-1444
- 7 Lin CY, Lin PW, Tsai HM, Lin XZ, Chang TT, Shin JS. Influence of paraesophageal venous collaterals on efficacy of endoscopic sclerotherapy for esophageal varices. *Hepatology* 1994; 19: 602-608
- 8 陈卫霞, 周翔平, 闵鹏秋, 宋彬, 黄娟, 许崇永, 易凤琼, 杨敏. 门静脉高压脾静脉与左肾静脉自发交通CT表现. *临床放射学杂志* 1999; 18: 280-283
- 9 赵丽琴, 贺文, 赵红, 于永征. CT门静脉成像诊断胃底静脉曲张侧支循环的价值. *中华放射学杂志* 2006; 40: 1175-1178
- 10 Sarin SK, Lahoti D, Saxena SP, Murthy NS, Makwana UK. Prevalence, classification and natural history of gastric varices: a long-term follow-up study in 568 portal hypertension patients. *Hepatology* 1992; 16: 1343-1349
- 11 赵丽琴, 贺文. 食管静脉曲张侧支循环的CT门静脉成像研究. *中国医学影像技术* 2007; 23: 242-245
- 12 吴性江, 曹建民, 吴学豪. 门静脉高压症患者冠状静脉解剖变异及临床意义. *中华外科杂志* 2000; 38: 89-91
- 13 Hino S, Kakutani H, Ikeda K, Uchiyama Y, Sumiyama K, Kuramochi A, Kitamura Y, Matsuda K, Arakawa H, Kawamura M, Masuda K, Suzuki H. Hemodynamic assessment of the left gastric vein in patients with esophageal varices with color Doppler EUS: factors affecting development of esophageal varices. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 512-517
- 14 贺文, 于淑霞, 何青. CT门静脉成像对门脉高压患者侧支循环治疗效果的观察. *中国介入影像与治疗学* 2004; 1: 96-98

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

肝脏磁共振成像的临床应用现状

杨 钧, 靳二虎, 马大庆

杨钧, 北京地坛医院放射科 北京市 100015
靳二虎, 马大庆, 首都医科大学附属北京友谊医院放射科 北京市 100050
作者贡献分布: 本文由杨钧综述; 靳二虎与马大庆审校.
通讯作者: 杨钧, 主任医师, 100015, 北京市, 北京地坛医院放射科. yangjun6806@yahoo.com.cn
电话: 010-84322488
收稿日期: 2009-11-16 修回日期: 2009-12-25
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Clinical applications of magnetic resonance imaging in the diagnosis of hepatic diseases: present status

Jun Yang, Er-Hu Jin, Da-Qing Ma

Jun Yang, Department of Radiology, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100015, China
Er-Hu Jin, Da-Qing Ma, Department of Radiology, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China
Correspondence to: Jun Yang, Department of Radiology, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100015, China. yangjun6806@yahoo.com.cn
Received: 2009-11-16 Revised: 2009-12-25
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

Magnetic resonance imaging (MRI) is one of the most important imaging modalities commonly used for the diagnosis of various human diseases. With the advance in MRI technique, MRI has been widely used to diagnose abdominal diseases, including hepatic diseases. Here, we will review the indications, contraindications and techniques of MRI as well as its diagnostic advantages and disadvantages for hepatic diseases.

Key Words: Liver; Magnetic resonance imaging; Contrast agent; Dynamic enhancement; Focal liver disease; Diffuse liver disease

Yang J, Jin EH, Ma DQ. Clinical applications of magnetic resonance imaging in the diagnosis of hepatic diseases: present status. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 467-471

摘要

磁共振成像(MRI)可用于诊断全身各系统疾

病, 目前已成为主要的影像检查方法之一. 随着成像技术的改进, 近年来MRI在腹部疾病的应用有了很大发展. 本文就肝脏MRI检查的临床适应证、禁忌证、检查技术进展、对比剂应用及诊断价值与限度等作一综述.

关键词: 肝脏; 磁共振成像; 对比剂; 动态增强; 肝脏局灶性疾病; 肝脏弥漫性疾病

杨钧, 靳二虎, 马大庆. 肝脏磁共振成像的临床应用现状. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 467-471
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/467.asp>

0 引言

随着MR扫描机硬件的更新及脉冲序列的改进, 近年来MRI检查在肝脏疾病中的应用取得很大进展, 例如, 高分辨力快速采集, 新型对比剂和扫描序列的应用等. 扩大了MRI检查的适用范围、提高了诊断敏感性及准确性, 并使其成为诊断肝脏疾病的主要影像检查方法之一. 但在实际应用中, 对扫描参数和序列的选择差别很大, 层出不穷的新技术和新序列也在困扰着人们. 本文回顾了MRI检查在肝脏疾病的应用进展, 综述如下.

1 适应证与禁忌证

以往人们对肝脏MRI的理解, 可能局限于作为超声和CT检查受限, 或不能确定诊断时的补充. 目前肝脏MRI的临床应用远不止于此. 首先, MRI检查可以确诊许多肝脏疾病, 如血管瘤、局限性结节增生及复杂的囊肿, 免除了手术探查、组织活检等有创操作, 以及多次的复查. 其次, MRI良好的组织分辨力、无辐射和无创检查的优势, 也使许多新的临床应用成为可能, 例如, 在健康人群和肝硬化患者中筛查肝癌, 选择活体肝移植供者和受者, 评价肝转移瘤患者的分期及预后等. 最后, 对于肝硬化、脂肪肝和血色病等肝脏弥漫性疾病, 某些MRI技术能够显示特异性改变, 作为动态观察疗效的方法^[1]. 肝脏MRI检查的禁忌证较少, 多与体内的铁磁性物质

背景资料
磁共振成像(MRI)可用于诊断全身各系统疾病, 随着MR扫描机硬件的更新及脉冲序列的改进, 近年来MRI检查在肝脏疾病中的应用取得很大进展. 但尚存不足, 本文就MRI在肝脏疾病检查中的临床应用进行阐述.

同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室;
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

相关报道
临床研究表明, MRE诊断肝硬化的结果与肝纤维化分期呈正相关, 而与肝内脂肪无关, 也基本不受腹水和肥胖等因素的影响。通过MRE测量脾脏硬度, 使MRI无创性检测门静脉压力成为可能。

有关。近来对比剂肾病引起人们关注, 限制了一些患者使用钆对比剂。

2 肝脏MRI检查技术

肝脏MRI检查的扫描序列主要包括同、反相位T1加权成像, 配合脂肪抑制技术的多种T2加权成像以及动态增强扫描^[1,2]。同、反相位成像可以利用双回波技术, 通过一次屏气完成采集, 作用是观察局限或弥漫的肝脂肪变, 发现病变内的脂肪组织, 显示肝脏过量的铁沉积。T2WI的最大优势在于鉴别再生结节和肝细胞癌, 前者在T2WI呈低信号, 而后者呈较高信号。这尤其适用于增强时相不佳、呼吸不规律(影响成像质量)和不宜做动态增强的患者。T2WI有多种技术且各有特点, SSFSE或HASTE序列成像时间短, 可以显示解剖结构, 对囊肿和血管瘤等含液体的病变敏感, 缺点是长回波链导致图像模糊, 对实性病变显示欠佳。快速恢复快速自旋回波(FRFSE)T2WI可以减少TR而不影响T2权重, 以信噪比略有降低、采集时间稍有延长为代价获得良好的脂肪抑制效果, 与SSFSE相比, 对实性病变的显示效果较好。呼吸门控及导航技术可以替代上述屏气扫描序列, 还可以提高信噪比和空间分辨力。T2*WI通常配合超顺磁性氧化铁颗粒(SPIO)应用, 以快速GRE或扰相GRE采集, 正常肝组织表现为低信号, 而肝内不含网状内皮细胞的病变因不吸收SPIO, 表现为高信号。单一的稳态进动快速成像技术的采集比SSFSE更快, 对囊肿和血管瘤等病变很敏感, 但显示大多数实性病变较差, 通常用以在无对比剂的情况下显示肝内血管, 特别是门静脉和肝静脉, 人们称其为“亮血序列”。EPI成像时间极短, 可显示囊性和实性病变, 缺点是在膈肌和胃肠气体附近有明显的磁化率伪影。基于EPI的DWI可以为局灶或弥漫性肝脏疾病的诊断提供有用信息。多数脂肪抑制T2WI可提高实性病变的显示效果, 并减少动脉期的搏动伪影。

动态增强肝脏MRI检查能够显示许多肝脏良、恶性病变的特征, 可以采用二维或三维方式成像。与二维技术相比, 三维成像没有层间隔, 信噪比提高, 容积覆盖面更大, 缺点是图像对比度稍差。动态扫描序列需与对比剂团注技术配合使用, 设定合适的扫描时间是检查成败的关键, 目的是显示肝内病变的动脉期强化和后期的对比剂消退。动态增强扫描时需兼顾采集时间(应在可接受的屏气时间内)、空间分辨力(足

够显示小病变)和图像信噪比3个因素, 因而是一种“折衷”的艺术。

MRCP是MR水成像技术在胰胆管方面的应用, 他能显示肝内、外胆管和胰管形态, 评估梗阻性胆管疾病。MRCP有二维或三维采集两种成像技术。二维采集在屏气下完成, 空间分辨力高, 但体层较厚, 容易掩盖小病变; 三维采集的好处是可在原始图像观察病变细节, 且无需屏气, 但需要训练患者, 调整好呼吸频率。目前的应用中多同时采集二维和三维图像, 互相补充。

以上MRI检查主要反映病变的形态学改变。一些MRI技术可以提供与肝脏疾病病理改变相关的功能信息, 即功能MRI(fMRI)。后者主要包括肝脏弥散加权成像(DWI)、灌注加权成像(PWI)、MRI弹力成像(MRE)和MR波谱成像(MRS)^[3,4]。

DWI可以无创检测活体组织内水分子的弥散运动状态, 不需要对比剂。一般在高性能梯度场的MRI系统中以EPI完成数据采集, 辅以并行采集技术可提高图像质量, 计算表观弥散系数(ADC)时至少应采集2个b值的数据。对于弥漫性肝病, 应在肝内多处设置兴趣区(ROI), 分析ADC变化。由于心脏搏动伪影, 通常不选择左肝外侧段作为ROI。肝硬化时ADC通常低于正常人, 故ADC可评估肝纤维化和肝硬化的程度。慢性肝病时弥散受限的机制目前尚不清楚, 可能由多种因素造成, 如肝内结缔组织增多和血流量减少。

PWI通过高时间分辨力的T1加权序列监测对比剂在肝内的吸收和清除过程。由于没有辐射损害, PWI可以提供全肝的血流灌注信息, 并可反复多次进行。但应注意评估对比剂肾病的风险, 避免对严重肾功能不全者灌注检查。目前的PWI主要采用二维技术。检查后在肝内设置ROI, 可描绘信号强度-时间曲线, 通过复杂计算还可获得以下参数: 肝动脉血流量(mL/min)、门静脉血流量(mL/min)、动脉血流比例、门静脉血流比例、血流容积分布比和平均通过时间。肝纤维化和肝硬化时血流灌注异常, 表现为肝动脉血流和平均通过时间增加, 血流容积分布比和门静脉血流降低, 其严重程度与肝功能分级和门静脉压力改变有关。与组织学检查对照的结果提示, 基于PWI血流容积分布比、平均通过时间和肝动脉血流量诊断进展期纤维化的敏感性、特异性均较高。

MRE能够定量分析组织的机械性状。正常

肝组织触诊时很软, 与皮下脂肪类似. 肝硬化时肝脏质地较硬, 有鉴于此, MRE技术可用来诊断肝纤维化. MRE检查时, 首先用特殊装置在ROI部位产生机械波, 然后借助震动敏感梯度场, 利用弹力成像脉冲序列使机械波产生的微小位移成像, 最后通过反转算法处理图像, 获得组织机械性状的定量图形, 即“张力图”. 临床研究表明, MRE诊断肝硬化的结果与肝纤维化分期呈正相关, 而与肝内脂肪无关, 也基本不受腹水和肥胖等因素的影响. 通过MRE测量脾脏硬度, 使MRI无创性检测门静脉压力成为可能.

MRS是一种无创检测活体组织内化学成分的方法. 肝脏 ^1H 波谱能够检测肝内脂肪含量, 其结果与肝脂肪变性的组织学分期高度一致. 由于肝脂肪变为广泛且不均匀分布, MRS检查多采用二维化学位移法, 通过复杂的后处理计算获得数据, 而不建议采用单体素波谱方法. 与同、反相位成像比较, MRS检测肝脂肪的结果更为可靠.

以上MRI新技术在肝脏的应用为诊断肝脏弥漫性疾病提供新的方法, 由于MRI检查时无辐射之虞, 一定会吸引更多的人参与研究. 经过临床的验证, 也许多种MRI检查方法的组合, 可以从形态和功能两方面完成肝脏的检查, 部分替代肝活检.

超高场强MRI的临床应用越来越多^[5], 主要是3.0 T MRI系统. 与1.5 T比较, 3.0 T MRI信噪比增加1倍, 使用并行采集技术时空间和时间分辨率均有提高. 调整扫描参数后, T2WI可以更好地显示恶性病变和肝内小病变, 特别是位于肝脏边缘的病变. 但是, 由于射频能量和组织弛豫时间的改变, SAR和磁化率的增加, 以及更明显的化学位移和运动伪影, 使得3.0 T系统在肝脏的临床应用面临挑战. 在三维动态增强检查时, 3.0 T MRI优于1.5 T MRI; 二维动态增强检查时, 3.0 T MRI并无优势.

3 肝脏MRI对比剂

Gd-DTPA作为一种细胞外间隙对比剂, 静脉注射后很快在血管外达到平衡, 对于绝大多数患者安全可靠, 已广泛应用于肝脏MRI检查. 不足之处是, 因Gd-DTPA主要在动脉期显示病变, 应在对比剂到达病变时完成采集, 如果患者呼吸调整不好, 不能在有效的时间内采集数据, 尤其是对空间分辨率和信噪比要求较高的小病变, 检查结果将不理想. 为此, 寻找适合在肝脏平衡

期采集的对比剂很有必要.

肝脏特异性MRI对比剂是活跃的MRI研究领域之一^[6,7]. SPIO显示肝脏病变时, 即可在平衡期以T2*加权序列扫描. 锰螯合物是另外一种平衡期对比剂, 但不良反应较大. 一些对比剂具有双重作用, 如Gd螯合物Gd-EOB-DTPA, 他既可以作为细胞外间隙对比剂用于动态增强检查, 也可作为肝脏特异性对比剂, 在平衡期显示病变特征. 按照组织特异性不同, 特异性对比剂可分为肝细胞选择性和网状内皮细胞(在肝脏为库普弗细胞)选择性对比剂. 前者包括Mn-DPDP、Gd-BOPTA、Gd-EOB等, 一般经肝细胞摄取后由胆道排泄, 可以显示胆管; 后者以SPIO为代表, 由网状内皮细胞摄取. USPIO在血管内的半衰期更长, 可团注方式使用, 在动脉期显示病变特点. 总之, 肝脏特异性对比剂不仅提高肝脏肿瘤的检出率, 还有助于鉴别肿瘤的细胞来源.

4 临床应用

4.1 肝脏局灶性病变 诊断肝内良、恶性肿瘤有多种MRI检查方法, 如T1WI、T2WI、DWI和动态增强检查. 绝大多数的肝内局灶性病变可以在这些脉冲序列显示. Gd-DTPA增强后动脉期成像对显示高血供转移瘤和肝癌尤为重要, 肝脏特异性对比剂则可在平衡期提高局灶病变的检出率. 依据病变的特征, MRI可以准确诊断大多数肝内肿物. 肝囊肿边缘光滑, T2WI呈高信号, 增强后无强化. 血管瘤增强扫描时早期边缘强化, 门静脉期和平衡期逐渐充盈. 局限性结节增生平扫等信号, 增强后动脉期一过性均质强化, 门静脉期和平衡期迅速消退. 肝腺瘤内出血多见, MRI显示效果好^[8,9].

肝脏恶性肿瘤包括肝细胞癌、胆管细胞癌和肝转移瘤, MRI能够发现病变并显示其特点. 肝细胞癌多有肝硬化基础, 由再生结节和发育不良结节发展而来, 平扫信号差异很大, T2WI高信号为其特征. 发育不良结节中的早期癌变在T2WI表现为低信号的结节内部出现高信号成分, 形成“结节中结节”. 动态增强时早期强化和对比剂迅速消退也是肝细胞癌的特点, 这也是发现2 cm以下小肝癌的关键. 肝细胞特异性对比剂在肝癌检测中有时发挥重要作用, 如正常肝脏网状内皮细胞摄取SPIO后使肝脏呈低信号, 肿瘤组织因网状内皮细胞较少而呈高信号, 信号强度改变与肿瘤分化程度和网状内皮细胞的数量有关. 联合使用细胞外间隙对比剂和SPIO,

创新盘点
本文通过对肝脏MRI检查的临床适应证、禁忌证及技术进展等方面进行综述, 期望可以供临床参考.

应用要点

本文提示, MRI检查有很多优点, 但尚有一些不足: 时间较长, 不适用于病情严重、不能很好配合, 或依赖生命维持系统的患者; 其显示肝内钙化灶欠佳, 体内有金属置入物时, 会影响诊断。各种运动伪影也是需要面临的问题。随着DWI、PWI及MRE等新技术在实际中的应用, 使MRI正成为一种主要的检查方法, 在诊断肝脏疾病中应用越来越广。

可以提高诊断准确性。此时, SPIO使肝组织变暗, Gd-DTPA使病变组织强化, 形成更大的信号差别。此外, MRI成像可以充分显示肝癌的病理学变化, 如病灶内出血、脂肪变及包膜等, 为肝细胞癌的分期提供更多依据。目前肝癌治疗是以手术为主的综合治疗, MRI为评价肝癌治疗后的效果提供新的方法, 如动态增强及DWI可以客观的评价介入治疗后的效果^[10]。

胆管细胞癌常侵犯肝内、外胆管, 发生肝门淋巴结转移。常规MRI配合MRCP可以显示肿瘤的形态。肿瘤内的纤维间质储存对比剂, 在动态增强时表现为延迟强化。DWI有助于明确病变范围。早期的肝外胆管癌仅表现为管壁局部增厚和强化, 需借助MRCP诊断, DWI可显示肝门淋巴结转移。与良性肿物比较, 肝转移瘤的边界不清, 强化形式有高血供和低血供两种。前者由肝动脉供血, 多来自肾癌、甲状腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、类癌和部分胰腺癌; 低血供转移瘤多来自结肠、肺和膀胱肿瘤。

MRI新技术可为诊断肝内局灶性病变提供有用信息。PWI可显示病变的血供, 对治疗后血供的变化更敏感, 与传统的形态学相比, 能够更准确地评价肿瘤的疗效。肝脏良、恶性肿物在DWI均表现为高信号(弥散受限), 而正常肝组织为低信号。但是, 恶性病变的ADC值更低, 使其可以定量研究肿瘤的疗效。全身DWI为评价恶性肿瘤范围提供了新的手段^[8]。

4.2 肝脏弥漫性病变 常规MRI检查和新技术的应用提高了弥漫性病变的诊断水平。MRI可以对脂肪肝定性和定量诊断, 尤其是轻度脂肪肝。肝组织中的水和脂肪对MR信号都有贡献, 但进动频率不同。利用这个差异, MRI可以区分水和脂肪。常用的方法是传统的双回波同、反相位成像, 信号强度在反相位像降低提示脂肪成分, 反之不存在脂肪。通过同、反相位像还可以量化脂肪, 但有局限性。水和脂肪的信号因为几个因素可能出现混淆, 比如二者不同的T1和T2*弛豫时间, 以及脂肪组织多波谱之间相互干扰, 使得脂肪信号未必代表脂肪组织, 特别是脂肪量少或有铁质沉积时。MRS技术可以解决这个问题, 水与脂肪的进动频率不同, 二者表现为不同的频率峰。存在肝脂肪变时, 可见水、脂双峰; 否则, 只有水峰。MRS在诊断脂肪肝中前景广阔^[11-13]。

肝内铁质沉积由多种原因造成, 常见于遗传性疾病、后天输入增多及慢性炎症。传统的

T2、T2*及同、反相位成像是有效的诊断方法。T2*成像敏感性高、成像速度快, 已成为一种无创的定量诊断方法。同、反相位成像对铁和脂肪的信号作用相反, 脂肪肝和铁质沉积共存时容易造成混淆, 此时应根据其他器官信号的变化, 间接评价肝铁质沉积^[3]。

MRI还可诊断急性肝脏炎症。增强后动脉期扫描尤为重要, 轻度肝炎表现为肝脏一过性灌注异常, 出现不规则强化。因此, MRI可作为肝酶学指标增高, 尚无特异性症状时的辅助诊断方法。合并脂肪肝时, 上述表现还可提示脂肪性肝炎(steatohepatitis), 对合并右上腹痛的患者, 诊断更为可靠^[11]。慢性肝炎的并发症是肝硬化, 在西方国家以酒精性肝炎为主。肝纤维化合并肝硬化时, 由于对比剂自血管内渗入间质, 在延迟期表现为肝组织进行性强化, 细网状及粗索条强化信号映衬出再生结节的轮廓。后者主要由正常肝组织构成, 内部可有铁质沉积, 多数结节小于1 cm, 在T1WI呈稍高信号、T2WI呈低信号, 增强后在门脉期强化。发育不良结节为癌前病变, 可进展为肝细胞癌, 并在短期内增大。当结节出现T2WI信号增高、动脉期明显强化、门脉期和平衡期周边包膜强化, 并且直径大于2 cm, 提示早期肝癌可能。MRI可显示门静脉压增高, 征象包括早期的门静脉、脾静脉增宽, 后期的门静脉海绵样变, 以及MRA显示侧支循环^[14]。

其他几种少见的肝脏弥漫性病变的MRI表现各有特点。布加综合征由肝静脉阻塞引起, 在急性期肝脏水肿中心区域T1WI信号降低、T2WI轻度增高, 增强后动脉期不规则强化, 在亚急性期上述表现更为明显。增强后门静脉期可见肝静脉内血栓。在慢性期, 肝静脉内血栓显示不佳, 但可见特征性表现, 即尾叶增大。由于肿瘤造成肝静脉和下腔静脉病变时, 采用T2“亮血序列”可以在不使用对比剂的情况下显示血管改变。放疗后肝纤维化的特征性MRI改变是, 病变范围与照射野相关, 与正常肝组织分界清晰, 在急性期肝内炎症和水肿导致T2信号轻度增高、T1降低; 在慢性期动态增强时动脉期强化, 延迟期强化更明显, 可能与门静脉对放射线更敏感有关。此外, 在妊娠晚期毒血症时MRI显示肝脏出血也很敏感^[11]。

5 结论

MRI在肝脏疾病中的应用尚存在以下不足。MRI检查时间较长, 不适用于病情严重、不能很好

配合, 或依赖生命维持系统的患者. MRI显示肝内钙化灶欠佳, 如肝内胆管结石、介入术后碘油沉积. 体内有金属置入物时, 如肝癌术后置入化疗泵、胆管内金属支架等, 将形成磁化率伪影, 会影响诊断. 各种运动伪影也是需要面临的问题. DWI、PWI及MRE等新技术在实际应用中还有待进一步完善. 但这些并不妨碍MRI正在成为一种主要的检查方法, 在诊断肝脏疾病中应用越来越广.

6 参考文献

- 1 Glockner JF. Hepatobiliary MRI: current concepts and controversies. *J Magn Reson Imaging* 2007; 25: 681-695
- 2 Do RK, Rusinek H, Taouli B. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of the liver: current status and future directions. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2009; 17: 339-349
- 3 Taouli B, Ehman RL, Reeder SB. Advanced MRI methods for assessment of chronic liver disease. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 14-27
- 4 Sun XJ, Quan XY, Huang FH, Xu YK. Quantitative evaluation of diffusion-weighted magnetic resonance imaging of focal hepatic lesions. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6535-6537
- 5 Choi JY, Kim MJ, Chung YE, Kim JY, Jones AC, de Becker J, van Cauteren M. Abdominal applications of 3.0-T MR imaging: comparative review versus a 1.5-T system. *Radiographics* 2008; 28: e30
- 6 Helmberger T, Semelka RC. New contrast agents for imaging the liver. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2001; 9: 745-766, vi
- 7 Lupescu IG, Capsa RA, Gheorghe L, Herlea V, Georgescu SA. Tissue specific MR contrast media role in the differential diagnosis of cirrhotic liver nodules. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 341-346
- 8 Low RN. Abdominal MRI advances in the detection of liver tumours and characterisation. *Lancet Oncol* 2007; 8: 525-535
- 9 Iannaccone R, Piacentini F, Murakami T, Paradis V, Belghiti J, Hori M, Kim T, Durand F, Wakasa K, Monden M, Nakamura H, Passariello R, Vilgrain V. Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease: helical CT and MR imaging findings with clinical-pathologic comparison. *Radiology* 2007; 243: 422-430
- 10 Guan YS, Sun L, Zhou XP, Li X, Zheng XH. Hepatocellular carcinoma treated with interventional procedures: CT and MRI follow-up. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3543-3548
- 11 Danrad R, Martin DR. MR imaging of diffuse liver diseases. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2005; 13: 277-293, vi
- 12 Mazhar SM, Shieh morteza M, Sirlin CB. Noninvasive assessment of hepatic steatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 135-140
- 13 Yokoo T, Bydder M, Hamilton G, Middleton MS, Gamst AC, Wolfson T, Hassanein T, Patton HM, Lavine JE, Schwimmer JB, Sirlin CB. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and fat-grading accuracy of low-flip-angle multiecho gradient-recalled-echo MR imaging at 1.5 T. *Radiology* 2009; 251: 67-76
- 14 Gupta AA, Kim DC, Krinsky GA, Lee VS. CT and MRI of cirrhosis and its mimics. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 1595-1601

同行评价
本文综述全面, 内容具有较好的学术价值和临床参考意义.

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》按时完成2009年度出版任务

本刊讯 2009-12-28, 《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.

肝脏疾病弹性成像研究进展

胡向东, 钱林学

背景资料
弹性成像为肝脏疾病的诊断提供了新的方法, 肝纤维化及肝硬化是慢性肝病最重要的病理特征, 导致肝实质硬度增加是肝组织弹性成像诊断的病理基础, 本文针对弹性成像的理论基础及肝脏疾病弹性成像临床研究进展进行综述。

胡向东, 钱林学, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科 北京市 100050
作者贡献分布: 本文由胡向东查阅文献并总结撰写; 由钱林学教授审阅修改并审核成稿。
通讯作者: 钱林学, 教授, 主任医师, 100050, 北京市宣武区永安路95号, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科。
qianlinxue2002@yahoo.com
电话: 010-63138576
收稿日期: 2009-11-16 修回日期: 2009-12-25
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in elasticity imaging of hepatic diseases

Xiang-Dong Hu, Lin-Xue Qian

Xiang-Dong Hu, Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China
Correspondence to: Professor Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, 95 Yong'an Road, Beijing 100050, China. qianlinxue2002@yahoo.com
Received: 2009-11-16 Revised: 2009-12-25
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

Elasticity imaging indirectly reflects tissue pathological changes by measuring tissue elastic modulus and therefore offers a new method for noninvasive diagnosis of hepatic diseases. Particularly, tissue elasticity measurement using Fibroscan is of outstanding value for staging and diagnosing hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C and monitoring the development of hepatic cirrhosis and portal hypertension. In addition, magnetic resonance elastography and acoustic radiation force impulse have shown great promise in the diagnosis of hepatic diseases. This article reviews the basic knowledge of elasticity imaging and the recent advances in elasticity imaging of hepatic diseases.

Key Words: Elasticity imaging; Hepatic fibrosis; Portal hypertension

同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

Hu XD, Qian LX. Advances in elasticity imaging of hepatic diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 472-478

摘要

弹性成像为肝脏疾病的诊断提供了新的方法, 通过测量肝组织弹性模量的差异, 从而达到无创性诊断肝脏疾病的目的; 尤其是Fibroscan在分期诊断慢性丙型肝炎肝纤维化、监测肝硬化及门静脉高压发展中表现出优异的诊断价值; 此外, 磁共振弹性成像、声脉冲辐射力成像技术已初步应用于肝脏疾病的诊断。本文针对弹性成像的理论基础及肝脏疾病弹性成像临床研究进展进行综述。

关键词: 弹性成像; 肝纤维化; 门静脉高压

胡向东, 钱林学. 肝脏疾病弹性成像研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 472-478
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/472.asp>

0 引言

弹性是人体组织的重要物理特性, 人体不同的正常组织结构之间以及某些正常组织与病理组织之间均存在一定弹性差异。例如肝脏内纤维结缔组织异常增生形成肝纤维化, 严重者伴有假小叶形成则为肝硬化, 严重肝硬化时肝实质及分隔内的血管床被挤压、扭曲、改道可引起门脉高压, 并随之发生肝内门静脉、肝动脉与肝静脉间的血流重建, 后期肝外侧支循环形成^[1,2]。肝纤维化及肝硬化是慢性肝病最重要的病理特征, 导致肝实质硬度增加是肝组织弹性成像诊断的病理基础^[3]。准确判断肝纤维化分期及肝硬化程度将对疾病的诊断和选择治疗时机有很大的帮助^[4]。目前肝组织活检及肝静脉压力梯度(hepatic venous pressure gradient, HVPG)测量分别是诊断肝纤维化及评价门脉高压的金标准^[5], 上消化道内镜检查是评价门静脉高压并发病的最好方法^[6]。但这些均属有创性检查手段, 无创性诊断肝纤维化及监测门脉高压成为临床医师的迫切需求^[7]。

1 弹性成像的概念

临床医师给患者查体时所采用的触诊就是依据

组织之间弹性的差异来判断有无病变, 但触诊较容易受主客观因素的影响, 所以触诊准确性低。自Ophir等^[8]1991年最早提出弹性成像这一概念以来, 弹性成像得到了迅速发展, 使医务人员能够通过该技术更客观地得到组织弹性信息。弹性成像的基本原理是对组织施加一个内部或外部的动态或静态/准静态的激励, 在弹性力学、生物力学等物理规律的作用下, 组织将产生一个响应。根据响应程度的不同, 利用超声成像、磁共振或光学成像等方法, 结合数字信号、数字图像处理技术, 反映组织内部弹性模量的差异^[9]。根据采用成像模式的不同, 弹性成像主要包括超声弹性成像(ultrasound elasticity imaging)、磁共振弹性成像(magnetic resonance elastography)和光学相干断层弹性成像(optical coherence tomographic elastography)等。根据组织激励方式的不同, 超声弹性成像可以分为静态/准静态压缩的弹性成像(elasticity imaging)、血管弹性成像(intravascular elasticity)、心肌弹性成像(myocardial elasticity)等^[10]。

2 瞬时弹性成像在肝脏疾病中的应用

2.1 瞬时弹性成像诊断肝纤维化 对组织施加低频振动进行弹性成像时, 组织内部剪切波将发生衍射现象, 从而影响成像效果。为了避免衍射的影响, Catheline等^[11]和Sandrin等^[12]提出采用脉冲激励, 在组织内产生瞬时剪切波, 使用帧频高达10000 帧/秒的超快速超声成像系统采集射频数据, 采用互相关方法来计算组织位移, 从而得到剪切波在组织内的传播速度, 其速度与组织的弹性模量直接相关, 该方法称为瞬时弹性成像或脉冲弹性成像。

法国Echosens公司研制出一种称为Fibroscan的一维瞬时弹性成像系统, 并初步用于肝纤维化的无创评价。Fibroscan由探头和信号处理两部分组成, 其中探头(直径9 mm)集成了一个低频振动器和一个单阵元的超声换能器(5 MHz)。将探头置于肋骨间隙的皮肤表面, 振动器带动探头做低频的活塞式运动(50 Hz), 低频弹性波(主要为剪切波)由皮层向待检查的肝组织传播。超声换能器每250 μ s发射一次信号, 特定的电子系统实现超声射频信号的采集, 并计算表皮下2.5-4 cm深度的感兴趣区域(ROI)的低频剪切波的传播速度。假设肝脏为各向同性的线弹性体, 就可以把弹性模量与剪切波的速度直接联系起来, 从而得到感兴趣区域的弹性模量,

结果以kPa为单位表示, 该弹性模量值可以提供肝纤维化程度的信息。Fibroscan测量信息的采集来源于肝脏内约1 cm \times 2 cm \times 5 cm的区域, 肝实质采样体积相当于肝活检所获得组织标本量的100倍, 因而比肝活检样本更具代表性。有研究显示Fibroscan测量的成功率并不影响诊断肝纤维化分期的准确性^[13]。

迄今为止, 有许多Fibroscan应用于丙型肝炎患者诊断肝纤维化分期的文献。Sandrin等^[14]用Fibroscan检测106例丙型肝炎患者, 91例用于研究弹性模量与纤维化程度的关系(67例有效)。瞬时弹性成像得到肝脏的弹性模量结果与纤维化阶段的相关性很好(偏相关系数 = 0.71, $P < 0.01$)。而且肝脏的弹性模量与炎症活动度及脂肪变性分级不相关。理论上说, 脂肪变性将引起组织的弹性模量下降, 然而在他们的研究中, 患者的脂肪变性并不严重。

Saito等^[15]检测了75例丙型肝炎患者的肝组织硬度, 其测值与组织学得到的肝纤维化分期相关性很好($P < 0.01$), F1, F2, F3和F4四个纤维化阶段对应的弹性模量均数大小分别为6.25、7.80、13.85和34.00 kPa。该研究同时表明血清学指标与纤维化分期的相关性不好; 而血小板计数与纤维化分期也明显相关($P < 0.01$), 但其偏差相对较大, 该方法能够区分F2和F3阶段($P = 0.048$)以及F3和F4阶段($P = 0.020$), 但是不能很好地区分F1和F2阶段($P = 0.068$); 而瞬时弹性成像能够很好地区分F1和F2阶段($P = 0.009$)、F2和F3阶段($P = 0.018$)以及F3和F4阶段($P < 0.01$), 其显著性差异也比血小板计数好。

在3项大型的Fibroscan应用于慢性丙型肝炎患者的研究中^[16-18], 均以肝穿刺活检后META-VIR肝纤维化病理分期为对照标准。Ziol等^[17]发现活检样本大些肝硬度测值与纤维化分期的相关性更好。Castéra等^[18]联合Fibroscan和Fibrotest提高了诊断 $F \geq 2$ 和 $F \geq 3$ 的准确性, 且联合两者作为评价肝纤维化的一线工具, 可以避免77%的肝活检。在三项研究中, 诊断中度肝纤维化($F \geq 2$)、严重肝纤维化($F \geq 3$)及肝硬化($F = 4$)的受试者特征曲线下面积(area under the receiver operator characteristic curve, AUROC)分别为0.79, 0.83及0.80; 0.91、0.90及0.90; 0.97、0.95及0.96。研究显示在最高阈值时, 诊断肝硬化的敏感性和特异性均很高, 但AUROC并不能完全反应诊断实验的价值, 似然比(likelihood ratios, LR)的计算反映了经金标准验证后患病者与未患病者接受

相关报道

Yin等应用磁共振弹性成像检测35例正常志愿者及50例慢性肝病患者, 研究显示肝硬度随肝纤维化程度增加而增加, ROC分析显示以剪切硬度2.93 kPa为阈值, 诊断肝纤维化的敏感性和特异性分别是98%和99%, 曲线下面积达0.9988; Huwart等用1.5 T MR设备对96例慢性肝病患者行MR弹性成像、同时检查超声弹性成像、门冬氨酸转氨酶/血小板计数(APRI), 与病理分期对照研究, 结果证实, 磁共振弹性成像诊断效果明显优于前两者。

应用要点

本文提示,弹性成像将影像学、病理学与生物力学相联系,为肝脏疾病中的诊断提供了新思路和新方法。虽磁共振弹性成像、声脉冲辐射力成像尚处于研究初期,但相信随着影像技术的发展,各种弹性成像技术在肝脏疾病诊断中必将大有作为。

某项诊断实验产生某一结果(阳性或阴性)的比值。上述三项研究中,大多数阳性似然比及阴性似然比数值均未达到通常认可的好的诊断实验的数值(阳性似然比 >10 及阴性似然比 <0.1)。此外, Castéra等^[18]和Foucher等^[16]研究结果来自同一研究机构,但前者诊断严重肝纤维化及肝硬化的最佳阈值分别为9.5和12.5 kPa,后者最佳阈值分别为12.5和17.6 kPa。因此瞬时弹性成像作为一种非侵入性诊断肝纤维化及肝硬化的方法,在替代肝组织活检之前其重复性尚需进一步验证。

Chan等^[19]对161例慢性乙型肝炎患者同时进行了肝活检和Fibroscan检测,并观察谷丙转氨酶(ALT)水平对肝硬度测值的影响。结果诊断F ≥ 1 、F ≥ 3 及F = 4期的AUROC分别为0.80(95%CI: 0.68-0.92)、0.87(95%CI: 0.82-0.93)和0.93(95%CI: 0.89-0.97)。对肝硬化诊断有价值的cut-off值分别有8.4 kPa(敏感度98%), 9.0 kPa(敏感性和特异性之和最大), 13.4 kPa(特异性94%, 准确度80%)。研究还指出即使纤维化分期相同, ALT水平高的肝硬度测值也会高,并认为ALT水平升高对分期低的纤维化诊断影响最大,在ALT水平正常和升高的CHB患者中,应用Fibroscan分别可以避免62%和58%的人做肝穿刺检查。

Friedrich等^[20]就Fibroscan诊断肝纤维化查阅数据库,将其中以肝活检作为标准,以AUROC作为评价诊断价值指标的50篇文献纳入Meta分析,评估Fibroscan诊断肝纤维化的整体表现及诊断准确性的影响因素。结果显示Fibroscan诊断明显肝纤维化(F ≥ 2)、严重肝纤维化(F ≥ 3)、肝硬化(F = 4)的平均AUROC分别为0.84(95%CI: 0.82-0.86)、0.89(95%CI: 0.88-0.91)及0.94(95%CI: 0.93-0.95)。当区别不同病因所导致的肝纤维化时,Fibroscan诊断明显肝纤维化的曲线下面积差异会减小;但诊断严重肝纤维化(F ≥ 3)及肝硬化(F = 4)时,病因将不影响诊断的表现力。肝纤维化的评分标准及执行研究的国家也是曲线下面积的影响因素,而年龄、体重指数及活检质量对曲线下面积没有明显影响。

2.2 瞬时弹性成像监测肝硬化并发症及门脉高压 Foucher等^[16]分析711例慢性肝病患者的Fibroscan及相关资料,发现肝硬度测值与Child评分、临床参数(血管曲张、腹水、肝癌)及生化指标(血小板计数、凝血酶原时间等)均显著相关。最近的研究显示肝

硬度测值与门脉高压之间相关性良好。Kazemi等^[21]应用Fibroscan评价165例肝硬化患者预测食管静脉曲张程度,结果肝硬度测值与食管静脉曲张中度相关($r = 0.6$)。肝硬度测值诊断有无食管静脉曲张及 \geq II度食管静脉曲张的AUROC分别为0.84及0.83,诊断后者的敏感性为90%,特异性为60%,Fibroscan检测可以减少60%的患者进行上消化道内镜检查。由于弹性检测并非直接显示迂曲扩张的侧支循环,因此诊断轻度门脉高压的最佳阈值与诊断肝硬化阈值之间有重叠^[22]。Carrión等^[23]研究124例肝移植术后感染丙型肝炎的患者,Fibroscan测值与肝静脉压力梯度(HVPG)相关系数为0.84($P < 0.001$),肝硬度 ≥ 8.74 kPa诊断门静脉高压($HVPG \geq 6$ mmHg)的AUROC为0.93,敏感性达90%,特异性达81%。Vizzutti等^[24]分析61例慢性丙型肝炎患者的Fibroscan及HVPG测值,研究显示当 $HVPG < 10$ mmHg时两者相关性很好($r = 0.91$, $P < 0.0001$),肝硬度测值预测 $HVPG < 10$ mmHg的ROC曲线下面积达0.99,当诊断阈值为13.6 kPa时,敏感性为97%,特异性为92%。研究同时证实当 $HVPG < 10-12$ mmHg时,肝硬度测值与HVPG之间的相关性优于 $HVPG \geq 12$ mmHg,这提示门脉压力达一定程度后,门脉高压的发展不再简单地取决于引起肝硬度增加的细胞外基质沉积,肝外因素如高动力循环状态、内脏血管舒张及门体循环的形成都将影响门静脉压力的上升。目前看来,瞬时弹性成像对无创性诊断门脉高压可能是有价值的,但现有研究要达成一个结论为时尚早,还需要更多研究来验证。

2.3 瞬时弹性成像的优势与影响因素 瞬时弹性成像是一种非侵入性的检测方法,其检测的肝组织约是肝穿刺活检组织的100倍,受样本误差的几率降低;且观察者组内及组间重复性好^[14,25]。近年来瞬时弹性成像成为无创、快速、可靠地检测肝纤维化及肝硬化程度的有效工具^[26,27]。目前依据诊断肝纤维化的准确性最高或敏感性与特异性之和最大与否,Fibroscan诊断F ≥ 2 、F ≥ 3 、F = 4的阈值分别为7.1-8.8、9.5-9.6、12.5-14.6^[16-18,28],而且肝纤维化程度愈严重,Fibroscan诊断准确性愈高。

瞬时弹性成像检测也有其局限性,多项研究报道FibroScan检测有2.4%-9.4%的失败率^[14,16-18,25]。Foucher等^[29]对2114例肝纤维化患者进行肝脏的瞬时弹性测定,有4%患者经10次测定未能得出具

体数值. 经单变量分析, 测定失败与体质量指数 (BMI) > 28、糖尿病、年龄 > 50 岁、脂肪肝等因素有关; 但经多变量分析后, 只有 BMI > 28 是唯一妨碍弹性测定的因素. 因为脂肪组织对低频剪切波和超声波产生强烈的衰减作用, 有学者建议通过改进超声探头来提高检测率^[30]. 李林芳等^[31]应用 Fibroscan 检测 637 例健康人群及不同程度慢性肝病患者共 939 次, 同样发现体质量指数是影响检测成功率的最主要因素, 同时女性患者检测成功率稍低于男性, 可能与女性肋间隙相对狭窄有关, Fibroscan 检查要求有足够宽度的肋间隙才能保证检测的准确性; 而且研究发现 Fibroscan 检测正常人群及乙型肝炎携带者的组内相关系数较低, 分别为 0.736 和 0.649. 作者认为可能与样本量小有关, 有待进一步验证. Fraquelli 等^[25]同样发现轻度肝纤维化会明显降低弹性检测的组内相关系数. 腹水 (尽管腹水本身提示了肝硬化或门脉高压) 同样会影响瞬时弹性测定的结果, 因为低频剪切波不能通过液体传播^[32].

目前已有研究认为 FS 弹性值与炎症相关, 同一纤维化分期患者中, 生化指标改善者 FS 弹性值相应降低^[33]. Sagir 等^[34]测量了 20 例急性肝损害的患者肝组织硬度, 其中 15 例缺乏肝硬化证据, 伴随急性肝损害的慢性肝病患者的弹性值达到肝硬化水平, 11 例经肝活检证实无肝硬化, 6 例高弹性值患者随着病情好转, 弹性值均下降至肝硬化临界值以下. Arena 等^[35,36]有一致的研究结果.

Kang 等^[37]分析了 47 例肝功能异常或有肝炎症状的患者及 80 例无症状供肝者的 Fibroscan 及活检的病理学资料, 结果显示疾病组肝硬度与肝纤维化明显相关, 但在肝供体组, 两者不相关, 诊断 $F \geq 2$ 的 AUROC 为 0.70 (95%CI: 0.58-0.81), 最佳诊断阈值为 4.00, 明显低于疾病组的 7.35. 在肝供体组脂肪变性与肝硬度不相关. 研究认为在无症状的健康人群组诊断肝纤维化的阈值需重新评定. 同时此研究不同肝组织脂肪浸润程度患者间肝硬度测值无差异.

目前瞬时弹性成像在其他肝脏疾病如胆汁性肝硬化、自身免疫性肝炎、非酒精性脂肪肝、肝移植后慢性排斥反应等中的应用价值研究较少^[38,39], 有待进一步探讨, 其次瞬时弹性成像对于轻度肝纤维化分期之间的鉴别能力有限.

3 磁共振弹性成像在肝脏疾病中的应用

磁共振弹性成像是利用运动敏感梯度的作用获

取组织在外力作用下的质点位移及 MR 的相位图像, 得出组织内各点的弹性系数分布图, 以组织弹性力学参数作为诊断依据. Yin 等^[40]应用磁共振弹性成像检测 35 例正常志愿者及 50 例慢性肝病患者, 研究显示肝硬度随肝纤维化程度增加而增加, ROC 分析显示以剪切硬度 2.93 kPa 为阈值, 诊断肝纤维化的敏感性和特异性分别是 98% 和 99%, 曲线下面积达 0.9988; 诊断严重肝纤维化的敏感性和特异性分别是 78% 和 96%, 而且诊断肝纤维化不受脂肪变性的影响. 该技术可以弥补 CT、MRI 仅从形态学方面对肝硬化进行定性诊断的不足, 避免了针刺活检引起的严重并发症. Huwart 等^[41]用 1.5 T MR 设备对 96 例慢性肝病患者行 MR 弹性成像、同时检查超声弹性成像、门冬氨酸转氨酶/血小板计数 (APRI), 与病理分期对照研究, 应用 ROC 评价不同方法的诊断价值, 结果磁共振弹性成像诊断肝纤维化 $F \geq 2$ 、 $F \geq 3$ 及 $F = 4$ 的 AUROC 分别为 0.994、0.985 及 0.998, 明显优于超声弹性成像及 APRI^[42], 尤其是区别 $F2$ 和 $F0-1$. 由于磁共振采集的是三维向量的改变^[43], 且获取图像的肝组织样本量大于超声弹性成像, 因此磁共振弹性成像诊断价值优于超声弹性成像, 且临床应用不受肥胖患者及腹水患者的困扰. 磁共振弹性成像的缺点在于肝脏铁负荷过多时, 因信噪比的缘故难以成像; 且价格昂贵, 检查费时.

磁共振弹性成像技术的重要环节是图像处理, 由于机械波在非均质介质中传播规律相当复杂, 因此 MRE 的数据处理非常复杂. 要实现组织弹性的准确成像必须研究和采用有效的图像处理办法, 目前磁共振弹性成像要更加准确地判断肝纤维化程度 (尤其是轻/中度), 尚需开发分辨率更高的弹性成像技术.

4 声脉冲辐射力成像技术在肝脏疾病的应用

声脉冲辐射力成像技术 (acoustic radiation force impulse, ARFI) 是近期推出的无创评估肝组织弹性硬度的超声成像技术. 该方法也称为声触诊组织量化技术 (virtual tough tissues quantification, VTQ), 可以结合常规超声影像, 检测特定区域检测特定区域组织的弹性硬度. 其原理^[44]是利用调制的聚焦超声波束在生物粘弹性组织内产生声剪切波, 然后用特定的电子系统采集组织内剪切波信号, 由于聚焦区外辐射力迅速衰减, 剪切波只局限于组织内部区域, 因此可以获得感兴趣区域的低频剪切波的传播速度, 进而

名词解释

弹性成像: 基本原理是对组织施加一个内部或外部的动态或静态/准静态的激励, 在弹性力学、生物力学等物理规律的作用下, 组织将产生一个响应. 根据响应程度的不同, 利用超声成像、磁共振或光学成像等方法, 结合数字信号、数字图像处理技术, 反映组织内部弹性模量的差异. 根据采用成像模态的不同, 弹性成像主要包括超声弹性成像、磁共振弹性成像和光学相干断层弹性成像等.

同行评价
本文具有较好的时效性与实用性, 内容全面、深入, 有较好的参考价值和可读性。

通过检测剪切波传播进行组织弹性模量估计。他的主要优点是可方便地利用聚焦超声波束的辐射力在深部生物组织局部区域内产生剪切波^[45], 并且利用剪切波传播距离有限的性质, 解决生物组织弹性重构边界条件的统一问题, 降低组织弹性重构的复杂程度, 并可近似统一不同生物组织的弹性重构方法。

丁红等^[46]使用西门子ACUSON S 2000超声诊断仪配备的声脉冲辐射力成像技术检测173例无肝病或脂肪肝的志愿者、84例慢性肝病但无肝硬化的患者和63例乙型肝炎后肝硬化患者的肝组织, 发现三组受检者感兴趣区弹性参数有显著差异($P < 0.001$), 且随着慢性肝病程度的加重, 弹性参数值增加, 两者有一定相关性。Friedrich-Rust等^[47]应用ARFI、瞬时弹性成像及肝纤维化血清学指标检测86例慢性病毒性肝炎患者, 结果显示三者均与肝纤维化分期显著相关, 诊断 $F \geq 2$ 的AUROC分别为0.82、0.82及0.84; 诊断肝硬化的AUROC分别为0.91、0.91及0.82。此外Fahey等^[48,49]研究证实ARFI能显示肝内局灶性病变, 并有助于引导及监测热消融病灶。因为ARFI技术可以融合于超声诊断仪, 临床医师可以获取双重信息, 且经济、简便, 应用前景广阔, 但仍需大量研究验证其应用价值。

5 结论

弹性成像将影像学、病理学与生物力学相联系, 为肝脏疾病中的诊断提供了新思路和新方法。其中国内外有关Fibroscan评估慢性肝病患者肝纤维化分期的报道很多, 尤其是无创、快速和客观地分期诊断丙型肝炎肝纤维化。但Fibroscan在其他肝脏疾病, 如非酒精性脂肪性肝炎、免疫性肝炎、药物性肝损害的应用研究尚少, 还没有建立针对不同病因的肝纤维化分期诊断标准。Fibroscan简单易行, 患者耐受性好, 有研究显示经过持续的抗病毒治疗, 慢性丙型肝炎患者肝组织的肝硬度测值较未治疗或无应答组有明显降低^[50], 但对于慢性肝病的病情监测, 疗效观察中的应用价值尚需大样本多中心的深入探索。Fibroscan联合血清学指标的应用价值也是未来的研究方向。磁共振弹性成像、声脉冲辐射力成像尚处于研究初期, 但相信随着影像技术的发展, 各种弹性成像技术在肝脏疾病诊断中必将大有作为。

6 参考文献

1 Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE,

Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. *J Clin Pathol* 1978; 31: 395-414

2 Seidlová V, Hobza J, Pumplrla J, Charouzek J. Radionuclide hepatic perfusion index and ultrasonography: assessment of portal hypertension in clinical practice. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med* 1989; 122: 213-21

3 Wells RG. The role of matrix stiffness in hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: S158-S161

4 Han KH, Yoon KT. New diagnostic method for liver fibrosis and cirrhosis. *Intervirolgy* 2008; 51 Suppl 1: 11-16

5 Groszmann RJ, Wongcharatrawee S. The hepatic venous pressure gradient: anything worth doing should be done right. *Hepatology* 2004; 39: 280-282

6 Schepis F, Cammà C, Niceforo D, Magnano A, Pallio S, Cinquegrani M, D'amico G, Pasta L, Craxi A, Saitta A, Raimondo G. Which patients with cirrhosis should undergo endoscopic screening for esophageal varices detection? *Hepatology* 2001; 33: 333-338

7 de Franchis R. Evolving consensus in portal hypertension. Report of the Baveno IV consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2005; 43: 167-176

8 Ophir J, Céspedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging* 1991; 13: 111-134

9 Greenleaf JF, Fatemi M, Insana M. Selected methods for imaging elastic properties of biological tissues. *Annu Rev Biomed Eng* 2003; 5: 57-78

10 罗建文, 白净. 超声弹性成像的研究进展. 中国医疗器械信息 2005; 11: 23-31

11 Catheline S, Thomas JL, Wu F, Fink MA. Diffraction field of a low frequency vibrator in soft tissues using transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 1999; 46: 1013-1019

12 Sandrin L, Tanter M, Catheline S, Fink M. Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2002; 49: 426-435

13 Lucidarme D, Foucher J, Le Bail B, Vergniol J, Castera L, Duburque C, Forzy G, Filoche B, Couzigou P, de Lédinghen V. Factors of accuracy of transient elastography (fibroscan) for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009; 49: 1083-1089

14 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713

15 Saito H, Tada S, Nakamoto N, Kitamura K, Horikawa H, Kurita S, Saito Y, Iwai H, Ishii H. Efficacy of non-invasive elastometry on staging of hepatic fibrosis. *Hepatol Res* 2004; 29: 97-103

16 Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006; 55: 403-408

17 Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis

- C, Mal F, Kazemi F, de Lédinghen V, Marcellin P, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 48-54
- 18 Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 128: 343-350
- 19 Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan FK, Sung JJ, Wong VW. Alanine aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (Fibroscan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2009; 16: 36-44
- 20 Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, Herrmann E. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008; 134: 960-974
- 21 Kazemi F, Kettaneh A, N'kontchou G, Pinto E, Ganne-Carrie N, Trinchet JC, Beaugrand M. Liver stiffness measurement selects patients with cirrhosis at risk of bearing large oesophageal varices. *J Hepatol* 2006; 45: 230-235
- 22 Bosch J. Predictions from a hard liver. *J Hepatol* 2006; 45: 174-177
- 23 Carrión JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilibert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 1791-1798
- 24 Vizzutti F, Arena U, Romanelli RG, Rega L, Foschi M, Colagrande S, Petrarca A, Moscarella S, Belli G, Zignego AL, Marra F, Laffi G, Pinzani M. Liver stiffness measurement predicts severe portal hypertension in patients with HCV-related cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 1290-1297
- 25 Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56: 968-973
- 26 Colletta C, Smirne C, Fabris C, Toniutto P, Rapetti R, Minisini R, Pirisi M. Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases. *Hepatology* 2005; 42: 838-845
- 27 Masaki N, Imamura M, Kikuchi Y, Oka S. Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Hepatol Res* 2006; 35: 135-139
- 28 Yeshua H, Oren R. Non invasive assessment of liver fibrosis. *Ann Transplant* 2008; 13: 5-11
- 29 Foucher J, Castéra L, Bernard PH, Adhoute X, Laharie D, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 411-412
- 30 Kettaneh A, Marcellin P, Douvin C, Poupon R, Zioli M, Beaugrand M, de Lédinghen V. Features associated with success rate and performance of FibroScan measurements for the diagnosis of cirrhosis in HCV patients: a prospective study of 935 patients. *J Hepatol* 2007; 46: 628-634
- 31 李林芳, 戴琳, 张琪, 陈永鹏, 冯筱榕, 郭亚兵, 侯金林. 瞬时弹性记录仪检测肝纤维化影响因素及稳定性分析. *南方医科大学学报* 2008; 28: 595-597
- 32 Ghany MG, Doo E. Assessment of liver fibrosis: palpate, poke or pulse? *Hepatology* 2005; 42: 759-761
- 33 Ganne-Carrié N, Zioli M, de Lédinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2006; 44: 1511-1517
- 34 Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Häussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology* 2008; 47: 592-595
- 35 Arena U, Vizzutti F, Corti G, Ambu S, Stasi C, Bresci S, Moscarella S, Boddi V, Petrarca A, Laffi G, Marra F, Pinzani M. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology* 2008; 47: 380-384
- 36 Coco B, Oliveri F, Maina AM, Ciccorossi P, Sacco R, Colombatto P, Bonino F, Brunetto MR. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat* 2007; 14: 360-369
- 37 Kim KM, Choi WB, Park SH, Yu E, Lee SG, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Diagnosis of hepatic steatosis and fibrosis by transient elastography in asymptomatic healthy individuals: a prospective study of living related potential liver donors. *J Gastroenterol* 2007; 42: 382-388
- 38 Corpechot C, El Naggar A, Poujol-Robert A, Zioli M, Wendum D, Chazouillères O, de Lédinghen V, Dhumeaux D, Marcellin P, Beaugrand M, Poupon R. Assessment of biliary fibrosis by transient elastography in patients with PBC and PSC. *Hepatology* 2006; 43: 1118-1124
- 39 de Lédinghen V, Douvin C, Kettaneh A, Zioli M, Roulot D, Marcellin P, Dhumeaux D, Beaugrand M. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 41: 175-179
- 40 Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, Manduca A, Grimm RC, Rossman PJ, Fidler JL, Ehman RL. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1207-1213.e2
- 41 Huwart L, Sempoux C, Vicaute E, Salameh N, Annet L, Danse E, Peeters F, ter Beek LC, Rahier J, Sinkus R, Horsmans Y, Van Beers BE. Magnetic resonance elastography for the noninvasive staging of liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 135: 32-40
- 42 Huwart L, Sempoux C, Salameh N, Jamart J, Annet L, Sinkus R, Peeters F, ter Beek LC, Horsmans Y, Van Beers BE. Liver fibrosis: noninvasive assessment with MR elastography versus aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Radiology* 2007; 245: 458-466
- 43 Sinkus R, Tanter M, Catheline S, Lorenzen J, Kuhl C, Sondermann E, Fink M. Imaging anisotropic and viscous properties of breast tissue by magnetic resonance-elastography. *Magn Reson Med* 2005; 53: 372-387
- 44 Nightingale K, Soo MS, Nightingale R, Trahey G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. *Ultrasound Med*

- Biol 2002; 28: 227-235
- 45 Fahey BJ, Hsu SJ, Wolf PD, Nelson RC, Trahey GE. Liver ablation guidance with acoustic radiation force impulse imaging: challenges and opportunities. *Phys Med Biol* 2006; 51: 3785-3808
- 46 丁红, 沈文, 李娜, 黄备建, 徐晨, 徐智章, 王文平. 声脉冲辐射力成像技术无创检测慢性肝纤维化的初步研究. *上海医学影像* 2009; 18: 81-83
- 47 Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, Sotoudeh F, Richter S, Bojunga J, Herrmann E, Poynard T, Dietrich CF, Vermehren J, Zeuzem S, Sarrazin C. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. *Radiology* 2009; 252: 595-604
- 48 Fahey BJ, Nelson RC, Hsu SJ, Bradway DP, Dumont DM, Trahey GE. In vivo guidance and assessment of liver radio-frequency ablation with acoustic radiation force elastography. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 1590-1603
- 49 Fahey BJ, Nelson RC, Bradway DP, Hsu SJ, Dumont DM, Trahey GE. In vivo visualization of abdominal malignancies with acoustic radiation force elastography. *Phys Med Biol* 2008; 53: 279-293
- 50 Takeda T, Yasuda T, Nakayama Y, Nakaya M, Kimura M, Yamashita M, Sawada A, Abo K, Takeda S, Sakaguchi H, Shiomi S, Asai H, Seki S. Usefulness of noninvasive transient elastography for assessment of liver fibrosis stage in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7768-7773

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 •

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: 某期刊如果被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)

小肝癌的影像学诊断进展

钱林学, 刘玉江, 丁惠国

钱林学, 刘玉江, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科 北京市 100050

丁惠国, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科 北京市 100054

作者贡献分布: 本文由刘玉江完成; 钱林学与丁惠国审校。

通讯作者: 钱林学, 教授, 主任医师, 100050, 北京市, 首都医科大学附属北京友谊医院超声科. qianlinxue2002@yahoo.com.cn
电话: 010-63139826

收稿日期: 2009-11-16 修回日期: 2009-12-25

接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in imaging diagnosis of small hepatocellular carcinoma

Lin-Xue Qian, Yu-Jiang Liu, Hui-Guo Ding

Lin-Xue Qian, Yu-Jiang Liu, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China

Hui-Guo Ding, Department of Gastroenterology, Beijing Youan Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100054, China

Correspondence to: Professor Lin-Xue Qian, Department of Ultrasonography, Beijing Friendship Hospital, Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China. qianlinxue2002@yahoo.com.cn

Received: 2009-11-16 Revised: 2009-12-25

Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors worldwide. Early diagnosis and treatment of small hepatocellular carcinoma (SHCC) are key to improvement of the survival of HCC patients. The advances in imaging technology have led to an increase in the detection rate of SHCC. For patients who are not suitable for surgical treatment, early detection of SHCC can not only help avoid unnecessary operation and improve survival and prognosis but also help alleviate the patient's physical and mental burden. Nowadays, intervention therapies, such as radiofrequency catheter ablation (RFCA), percutaneous ethanol injection, and superselective transcatheter arterial chemoembolization (S-TACE), show satisfactory efficacy in the treatment of SHCC. As the five-year survival rate achieved after RFCA (58.22%) is comparable to that after surgery (55.51%), RFCA has become a primary non-surgical therapy for SHCC. In this article, we will review the recent advances in

imaging diagnosis of SHCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Small hepatocellular carcinoma; Ultrasound; Contrast-enhanced ultrasonography; X-ray computed tomography; Magnetic resonance imaging; Digital subtraction angiography

Qian LX, Liu YJ, Ding HG. Advances in imaging diagnosis of small hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 479-486

摘要

肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 对肝癌的早期诊断, 亦即小肝癌(SHCC)的诊断并及时治疗是延长肝癌患者生存期的关键。近年来随着各种影像学技术的不断进步, SHCC的检出率在逐年增高。对众多不适合或不愿手术治疗的部分患者而言, SHCC检出率提高不仅意味着可以避免不必要的外科手术, 并且可得到早期治疗, 提高患者的生存率和预后, 极大减轻患者的身心负担。目前以射频消融(RFCA)、微波消融、经皮肝穿瘤内无水乙醇注射及超选择性插管与节段性栓塞(S-TACE)等为代表的介入疗法在SHCC治疗上已经取得了较好的疗效。尤其是射频消融疗法的5年生存率达58.22%, 与手术(55.51%)组无差别, 使之成为当前和今后SHCC非手术治疗的主要方法。因此, 及时准确地对SHCC患者做出诊断, 不仅可以减轻患者的痛苦, 同时也可延长患者的生存期。本文对国内外有关SHCC的各种影像学诊断进展作一综述如下, 以期提高临床医生对SHCC的认识, 为SHCC的早期诊断和治疗作出一定贡献。

关键词: 肝细胞癌; 小肝癌; 超声; 超声造影; X线计算机体层摄影; 核磁共振成像; 数字减影血管造影

钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 479-486

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/479.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世

背景资料

肝细胞癌致死率在恶性肿瘤中居第3位, 仅次于肺癌和胃癌。在我国每年有20-30万人死于肝癌, 发病率与死亡率均居世界之首。对肝癌的早期诊断, 亦即小肝癌(SHCC)的诊断并及时治疗是延长肝癌患者生存期的关键。

同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

相关报道

Zhao等对43例SHCC研究发现, MDCT对SHCC的诊断敏感率达到了97.5%-97.6%, 对微小肝癌(直径 ≤ 1 cm)的敏感率则为90.0%-95.0%。Kim等比较了SENSE三维动态增强与超顺磁性氧化铁增强, 发现其对肝癌的敏感度和阳性预测值分别为91.3%、89.2%和77.3%、92.6%。SENSE三维动态增强更有利于肝癌的检出。

世界上最常见的恶性肿瘤之一, 每年的新发病率超过500 000例, 致死率在恶性肿瘤中居第3位, 仅次于肺癌和胃癌^[1]。在我国每年有20-30万人死于肝癌^[2], 发病率与死亡率均居世界之首。目前HCC的治疗效果不尽人意, 其原因之一就在于诊断明确时已处于发病的最后阶段, 另一原因在于治疗的不彻底^[3]。大量临床实践证明, 积极采取治疗的小肝癌(small hepatocellular carcinoma, SHCC)患者预后与大肝癌截然不同。对于发现早的SHCC患者, 无论采取何种治疗, 均能明显提高患者5年生存率, 降低复发率^[4]。如何能早期、准确地诊断SHCC, 是提高肝癌患者生存率的关键, 同时可以采取以射频消融等为代表的介入疗法代替传统外科手术治疗SHCC, 其疗效可以媲美外科手术, 二者5年生存率无差异(射频组患者5年生存率达58.22%, 和手术组55.51%)^[4]。因此, 早期诊断SHCC, 对于患者治疗和预后都具有十分重要的意义。我们查阅了国内外关于SHCC的影像学诊断研究进展, 就此问题综述如下, 以期有助于提高肝硬化背景下SHCC的诊断率, 为临床早期诊断和治疗SHCC提供帮助。

1 SHCC的病理学演变过程和诊断标准

HCC是肝硬化发展最严重的并发症之一, 在肝硬化结节基础上发展为肝癌结节的病变过程中, 包含了以下几个阶段: 大再生结节(large regenerative nodule, RN), 不典型增生结节(dysplastic nodule, DN)、SHCC和HCC^[5], 其中肝硬化结节只包括RN和DN。后者又包括两种, 低级的DN(low-grade DN)结节和中、高级DN(moderate or high-grade DN)结节^[6]。多数学者研究认为^[7], 肝硬化再生结节与正常肝组织一样主要由门静脉供血, 在肝癌的形成过程中, 门静脉供血逐渐减少而肝动脉供血逐渐增多, 至SHCC结节时主要由肝动脉供血, 门静脉参与供血的比值很小。而SHCC的瘤内血供还与瘤体分化程度有关, 门脉供血多者, 癌细胞分化较好, 门脉血供少者, 癌细胞分化较差。

目前对于SHCC的定义, 依据HCC瘤体大小设定的标准有5、4.5、4、3.5、3、2.5、2 cm不等^[8], 缺乏分子生物学意义上的理论依据。在东方和西方, SHCC的早期诊断和治疗存在着概念上的差异。我国现一般采用中国肝癌病理协作组的标准, 以直径 ≤ 3 cm(指单个肿瘤结节直径 ≤ 3 cm或癌结节数目不超过2个, 其直径的总和

≤ 3 cm的肝癌)为标准。日本学者则将SHCC的直径定为 ≤ 2 cm^[9], 西方学者也多以直径 ≤ 3 cm作为诊断标准。在2007-01休斯顿召开的关于“肝细胞癌, 东方与西方的经验”第5届国际会议上, 将SHCC定义为直径 < 2 cm的低血供肝癌结节。近年来随着各种影像学技术的不断发展, 现已能发现直径 < 1 cm的微小肝癌。

2 SHCC的诊断方法

目前临床上仍以肝穿刺病理组织学检查作为诊断SHCC的金标准^[10], 然而因其属有创性检查, 且活检样本不能代表整个病灶, 并有可能导致癌细胞的转移, 所以不宜反复进行而受到限制。而各种肝癌血清学指标都有一定比例的假阴性或假阳性, 不能单独作为诊断标准。因此如果能利用无创的影像学诊断手段对SHCC做出准确灵敏的判断意义重大。

我国80%以上的SHCC在慢性肝疾患基础上发生, 临床上多无明显症状, 或仅表现为相应的肝功能损害, 早期监测主要依靠AFP及常规超声对肝癌高危人群的普查与随访。临床上大多应用血清学诊断和影像学诊断相结合的办法进行SHCC的诊断^[11]。目前通过综合性现代影像学技术, 结合血清学检查已基本可以实现SHCC的定性和精确定位诊断。

3 SHCC的影像学诊断及特点

SHCC的影像学特征具有较多的不典型性, 尤其在肝硬化背景下诊断SHCC, 容易与多种局灶性病变更发生混淆。超声、CT和MRI等技术在SHCC和微小肝癌的诊断中均发挥重要作用, 动态增强在3种技术中均应被重视和强调。

3.1 超声(ultrasound, US)诊断SHCC 超声具有经济、便捷、可重复、无放射性等优点, 基本能反映SHCC的异常图像特征, 可以作为普查, 尤其是针对有乙型肝炎病史的高危人群的定期筛查手段, 及时发现可疑性肝脏占位性病变。日本在20年前就建立了对肝癌的早期诊断模式, 慢性乙型和丙型肝炎引起的肝硬化患者被视为肝癌高危人群, 需要每3 mo定期进行超声检查和肿瘤标志物检测^[12]。有经验的超声医生通过超声多切面扫查, 甚至能够发现 < 1 cm的微小肝癌, 再结合患者的病史及其他检查, 进行综合分析, 可以避免和减少漏诊、误诊, 能够做出早期诊断, 从而及时予以治疗。因此认为, 超声是SHCC诊断的首选方法。SHCC的在超声图像上的表现

与其病理类型和生长方式有着密切关系。由于癌肿内部结构不同, 其声像图变化也不完全一致。结合彩色多普勒及能量多普勒超声、二维声像图特征及血流动力学改变进行综合性分析研究, 能够在患者没有临床症状和体征时就能检出, 为提高SHCC超声诊断的准确率提供一定参考。二维超声结合彩色多普勒被公认为HCC诊断的首选和有效方法, 彩色多普勒显像可观察病变内部和边缘回声及血流分布状况, 显示病变血流动力学特征, 提高了对肝癌的检出率和定性能力。但在实际应用中, SHCC在检查时易受机器灵敏度及生长角度, 肝脏背景等因素的影响, 使病灶内血流显示率降低, 不易检测到病变内部的血流信号, 使SHCC彩色多普勒显像的血流显示率减低。且超声工作者自身操作水平和病灶的大小对检测结果也有很大的影响, 据报道^[13], 经验丰富的超声工作者能探查到80%-95%的直径在3-5 cm的病灶和60%-80%的直径1 cm的病灶。在一项200例晚期肝衰竭患者的研究中发现, 超声检测>5 cm的病灶敏感性为75%, 而对于小病灶(直径1-5 cm)的敏感性则仅有13.6%-50%, 取决于病灶的大小。因此当普通超声发现可疑性病灶时, 可进一步行超声造影检查以提高诊断的准确率。

3.2 超声造影(contrast enhanced ultrasonography, CEUS)诊断SHCC CEUS又称增强超声成像, 是目前一种重要的新型影像诊断技术, 是能实时检测SHCC的组织血流动态改变特征的有效方法^[14]。CEUS是在普通超声的基础上, 经静脉注射超声造影剂, 可以观察器官和肿瘤的血流灌注和微血管网分布状况。超声造影剂在腹部肿瘤特别是肝脏占位性病灶的成功使用是近年超声医学领域内一个重大的技术突破。超声造影剂安全性高, 主要成分为氟化硫(SF₆)气体微泡, 不会产生CT增强的碘过敏反应, 且多次需要量少, 对心肾功能衰竭的患者仍可耐受。由于超声波微泡仅分布于毛细血管内、血池内, 不进入细胞外间隙, 因此能更好反映肿瘤的血供情况^[15], 从而达到定性诊断的目的。造影技术的突出优点就是利用造影剂微气泡的良好稳定性和非线性特性, 在不破坏微气泡的条件下, 采用与以往组织谐波不同的技术, 在最大限度提取造影剂产生的谐波成分的同时消除组织回波的线性基波成分, 从而做到增强造影剂的分辨率, 改善与组织间的对比, 真正做到微血管CEUS增强, 完整分离解剖性成像与功能性成像, 实现肝内结节CEUS

真正的实时动态连续显示。因此, 使用新型超声造影剂和低机械指数成像技术可以敏感获得微泡所代表的纯血流信息, 实时评价病灶的大血管和微小血管的血流分布情况。

应用SonoVue造影剂和低机械指数连续扫查技术, CEUS可以实时观察扫查切面内病灶与肝实质血流灌注及退出的全过程, 因此CEUS可以比非连续扫查方法更好地区分肝脏血流灌注的各个时相, 从而有助于更准确地判断病灶的血供特点。运用CEUS技术, 对肝脏局灶性病变不仅可较准确地做出定性诊断, 甚至有可能反映病变组织的病理分化状况^[16]。SHCC的CEUS表现为: 多数病灶表现典型的“快进快出”, 达峰时病灶多表现为整体均匀增强, 少数病灶呈中央低增强、周边高增强。部分病灶表现为“快进同出”, 即病灶开始整体增强明显早于周围肝动脉和肝实质, 达峰时呈整体高增强或等增强, 消退期病灶增强程度与周围肝实质近似, 具有此类不典型表现的肿瘤多为高分化HCC^[17]。CEUS主要用于常规超声或其他检查发现病变的前提下^[18], 其诊断的准确率同增强CT和MRI一样高, 尤其在动脉期^[19]。研究证实^[20]: 若将造影时病灶动脉相增强早于或同步于肝实质以及门脉期消退作为CEUS诊断肝癌的标准, 则敏感性为87.3%; 若将整体增强和斑片状增强作为原发性肝癌的特异增强方式, 结合增强方式和时相, 则CEUS鉴别诊断原发性肝癌的敏感性为92.9%。

随着新型造影剂及低机械指数成像技术的出现, CEUS成像越来越多地应用于临床, 尤其在SHCC的早期诊断方面趋向成熟, 并将发挥越来越大的作用。

3.3 X-线体层摄影(X-ray computed tomography CT)检查诊断SHCC 在各种影像检查中, CT的三维立体重建因能准确可靠地显示肿瘤与门脉、肝静脉系统及周围组织的关系, 被认为最能反映肝脏病理形态表现, 是补充超声显像估计病变范围的首选非侵入性诊断方法, 其诊断准确率高达87.34%^[21]。目前多期动态螺旋CT增强扫描已成为检测和诊断SHCC的标准技术, 他对肝脏局灶性病变的诊断主要原理在于正常肝实质和病变结节的密度差异。多期动态螺旋CT(multiphase multirow-detector helical CT, MDCT)扫描可以显示肿瘤和肿瘤周围组织的变化, 这种变化是由于肿瘤细胞和正常肝细胞对对比剂成分的摄取不同造成。因其扫描和成

创新盘点
本文对国内外有关SHCC各种影像学诊断的最新进展作一综述, 为进一步提高临床医生对SHCC的认识和治疗水平提供参考。

应用要点

本文提示, SHCC的早期诊断主要依赖于影像学检查, 这就需要合理的应用当前的影像学技术进行检查诊断. 另一方面需要学者们不断探索新的途径, 研究新影像学技术, 寻找并建立费用低廉、结果可靠、操作简便而且有临床价值的检查技术.

像速度更快, 密度和空间分辨率更高, 能更准确地观察病灶内的细节和血供情况, 明显提高了SHCC的检出率^[22]. Zhao等^[23]对43例SHCC研究发现: MDCT对SHCC的诊断敏感率达到了97.5%-97.6%, 对微小肝癌(直径 ≤ 1 cm)的敏感率则为90.0%-95.0%. 典型的SHCC多期增强扫描表现为动脉期高密度, 门脉期等密度或低密度, 延迟期低密度, 反映对比剂快进快出的特点, 这是SHCC的典型表现. 不同时期增强结果的不同主要与肝癌发生发展过程中血供特点的改变所造成. 掌握肝癌的血供特点, 有助于SHCC的诊断以及与小血管瘤、小转移瘤、肝硬化结节等鉴别.

近年来新的CT机器不断更新和检查技术的不断改进, 尤其是血管造影与CT结合技术. 如肝动脉内插管直接注射对比剂增强的肝脏动脉造影CT(CT hepatic arteriography, CTHA)、于肠系膜上动脉或脾动脉注射对比剂于门静脉期行CT断层扫描CT(arterial portography, CTAP), 以及血管造影时肝动脉内注入碘化油后间隔2-3 wk行CT平扫的(Lp-CT)等方法, 对SHCC特别是 ≤ 1 cm的微小肝癌的检出率优于CT动态扫描. 这与SHCC的血供特点和碘油具有选择性地聚积在肝肿瘤组织的特性有关. 李振明等^[24]对41例SHCC病灶进行诊断, 发现检出率为: 肝动脉血管造影88.5%, 碘油CT 99%, 远远高出CT诊断60%的检出率. 但上述多种方法中仍以CT平扫加增强列为常规. 张军华等^[25]对67例肝硬化患者的125例小结节病变行CTHA/CTAP与DSA检查结果对比, CTHA/CTAP检查SHCC结节的总检出率达到了91.30%. 近年来随着MDCT的普遍运用, 使SHCC的CT检出率和定性准确率有了明显提高. MDCT对SHCC的诊断明显优于常规CT^[26], 其三期联合扫描检出率一般可高达95%以上, 其多期增强扫描对SHCC诊断更具有确反映出SHCC的血流动力学变化, 突出SHCC增强后的表现特点, 尤其在结合CTHA、CTAP、Lp-CT之后更是显著提高了SHCC的检出率和早期诊断的准确率.

近年来, 肝脏的CT灌注成像(CT perfusion imaging, CTP)成为研究的热点, CTP又称CT功能成像, 主要研究肿瘤的血流特点, 其方法是CT灌注扫描是在CT同层动态增强扫描的基础上发展起来的扫描方法, 通过注射对比剂后同层动态扫描及后处理, 获得反映不同血流特点的灌注值, 并可通过色阶赋值形成伪彩灌注图像, 从

而更加全面、直观地显示脏器及病变的血流灌注特点和血管特性, 从而反映组织生理功能的改变. 肿瘤组织内有大量的促血管生成因子, 促进肿瘤血管的生成, 肿瘤新生血管情况是评价肿瘤良恶性及恶性程度的重要指标. 肿瘤血管的生成会导致肿瘤局部灌注量, 即BF和BV的增加, 并可通过CT灌注扫描获得反映. 王爽等研究证实^[27]肝癌小病灶的BF、BV及HAF均显著高于肝硬化肝实质, 应有助于在肝硬化肝实质中早期检出肝癌; 尤其是HAF的测定, 当临界值设定为0.308时, 敏感度和特异度可分别达到100%和90%. CT灌注成像可在大体解剖出现异常之前反映潜在恶性病变引起的组织灌注异常, 在毛细血管水平量化肿瘤的灌注量、血容量和通透性, 发现含微癌灶的异常增生结节, 即“结中结”. 因此, 该方法在诊断SHCC上有着良好的应用前景.

3.4 MRI检查诊断SHCC MRI检查技术是在发现核磁共振现象的基础上发展起来的一种新型医学影像学技术. MRI具有较高的软组织分辨率, 多序列、多参数成像, 对直径 ≤ 3.0 cm的SHCC检出率甚至高于螺旋CT, 常规MRI平扫检出率约为70%-80%, 加用动态增强扫描可以使检出率达90%以上^[28], 在检测和鉴别SHCC上, MRI拥有比MDCT更多的优势, 包括更高的软组织对比度和血管内对比剂的敏感性以及更多类型的序列.

SHCC在常规MRI常常表现为: 平扫期SHCC在MRI平扫T1WI呈稍低、等、稍高信号或混杂信号, 一般认为脂肪抑制T1WI高信号、化学位移成像中反相位见信号丢失是SHCC较具特异性的表现之一, 主要与其细胞内脂肪变性有关. T2WI上多数病灶呈高信号, 少数呈等信号, 有学者认为只有当肿瘤发生完全凝固性坏死时才呈低信号, 亦有人认为SHCC可表现为低信号^[29], 可能与含铁血黄素或铜离子的存积有关. 肿瘤周围线样环状低信号即假包膜征, 亦是SHCC较具特异性的表现之一, 常易在脂肪抑制3D T1WI上出现^[30]. 动态增强扫描期典型的SHCC结节表现为动脉期明显强化, 门脉期强化不同程度减退, 延迟期与肝脏相比呈低信号, 大多数SHCC呈此种典型表现, 主要是由于SHCC发生发展中血供发生的变化所致. 目前的MRI数字减影技术可以利用后处理工作站数字减影软件, 将动态增强扫描三期原始数据分别与平扫进行数字减影, 所得到的图像消除了病灶平扫时的高信号, 反映了病变真实的强化表现, 能更好的判断

SHCC在动脉期的强化特点.

随着临床上MRI的广泛应用, 人们希望他能够进一步提高对软组织的分辨率, 以显示一些较小的病变, 使一部分疑难病变可以得到确诊. 对比剂的使用能进一步提高磁共振影像的对比度. 其中肝特异性MRI对比剂是近年来研究的热点, 他由肝细胞摄取, 并在肝细胞滞留相当一段时间, 再通过胆汁排泄至消化道, 故又称为肝胆性MR对比剂(hepatobiliary MR agent), 主要缩短T1弛豫时间, 因此增强常采用自旋回波(SE)T1WI和梯度回波(GRE)T1WI. 目前有两类专用于检查肝脏病变检查的特异性对比剂已开发出来: 第一类主要是被肝细胞特异性摄取, 随后通过胆道系统排出体外的肝胆特异性对比剂, 反映了肝细胞的功能状态和早期血流灌注信息, 更有利于病变的检出和定性, 目前在临床广泛应用的有3种: 钆-多贝酸二葡甲胺(gadobenate dimeglumine, Gd-BOPTA), 钆喷替酸葡甲胺(gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriaminepent aacetic acid, Gd-EOB-DTPA)以及锰福地吡三钠(mangafodipir trisodium, Mn-DPDP)^[31]; 第二类是被网状内皮细胞特异性摄取, 在体内以肝脏摄取最多的铁氧化物颗粒对比剂, 又称超顺磁性氧化铁增强成像(superparamagnetic iron oxide-enhanced imaging, SPIO). 目前MRI对比剂多期动态增强检查已成为肝脏占位性病变的常规检查方法, 在病灶的检出和定性方面发挥重要作用, 并积累了相当丰富的临床经验. 然而, MRI对比剂多期动态增强扫描对于SHCC的诊断率并不十分理想, 必须结合MRI平扫才有助于SHCC的诊断. Lauenstein等^[32]对115例要进行肝移植的患者进行Gd-DTPA MRI增强扫描发现: 所有的直径>2 cm的肝癌结节都能被发现, 而18例直径<2 cm的SHCC却仅有10例被发现. 因此作者认为, MRI可以作为诊断和鉴别直径≥2 cm的肝癌的主要检查方法. 但对SHCC的诊断如不结合MRI平扫显然效果并不十分理想.

MRI技术近年来发展迅速, 3 T场强的磁共振已应用于临床, 各种新的MR硬件和软件的开发、新的扫描序列的发展特别是各种快速序列, 使MR的成像时间越来越短, 改善了图像质量, 使一些成像技术更为成熟, 如磁共振扩散加权成像(DWI)、磁共振加权成像(PWI)、磁共振波谱成像(MRS)等技术. 磁共振扩散加权成像(DWI)是通过施加梯度脉冲, 观察细胞内外水分子跨细胞膜运动, 即水分子扩散运动改变所致

信号变化, 并以图像显示的成像技术. 目前DWI在腹部已得到广泛应用. 平面回波成像(EPI)技术因具有成像速度快, 可以最大限度地减少运动所造成的误差, 其表观扩散系数(ADC)可以量化反映组织的病理变化的特点, 成为DWI的首选方法^[33]. 采用DWI对肝局灶性病灶及肝硬化的研究表明, 良恶性局灶性病变(直径<1 cm)的ADC值间存在显著性差异, 良性结节的ADC值明显大于恶性结节. 观察病变ADC或eADC值衰减的规律有可能对实质结节性病变的性质做出判定, 从而有可能成为研究SHCC及RN、DN癌变的一种理想手段. 但目前利用ADC值判断肝脏实质结节的性质在国际上仍有一定的争议^[34,35]. 因此对该方法在SHCC的诊断应用上尚需积累更多的研究资料, 有关机制尚待进一步讨论. PWI是用于反映组织的微循环的分布及血流灌注情况, 评估局部组织的活力和功能的MR影像技术. PWI能直接反映组织血液灌注的情况, 间接反映组织的微血管分布情况, 计算出局部的血流灌注参数, 准确量化组织中对对比剂的量, 可进行肝脏血流动力学变化评价, 显示病变并有助于鉴别病变的良恶性, 在恶性病变的分级、分期和病变治疗后复查及随诊中也发挥重要作用. 而敏感编码(sensitivity encoding, SENSE)技术的应用使PWI的时间和空间分辨率都得到极大提高. Kim等^[36]比较了SENSE三维动态增强与超顺磁性氧化铁增强, 发现其对肝癌的敏感度和阳性预测值分别为91.3%、89.2%和77.3%、92.6%, SENSE三维动态增强更有利于肝癌的检出. Yoshioka等^[37]研究报道, 在检测HCC时高分辨力灌注成像的敏感度达91.7%, 对于1 cm或更小HCC也可达78.6%, 提示高分辨力灌注成像能提高SHCC的检出. 因此, MR灌注成像在肝硬化结节癌变的定性诊断方面具有优势. MRS是指MRS是利用磁共振基本成像原理及化学位移和自旋耦合现象, 来测定人体能量代谢和体内化合物分布与浓度的一种检测技术. 其中, 化学位移现象是MRS的关键, 是无创性研究活体器官组织代谢、生化变化及化学物定量分析的唯一方法. 但目前利用MRS对SHCC进行诊断的研究甚少, 加之MRS技术在临床应用尚存在许多不足, 其诊断作用的提高有待于MR硬件技术的进一步提高.

MRI因具有高的软组织分辨率, 平扫对SHCC具有较高的检出率, 可以检出直径1.0 cm左右的SHCC, 化学位移成像中反相位见信号丢失

名词解释

CT灌注成像(CTP): CTP又称CT功能成像, 主要研究肿瘤的血流特点, 其方法是CT灌注扫描是在CT同层动态增强扫描的基础上发展起来的扫描方法, 通过注射对比剂后同层动态扫描及后处理, 获得反映不同血流特点的灌注值, 并可通过色阶赋值形成伪彩灌注图像, 从而更加全面、直观地显示脏器及病变的血流灌注特点和血管特性, 从而反映组织生理功能的改变.

同行评价
本文选题新颖, 内容
丰富, 具有一定的
可读性.

失及假包膜征等特征性征象有利于早期诊断, 动态增强扫描能敏感地观察到SHCC血供变化的特征及假包膜征, 有利于SHCC早期诊断率进一步提高. 但因其价格昂贵, 检查速度慢, 且对有金属假体患者禁忌. 因此目前国内尚未广泛应用, 加之其对SHCC诊断的准确率与MDCT多期扫描对比无明显差异. 因此, 对SHCC的检查应优先选MDCT多期扫描, 无特征性表现时再行MRI检查, 互相对比分析往往可以得到更好的效果^[38]. 随着人们对MRI对比剂的不断研究, 对SHCC具有更高敏感性的造影材料也必将被开发出来, MRI对SHCC的诊断敏感性也将得到进一步的提高.

3.5 数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查诊断SHCC DSA是20世纪80年代继CT之后出现的一项临床放射学新技术, 是电子计算机与常规X线血管造影相结合的一种新的检查方法. 随着介入放射学的兴起, DSA作为介入诊断和治疗中不可缺少的工具在临床上得到普遍应用. DSA是一种消除了造影血管以外的结构, 突出了被造影器官的血管影像方法. 由于绝大多数肝癌是一种富血供肿瘤, 在DSA上会出现肿瘤染色灶. 他可通过肝固有动脉造影、选择性肝总动脉或超选择性分支动脉造影3种方式进行检查. SHCC的血管造影表现为动脉期肝动脉增粗并不明显, 多数仅显示肝动脉分支轻度增粗, 肿瘤血管走行异常、迂曲、扩张、移位和包绕毛细血管期小血管增多, 可见肿瘤区结节状染色, 该征象对SHCC的诊断尤其重要, 即使肿瘤血管不明确, 只要有确切的肿瘤染色, 便可做出诊断. 肿瘤染色类型与肿瘤生长速度有关, 生长慢者染色均匀, 反之不均, 不均匀染色区病理改变为肿瘤内部的凝固性坏死、液化坏死、纤维化及脂肪变性. 有研究表明, 肝动脉DSA较CT扫描、B超、核素扫描发现复发病灶的准确性和敏感性更高, 肝动脉造影可显示0.2 cm的细小动脉及0.5 cm以下的小病灶^[39]. DSA是诊断SHCC准确而有效的方法, DSA常规参数造影(RA)应用比较广泛, 但某些少血管性肝癌病灶RA可不显示肿瘤血管或肿瘤染色, 不能明确性质的病灶, 或临床上高度疑有肝癌而MSCT检查阴性者在DSA检查同时, 经导管直接注入3-5 mL超液化碘油, 间隔25-30 d再进行MDCT扫描, 即碘油CT, 观察碘油沉积, 碘油CT同时兼有治疗作用, 同时可提高SHCC的检出率^[21]. DSA属于一种有创性操作, 因此临床较

少单独应用其诊断SHCC, 而主要作为对肝癌进行肝动脉化疗栓塞术时的一种辅助检查手段.

3.6 核素显像检查诊断SHCC ¹⁹⁸Au核素显像是HCC影像学检查中应用最早的方法之一^[40]. 但近年由于其他非核影像检查技术的进步, 核素显像在HCC的诊断中已较少应用. 近年来发展的“阳性”扫描, 即采用亲肝癌的核素或用核素标记的亲肝癌化合物所作的扫描可使肝癌凸现, 而兼有定性诊断的价值, 颇引人注目. 应用较为成功的有^{99m}Tc-(γ)DMSA及^{99m}T-PMT扫描. 近年来另一重要进展是正电子发射体层显像技术(PET)及单光子发射计算机体层显像(single positron emission computed tomography, SPECT)等的应用, SPECT, PET, PET/CT, 多种示踪剂PET显像等技术能利用病变细胞内各种物质代谢的原理显像病变组织, 能在肝细胞形态结构未出现明显改变前探测出其功能上的变化, 对SHCC的早期监测, 良恶性肿瘤的鉴别, 分化程度的判断及转移灶的发现有着较高的临床价值^[41]. 然而大量文献表明, 核素显像技术对SHCC的诊断敏感性较低^[42], 对较大肝癌和转移癌的敏感性则比较高, 因此其在SHCC的诊断上仍有其局限性, 临床上应用也相对较少.

4 结论

临床上SHCC的常规影像学诊断方法有B超、CT、MRI等, 其中B超因其经济、便捷、无放射性, 在临床上得到普遍应用, 但因其本身检查的局限性, 无法提供更为细致的解剖和形态学改变信息. 相比之下, CT和MRI有较高的空间分辨率, 能清晰显示病灶在形态结构的变化, 且能检测直径1 cm大小的病灶, 使其成为SHCC检测的常规检测方法, 被广泛应用于临床. 近年来随着分子影像学技术的不断进步, 各种新的影像学对比剂和成像技术不断被研发出来, 包括各种新型的PET显像剂, 靶向性磁共振对比剂, 靶向性超声微泡, 近红外荧光成像等技术的出现, 使得SHCC的发生机制及病理演变过程逐步呈现, 检出率也日益提高, 并能根据其血流动力学特点判断其病理分级, 预测预后. 这些分子影像学技术从传统的非特异性物理、生理成像转向特异性分子、基因水平成像的方向发展, 肿瘤的评价指标也将深入到酶功能、受体水平、基因表达改变等, 从而能够做出更早期、更准确、更具特异性的诊断, 极大地改变肿瘤治疗现状, 掀开现代影像学的新篇章^[43], 也为早期无创并

且定性定位诊断SHCC提供了可能. 由于SHCC的早期临床表现无明显特异性, 没有或仅表现较轻的肝功能损害, 肿瘤标志物也常常为阴性, 因此SHCC的早期诊断主要依赖于影像学检查, 这就需要合理的应用当前的影像学技术进行检查诊断. 对于有乙型肝炎和丙型肝炎病史的肝硬化患者, 应当定期(4-6 mo)进行B超筛查和AFP检测^[44,45], 发现肝脏可疑性病变时则应考虑进一步检查, 选择合适的影像方法, 如果还不能确定, 可以选择几种影像学检查联合诊断的方法, 则能大大提高SHCC的早期诊断率和患者的生存率. 另一方面需要我们不断探索新的途径, 研究新影像学技术, 寻找并建立费用低廉、结果可靠、操作简便而且有临床价值的检查技术. 相信随着医学技术的不断进步, SHCC的早期诊断率和治愈率将会得到进一步提高.

5 参考文献

- Golfieri R, Marini E, Bazzocchi A, Fusco F, Trevisani F, Sama C, Mazzella G, Cavuto S, Piscaglia F, Bolondi L. Small (≤ 3 cm) hepatocellular carcinoma in cirrhosis: the role of double contrast agents in MR imaging vs. multidetector-row CT. *Radiol Med* 2009; 114: 1239-1266
- Zender L, Xue W, Cordón-Cardo C, Hannon GJ, Lucito R, Powers S, Flemming P, Spector MS, Lowe SW. Generation and analysis of genetically defined liver carcinomas derived from bipotential liver progenitors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2005; 70: 251-261
- Volk ML, Marrero JA. Early detection of liver cancer: diagnosis and management. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 60-66
- 彭振维, 徐立, 陈敏山, 高恒军, 梁惠宏, 张耀军, 林小军, 李锦清. 原位射频消融与手术治疗小肝癌对比研究. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 633-636
- Takayama T, Makuuchi M, Kojiro M, Lauwers GY, Adams RB, Wilson SR, Jang HJ, Charnsangavej C, Taouli B. Early hepatocellular carcinoma: pathology, imaging, and therapy. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 972-978
- 王玉廷, 李盛辉. 肝硬化结节与小肝癌的影像学鉴别诊断. *实用医药杂志* 2007; 24: 494-495
- Tajima T, Honda H, Taguchi K, Asayama Y, Kuroiwa T, Yoshimitsu K, Irie H, Aibe H, Shimada M, Masuda K. Sequential hemodynamic change in hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules: CT angiography and pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 885-897
- 董辉, 从文铭. 早期小肝癌及癌前病变微卫星变异特点及其临床病理学意义的研究. 上海: 第二军医大学, 2007: 1-109
- 邱丽华, 唐光才, 漆军. 小肝癌的影像学诊断价值及进展. *医学综述* 2007; 13: 625-627
- Luca A, Caruso S, Milazzo M, Mamone G, Marrone G, Miraglia R, Maruzzelli L, Carollo V, Minervini MI, Vizzini G, Gruttadauria S, Gridelli B. Multidetector-row computed tomography (MDCT) for the diagnosis of hepatocellular carcinoma in cirrhotic candidates for liver transplantation: prevalence of radiological vascular patterns and histological correlation with liver explants. *Eur Radiol* 2009 Oct 3. [Epub ahead of print]
- 杨乘辉. 关于肝癌诊断标准的议论. *中华肝脏病杂志* 1999; 7: 168
- Kudo M. Early detection and curative treatment of early-stage hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: S144-S148
- Shariff MI, Cox IJ, Gomaa AI, Khan SA, Gedroyc W, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 3: 353-367
- Brannigan M, Burns PN, Wilson SR. Blood flow patterns in focal liver lesions at microbubble-enhanced US. *Radiographics* 2004; 24: 921-935
- 戴琳, 冯筱榕, 陈永鹏, 文维群, 许乙凯. 超声、超声造影及多层螺旋CT对小肝癌的影像学诊断. *南方医科大学学报* 2008; 28: 1469-1471
- 董发进, 徐金锋. 超声造影在肝硬化及小肝癌诊断中的应用进展. *医学影像学杂志* 2007; 17: 316-318
- 杜联芳. 超声影像技术的临床实践. 上海: 上海科技教育出版社, 2008: 7-28
- Wilson SR, Burns PN. An algorithm for the diagnosis of focal liver masses using microbubble contrast-enhanced pulse-inversion sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186: 1401-1412
- Burns PN, Wilson SR. Focal liver masses: enhancement patterns on contrast-enhanced images--concordance of US scans with CT scans and MR images. *Radiology* 2007; 242: 162-174
- 丁红, 王文平, 黄备建, 李超伦, 张晖, 魏瑞雪. 超声造影检测和诊断小肝癌的价值. *中国普外基础与临床杂志* 2007; 14: 28-31
- 曾燕, 赵建农. 小肝癌的数字减影血管造影、计算机X线体层扫描和磁共振成像诊断进展. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 572-573
- Murakami T, Kim T, Takamura M, Hori M, Takahashi S, Federle MP, Tsuda K, Osuga K, Kawata S, Nakamura H, Kudo M. Hypervascular hepatocellular carcinoma: detection with double arterial phase multi-detector row helical CT. *Radiology* 2001; 218: 763-767
- Zhao H, Yao JL, Wang Y, Zhou KR. Detection of small hepatocellular carcinoma: comparison of dynamic enhancement magnetic resonance imaging and multiphase multirow-detector helical CT scanning. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1252-1256
- 李振明, 姜晓静. 肝动脉造影和碘油CT对小肝癌的诊断(附15例报告). *现代生物医学进展* 2006; 6: 67-68
- 张军华, 马威, 高磊, 王如锦, 谢辉, 董景辉. CTHA/CTAP与DSA在小肝癌诊断中的对比分析. *热带医学杂志* 2006; 6: 1040-1042
- 刘院生, 赵庆和. 多层螺旋CT三期增强扫描诊断小肝癌的价值探讨. *中国实用医药* 2007; 2: 69-70
- 王爽, 赵心明, 林蒙, 赵燕凤, 周纯武. 肝脏CT灌注成像在肝癌早期诊断中的价值. *放射学实践* 2008; 23: 280-284
- Amano S, Ebara M, Yajima T, Fukuda H, Yoshikawa M, Sugiura N, Kato K, Kondo F, Matsumoto T, Saisho H. Assessment of cancer cell differentiation in small hepatocellular carcinoma by computed tomography and magnetic resonance imaging. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 273-279
- Hussain HK, Syed I, Nghiem HV, Johnson TD, Carlos RC, Weadock WJ, Francis IR. T2-weighted MR imaging in the assessment of cirrhotic liver. *Radiology* 2004; 230: 637-644
- 谭婉嫦, 张应和. 小肝癌的MRI诊断. *国际医药卫生导*

- 报 2007; 13: 31-34
- 31 Saar B, Kellner-Weldon F. Radiological diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2008; 28: 189-199
- 32 Lauenstein TC, Salman K, Morreira R, Heffron T, Spivey JR, Martinez E, Sharma P, Martin DR. Gadolinium-enhanced MRI for tumor surveillance before liver transplantation: center-based experience. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 663-670
- 33 罗琳, 王劲. 肝硬化结节自然病程的磁共振功能成像研究进展. *国际医学放射学杂志* 2009; 32: 245-249
- 34 Ichikawa T, Haradome H, Hachiya J, Nitatori T, Araki T. Diffusion-weighted MR imaging with a single-shot echoplanar sequence: detection and characterization of focal hepatic lesions. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 397-402
- 35 Taouli B, Vilgrain V, Dumont E, Daire JL, Fan B, Menu Y. Evaluation of liver diffusion isotropy and characterization of focal hepatic lesions with two single-shot echo-planar MR imaging sequences: prospective study in 66 patients. *Radiology* 2003; 226: 71-78
- 36 Kim YK, Kim CS, Kwak HS, Lee JM. Three-dimensional dynamic liver MR imaging using sensitivity encoding for detection of hepatocellular carcinomas: comparison with superparamagnetic iron oxide-enhanced mr imaging. *J Magn Reson Imaging* 2004; 20: 826-837
- 37 Yoshioka H, Takahashi N, Yamaguchi M, Lou D, Saida Y, Itai Y. Double arterial phase dynamic MRI with sensitivity encoding (SENSE) for hypervascular hepatocellular carcinomas. *J Magn Reson Imaging* 2002; 16: 259-266
- 38 余水全, 王耿, 李水连, 肖格林. 多层螺旋CT及MRI对小肝癌诊断的对比研究. *实用医技杂志* 2008; 15: 2454-2456
- 39 谭一清, 余建明, 张晓磷, 谭光喜, 余成新, 谭运海, 亢德洪, 鲁际, 龚捷. 肝总动脉常规造影与长时间低流率造影对肝癌病灶检出的对比分析. *临床放射学杂志* 2006; 25: 959-962
- 40 Khan MA, Combs CS, Brunt EM, Lowe VJ, Wolverson MK, Solomon H, Collins BT, Di Bisceglie AM. Positron emission tomography scanning in the evaluation of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000; 32: 792-797
- 41 吴镇宇. 核素显像在肝癌临床诊断中的应用. *国外医学·放射医学核医学分册* 2004; 28: 199-202
- 42 李天然, 田嘉禾, 王卉, 王瑞民, 赵春雷, 陈自谦. 肝恶性肿瘤多模式影像技术PET/CT应用价值评估. *临床肝胆病杂志* 2009; 25: 15-19
- 43 王淑蕙, 寇庚, 王皓. 靶向性磁共振造影剂在肿瘤分子影像学中的应用. *中国医药生物技术* 2008; 3: 307-309
- 44 McMahon BJ, Bulkow L, Harpster A, Snowball M, Lanier A, Sacco F, Dunaway E, Williams J. Screening for hepatocellular carcinoma in Alaska natives infected with chronic hepatitis B: a 16-year population-based study. *Hepatology* 2000; 32: 842-846
- 45 Kemp W, Pianko S, Nguyen S, Bailey MJ, Roberts SK. Survival in hepatocellular carcinoma: impact of screening and etiology of liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 873-881

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32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5 500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1 980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)

Barrett's食管有关问题研究进展

王瑞华

王瑞华, 浙江大学邵逸夫临床医学研究所 浙江大学医学院邵逸夫医院消化科 浙江省杭州市 310016

通讯作者: 王瑞华, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 310016, 浙江省杭州市. 浙江大学邵逸夫临床医学研究所, 浙江大学医学院邵逸夫医院消化科. ruihuawang@vip.163.com

电话: 0571 - 86007688

收稿日期: 2009-10-28 修回日期: 2009-11-30

接受日期: 2009-12-07 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in research on Barrett's esophagus

Rui-Hua Wang

Rui-Hua Wang, Sir Run Run Shaw Institute of Clinical Medicine, Zhejiang University; Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Associate Professor Rui-Hua Wang, Sir Run Run Shaw Institute of Clinical Medicine of Zhejiang University; Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China. ruihuawang@vip.163.com

Received: 2009-10-25 Revised: 2009-11-30

Accepted: 2009-12-07 Published online: 2010-02-18

Abstract

Over the past 20 years, the incidence of esophageal adenocarcinoma has increased dramatically. Barrett's esophagus is an acquired premalignant condition in which an abnormal columnar epithelium replaces the stratified squamous epithelium that normally lines the distal esophagus. Barrett's esophagus is often associated with long-standing gastroesophageal reflux disease. Gastric and/or bile contents may contribute to the development and malignant progression of Barrett's esophagus. At present, the uniform histopathologic definitions and diagnostic criteria for Barrett's esophagus, intestinal metaplasia at the gastroesophageal junction and cardiac metaplasia have not been established, and the correlation between *Helicobacter pylori* infection and gastroesophageal reflux disease is still a matter of ongoing debate. Recent studies have suggested that esophageal injury in Barrett's esophagus heals through the proliferation and differentiation of multi-potential progenitor cells derived from the bone marrow rather than from

the injured organ itself. MicroRNAs (miRNAs) are potentially useful for development of biomarkers for evaluation of the prognosis of Barrett's esophagus and for early detection, chemoprevention, and treatment of esophageal cancer.

Key Words: Barrett's esophagus; Esophageal adenocarcinoma; Gastroesophageal reflux disease; *Helicobacter pylori*; Acid exposure; Bone marrow-derived progenitor cell; MiRNAs

Wang RH. Advances in research on Barrett's esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 487-494

摘要

近年来, 食管腺癌的发病率日益增高. Barrett's食管是一种癌前病变, 食管下段复层鳞状上皮被异常的柱状上皮所取代, 是长期胃食管反流所造成的结果. 胃酸和十二指肠内容物对Barrett's食管的发生、发展起着重要的作用. Barrett's食管、胃食管连接处肠化和贲门肠化的定义和组织学诊断标准仍未统一, 胃食管反流病和幽门螺杆菌感染的关系目前仍不清楚. 最新的研究表明, Barrett's食管不是食管本身对损伤的修复, 而是起源于骨髓干细胞. miRNAs与Barrett's食管癌变机制及其预后密切相关, 为临床上有价值的预后发展的分子生物学标志, 是一种潜在新的药物治疗靶点.

关键词: Barrett's食管; 食管腺癌; 胃食管反流病; 幽门螺杆菌; 酸暴露; 骨髓干细胞; miRNAs

王瑞华. Barrett's食管有关问题研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 487-494

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/487.asp>

0 引言

在西方工业化国家, 食管下段及胃食管连接处腺癌发生率在快速增加, 超过了其他任何恶性肿瘤. 而同期食管鳞癌发病率呈稳定状态, 胃癌的发病率则呈下降趋势^[1]. 研究表明, Barrett's食管是食管腺癌的癌前病变. 前瞻性的研究表明绝大多数食管腺癌伴有Barrett's食管, 食管下段食管腺癌起源于化生的腺上皮^[2], 从组织学上已明确

背景资料

Barrett's食管是一种癌前病变, 食管下段复层鳞状上皮被异常的柱状上皮所取代, 是长期胃食管反流所造成的结果. 胃酸和十二指肠内容物对Barrett's食管的发生发展起着重要的作用. 他的起源与骨髓干细胞密切相关, miRNAs与Barrett's食管癌变机制及其预后密切相关, 为临床上有价值的预后发展的分子生物学标志, 是一种潜在的新的药物治疗靶点.

同行评议者

王邦茂, 教授, 天津医科大学总医院消化内科

研发前沿
Barrett's食管
的诊断标准、发
生起源、微环
境与个体基因
的差异对其发
展的影响、寻
找其分子生物
学标志、研究
及防止其癌变
机制是目前研
究的重点。

了Barrett's食管-不典型增生-腺癌的发生顺序。确诊后的食管腺癌预后很差,如早期诊断则5年生存率达83%-90%,而晚期则只有10%-15%^[3]。因此早期确诊和治疗将有助于降低发病率和死亡率。自Norman Barrett于1950年首次描述了食管下段的这种病理现象后,Barrett's食管的定义及标准、流行病学、发病机制、发生发展的危险因素等方面还有诸多问题需进行研究。本文就此领域的研究及最新进展作一综述。

1 Barrett's食管的定义及标准

20世纪50年代以来,Barrett's食管的定义经历了三个阶段的变化^[4]。1950年,英国外科学家Norman Barrett首先描述了食管下段一种红色的黏膜病变。他认为那可能是由于食管下端溃疡疤痕收缩而导致胃黏膜被拉入了食管下端^[5]。随后许多学者都报道了这种病理变化,但早期的这种描述及定义几乎全是来自于大体观察,那时许多作者认为这种病变是先天性的,而不是后天获得的^[6]。随后的组织病理学和临床研究表明,这种现象是后天获得性的一种病理状态,可分为三种不同的类型:(1)带有杯状细胞的特殊肠化上皮;(2)不带有杯状细胞的胃贲门-幽门连接处上皮;(3)不带有杯状细胞的胃黏膜或泌酸上皮^[7]。当时的诊断标准分为长节段Barrett's食管(long segment Barrett's esophagus, LSBE),病变长度至少3 cm,有的学者认为5 cm^[8];短节段Barrett's食管(short segment Barrett's esophagus, SSBE),病变长度为2-3 cm;Barrett's食管上皮长度<2 cm被认为是一种正常的变异^[9]。随着消化内镜使用的普及,人们逐步认识到食管下段这种肠化上皮是一种癌前病变,同食管腺癌的发生密切相关^[10]。

目前,依据化生的长度,将Barrett's食管分为三类^[4]。一是LSBE,其长度至少在3cm以上;二是SSBE,其长度小于3 cm;三是超短节段的Barrett's食管(ulter short segment Barrett's esophagus, USSBE)。USSBE是指内镜下食管未见有病变,但组织学检查证实有化生存在^[11]。LSBE与食管腺癌发展的关系已经被研究证实,据估计,其发展为腺癌的危险性为每年1/52-441,对于SSBE和USSBE发展为食管腺癌的危险性进行的研究还很少,但是考虑到其肠化面积,其危险性肯定小于LSBE。研究表明8%-12%的SSBE有不典型增生,而LSBE不典型增生的发生率在19%-24%^[12]。但是对于USSBE不典型增生的情况及发展为腺癌的危险性却了解的更

少,因为USSBE组织活检检查还不是常规,这种病变发生率的详细情况还不得而知。据调查估计,SSBE的发生率是LSBE发生率的6-20倍^[13],USSBE的概念至今还没广泛被接受,因为活检组织样本的来源有时还有争议,有时易与来自于贲门肠化(cardia intestinal metaplasia, CIM)的组织样本相混淆。一些作者认为使用胃食管连接处(gastroesophageal junction, GEJ)肠化可能更准确,因为这样就不需要精确定位组织样本的确切来源位置^[14]。

关于Barrett's食管的诊断是以确诊存在柱状上皮还是以组织学发现肠化为依据一直存在着争议。美国胃肠协会芝加哥会议^[15]将鳞柱状细胞连接处和GEJ之间存在肠化为Barrett's食管的诊断标准。但是最近英国胃肠协会Barrett's食管的诊断指南认为肠化并不是诊断标准的必备条件。研究表明,在柱状上皮内如果要确定有无肠化细胞存在,至少需要8个组织样本^[16],不依赖于化生上皮的长度和内镜检查的次数。

2 流行病学

业已证实,Barrett's食管是胃食管反流病(gastro-esophageal reflux disease, GERD)的并发症。1994年,Spechler等^[10]报道,18%内镜检查未见食管异常的患者,在GEJ有肠化。随后的大样本的研究表明,12%内镜检查正常的患者在GEJ发现有肠化上皮。Hirota等^[17]对889例以各种原因进行上消化道内镜检查的患者进行了调查,研究发现,13.2%的患者有肠上皮化生。其中,1.6%有LSBE,6.0%有SSBE,5.6%有GEJ肠化。研究表明,在普通人群中大量的Barrett's食管患者未被认识,确诊率仅有1/20。有研究表明,64例食管腺癌患者仅有4例在确诊前发现有Barrett's食管^[18]。Barrett's食管的发生人群,主要是中年、男性、白种人、平均确诊年龄为63岁,一项大型回顾性研究表明^[19],美国白人比西班牙裔和非洲裔有更高的发病率(6.1% vs 1.7%, $P = 0.0002$; 6.1% vs 1.6%, $P = 0.004$)。

关于Barrett's食管在无症状人群和非GERD人群的发病率尚不得知,但有研究表明其发生率不可忽视。在年龄超过50岁为筛查结肠癌而无胃食管反流症状的患者中进行胃镜检查发现有25%的患者有Barrett's食管。有研究表明,在有消化性溃疡症状的患者中,9.5%查出Barrett's食管,而在消化不良的患者中有6%查出Barrett's食管^[20]。另一项研究表明,在无烧心症状的患者

中, 8.3%的患者有Barrett's食管, 而有烧心症状的患者中检出率为5.6%。这些研究数据表明, 除非使用内镜检查, 否则大量的Barrett's食管患者很难被诊断。一项研究表明, 内镜确诊的病例为22.6/10万, 而尸检报告为376/10万, 相差达21倍。这些数据表明Barrett's食管的发生率可能比先前的估计更高^[21]。

对有慢性GERD症状的患者进行内镜检查发现10%-15%有Barrett's食管^[22]。研究表明有GERD症状的患者患食管腺癌的优势比(odds ratio, OR)是7.7^[23], 但是仅以有无GERD症状来确定筛查Barrett's食管是不切实际的, 因为普通人群中约有1/5的人患有GERD症状^[21]。在流行病学研究中, 诸如男性、种族、和肥胖及年龄等因素显示出与Barrett's食管有关。Barrett's食管的发生率随着年龄增加而增加, 60岁左右为高发年龄。体质量指数(body mass index, BMI)是Barrett's食管的危险因子^[24], 与BMI小于25的患者相比, BMI大于35的男患者发生反流的危险性是OR = 3.3; 95%CI: 2.4-4.7, 女性为OR = 6.3; 95%CI: 4.9-8.0。对照研究表明^[25], 腹部肥胖和体质量指数与Barrett's食管存在与否密切相关(OR = 2.24, 95%CI: 1.21-4.25)。

3 Barrett's食管的起源

关于Barrett's食管的起源有多种假说^[26-28]。化生更新理论认为多能干细胞来源于鳞状上皮, 当鳞状上皮受损伤后, 干细胞异常的分化导致化生。过度区肠化理论则认为, 位于胃食管连接处的多能干细胞在受损伤时, 可选择性地向食管上皮或胃贲门上皮分化。另一种推测认为多能干细胞位于食管腺体颈部区域, 当食管黏膜损伤时发生选择性克隆, 导致化生。这些研究都认为干细胞来源于食管本身。最新的研究表明^[29], Barrett's食管细胞来源于骨髓干细胞。因为肠化上皮包含有多种类型的肠化上皮细胞, 包括胃、小肠和结肠特征的腺细胞。食管损伤的修复可能是通过来源于骨髓的多能干细胞的增殖和分化来完成的, 而不是来源于损伤器官本身。随着更多动物模型的建立及分子流行病学研究方法的发展, 对干细胞所起的作用, 对Barrett's食管发生发展的影响将得到进一步的明确。

胃食管反流物对Barrett's食管发生发展起着非常重要的作用, 但同时基因易感性和食管内微环境所起的作用也不容忽视。基因与基因和基因与环境的相互作用可能解释为什么只有

大约10%的少数反流患者发展为Barrett's食管。Barrett's食管上皮细胞的增殖有可能通过细胞循环周期导致异常基因的积累, 这可能有助于解释为什么个体间基因突变的程度不同。一项研究表明, 突变的发生是无序的, 遗传的不稳定性导致肿瘤的发生从数月至数年不等^[30], 作者认为关键基因的突变可能是一个主要的事件。

4 酸暴露与十二指肠内容物食管反流

最近20年食管腺癌发病率明显增加, 表明环境因素是非常重要的。来自美国的数据表明: 自1975-1995年, 十二指肠溃疡患者住院明显减少, 这与根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)有关, 而同期胃灼热住院患者明显增加^[31]。另有数据研究表明, Barrett's食管发生率增加与过去20余年消化内镜的使用增加有关, 由此提高了对Barrett's食管的认识^[32]。对于GERD的增加也有其他的解释, 首先, 在西方工业国家, 人们变得越来越胖, 这就更容易导致食管裂孔疝的发生, 从而使食管下段解剖结构发生破坏。其次, 由于各种药物的使用, 使食管下段括约肌压力降低, 从而产生反流^[33]。第三, 由于*H.pylori*的根除, 使胃酸的分泌能力增加, 导致反流物酸的浓度增加。第四, 也有研究表明: 由于含硝酸盐肥料的广泛使用, 使食物中硝酸盐的含量增加, 从而使胃内硝酸盐浓度增加, 从而增加了反流发生的可能性^[34]。

与健康对照和轻度烧心患者相比, Barrett's食管患者有更多的食管酸暴露。其过多的酸暴露的病理生理机制首先是食管下段括约肌功能失调, 其次与健康对照和食管炎患者相比, Barrett's食管患者食管下段收缩振幅明显降低, 其结果导致食管对反流物的清除能力降低^[35]。另一项对Barrett's食管细胞及Barrett's食管患者的研究表明酸暴露使丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号传导途径被激活^[36], 通过多种途径导致细胞增殖减少细胞凋亡。Barrett's食管细胞过度增殖反应的机制仍不甚清楚, 但是钠-氢泵的激活将直接影响细胞周期进程^[37]。酸暴露也可能改变细胞信号传导, 因此使转录因子活化, 导致细胞增殖。最近的研究表明, 氮氧化物在酸性条件下导致双链DNA断裂, 导致基因不稳定, 促进Barrett's食管发生恶变^[38]。另一项包括344例患者的研究表明, 胰岛素生长因子在Barrett's食管恶变中起着重要的作用^[39]。

关于胆盐在Barrett's食管发生中所起的作用

相关报道

自1951年Norman Barrett首先描述了食管下段一种红色的黏膜病变以后, 随后许多学者都报道了这种病理变化。研究表明Barrett's食管是长期胃食管反流所造成的结果, 是一种癌前病变与目前高发的食管腺癌密切相关。研究热点在于Barrett's食管不是食管本身对损伤的修复, 而是起源于骨髓干细胞。新的报道表明miRNAs与Barrett's食管癌变机制及其预后密切相关。

创新盘点
本文对Barrett's食管
的流行病学、
起源、诊断标
准、癌变机制及
未来的分子生物
学标志研究方向
等目前的研究热
点逐一进行阐述。

日益受到重视。将酸和胆汁加入Barrett's食管活检标本共同培养后, Barrett's食管细胞表型发生了改变, 在pH值为3.5的环境下, 暴露于酸和胆汁超过24 h, 导致细胞更多的分化和增殖^[40]。动物实验研究表明, 胃十二指肠内容物反流入食管引起黏膜损伤, 导致反流性食管炎、Barrett's食管和食管腺癌的产生^[41,42]。临床研究发现Barrett's食管患者食管内结合性胆盐的水平同酸反流是相关的^[43]。

5 分子生物学标志

一些新的分子生物学标志已经被用来评价在Barrett's食管发生发展及预后中的作用。食管腺癌是一高度恶性的肿瘤与Barrett's食管密切相关, 如何早期发现鉴别Barrett's食管癌变及其癌变机制, 寻找确切的分子生物学标志及治疗靶点是目前研究的热点。miRNA是一种小分子核苷酸, 是一种非编码RNA分子, 参与mRNAs转录翻译, 与人类肿瘤发病机制和预后密切相关。从正常对照、低度不典型增生、高度不典型增生到食管腺癌miR-196a的水平相差10到100倍, 研究同时证明了他的抗凋亡和细胞生长促进作用^[44]。miR-106b-25多顺反子具有促进细胞增殖、细胞循环和抗凋亡, 在Barrett's食管到腺癌的发生过程中通过激活p21和Bim两个靶基因促进细胞癌变^[45,46]。对食管腺癌的研究发现^[47], miR-21, miR-223, miR-192和miR-194的表达是上调的, 而miR-203的表达则降低, miRNAs与食管腺癌癌变机制及其预后密切相关, 是临床上有价值的预后发展的分子生物学标志, 是一潜在的新的药物治疗靶点^[48]。现有的研究都表明miRNAs对食管腺癌的早期确定, 化学预防和临床治疗将起到重要的作用。胆汁酸抑制食管细胞Notch信号传导与Hath1和CDX2表达增加有关^[49], 作者认为这是Barrett's食管形成很重要的一个步骤, 表明反流物中胆汁酸是Barrett's食管发生的致病因子。对CDX2在Barrett's食管的发生中所起的作用已有了解, 胆汁酸诱导的CDX2表达后, CDX1的表达也逐步增高, CDX1诱导MUC2的增高是通过CDX2的表达所介导的, CDX1在食管肠化的过程中扮演着重要的角色^[50]。

6 胃食管连接处肠化

正常的食管鳞状上皮是复层鳞状上皮, 而正常的胃黏膜是含有大量壁细胞和主细胞的泌酸柱状腺体黏膜。在鳞状上皮和柱状上皮交界处有

一明显的组织学界限^[51]。也就是鳞柱状细胞连接处(squamo-columnar junction, SCJ), 通常称作齿状线。通过内镜向胃部适当充气, 可以看到胃皱折末端接近SCJ, 而当胃过度充气时该标志则模糊不清^[11]。理论上SCJ为胃黏膜上皮与食管鳞状上皮的交汇处。但是组织学类型和柱状上皮在GEJ精确的解剖位置是有争议的。从内镜观点来讲, 胃的皱折是随胃的膨胀程度和呼吸而变化的, 通过胃镜确定诊断标志存在着一定的不确定性。尽管对GEJ的正常特征仍有争论。但是在这个部位发生肠化是不正常的。如果在食管内发现肠化上皮, 则诊断为Barrett's食管。肠化可能发生在食管、胃, 也可能同时发生。从组织学来讲, 二者很难区别, 这个部位发生肠化有时很难确定是USSBE还是CIM^[52]。

胃部肠化常是由于*H.pylori*感染导致慢性胃炎所致, 而Barrett's食管则是慢性胃食管反流病的后果。对某些患者来讲GEJ部位的肠化仅是慢性胃炎的一部分, 而对另外一些患者来讲, 肠化是由GERD所引起, 由于化生的长度太短以至不能和锯齿状的Z线相区别, 因此不能区别是Barrett's食管还是CIM。最近的一项研究表明: 超过1/3的GEJ部位肠化的患者其病因是与*H.pylori*感染还是与GERD相关是不清楚的^[53]。

同CIM相比, Barrett's食管处于较高的癌变率。Sharma等研究表明, 177例SSBE患者中发现20例不典型增生(11.3%), 而76例CIM则只发现1例不典型增生(1.3%)^[54]。作者认为对于SSBE患者应进行内镜随访, 而对于CIM则不需要内镜随访, 因此二者的区别在临床上具有重要的意义。近年来, 多种特殊肠化分子标志用于诊断肠化细胞类型已经被报道^[55,56], 细胞角化蛋白(cytokeratin, CK)染色作为区别两种不同肠化的方法已被推荐。在Barrett's食管表面和深部腺体CK7强烈表达, 而CK20则在表面腺体和上皮细胞表达^[57]。相反, 在CIM则不表达这种CK7/CK20。但是CK7/CK20免疫组化染色对于Barrett's食管的特异性和敏感性仍有争议。Nurgalieva等对这些研究数据进行了系统的回顾^[58], 认为不同的研究得出的数据差别很大。

关于GEJ肠化腺癌的发生率几乎没有数据研究, 其癌变的危险性是未知的。因为GEJ肠化可能是CIM也可能是SSBE, 前者的危险性较少, 据估计大约在0.2%-2.9%之间, 但是最近的研究表明大约为每年0.5%^[59], 而后者则有较高的癌变率。Barrett's食管通过基因突变导致细胞生长

失去控制而发展为腺癌,长节段Barrett's食管有更多的DNA损伤,因此更有可能导致关键基因突变,从而导致癌变^[60]。但有报道对包括235例Barrett's食管进行了研究,并没有发现Barrett's食管长度与癌变率相关^[61]。

7 *H.pylori*与胃食管反流病

关于*H.pylori*与反流性食管炎的争论由来已久。流行病学研究表明,在西方国家,GERD发病率的增高与十二指肠溃疡发病率的降低显著相关^[62,63]。但是流行病学资料是否真实反映了GERD发病率的增高还是因为我们增加了对GERD的认识,其原因还不清楚。但是不容怀疑的是,在过去的20余年里,在所有的胃肠肿瘤中,与Barrett's食管相关的食管腺癌的发病率是增长最快的。大约只有10%的GERD患者有*H.pylori*感染,*H.pylori*根除后常伴有GERD的增加,而萎缩性胃炎与GERD呈负相关,这些研究都表明,*H.pylori*感染可能对食管起着保护作用,能防止GERD的发生及并发症的发生与发展^[64,65]。关于*H.pylori*对GERD起保护作用的证据还来自于临床研究,十二指肠溃疡患者在根除*H.pylori*后,糜烂性食管炎的发生率明显增高^[66]。研究表明,萎缩性胃炎患者,在根除了*H.pylori*感染后,增加了胃酸分泌,发生了GERD^[67]。但是这些患者都存在有抗反流屏障的损害。

但是另外大样本临床研究则得出相反的结论,胃溃疡和十二指肠溃疡患者根除*H.pylori*后并没有出现GERD发病率的增高^[68]。研究表明根除*H.pylori*感染并没有导致GERD的增加,GERD患者有无*H.pylori*感染对食管酸暴露的程度并无影响。表明根除*H.pylori*感染发展为GERD的危险是较低的^[69]。目前认为,需要长期服用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)治疗的GERD的患者推荐根除*H.pylori*的治疗方案^[70]。有多项研究表明,根除*H.pylori*感染后,GERD复发率较对照组降低^[71]。

许多人有*H.pylori*感染和/或GERD,他们可能独自发生或相互伴随,这两种情况是相互排斥、相互促进或是简单的相互独立是一个争论很久的问题^[72]。在临床上有许多GERD患者伴有*H.pylori*感染,病情严重的GERD患者是否*H.pylori*感染率较低目前仍没有明确的结论。

8 *H.pylori*与胃食管连接处肠化

早期对*H.pylori*的研究主要是其对胃窦、胃体、

胃底的炎症程度和对黏膜的损害,但是对贲门部病变的研究很少。感染*H.pylori*的胃窦、胃体炎,几乎全部伴有贲门炎,其炎症程度与胃窦炎症相一致而与胃体炎症则无相关性。研究证实,几乎所有胃窦炎都伴有贲门炎,但是与最初的研究相反,与炎症范围及程度并没有相关性^[73]。研究表明内镜下GEJ正常的CIM与*H.pylori*感染的幽门肠化相关,而不是异常的酸反流所致。一些研究对CIM和Barrett's食管进行了比较,表明CIM与*H.pylori*感染的幽门肠化相关而与Barrett's食管无明显相关性。频繁的反流症状、反流性食管炎及异常的食管内PH值更常见于Barrett's食管而不是CIM^[74]。Dixon等研究表明,异常的胆汁反流和CIM有关^[75],但目前对于CIM是由于异常反流的胃内容物还是*H.pylori*所致还是二者的协同作用仍不清楚,细菌的存在是否增加肠化上皮癌变的危险性还在争议。

9 结论

Barrett's食管作为GERD的严重并发症、食管腺癌的癌前病变目前已得到广泛认可。酸与十二指肠内容物食管反流、骨髓干细胞增殖分化与个体基因易感性在其发生发展中所起的作用日益受到重视。关于SSBE、USSBE、GEJ部位肠化及CIM的诊断标准及临床意义还有许多模糊不清之处。虽然从Barrett's食管、不典型增生到腺癌的演变已从组织病理学及分子生物学方面得到进一步证实,但不典型增生的确定及随访仍有许多问题需要探讨和解决。哪些GERD患者易感Barrett's食管和如何筛选我们还不清楚。Barrett's食管的起源与分子生物学标志的研究是目前的热点,内镜联合PPI治疗及其化学预防机制方面将成为其研究的新领域。随着这些问题的研究及解决,我们将更全面深刻、更有效地预防Barrett's食管的发生与发展。

10 参考文献

- 1 Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998; 83: 2049-2053
- 2 Hamilton SR, Smith RR. The relationship between columnar epithelial dysplasia and invasive adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. *Am J Clin Pathol* 1987; 87: 301-312
- 3 Hoff SJ, Sawyers JL, Blanke CD, Choy H, Stewart JR. Prognosis of adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 176-180; discussion 180-181
- 4 Mueller J, Werner M, Stolte M. Barrett's esophagus: histopathologic definitions and diagnostic criteria.

应用要点
本文为探索Barrett's食管发病机制、统一诊断标准,寻找预测癌变的分子生物学标志及新的药物治疗靶点提供了一定的思路。

名词解释

1 Barrett's食管: 长期慢性胃食管反流的并发症, 食管下段复层鳞状上皮被异常的柱状上皮所取代, 是食管腺癌的癌前病变。从Barrett's食管、不典型增生到食管腺癌的发病模式已被流行病学、组织学和分子生物学所证实。

2 胃食管连接处肠化: 在食管和胃结合部, 鳞状上皮和柱状上皮交界处有一明显的组织学界限, 为鳞柱状细胞连接处, 通常称作齿状线。如果在齿状线以上发现肠化上皮诊断为Barrett's食管, 齿状线以下则称为贲门肠化。目前该部位的肠化通称为胃食管连接处肠化。

- World J Surg 2004; 28: 148-154
- 5 Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 1950; 38: 175-182
 - 6 Allison PR, Johnstone AS. The oesophagus lined with gastric mucous membrane. *Thorax* 1953; 8: 87-101
 - 7 Paull A, Trier JS, Dalton MD, Camp RC, Loeb P, Goyal RK. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1976; 295: 476-480
 - 8 Rothery GA, Patterson JE, Stoddard CJ, Day DW. Histological and histochemical changes in the columnar lined (Barrett's) oesophagus. *Gut* 1986; 27: 1062-1068
 - 9 Hayward J. The lower end of the oesophagus. *Thorax* 1961; 16: 36-41
 - 10 Spechler SJ. The columnar-lined esophagus. History, terminology, and clinical issues. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; 26: 455-466
 - 11 Sharma P, Morales TG, Sampliner RE. Short segment Barrett's esophagus--the need for standardization of the definition and of endoscopic criteria. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1033-1036
 - 12 Clark GW, Ireland AP, Peters JH, Chandrasoma P, DeMeester TR, Bremner CG. Short-segment Barrett's esophagus: A prevalent complication of gastroesophageal reflux disease with malignant potential. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 113-122
 - 13 Spechler SJ, Zeroogian JM, Antonioli DA, Wang HH, Goyal RK. Prevalence of metaplasia at the gastro-oesophageal junction. *Lancet* 1994; 344: 1533-1536
 - 14 Pera M, Trastek VF, Pairolero PC, Cardesa A, Allen MS, Deschamps C. Barrett's disease: pathophysiology of metaplasia and adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 1191-1197
 - 15 Sharma P, McQuaid K, Dent J, Fennerty MB, Sampliner R, Spechler S, Cameron A, Corley D, Falk G, Goldblum J, Hunter J, Jankowski J, Lundell L, Reid B, Shaheen NJ, Sonnenberg A, Wang K, Weinstein W. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the AGA Chicago Workshop. *Gastroenterology* 2004; 127: 310-330
 - 16 Harrison R, Perry I, Haddadin W, McDonald S, Bryan R, Abrams K, Sampliner R, Talley NJ, Moayyedi P, Jankowski JA. Detection of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus: an observational comparator study suggests the need for a minimum of eight biopsies. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1154-1161
 - 17 Hirota WK, Loughney TM, Lazas DJ, Maydonovitch CL, Rholl V, Wong RK. Specialized intestinal metaplasia, dysplasia, and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data. *Gastroenterology* 1999; 116: 277-285
 - 18 Conio M, Cameron AJ, Romero Y, Branch CD, Schleck CD, Burgart LJ, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd, Locke GR 3rd. Secular trends in the epidemiology and outcome of Barrett's oesophagus in Olmsted County, Minnesota. *Gut* 2001; 48: 304-309
 - 19 Abrams JA, Fields S, Lightdale CJ, Neugut AI. Racial and ethnic disparities in the prevalence of Barrett's esophagus among patients who undergo upper endoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 30-34
 - 20 Connor MJ, Weston AP, Mayo MS, Sharma P. The prevalence of Barrett's esophagus and erosive esophagitis in patients undergoing upper endoscopy for dyspepsia in a VA population. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 920-924
 - 21 Malfertheiner P, Peitz U. The interplay between *Helicobacter pylori*, gastro-oesophageal reflux disease, and intestinal metaplasia. *Gut* 2005; 54 Suppl 1: i13-i20
 - 22 Sampliner RE. Updated guidelines for the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1888-1895
 - 23 Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999; 340: 825-831
 - 24 Nilsson M, Johnsen R, Ye W, Hveem K, Lagergren J. Obesity and estrogen as risk factors for gastroesophageal reflux symptoms. *JAMA* 2003; 290: 66-72
 - 25 Corley DA, Kubo A, Levin TR, Block G, Habel L, Zhao W, Leighton P, Quesenberry C, Rumore GJ, Buffler PA. Abdominal obesity and body mass index as risk factors for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2007; 133: 34-41; quiz 311
 - 26 Pera M, Pera M. Experimental Barrett's esophagus and the origin of intestinal metaplasia. *Chest Surg Clin N Am* 2002; 12: 25-37
 - 27 Seery JP. Stem cells of the oesophageal epithelium. *J Cell Sci* 2002; 115: 1783-1789
 - 28 Glickman JN, Chen YY, Wang HH, Antonioli DA, Odze RD. Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 569-578
 - 29 Sarosi G, Brown G, Jaiswal K, Feagins LA, Lee E, Crook TW, Souza RF, Zou YS, Shay JW, Spechler SJ. Bone marrow progenitor cells contribute to esophageal regeneration and metaplasia in a rat model of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus* 2008; 21: 43-50
 - 30 Barrett MT, Sanchez CA, Prevo LJ, Wong DJ, Galipeau PC, Paulson TG, Rabinovitch PS, Reid BJ. Evolution of neoplastic cell lineages in Barrett oesophagus. *Nat Genet* 1999; 22: 106-109
 - 31 el-Serag HB, Sonnenberg A. Opposing time trends of peptic ulcer and reflux disease. *Gut* 1998; 43: 327-333
 - 32 Caygill CP, Reed PI, Johnston BJ, Hill MJ, Ali MH, Levi S. A single centre's 20 years' experience of columnar-lined (Barrett's) oesophagus diagnosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1355-1358
 - 33 Lagergren J. Adenocarcinoma of oesophagus: what exactly is the size of the problem and who is at risk? *Gut* 2005; 54 Suppl 1: i1-i5
 - 34 Spechler SJ. Carcinogenesis at the gastroesophageal junction: free radicals at the frontier. *Gastroenterology* 2002; 122: 1518-1520
 - 35 Fitzgerald RC, Lascar R, Triadafilopoulos G. Review article: Barrett's oesophagus, dysplasia and pharmacologic acid suppression. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 269-276
 - 36 Souza RF, Shewmake K, Terada LS, Spechler SJ. Acid exposure activates the mitogen-activated protein kinase pathways in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2002; 122: 299-307
 - 37 Putney LK, Barber DL. Na-H exchange-dependent increase in intracellular pH times G2/M entry and transition. *J Biol Chem* 2003; 278: 44645-44649
 - 38 Clemons NJ, McColl KE, Fitzgerald RC. Nitric oxide and acid induce double-strand DNA breaks

- in Barrett's esophagus carcinogenesis via distinct mechanisms. *Gastroenterology* 2007; 133: 1198-1209
- 39 Siahpush SH, Vaughan TL, Lampe JN, Freeman R, Lewis S, Odze RD, Blount PL, Ayub K, Rabinovitch PS, Reid BJ, Chen C. Longitudinal study of insulin-like growth factor, insulin-like growth factor binding protein-3, and their polymorphisms: risk of neoplastic progression in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2387-2395
 - 40 Bajpai M, Liu J, Geng X, Souza RF, Amenta PS, Das KM. Repeated exposure to acid and bile selectively induces colonic phenotype expression in a heterogeneous Barrett's epithelial cell line. *Lab Invest* 2008; 88: 643-651
 - 41 Li Y, Wo JM, Ellis S, Ray MB, Jones W, Martin RC. A novel external esophageal perfusion model for reflux esophageal injury. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 527-532
 - 42 Goldstein SR, Yang GY, Curtis SK, Reuhl KR, Liu BC, Mirvish SS, Newmark HL, Yang CS. Development of esophageal metaplasia and adenocarcinoma in a rat surgical model without the use of a carcinogen. *Carcinogenesis* 1997; 18: 2265-2270
 - 43 Nehra D, Howell P, Williams CP, Pye JK, Beynon J. Toxic bile acids in gastro-oesophageal reflux disease: influence of gastric acidity. *Gut* 1999; 44: 598-602
 - 44 Maru DM, Singh RR, Hannah C, Albarracin CT, Li YX, Abraham R, Romans AM, Yao H, Luthra MG, Anandasabapathy S, Swisher SG, Hofstetter WL, Rashid A, Luthra R. MicroRNA-196a is a potential marker of progression during Barrett's metaplasia-dysplasia-invasive adenocarcinoma sequence in esophagus. *Am J Pathol* 2009; 174: 1940-1948
 - 45 Kan T, Sato F, Ito T, Matsumura N, David S, Cheng Y, Agarwal R, Paun BC, Jin Z, Olaru AV, Selaru FM, Hamilton JP, Yang J, Abraham JM, Mori Y, Meltzer SJ. The miR-106b-25 polycistron, activated by genomic amplification, functions as an oncogene by suppressing p21 and Bim. *Gastroenterology* 2009; 136: 1689-1700
 - 46 Kan T, Meltzer SJ. MicroRNAs in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 727-732
 - 47 Mathé EA, Nguyen GH, Bowman ED, Zhao Y, Budhu A, Schetter AJ, Braun R, Reimers M, Kumamoto K, Hughes D, Altorki NK, Casson AG, Liu CG, Wang XW, Yanaihara N, Hagiwara N, Dannenberg AJ, Miyashita M, Croce CM, Harris CC. MicroRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: associations with survival. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 6192-6200
 - 48 Yang H, Gu J, Wang KK, Zhang W, Xing J, Chen Z, Ajani JA, Wu X. MicroRNA expression signatures in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5744-5752
 - 49 Morrow DJ, Avissar NE, Toia L, Redmond EM, Watson TJ, Jones C, Raymond DP, Litle V, Peters JH. Pathogenesis of Barrett's esophagus: bile acids inhibit the Notch signaling pathway with induction of CDX2 gene expression in human esophageal cells. *Surgery* 2009; 146: 714-721; discussion 721-722
 - 50 Kazumori H, Ishihara S, Kinoshita Y. Roles of caudal-related homeobox gene Cdx1 in oesophageal epithelial cells in Barrett's epithelium development. *Gut* 2009; 58: 620-628
 - 51 Spechler SJ. The role of gastric carditis in metaplasia and neoplasia at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology* 1999; 117: 218-228
 - 52 Spechler SJ. Intestinal metaplasia at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology* 2004; 126: 567-575
 - 53 Couvelard A, Cauvin JM, Goldfain D, Rotenberg A, Robaszkiewicz M, Fléjou JF. Cytokeratin immunoreactivity of intestinal metaplasia at normal oesophagogastric junction indicates its aetiology. *Gut* 2001; 49: 761-766
 - 54 Sharma P, Weston AP, Morales T, Topalovski M, Mayo MS, Sampliner RE. Relative risk of dysplasia for patients with intestinal metaplasia in the distal oesophagus and in the gastric cardia. *Gut* 2000; 46: 9-13
 - 55 Steininger H, Pfofe DA, Müller H, Haag-Sunjic G, Fratianu V. Expression of CDX2 and MUC2 in Barrett's mucosa. *Pathol Res Pract* 2005; 201: 573-577
 - 56 Lopes CV, Pereira-Lima J, Hartmann A. Expression of mucin-2 and correlation with PAS-alcian blue stain in Barrett's esophagus. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 511-515
 - 57 Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. *Hum Pathol* 1999; 30: 288-294
 - 58 Nurgalieva Z, Lowrey A, El-Serag HB. The use of cytokeratin stain to distinguish Barrett's esophagus from contiguous tissues: a systematic review. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1345-1354
 - 59 Spechler SJ, Lee E, Ahnen D, Goyal RK, Hirano I, Ramirez F, Raufman JP, Sampliner R, Schnell T, Sontag S, Vlahcevic ZR, Young R, Williford W. Long-term outcome of medical and surgical therapies for gastroesophageal reflux disease: follow-up of a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 2331-2338
 - 60 Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, Chejfec G, Metz A, Sontag SJ. Hiatal hernia size, Barrett's length, and severity of acid reflux are all risk factors for esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1930-1936
 - 61 Rudolph RE, Vaughan TL, Storer BE, Haggitt RC, Rabinovitch PS, Levine DS, Reid BJ. Effect of segment length on risk for neoplastic progression in patients with Barrett esophagus. *Ann Intern Med* 2000; 132: 612-620
 - 62 Bardhan KD, Royston C, Nayyar AK. Reflux rising! An essay on witnessing a disease in evolution. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 163-168
 - 63 El-Serag HB. Time trends of gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 17-26
 - 64 O'Connor HJ. Review article: Helicobacter pylori and gastro-oesophageal reflux disease-clinical implications and management. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 117-127
 - 65 Ye W, Held M, Lagergren J, Engstrand L, Blot WJ, McLaughlin JK, Nyrén O. Helicobacter pylori infection and gastric atrophy: risk of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 388-396
 - 66 Fallone CA, Barkun AN, Göttke MU, Best LM, Loo

同行评价

本文有一定的新颖性, 能较好总结 Barrett's 食管有关问题研究现状和一些最新进展, 有一定的参考价值。

- VG, Veldhuyzen van Zanten S, Nguyen T, Lowe A, Fainsilber T, Kouri K, Beech R. Association of *Helicobacter pylori* genotype with gastroesophageal reflux disease and other upper gastrointestinal diseases. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 659-669
- 67 Koike T, Ohara S, Sekine H, Iijima K, Kato K, Toyota T, Shimosegawa T. Increased gastric acid secretion after *Helicobacter pylori* eradication may be a factor for developing reflux oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 813-820
- 68 Fallone CA, Barkun AN, Friedman G, Mayrand S, Loo V, Beech R, Best L, Joseph L. Is *Helicobacter pylori* eradication associated with gastroesophageal reflux disease? *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 914-920
- 69 Manifold DK, Anggiansah A, Rowe I, Sanderson JD, Chinyama CN, Owen WJ. Gastro-oesophageal reflux and duodenogastric reflux before and after eradication in *Helicobacter pylori* gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 535-539
- 70 Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180
- 71 Kuipers EJ, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, Snel P, Goldfain D, Kolkman JJ, Festen HP, Dent J, Zeitoun P, Havu N, Lamm M, Walan A. Cure of *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 12-20
- 72 Sharma P, Vakil N. Review article: *Helicobacter pylori* and reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 297-305
- 73 Wiczorek TJ, Wang HH, Antonioli DA, Glickman JN, Odze RD. Pathologic features of reflux and *Helicobacter pylori*-associated carditis: a comparative study. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 960-968
- 74 Wallner B, Sylvan A, Janunger KG, Bozoky B, Stenling R. Immunohistochemical markers for Barrett's esophagus and associations to esophageal Z-line appearance. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 910-915
- 75 Dixon MF, Mapstone NP, Neville PM, Moayyedi P, Axon AT. Bile reflux gastritis and intestinal metaplasia at the cardia. *Gut* 2002; 51: 351-355

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《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)

胰腺癌影像诊断新进展

刘峰君, 程英升

刘峰君, 程英升, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心 上海市 200072

作者贡献分布: 本文综述由刘峰君完成; 程英升审校。

通讯作者: 程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心. cjr.chengysh@vip.163.com
电话: 021-66520224

收稿日期: 2009-11-22 修回日期: 2009-12-25

接受日期: 2009-12-29 在线出版日期: 2010-02-18

Advances in imaging diagnosis of pancreatic cancer

Feng-Jun Liu, Ying-Sheng Cheng

Feng-Jun Liu, Ying-Sheng Cheng, Clinical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Professor Ying-Sheng Cheng, Clinical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China. cjr.chengysh@vip.163.com

Received: 2009-11-22 Revised: 2009-12-25

Accepted: 2009-12-29 Published online: 2010-02-18

Abstract

Early diagnosis of pancreatic carcinoma is very important for effective management of the disease. The imaging techniques traditionally used for diagnosis of pancreatic carcinoma include computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound imaging. In recent years, some new imaging techniques, such as Positron emission tomography (PET)-CT fusion and magnetic resonance spectroscopy (MRS), have been developed. These new imaging techniques play a crucial role in the early diagnosis of pancreatic carcinoma.

Key Words: Traditional imaging technique; New imaging technique; Molecular imaging; Early diagnosis

Liu FJ, Cheng YS. Advances in imaging diagnosis of pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(5): 495-501

摘要

目前, 胰腺癌的早期诊断受到关注。传统影像诊断技术有CT、MR和超声。新的技术已经发展起来, 比如PET/CT融合和MRS, 尤其是分子

影像的实验研究, 为今后胰腺癌的早期诊断提供新的技术手段。

关键词: 传统影像诊断技术; 新的影像技术; 分子影像; 早期诊断

刘峰君, 程英升. 胰腺癌影像诊断新进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 495-501

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/495.asp>

0 引言

近年来, 胰腺癌的发病率及死亡率均有逐渐升高的趋势。在国外, 胰腺癌在癌症中排名第5, 其5年生存率仅为3%。由于胰腺癌发病比较隐匿, 早期诊断比较困难, 随着影像新技术的发展使胰腺癌的早期诊断成为可能。本文将就近年来胰腺癌影像诊断中的技术应用进行综述。

1 胰腺及胰周的重要影像解剖学

胰腺横置于腹膜后的肾前间隙内, 大多数自头向体尾逐渐变细, 胰尾或胰体尾的位置略高。自左后上方轻度斜行向右前下方, 尽管解剖上将胰腺分成头、体、尾3部分, 但是在胰腺内没有明确的解剖分段标志。通常利用胰周的解剖结构特别是血管来做识别。肠系膜上动脉和腹腔动脉常常是从背侧区分胰头和胰体部的最重要标志, 其右侧为胰头, 向后下绕至肠系膜上静脉的后方形成钩突; 左倒为胰体。在左肾上腺和肾脏前方伸向脾门, 其延伸在脾肾韧带内的部分为胰尾, 脾静脉走行于胰体、尾的背侧。在横断面图像上, 胰头呈类圆形, 其后下部钩突呈三角形或楔形, 尖向中线。边缘平直胆总管位于胰头钩突的后外部, 胰头外侧是十二指肠降段。后下方为十二指肠水平段。胰体前方为胃, 二者之间潜在的间隙为小网膜囊。总的来说, 由于胰腺的位置较深, 前方有胃、横结肠和大网膜等遮盖, 故胰腺病变时, 在早期的腹壁体征上往往不明显, 从而增加了诊断的困难性, 特别是早期胰头癌变时, 其周围的解剖结构复杂为胰腺癌的定定位性增加了难度。

背景资料

胰腺癌的发病率近年来明显提高, 临床确诊多属中晚期, 影像在胰腺癌的诊断尤为重要, 但是胰腺癌的早期诊断是难点, 亟待解决。

同行评议者

吴志勇, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院普外科; 魏经国, 教授, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院放射科

研发前沿

目前CT灌注及分子影像等影像技术在胰腺癌方面的研究越来越多,尤其是分子影像成为影像研究的热点,但是其只限于实验研究,所以其临床应用还有很多问题需要解决。

2 超声、内镜超声及增强超声

目前经腹超声检查仍是胰腺癌诊断的首选方法。超声表现为胰腺多呈局限性肿大、失去正常形态,多探及低回声肿块中间可夹杂散在的不均质光点其后方回声衰减,其肿块边界轮廓不整或不清,癌瘤呈蟹足样浸润胰腺癌周围脏器时,可出现挤压现象,胰头癌可使十二指肠区扩大,肝脏受压移位。胰尾癌可使胃、肾及脾脏受压移位,胰腺癌亦可挤压血管、胆管或胰管引起梗阻,胰头癌可使门静脉、肠系膜上静脉受压移位。胰体、尾部癌可使脾静脉肠系膜上动脉移位。目前经腹超声对<2 cm胰腺占位病变的检出率仅30%左右,而内镜超声(endoscopy ultrasound, EUS)的检出率可增至85%以上,其清晰显示率与螺旋CT相仿。目前认为EUS是小胰腺癌极为重要的手段,并且认为EUS在胰腺肿瘤的分期上有重要作用^[8], Dewitt等^[12]也指出EUS的敏感型优于螺旋CT,且在胰腺肿瘤的诊断敏感性也明显提高为96%(范围85%-100%)^[7],特别是在诊断小于3 cm的胰腺肿瘤时。其可以显示胰腺局部及壶腹部胰腺癌同时显示门静脉系统及淋巴结浸润的情况,还可通过EUS下穿刺(fine-needle aspiration, FNA)细胞学诊断,目前EUS-guided的FNA对胰腺肿瘤良恶性的诊断有重要的意义^[41]。在增强超声方面,强回声多普勒超声(注射造影对比)的应用使得这种诊断方法的敏感性和特异性分别增加到87%和94%。而脉冲反相谐波超声成像是一种新技术,他应用超声造影(对比)剂实现了真正的肿瘤内微小血管血流的实时成像,可以检测出直径小于2 cm的胰腺癌,敏感度达95%。这种技术目前还没有广泛应用,但在将来作为胰腺癌的补充方法,可能具有重要作用^[22]。

3 MDCT及血管造影

CT平扫胰腺瘤体密度通常为略低密度或等密度,在静脉注入对比剂后,约93%表现为不均匀的低密度,特别是动脉期和门静脉期。Ishigami等^[2]对57名胰腺癌患者进行术前螺旋CT检查发现8例(14.0%)为等密度、49例为低密度。Gaa等^[20]也发现42%的胰腺肿瘤CT检查为等密度。但大部分胰腺癌在CT上最常表现为低密度。所以在CT中如果发现胰腺组织较周围组织表现为低密度或者等密度应该高度怀疑胰腺癌可能。在间接征象上,腺体的局部增粗或肿块会引起腺体外形的改变有时甚至仅表现为正常腺体的分叶状结构消失,比如肿瘤远端由于血供和排泄受阻导

致的胰体、胰尾萎缩,主胰管轻度扩张^[3]。胰腺的小肿瘤在CT中易忽视,在影像上,正常的钩突的细微变化,也应予以怀疑其变化的可能Manak等^[5]发现MDCT伴多平面重建可成为预测胰腺癌腺癌是否切除的评估标准,特别是最优显示沿胰管和胰周的血管,大大提高了检测的胰腺小肿瘤及手术可切除,而SSCT不能显示小的病灶(平均8 mm)^[12],通过MDCT的薄层扫描,还可发现微小的潜在的肝转移^[13]。Scaglione也认为计算机断层扫描CT(利用薄层多排的CT技术)的敏感性在胰腺癌肿瘤和肿瘤的准确分期诊断中显着被提高^[11,17,46]。关于血管造影,特别是胰腺血管造影可全面直观的观察胰腺动脉的走形、形态改变,实质染色的形态及周围动脉、静脉的侵蚀改变等。超选择插管行胰腺内小动脉造影可清楚显示细小动脉的异常改变,可使胰腺内小病灶的检出率大大提高,这也是血管造影技术不能被其他影像检查手段所代替的原因。邱怀明等^[27]随访56例胰腺癌肝脏转移患者。血管造影前经CT诊断为胰腺癌肝脏转移38例,诊断为原发性肝癌18例。全部病例都经股动脉穿刺插管行腹腔动脉造影,发现胰腺动脉异常改变者再行胰腺动脉造影。结果18例造影前诊断为原发性肝癌的患者造影后均诊断为胰腺癌肝脏转移,经临床随访后全部得到证实。其余病例均可见病变区胰腺动脉的狭窄、闭塞等异常改变,以及周围大血管和回流静脉的侵蚀改变。所以血管造影可对胰腺癌进行定性及定位诊断,尤其是CT和(或)MRI检查未能明确者,DSA可提高其检出率。这对胰腺癌分期及治疗提供客观的依据。

4 PET/CT融合

PET/CT显像可对胰腺肿瘤患者进行分期并可作为隐匿转移检测的辅助成像标准, PET/CT融合还可提高原位癌的诊断并可检测出胆管的潜在浸润区域。Lee等发现^[48]进行评估的临床用途的PET/CT可鉴别胰腺癌与自身免疫性胰腺炎。Farma等^[21]得到83名可疑恶性胰腺肿瘤病例的患者(其中一个患者被排除在其研究之外),同时进行CTA和PET/CT融合扫描(所有患者都用经皮或内镜核心针或细针穿刺给活检病理诊断),初步活检65例诊断为胰腺癌和17例为胰腺良性肿瘤,所以术前用PET/CT评估的主要目的是判定肿瘤的转移程度及对患者的最初胰腺肿瘤分期。大量的研究表明PET单独独自隐匿性疾病和

分期检测对癌分期有局限性^[24], 而PET/CT融合可以避免单独PET或CT的局限性, 所以PET/CT检查应纳入胰腺癌分期并可作为隐匿转移检测的辅助成像标准。

5 Mangafodipir-DPDP增强MRI

在MR上胰腺癌组织在常规T₂WI和脂肪抑制T₂WI图像上均呈低信号^[44]。研究显示动态增强脂肪抑制T₂WI早期扫描是诊断少血供胰腺癌的有效手段。在脂肪抑制T₂WI图像上, 胰腺癌组织可呈低、等或稍高信号, MRI可以重新识别CT扫描中相同密度的胰腺肿瘤^[10,20,41]。早期注射高对比造影剂流量已经证明成像或定制可以提供最佳清晰的检测胰腺癌的图像^[9,43]。有学者^[3]用Mn-DPDP增强的MRI诊断了一个隐匿性胰腺癌的患者, 用MRI显示胆囊水肿和胰腺体积没有增大, 无明显信号强度增强、胰管正常。此后缓慢的注入0.5 mL/kg特殊对比剂到组织获得成轴的GE T₁加权序列, 对比剂显示此前未被发现的胰腺头部胆总管下端前方的组织块, 与边缘周围的软组织相比呈略微低信号, 其增强的特征可以诊断肿瘤, 随后手术病理检查证实了这个结果为胰腺腺癌, 而内镜+穿刺活检具有灵敏度低, 可能导致严重并发症^[42]。De Filippo等^[3]也报道MRI使用特定组织的对比剂可诊断隐匿性胰头癌。Donald^[30]认为MRI还可监测胰腺癌并可预测胰腺癌的复发, 血管的侵袭也可以预测胰腺肿瘤的侵袭性, 而胰腺癌组织的侵袭可作为生存预测的指标^[47], MRI成像包括血管造影对于评估胰腺癌的血管侵袭有精准的意义^[45]。

6 MRCP

MRCP技术以重度T₂WI脉冲序列为成像基础恒定地显示生理状态下的胆总管全貌, 评价胆总管梗阻和解剖变异。结合MRI断面图像, MRCP可以了解肿瘤侵及范围, 提供全面的胆管解剖图像, 判断胆总管梗阻程度, 进行肿瘤术前分期和评价。有学者^[39]评估磁共振胆管造影图像质量和胆管形态成像想用此区分良性和怀疑恶性胰腺肿瘤患者额外T₂值和T₁加权序列的不同。用140例患者接受MRCP、平扫、对比剂增强磁共振成像。随后得到活检结果并评估包括图像质量, 管可视化和形态学对胰腺病变的分化(良性与恶性)的影响, 得到49例为良性而65例为恶性诊断。图像质量的单次激发厚板坏MRCP检查被认为显著高于多节的MIP图像的MRCP

检查。随着MRCP的检查, 增加的T₂及T₁加权像的准确性明显提高至89%(95%CI: 82%-95%)和84%(95%CI: 77%-92%)而最好的办法应包括MRCP检查技术和实质序列的应用。总的来说, MRCP应用于胰腺癌的诊断有重要意义。

7 磁共振波谱(magnetic resonance spectrum, MRS)

MRS在胰腺癌的诊断有作用, 有学者^[18]认为目前没有明确具体的生物标志物对胰腺癌诊断, 分析了D-葡萄糖苷酸在胆汁在这方面的应用。首先获得胰腺癌患者的胆汁样本($n = 4$), 慢性胰腺炎($n = 3$), 与胆道梗阻的对照组($n = 10$)用(1)HNMR光谱分析, D-葡萄糖苷酸在胆汁通过alpha-(1)CH信号(卷积得到5.24 ppm)进行定量。并通过一维(1)HNMR和二维(1)H-(1)COSY、TOCSY实验得到通过衰减的T(2)的放宽校准D-葡萄糖苷酸在胆汁的量化。胰腺癌患者胆汁标本水平升高, D-葡萄糖苷酸水平升高存在的原因可能是β-葡萄糖醛酸酶在恶性肿瘤中胰腺组织过度释放胆红素的胆汁水解。结论: 通过检测胰腺癌的胆汁(1)HMRS得到的D-葡萄糖苷酸在去无创诊断的胰腺癌, 由于只有4个癌症患者进行了研究, 到目前为止, 新的生物标志物只是一个初步调查结论其值得进一步研究调查。

8 CT灌注

CT灌注通过血流量、血容量、平均通过时间、表面通透性, 灌注参数更加准确的定量表达胰腺组织和胰腺癌病灶微血管的情况。有文献报道CT灌注技术参数中表面通透性和血流量价值最大^[16]。目前CT灌注可以用来评价胰腺肿瘤血管生成, 因为胰腺癌内部的微血管密度计数及VEGF阳性率均高于正常胰腺而且胰腺癌的CT增强程度及灌注值取决于瘤体内肿瘤实质、纤维间质、残存胰腺组织和坏死组织的微血管总和, 当肿瘤内混有大量少血供的纤维组织间隔时, 肿瘤内微血管的绝对数量较正常胰腺相应的降低。d'Assignies等^[19]通过用CT灌注评价胰腺癌得出肿瘤的血流量与微血管密度计数呈高度相关。有文献报道^[14]为了探讨多层螺旋CT灌注对胰腺癌的临床应用以及CT灌注值与微血管密度计数, VEGF的关系。用正常胰腺42例, 胰腺癌18例, 行多层螺旋胰腺CT灌注检查, 采用CT自带软件绘制ROI的TDC, 并计算ROI强化峰值CT灌注参数: 血流量、血容量、灌注起始时间、峰值到达时间、渗透性、patlak血流容积。

相关报道
最近一些研究表明, 通过影像新技术可以发现早期胰腺癌或隐匿性微小病灶。并且在实验研究方面, 应用分子影像技术成功诊断动物的胰腺癌。

创新盘点
本文比较全面地阐述了胰腺癌的影像诊断方法,对影像新技术CT灌注特别是分子影像的实验方法进行了描述。

选择20例(胰腺癌11例,慢性胰腺炎9例)切取与CT灌注靶层面相同的组织层面切片,行CD34、VEGF抗体免疫组织化学染色,分析肿瘤CT灌注成像表现与微血管密度计数、VEGF表达的相关性。结果得到胰腺癌患者微血管密度计数与血流量、灌注起始时间和峰值到达时间呈正相关(r 分别为0.42、0.63和0.45, $P<0.05$), VEGF(中位数4.3)表达与血容量(中位数18.2)呈负相关($r = -0.39$, $P<0.05$)。总之微血管密度、VEGF与CT灌注值相关, CT灌注成像可以反映肿瘤微循环情况。

9 胰腺癌分子影像成像方法实验研究

9.1 常规动态多排CT与肿瘤血管 Hattori等^[26]认为通过影像学检查评价血管生成的程度可能是人类胰腺癌预后重要的标志。用23位已肿瘤切除胰腺癌患者进行动态CT检查,通过每个时相腹主动脉的增强来评估胰腺癌的“肿瘤血管增强率”,其与血管内皮生长因子的水平,微血管密度和纤维化程度呈正相关。在临床上有几份关于评估血管生成和图像之间关系的报告^[28,29]。许多作者报道了^[31-33]灌注CT在这方面的应用。通过CT灌注疗法描述相关^[34,35]的CT灌注和肺癌微血管密度和抗血管生成效果^[36,37],但预测血管生成程度的常规动态多排CT将成为最常见的对胰腺癌的诊断方法。其他学者^[28,38]也报道了肺血管、肾细胞癌和动态螺旋CT相互关系的调查结果显示肿瘤的高峰期提高和增强率(峰值增强值时间的比值)与血管生成程度有相关性。根据绝对和相对增加值,采用肿瘤-主动脉增强率,评估增强CT的每个时期的腹主动脉期的参数,提高诊断肿瘤分级的程度,发现肿瘤增强参数比绝对和相对衰减值更准确,并且造影剂量影响增强的程度,如患者体质量、心输出量、CT管等几个因素也影响增强程度^[4]。动态的CT结果显示与病理组织检查结果显著相关,动脉期与肿瘤血管增强率(动脉)对诊断有更高价值,并且动脉期的绝对值与血管内皮生长因子水平及微血管密度显著相关,而动脉期、胰腺期和肿瘤动脉增强率及延迟期,无论是绝对值和相对增强值与纤维化呈负显著相关。这些结果支持动态CT的肿瘤表现与肿瘤的微血管密度及血管内皮生长因子的表达增加相似。而肿瘤的纤维化没有血管内皮生长因子和微血管密度表达。总之通过影像学检查评价血管生成的程度是重要的人类癌症预后标志。

9.2 MR免疫靶向纳米成像技术 由于肿瘤血管生成过程中新生血管上某些特征性标志物水平上调,将对比剂与一些配体连接后与这些标志物特异性结合,利用这体内免疫组化原理成像是MRI在活体评估血管生成方面一种新的研究方法,由于对比剂是在相对长时间内,逐渐地聚集在靶部位,这样获得图像的时间窗相对延长,允许有充分的弛豫时间,可以在较高空间分辨率的图像上获得其他的定量指标。有学者^[25]为了研究整合单克隆抗体的超顺磁性氧化铁SPIO(标记CA19-9单克隆抗体)诊断胰腺癌荷裸小鼠的可行性和价值,把胰腺癌荷裸小鼠分为3组,每组6只,分别经尾静脉注射生理盐水、超顺磁性氧化铁粒子行MR检查,计算MR T_2WI 信号下降程度。同时肿瘤组织病理切片行HE染色和普鲁士蓝染色,以及VEGF免疫组化检测,分析MR强化形式和肿瘤组织病理HE染色、Fe染色以及VEGF表达之间的关系,结果注射整合单克隆抗体的超顺磁性氧化铁胰腺癌荷裸小鼠MR T_2WI 信号下降比无整合单克隆抗体明显。普鲁士蓝染色显示氧化铁纳米粒子多数分布在肿瘤细胞核内,肿瘤细胞凋亡区的蓝色铁颗粒分布多于肿瘤细胞高密度区,而在完全坏死无结构区几乎没有蓝色铁颗粒显示,氧化铁纳米粒子在肿瘤内分布和肿瘤组织的VEGF高表达相一致。整合单克隆抗体的超顺磁性氧化铁可作为胰腺癌荷裸小鼠MR靶向对比剂,氧化铁纳米粒子在肿瘤内分布和肿瘤组织的血管通透性以及肿瘤细胞凋亡有关^[25]。还有研究分析认为在McAb-SPIO强化持续时间长,信号下降明显。并且有文献报道受体介导可加强细胞对氧化铁胞吞作用。并且氧化铁粒子在交变磁场作用下,可以产生热量,对于肿瘤细胞有杀伤作用,现已证实^[13]。

9.3 MR影像标记基因技术 在活体状态应用影像技术显示标记基因表达产物(蛋白质)行活体监测,1995年Tjuvajev等^[1]首次将单纯疱疹病毒1-胸腺嘧啶脱氧核苷酸激酶基因作标记基因,放射性核素c标记的FIAU作为1-胸腺嘧啶脱氧核苷酸激酶基因的酶底物,在动物模型活体状态下用单光子、正电子发射计算机断层摄影术进行基因表达成像,同时Kayyem等^[23]合成了一种耦联多聚赖氨酸的特殊配体分子,他一端连接目的治疗基因,另一端与MR对比剂相连,这种配体分子可与细胞表面受体或抗原特异性结合把所连接的目的基因,MR对比剂同时导到特定

细胞通过MR的强化程度可以直接判断目的基因的转染情况, 不需要另外再连接标记基因. 近由于转铁蛋白受体(TfR)在各种肿瘤细胞表面过度表达, 使顺磁性的铁(以转铁蛋白或铁蛋白的形式)在细胞内多量聚集, 从而改变MRI信号强度, 由MRI上信号的强弱来推断TfR编码基因的表达情况、然而实验证明由于细胞内铁的平衡有严格的负反馈调控系统, 在细胞培养液或动物模型中加铁只能有限地增加细胞内的铁水平. 为了克服这种负反馈调节, Moore等^[15]采用葡聚糖包裹单晶体氧化铁然后用转铁蛋白(Tf)修饰形成铁化合物, 通过TfR特异性地进入细胞内, 这种铁化合物不能马上释放铁, 从而逃过铁的负反馈调节机制, 使TfR表达越多的细胞内铁浓度越高. 这样在MR上可显示TfR编码基因的表达及调控情况, 同样这种方法也可以应用于活体状态的转基因成像. 但是目前还未有文献报道用MR影像标记基因技术诊断胰腺癌, 所以需要进一步探讨这方面的应用.

10 结论

虽然胰腺癌的影像诊断技术有一定进展, 但仍存在不少问题: (1)CT、MRI对胰腺癌的诊断还须积累更多的资料与经验, 特别是早期的诊断. (2)两者的比较影像学应在不断技术更新的基础上进行. (3)对正常大小的隐匿性转移淋巴结的鉴别和胰周淋巴及神经浸润的影像诊断将是影像学面临的难题诸多问题表明胰腺癌诊断仍较困难. (4)对于预测胰腺癌的预后仍很困难. 但可以预见CT和MR特别是新技术在诊断胰腺癌方面及对于可手术切除分期及分子影像上将会起到越来越重要的作用.

11 参考文献

- 1 Tjuvajev JG, Stockhammer G, Desai R, Uehara H, Watanabe K, Gansbacher B, Blasberg RG. Imaging the expression of transfected genes in vivo. *Cancer Res* 1995; 55: 6126-6132
- 2 Ishigami K, Yoshimitsu K, Irie H, Tajima T, Asayama Y, Nishie A, Hirakawa M, Ushijima Y, Okamoto D, Nagata S, Nishihara Y, Yamaguchi K, Taketomi A, Honda H. Diagnostic value of the delayed phase image for iso-attenuating pancreatic carcinomas in the pancreatic parenchymal phase on multidetector computed tomography. *Eur J Radiol* 2009; 69: 139-146
- 3 De Filippo M, Bocchi C, Quartieri L, Corradi D, Zompatori M. Mangafodipir-DPDP enhanced MRI visualization of a pancreatic adenocarcinoma previously undetected by extracellular contrast enhanced CT and MRI. *Acta Biomed* 2007; 78: 225-228
- 4 Miles KA, Young H, Chica SL, Esser PD. Quantitative contrast-enhanced computed tomography: is there a need for system calibration? *Eur Radiol* 2007; 17: 919-926
- 5 Manak E, Merkel S, Klein P, Papadopoulos T, Bautz WA, Baum U. Resectability of pancreatic adenocarcinoma: assessment using multidetector-row computed tomography with multiplanar reformations. *Abdom Imaging* 2009; 34: 75-80
- 6 Valls C, Andía E, Sanchez A, Fabregat J, Pozuelo O, Quintero JC, Serrano T, Garcia-Borobia F, Jorba R. Dual-phase helical CT of pancreatic adenocarcinoma: assessment of resectability before surgery. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 821-826
- 7 DeWitt J, Devereaux B, Chriswell M, McGreevy K, Howard T, Imperiale TF, Ciaccia D, Lane KA, Maglinte D, Kopecky K, LeBlanc J, McHenry L, Madura J, Aisen A, Cramer H, Cummings O, Sherman S. Comparison of endoscopic ultrasonography and multidetector computed tomography for detecting and staging pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 2004; 141: 753-763
- 8 Boujaoude J. Role of endoscopic ultrasound in diagnosis and therapy of pancreatic adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3662-3666
- 9 Goshima S, Kanematsu M, Kondo H, Yokoyama R, Miyoshi T, Kato H, Tsuge Y, Shiratori Y, Hoshi H, Onozuka M, Moriyama N, Bae KT. Pancreas: optimal scan delay for contrast-enhanced multi-detector row CT. *Radiology* 2006; 241: 167-174
- 10 Schima W, Ba-Ssalamah A, Goetzinger P, Scharitzer M, Koelblinger C. State-of-the-art magnetic resonance imaging of pancreatic cancer. *Top Magn Reson Imaging* 2007; 18: 421-429
- 11 Scaglione M, Pinto A, Romano S, Scialpi M, Volterrani L, Rotondo A, Romano L. Using multidetector row computed tomography to diagnose and stage pancreatic carcinoma: the problems and the possibilities. *JOP* 2005; 6: 1-5
- 12 Dewitt J, Devereaux BM, Lehman GA, Sherman S, Imperiale TF. Comparison of endoscopic ultrasound and computed tomography for the preoperative evaluation of pancreatic cancer: a systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 717-725; quiz 664
- 13 Catalano C, Laghi A, Fraioli F, Pediconi F, Napoli A, Danti M, Reitano I, Passariello R. Pancreatic carcinoma: the role of high-resolution multislice spiral CT in the diagnosis and assessment of resectability. *Eur Radiol* 2003; 13: 149-156
- 14 Cheng ZZ, Xu GH, Huang J, Yang NJ, Yang YJ, Cao Y, He R, Xi XQ. [Biological relativity of imaging of CT perfusion for pancreases to pancreatic cancer] *Sichuan Daxue Xuebao Yixue Ban* 2009; 40: 521-524
- 15 Moore A, Basilion JP, Chiocca EA, Weissleder R. Measuring transferrin receptor gene expression by NMR imaging. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1402: 239-249
- 16 de Lemos JA, Blazing MA, Wiviott SD, Brady WE, White HD, Fox KA, Palmisano J, Ramsey KE, Bilheimer DW, Lewis EF, Pfeffer M, Califf RM, Braunwald E. Enoxaparin versus unfractionated heparin in patients treated with tirofiban, aspirin and an early conservative initial management strategy: results from the A phase of the A-to-Z trial. *Eur Heart J* 2004; 25: 1688-1694
- 17 Mancosu P, Bettinardi V, Passoni P, Gusmini S, Cappio S, Gilardi MC, Cattaneo GM, Reni M, Del Maschio A, Di Muzio N, Fazio F. Contrast enhanced

应用要点
胰腺癌的早期诊断对于胰腺癌的预后具有重要作用, 目前影像诊断的新技术不断的改进可以提高胰腺癌的早期诊断, 对其临床治疗有显著作用.

同行评价
本综述较为全面地阐述了胰腺癌影像诊断的新进展,内容新颖,具有较好的参考价值。

- 4D-CT imaging for target volume definition in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Radiother Oncol* 2008; 87: 339-342
- 18 Bezabeh T, Ijare OB, Albiin N, Arnelo U, Lindberg B, Smith IC. Detection and quantification of D: -glucuronic acid in human bile using (1)H NMR spectroscopy: relevance to the diagnosis of pancreatic cancer. *MAGMA* 2009 Apr 24. [Epub ahead of print]
- 19 d'Assignies G, Couvelard A, Bahrami S, Vullierme MP, Hammel P, Hentic O, Sauvanet A, Bedossa P, Ruszniewski P, Vilgrain V. Pancreatic endocrine tumors: tumor blood flow assessed with perfusion CT reflects angiogenesis and correlates with prognostic factors. *Radiology* 2009; 250: 407-416
- 20 Gaa J, Fingerle AA, Holzapfel K, Rummeny EJ. [MRI for malignant pancreatic tumors] *Radiologe* 2009; 49: 124-130
- 21 Farma JM, Santillan AA, Melis M, Walters J, Belinc D, Chen DT, Eikman EA, Malafa M. PET/CT fusion scan enhances CT staging in patients with pancreatic neoplasms. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 2465-2471
- 22 Takhar AS, Palaniappan P, Dhingra R, Lobo DN. 胰腺癌的诊断新进展. 英国医学杂志中文版 2005; 8: 93-98
- 23 Kayyem JF, Kumar RM, Fraser SE, Meade TJ. Receptor-targeted co-transport of DNA and magnetic resonance contrast agents. *Chem Biol* 1995; 2: 615-620
- 24 Bruzzi JF, Munden RF, Truong MT, Marom EM, Sabloff BS, Gladish GW, Iyer RB, Pan TS, Macapinlac HA, Erasmus JJ. PET/CT of esophageal cancer: its role in clinical management. *Radiographics* 2007; 27: 1635-1652
- 25 乔中伟, 缪飞, 夏春梅, 黄明铭, 吴志远, 沈鹤柏, 袁耀宗. 靶向磁性纳米粒子诊断胰腺癌活体MRI研究. 中国医学计算机成像杂志 2009; 15: 144-148
- 26 Hattori Y, Gabata T, Matsui O, Mochizuki K, Kitagawa H, Kayahara M, Ohta T, Nakanuma Y. Enhancement patterns of pancreatic adenocarcinoma on conventional dynamic multi-detector row CT: correlation with angiogenesis and fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3114-3121
- 27 邱怀明, 曾晓华, 闰小纺, 乔英. 选择性血管造影在胰腺癌诊断中的价值. 华南国防医学杂志 2008; 22: 43-46
- 28 Wang JH, Min PQ, Wang PJ, Cheng WX, Zhang XH, Wang Y, Zhao XH, Mao XQ. Dynamic CT Evaluation of Tumor Vascularity in Renal Cell Carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186: 1423-1430
- 29 Ren J, Huan Y, Wang H, Chang YJ, Zhao HT, Ge YL, Liu Y, Yang Y. Dynamic contrast-enhanced MRI of benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma: correlation with angiogenesis. *Clin Radiol* 2008; 63: 153-159
- 30 Zhang XM, Mitchell DG, Byun JH, Verma SK, Bergin D, Witkiewicz A. MR imaging for predicting the recurrence of pancreatic carcinoma after surgical resection. *Eur J Radiol* 2009 Jan 17. [Epub ahead of print]
- 31 Sahani DV, Holalkere NS, Mueller PR, Zhu AX. Advanced hepatocellular carcinoma: CT perfusion of liver and tumor tissue--initial experience. *Radiology* 2007; 243: 736-743
- 32 Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, Hahn PF, Willett CG, Saini S, Mueller PR, Lee TY. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multisection CT: initial observations. *Radiology* 2005; 234: 785-792
- 33 Ellika SK, Jain R, Patel SC, Scarpace L, Schultz LR, Rock JP, Mikkelsen T. Role of perfusion CT in glioma grading and comparison with conventional MR imaging features. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 1981-1987
- 34 Li Y, Yang ZG, Chen TW, Chen HJ, Sun JY, Lu YR. Peripheral lung carcinoma: correlation of angiogenesis and first-pass perfusion parameters of 64-detector row CT. *Lung Cancer* 2008; 61: 44-53
- 35 Ma SH, Xu K, Xiao ZW, Wu M, Sun ZY, Wang ZX, Hu ZG, Dai X, Han MJ, Li YG. Peripheral lung cancer: relationship between multi-slice spiral CT perfusion imaging and tumor angiogenesis and cyclin D1 expression. *Clin Imaging* 2007; 31: 165-177
- 36 Kan Z, Phongkitkarun S, Kobayashi S, Tang Y, Ellis LM, Lee TY, Charnsangavej C. Functional CT for quantifying tumor perfusion in antiangiogenic therapy in a rat model. *Radiology* 2005; 237: 151-158
- 37 Koukourakis MI, Mavanis I, Kouklakis G, Pitiakoudis M, Minopoulos G, Manolas C, Simopoulos C. Early antivascular effects of bevacizumab anti-VEGF monoclonal antibody on colorectal carcinomas assessed with functional CT imaging. *Am J Clin Oncol* 2007; 30: 315-318
- 38 Yi CA, Lee KS, Kim EA, Han J, Kim H, Kwon OJ, Jeong YJ, Kim S. Solitary pulmonary nodules: dynamic enhanced multi-detector row CT study and comparison with vascular endothelial growth factor and microvessel density. *Radiology* 2004; 233: 191-199
- 39 Hänninen EL, Rieke J, Amthauer H, Röttgen R, Böhmig M, Langrehr J, Pech M, Denecke T, Rosewicz S, Felix R. Magnetic resonance cholangiopancreatography: image quality, ductal morphology, and value of additional T2- and T1-weighted sequences for the assessment of suspected pancreatic cancer. *Acta Radiol* 2005; 46: 117-125
- 40 Micames C, Jowell PS, White R, Paulson E, Nelson R, Morse M, Hurwitz H, Pappas T, Tyler D, McGrath K. Lower frequency of peritoneal carcinomatosis in patients with pancreatic cancer diagnosed by EUS-guided FNA vs. percutaneous FNA. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 690-695
- 41 Kalra MK, Maher MM, Mueller PR, Saini S. State-of-the-art imaging of pancreatic neoplasms. *Br J Radiol* 2003; 76: 857-865
- 42 Iglesias-Garcia J, Dominguez-Munoz E, Lozano-Leon A, Abdulkader I, Larino-Noia J, Antunez J, Forteza J. Impact of endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy for diagnosis of pancreatic masses. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 289-293
- 43 Schueller G, Schima W, Schueller-Weidekamm C, Weber M, Stift A, Gnant M, Prokesch R. Multidetector CT of pancreas: effects of contrast material flow rate and individualized scan delay on enhancement of pancreas and tumor contrast. *Radiology* 2006; 241: 441-448
- 44 Chandarana H, Babb J, Macari M. Signal characteristic and enhancement patterns of pancreatic adenocarcinoma: evaluation with dynamic gadolinium enhanced MRI. *Clin Radiol* 2007; 62: 876-883
- 45 Roche CJ, Hughes ML, Garvey CJ, Campbell F, White DA, Jones L, Neoptolemos JP. CT and pathologic assessment of prospective nodal staging in patients

- with ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 475-480
- 46 Nino-Murcia M, Tamm EP, Charnsangavej C, Jeffrey RB Jr. Multidetector-row helical CT and advanced postprocessing techniques for the evaluation of pancreatic neoplasms. *Abdom Imaging* 2003; 28: 366-377
- 47 Garcea G, Dennison AR, Ong SL, Pattenden CJ, Neal CP, Sutton CD, Mann CD, Berry DP. Tumour characteristics predictive of survival following resection for ductal adenocarcinoma of the head of pancreas. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 892-897
- 48 Lee TY, Kim MH, Park do H, Seo DW, Lee SK, Kim JS, Lee KT. Utility of 18F-FDG PET/CT for differentiation of autoimmune pancreatitis with atypical pancreatic imaging findings from pancreatic cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 343-348

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》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:

(1) **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.

(2) **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.

(3) **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.

(4) **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.

(5) **排版制作** 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 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.

(6) **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.

(7) **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.

(8) **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16 wk内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

TGF- β 1在大鼠胆管损伤修复过程中的表达

王国辉, 蒋桂星, 崔云甫, 胡占良

背景资料
近年来随着肝脏外科的高速发展, 胆管损伤狭窄的问题也日益突出。主要见于胆道手术, 尤其是近年来普遍推广的小切口胆囊切除术及腹腔镜胆囊切除术。TGF- β 为一类多功能聚合肽家族, 是具有多种生物学功能的细胞因子, 与伤口愈合关系密切, 其亚型TGF- β 1是目前已知与瘢痕形成关系最密切、最具代表性的生长因子。

王国辉, 蒋桂星, 崔云甫, 胡占良, 哈尔滨医科大学附属第二医院肝胆胰腺外科 黑龙江省哈尔滨市 150086
作者贡献分布: 王国辉与崔云甫对此文所做贡献均等; 此课题由王国辉、蒋桂星、崔云甫及胡占良设计; 研究过程由王国辉与蒋桂星操作完成; 论文写作由崔云甫与王国辉完成。

通讯作者: 崔云甫, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院肝胆胰腺外科。
yfcui777@hotmail.com
电话: 0451-86605356

收稿日期: 2009-11-14 修回日期: 2010-01-10
接受日期: 2010-01-11 在线出版日期: 2010-02-18

TGF- β 1 expression during wound healing in rat bile duct

Guo-Hui Wang, Gui-Xing Jiang, Yun-Fu Cui, Zhan-Liang Hu

Guo-Hui Wang, Gui-Xing Jiang, Yun-Fu Cui, Zhan-Liang Hu, Department of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Professor Yun-Fu Cui, Department of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com

Received: 2009-11-14 Revised: 2010-01-10
Accepted: 2010-01-11 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of transforming growth factor - β 1 (TGF- β 1) during wound healing in rat bile duct and analyze its role and significance in the process of biliary stricture formation.

METHODS: A rat model of bile duct trauma was established by surgery. The expression of TGF- β 1 in traumatic tissue at weeks 1, 2, 4 and 8 after operation was examined by immunohistochemistry.

RESULTS: TGF- β 1 was highly expressed in granulation tissue, fibroblasts, macrophages and vascular endothelial cells. The counts of TGF- β 1-positive cells in traumatic tissue at different time points were obviously higher than that in normal tissue ($65.47\% \pm 5.52\%$, $63.80\% \pm 4.32\%$, $59.55\% \pm 5.30\%$ and $58.17\% \pm 6.70\%$ vs $12.35\% \pm 3.43\%$, respectively; all $P < 0.01$).

CONCLUSION: The high expression of TGF- β 1 can induce vigorous proliferation of fibroblasts, oversynthesis of collagen, and fibrosis and thickening of the bile duct wall, thereby resulting in biliary stricture formation.

Key Words: Wound healing; Biliary stricture; Transforming growth factor- β 1; Immunohistochemistry

Wang GH, Jiang GX, Cui YF, Hu ZL. TGF- β 1 expression during wound healing in rat bile duct. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(5): 502-505

摘要

目的: 观察TGF- β 1在大鼠胆管损伤修复愈合过程中的表达, 并探讨其在术后胆道狭窄形成过程中的作用及意义。

方法: 通过建立大鼠胆管损伤狭窄模型, 分别于术后1、2、4和8 wk取材行TGF- β 1免疫组织化学染色, 并观察其阳性细胞数。

结果: 损伤狭窄胆管组织中TGF- β 1主要表达于肉芽组织、成纤维细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞。损伤狭窄组TGF- β 1的阳性细胞数不同时间均明显高于正常胆管组织($65.47\% \pm 5.52\%$, $63.80\% \pm 4.32\%$, $59.55\% \pm 5.30\%$, $58.17\% \pm 6.70\%$ vs $12.35\% \pm 3.43\%$, 均 $P < 0.01$)。

结论: TGF- β 1高表达造成损伤胆管愈合过程中成纤维细胞增殖旺盛、胶原过度合成, 从而导致胆管壁纤维化增厚、瘢痕挛缩引发胆管狭窄。

关键词: 损伤修复; 胆管狭窄; 转化生长因子- β 1; 免疫组织化学

王国辉, 蒋桂星, 崔云甫, 胡占良. TGF- β 1在大鼠胆管损伤修复过程中的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 502-505
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/502.asp>

0 引言

医源性胆管狭窄的处理是胆道外科的一大难题, 术后突出表现为胆道瘢痕性挛缩和管腔狭

同行评议者
吴泰瑞, 教授, 山东省立医院肝胆外科

窄, 尤以肝门部或肝门部以上胆管狭窄为著. 转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是目前已知与瘢痕形成最为密切、最具有代表性的生长因子^[1,2], 与瘢痕的发生发展密切相关, 并且也影响瘢痕挛缩. 医源性胆管狭窄是指因手术损伤或与手术有关因素造成的术后胆管狭窄. 近年来随着肝脏外科的高速发展, 胆管损伤狭窄的问题也日益突出^[3,4]. 主要见于胆道手术, 尤其是近年来普遍推广的小切口胆囊切除术及腹腔镜胆囊切除术, 此外胃大部切除术、肝破裂修补术、肝切除术时也可发生. 另外, 内镜下括约肌切开术, ERCP检查时也有致胆管损伤的. 为了阐明医源性胆管狭窄形成的机制, 本实验通过建立大鼠肝外胆管损伤修复模型, 术后动态观察TGF- β 1在愈合过程中的表达, 并探讨其在术后胆道狭窄形成过程中的作用及意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选用健康Vistar大鼠40只, 雌雄不限, 体重130-200 g(由哈尔滨医科大学附属第二医院动物实验中心提供). 把实验动物随机分成5组, 手术组术前晚禁饮食, 100 g/L水合氯醛3 mL/kg腹腔注射诱导麻醉后, 固定于手术台上备皮、腹部碘伏消毒, 无菌条件下经上腹部正中切口约2 cm逐层进腹, 提出十二指肠寻及胆总管, 在近十二指肠处游离一段长约1 cm的胆总管, 用1枚显微血管夹钳夹90 min. 90 min时取出显微血管夹, 3-0号丝线间断缝合关闭腹腔.

1.2 方法

1.2.1 标本的采集及检测: 于术后1、2、4和8 wk, 采用脱颈法分别处死实验动物. 剪取钳夹部位肝外胆管1 cm, 生理盐水冲洗管腔内胆汁, 40 g/L中性甲醛固定, 常规脱水、透明、浸蜡、包埋制成蜡块, 沿胆总管横切面切片, 制成厚度5 μ m的连续切片, 分别行HE染色和免疫组织化学染色.

1.2.2 免疫组织化学: 采用SP法, 第一抗体: 兔TGF- β 1多克隆抗体购于Santa Cruz公司, 第二抗体: 抗TGF- β 1多抗为生物素标记的羊抗兔IgG及免疫组织化学SP试剂盒均购于ZYMED公司. 染色步骤: 石蜡切片, 常规脱蜡至水; 30 mL/L H₂O₂孵育5 min, 消除内源性过氧化物酶活性; 蒸馏水冲洗, PBS浸泡5 min, 微波炉抗原修复; 50 mL/L-100 mL/L正常山羊血清(PBS稀释)封闭, 室温孵育10 min; 倾去血清, 滴加一抗, 工作浓度为1:50, 4℃过夜; PBS冲洗5 min \times 3次; 滴

加生物素标记的二抗, 37℃孵育30 min; PBS冲洗5 min \times 3次; 滴加适量的辣根酶标记的链霉卵白素, 37℃孵育30 min; PBS冲洗5 min \times 3次; DAB显色剂显色; 自来水充分冲洗; 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片, 观察.

1.2.3 结果判定标准: 阳性细胞评定标准: 以细胞膜和/或细胞质染成棕黄色为阳性细胞. 细胞的着色强度可分为以下级数: “-”为阴性细胞; “+”为细胞膜和/或细胞质染成淡棕黄色; “+++”为深棕黄色; “++”则介于两者之间.

统计学处理 应用VIDAS图像分析仪, 对各组切片单位面积阳性细胞数进行定量分析. 所有数据均用mean \pm SD表示, 差异性分析采用方差分析. $P<0.05$ 有显著性差异.

2 结果

2.1 表达部位 TGF- β 1表达于肉芽组织、成纤维细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞胞质和细胞膜. 正常胆管成纤维组织中表达较弱.

2.2 TGF- β 1在胆道愈合过程中的表达 TGF- β 1在术后各期表达均较强, 无显著性差别, 与正常对照组比较TGF- β 1表达存在显著性差异($n=8$, 均 $P<0.01$, 表1).

3 讨论

胆道手术或损伤后, 即使经满意修复, 后期仍易出现瘢痕增生形成胆管狭窄. 胆管狭窄的处理是胆道外科的一大难题^[5]. 传统的方法是胆肠吻合, 修复和重建胆汁进入肠道的通路. 但术后常发生吻合口的再次狭窄, 临床上不得不反复手术, 以纠正吻合口反复狭窄, 严重者最后只得依赖肝移植手术. 因此, 诸多学者对胆管狭窄的形成机制进行研究, 以求预防与治疗胆管狭窄的方法和途径.

瘢痕形成是创面愈合的必然产物, 任何创伤的愈合均伴有不同程度的瘢痕形成, 但病变部位胶原的过量沉积又可导致瘢痕的过度增生. 近年来, 人们逐渐认识到TGF- β 1在创伤修复方面所起的重要作用. 随着研究的深入, 目前已知TGF- β 1是与瘢痕形成关系最密切、最具代表性的生长因子^[1,2], 并且认为其为导致纤维化的关键细胞因子^[6]. TGF- β 1是一种调节细胞增殖、分化、细胞间基质表达的一类多功能细胞因子. TGF- β 1在伤口愈合早期可刺激细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的产生, 抑制蛋白酶和基质酶的活性, 从而促进ECM沉积, 强烈地促

相关报道
Tokuda等已证实胆管组织局部的缺血缺氧可造成TGF- β 1的高表达, 而TGF- β 1的持续表达又可通过自分泌机制导致后续的TGF- β 1大量分泌和过度表达, 进而引起ECM的过度沉积. 而ECM刺激成纤维细胞分泌更多的TGF- β 1, 形成一正反馈效应, 最终造成局部组织瘢痕过度增生, 管腔狭窄.

创新盘点

本文采用钳夹法建立肝外胆管损伤狭窄模型,并动态观察目前与瘢痕形成关系最密切、最具代表性的生长因子(TGF- β 1)在胆管损伤修复过程中的表达。

表 1 TGF- β 1在胆道愈合过程中的表达 (mean \pm SD)

分组	TGF- β 1表达	阳性细胞数(%)
正常对照组	(-)-(+)	12.35 \pm 3.43
1 wk	(++)-(+++)	65.47 \pm 5.52
2 wk	+++	63.80 \pm 4.32
4 wk	+++	59.29 \pm 5.16
8 wk	++	58.17 \pm 6.70

进前胶原蛋白 I 的合成,刺激纤维素结合素的合成,为胶原蛋白的蓄积提供网络,增加整合体和其他膜受体,加强细胞与基质的相互作用,有利于炎性细胞向创伤部位的移动,诱导肉芽组织的形成,促进组织损伤后的修复,但如果过度作用或持续表达,将会导致瘢痕形成^[7,8]。

胆道损伤修复模型的建立主要有以下几种:(1)用Walker-256瘤株近肝门部胆总管内接种,致胆管浸润造成损伤狭窄;(2)用双极电凝电灼烧伤使胆总管组织发生变性、坏死、纤维组织修复等病理改变,引发胆管组织慢性纤维瘢痕狭窄;(3)用手术器械直接损伤胆总管内壁上皮组织,造成胆管损伤模型;(4)胆总管内注入乙醇致胆总管上皮组织发生变性、坏死、增生,引发胆管组织慢性纤维瘢痕狭窄;(5)胆总管双重结扎造成梗阻性黄疸;(6)切开胆总管行胆管端端吻合或胆肠吻合^[9];(7)用显微血管夹钳夹胆总管造成胆管损伤修复模型。本实验采用钳夹法建立胆管损伤修复模型,是由于此法与其他几种方法相比具有操作简单,技术较易掌握,便于开展,对实验动物打击较小,成功率高的特点,便于科学研究,并且已有相关文献的报道^[10]。

本实验结果显示术后大量炎性细胞表达了TGF- β 1,证实和说明了TGF- β 1主要是由炎性细胞合成和分泌。另外,术后损伤狭窄的胆管壁中有大量的炎性细胞浸润,表明慢性炎症是胆管瘢痕狭窄的重要因素,并且表明TGF- β 1参与了胆管壁炎症反应的调节。

本研究结果显示TGF- β 1的高表达与胆道瘢痕增生有密切关系。正常对照组TGF- β 1阴性表达或弱阳性,实验组TGF- β 1持续阳性表达。说明正常胆管壁TGF- β 1表达较弱,损伤狭窄的胆管壁TGF- β 1表达较强。TGF- β 1作为主要的传递物,单独或协同,直接或间接在细胞和ECM相互作用中起重要作用,导致炎性细胞、修复细胞和胶原代谢调控失常,从而延长了胆管损伤修复愈合的过程,使ECM过度沉积、瘢痕挛缩,最终形成胆管狭窄。

本研究中TGF- β 1的持续高表达可能与胆汁的刺激作用引起管壁的慢性炎症及胆管夹闭造成组织缺血缺氧有关。胆汁有阻碍损伤组织愈合和致纤维化的作用^[11],并且胆汁中的胆盐对损伤组织有明显的致瘢痕作用^[12]。因此,胆汁刺激作用是炎症持续存在,大量的炎症细胞聚集持续合成和分泌TGF- β 1,导致成纤维细胞增殖旺盛,胶原过度合成,管腔瘢痕狭窄。另外,胆管夹闭可导致组织缺血缺氧,缺血缺氧将损害胆道黏膜,胆汁渗出至管壁,导致胆管炎、纤维化和水肿,从而压迫临近胆管的血管丛,进一步加重缺血缺氧。如此恶性循环,最终将导致胆管纤维化和狭窄。另外,损伤胆管组织缺血缺氧可造成TGF- β 1的高表达^[13],而TGF- β 1的持续表达又可通过自分泌机制导致后续的TGF- β 1大量分泌和过度表达,进而引起ECM的过度沉积,ECM刺激成纤维细胞分泌更多的TGF- β 1,形成一正反馈效应,最终造成局部组织瘢痕过度增生,从而导致胆管壁纤维化增厚、瘢痕挛缩而发生狭窄。在瘢痕组织中内皮细胞的过度增殖可以导致微血管的闭塞^[14],加上肌成纤维细胞的收缩,又加重了缺血缺氧状态^[15],缺血缺氧反过来又能刺激内皮细胞的增殖,一方面加重血管的阻塞,另一方面还会增强细胞的活性,增加组织的耗氧量,诱发胶原的合成增加,而沉积在血管周围的胶原又妨碍了氧的扩散,加重缺血缺氧状态,甚至引起血管的退化,血管数量减少,形成了一个不断加剧的缺血缺氧的恶性循环。缺氧能诱导成纤维细胞TGF- β 1表达上调^[16],最终导致管腔狭窄。缺氧也可以直接刺激ECM的增加,从而促进前胶原蛋白 I 的合成,诱导肉芽组织的合成,促进组织损伤后的修复,但是如果缺氧持续存在,损伤组织则会过度修复形成瘢痕狭窄。

因此,设法减少炎症反应的量和程度,缩短愈合时间,抑制TGF- β 1的过度表达及其活性,抑制和阻断TGF- β 1的信号传导途径,改善组织供血供氧将有助于预防和减少术后胆管瘢痕增生和管腔狭窄的发生。

4 参考文献

- 1 Sullivan KM, Lorenz HP, Meuli M, Lin RY, Adzick NS. A model of scarless human fetal wound repair is deficient in transforming growth factor beta. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 198-202; discussion 202-203
- 2 唐仕芳, 朱洪春, 李华强, 史源, 赵锦宁. 转化生长因子 β 1在新生大鼠高浓度氧致肺损伤中的作用研究. *重庆医学* 2009; 38: 438-440
- 3 Wu JS, Peng C, Mao XH, Lv P. Bile duct injuries associated with laparoscopic and open cholecystectomy: sixteen-year experience. *World J*

- Gastroenterol* 2007; 13: 2374-2378
- 4 Ali U, Ma ZH, Pan CE, Ma QY. Iatrogenic bile duct injuries from biliary tract surgery. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 326-329
- 5 黄志强. 胆管损伤: 肝胆外科永久的议题. *中华普通外科杂志* 2001; 16: 371-373
- 6 Patsenker E, Popov Y, Stickel F, Jonczyk A, Goodman SL, Schuppan D. Inhibition of integrin α 5 β 1 on cholangiocytes blocks transforming growth factor- β 1 activation and retards biliary fibrosis progression. *Gastroenterology* 2008; 135: 660-670
- 7 Di Cesare PE, Cheung DT, Perelman N, Libaw E, Peng L, Nimni ME. Alteration of collagen composition and cross-linking in keloid tissues. *Matrix* 1990; 10: 172-178
- 8 Sometani A, Kataoka H, Nitta A, Fukumitsu H, Nomoto H, Furukawa S. Transforming growth factor- β 1 enhances expression of brain-derived neurotrophic factor and its receptor, TrkB, in neurons cultured from rat cerebral cortex. *J Neurosci Res* 2001; 66: 369-376
- 9 吕俊生, 陈大志, 秦建民, 贺强, 朗韧, 付登科. 钳夹法建立小鼠胆管缺血狭窄模型. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 419-421
- 10 耿智敏, 徐军, 刘青光, 向国安, 刘效恭, 韩庆, 王康敏. 良性胆管狭窄形成机制的研究. *中华消化外科杂志* 2002; 1: 321-323
- 11 Sandblom P, Mirkovitch V. Hemobilia: some salient features and their causes. *Surg Clin North Am* 1977; 57: 397-408
- 12 孙占祺. 医源性胆管损伤的预防和治疗. *实用外科杂志* 1992; 12: 425-426
- 13 Tokuda Y, Crane S, Yamaguchi Y, Zhou L, Falanga V. The levels and kinetics of oxygen tension detectable at the surface of human dermal fibroblast cultures. *J Cell Physiol* 2000; 182: 414-420
- 14 Kischer CW. Contributions of electron microscopy to the study of the hypertrophic scar and related lesions. *Scanning Microsc* 1993; 7: 921-930; discussion 930-931
- 15 McPhail R, Cooper LT, Hodge DO, Cabanel ME, Rooke TW. Transcutaneous partial pressure of oxygen after surgical wounds. *Vasc Med* 2004; 9: 125-127
- 16 Haroon ZA, Raleigh JA, Greenberg CS, Dewhirst MW. Early wound healing exhibits cytokine surge without evidence of hypoxia. *Ann Surg* 2000; 231: 137-147

同行评价
本文立意新颖, 方法得当, 分析合理, 研究有一定参考价值。

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》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: \cdots ; B: \cdots ; C: \cdots ; D: \cdots ; E: \cdots ; F: \cdots ; G: \cdots . 曲线图可按 \bullet 、 \circ 、 \blacksquare 、 \square 、 \blacktriangle 、 \triangle 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第 3 套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t=4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、 \pm 、 $-$ 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.

胃黏膜TGF- β 1在幽门螺杆菌感染中的表达及与外周血T细胞亚群变化的关系

李红平, 赵 逵, 毛万姮, 方 宁, 刘华庆, 张锚链

背景资料
胃癌(GC)的发生是一个多因子作用、多步骤反应的生物学过程。*H.pylori*感染在胃黏膜的癌变模式中起到重要作用, TGF- β 是很强的免疫抑制因子, 可由多数肿瘤细胞产生, 通过抑制宿主免疫系统杀伤肿瘤细胞, 促进肿瘤的发生、侵袭和转移。侵袭因素与机体免疫反应的相互作用决定了GC的发生、病理过程及预后, 然而*H.pylori*感染、细胞因子及机体免疫功能三者关系目前不太十分明了, 因此有必要对三者关系进一步研究。

李红平, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563003
毛万姮, 遵义医学院附属医院康复医学科 贵州省遵义市 563003
方宁, 遵义医学院附属医院细胞工程重点实验室 贵州省遵义市 563003
刘华庆, 张锚链, 遵义医学院附属医院病理科 贵州省遵义市 563003
贵州省遵义医学院青年基金资助项目, No. 院(2006)023
作者贡献分布: 李红平与赵逵对此文所作贡献均等; 此课题由赵逵指导, 李红平设计; 研究过程由李红平与毛万姮完成; 实验操作由刘华庆与方宁指导; 研究所用试剂及分析工具由李红平、方宁及张锚链提供; 数据分析由李红平与毛万姮完成; 本论文写作由李红平完成。
通讯作者: 李红平, 主治医师, 563003, 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院消化内科。lihongping0852@126.com
电话: 0852-8608155
收稿日期: 2009-12-10 修回日期: 2009-12-30
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Association of TGF- β 1 expression in gastric mucosa with *Helicobacter pylori* infection and changes in peripheral blood T lymphocyte subsets during gastric carcinogenesis

Hong-Ping Li, Kui Zhao, Wan-Heng Mao, Ning Fang, Hua-Qing Liu, Mao-Lian Zhang

Hong-Ping Li, Kui Zhao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Wan-Heng Mao, Department of Rehabilitation Medicine, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Ning Fang, Key Laboratory of Cell Engineering, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Hua-Qing Liu, Mao-Lian Zhang, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Supported by: the Science Foundation for Young Scholars in Zunyi Medical College, No. (2006)023
Correspondence to: Hong-Ping Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. lihongping0852@126.com
Received: 2009-12-10 Revised: 2009-12-30
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To investigate the association of

transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) expression in gastric mucosa with *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection and changes in peripheral blood T lymphocyte subsets in patients with gastric precancerous lesions at different stages.

METHODS: Seventy-two gastric mucosa specimens were taken gastroscopically from patients with gastric precancerous lesions at different stages. *H.pylori* infection was evaluated by rapid urease test (RUT) in combination with Giemsa staining. The expression of TGF- β 1 in gastric mucosa was detected by immunohistochemistry. The T lymphocyte subsets in peripheral blood were measured by flow cytometry.

RESULTS: The positive rates of TGF- β 1 expression in chronic superficial gastritis (CSG), chronic atrophic gastritis (CAG), intestinal metaplasia and atypical dysplasia (IM/Dy), and gastric carcinoma (GC) were 39.1%, 52.6%, 62.3% and 87.5%, respectively. The positive rate of TGF- β 1 expression in CSG was significantly lower than that in IM/Dy ($P < 0.05$). In patients with IM/Dy, the positive rate of TGF- β 1 expression in *H.pylori*-positive patients was higher than that in *H.pylori*-negative ones ($P < 0.05$). The percentages of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ T lymphocytes were significantly lower in patients with GC than in patients with CSG (all $P < 0.05$ or 0.01). The percentages of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ T lymphocytes in patients with IM/Dy were lower than those in patients with CSG (both $P < 0.01$). The positive rate of TGF- β 1 expression was negatively correlated with the percentages of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ T lymphocytes in patients with gastric precancerous lesions.

CONCLUSION: The expression of TGF- β 1 gradually increases and cellular immune function is gradually weakened during the evolution from CSG to GC. The suppressive effects of TGF- β 1 on cellular immune function can partly explain why patients with IM/Dy have lower cellular immune function.

同行评议者
郑鹏远, 教授, 郑州大学第二附属医院消化科

Key Words: *Helicobacter pylori*; Transforming growth factor beta-1; T lymphocyte subset; Flow cytometry; Precancerous lesion; Gastric carcinoma

Li HP, Zhao K, Mao WH, Fang N, Liu HQ, Zhang ML. Association of TGF- β 1 expression in gastric mucosa with *Helicobacter pylori* infection and changes in peripheral blood T lymphocyte subsets during gastric carcinogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 506-511

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染、TGF- β 1及T淋巴细胞亚群在胃黏膜癌变过程中的作用及相互关系。

方法: 选取不同胃黏膜病变组织的72例胃镜活检标本, 采用快速尿素酶试验(rapid urease test, RUT)结合Giemsa染色判断*H.pylori*感染, 免疫组织化学染色技术检测胃黏膜组织中TGF- β 1表达, 流式细胞术检测不同胃黏膜病变患者外周血T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺及CD4⁺/CD8⁺比值。

结果: TGF- β 1在慢性浅表性胃炎(CSG)、慢性萎缩性胃炎(CAG)、肠上皮化生及不典型增生(IM/Dy)和胃癌(GC)中表达的阳性率分别为39.1%、52.6%、62.3%和87.5%, CSG组与IM/Dy、GC组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); IM/Dy中*H.pylori*阳性者TGF- β 1表达明显高于*H.pylori*阴性者(87.5% vs 33.3%, $P<0.05$)。与CSG相比, GC中CD3⁺明显降低($P<0.05$), CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺明显降低($P<0.01$); IM/Dy患者CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺低于CSG, 有显著性差异(均 $P<0.01$)。不同胃黏膜病变TGF- β 1表达与CD3⁺、CD4⁺ T细胞、CD4⁺/CD8⁺呈负相关。

结论: 在GC前病变中, 从CSG到GC, TGF- β 1表达逐渐增加, 细胞免疫功能降低, TGF- β 1对细胞免疫功能的抑制作用是IM/Dy、GC患者细胞免疫功能低下的原因之一。

关键词: 幽门螺杆菌; 转化生长因子- β 1; T淋巴细胞亚群; 流式细胞术; 癌前病变; 胃癌

李红平, 赵逵, 毛万姬, 方宁, 刘华庆, 张锚链. 胃黏膜TGF- β 1在幽门螺杆菌感染中的表达及与外周血T细胞亚群变化的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18(5): 506-511
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/506.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)在胃癌(gastric carcinoma, GC)发生中的重要作用日益

受到重视。从慢性浅表性胃炎(chronic superficial gastritis, CSG)、慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)、肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)及不典型增生(atypical dysplasia, Dy)到GC的演变过程是GC发生的基本规律。目前研究认为, *H.pylori*感染可以增加GC发生的危险性, 已被公认为胃炎、胃溃疡以及GC的重要致病因素^[1]。胡兰英等^[2]报道, *H.pylori*感染程度越严重, 胃黏膜组织中白介素-8、肿瘤坏死因子- α 水平越高, *H.pylori*根除后血清、胃黏膜组织中白介素-8、肿瘤坏死因子- α 水平明显下降, 这些结果说明细胞因子在胃炎的发病机制中占有重要位置。Ebert等^[3]研究表明转化生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)在GC患者及其一级亲属中胃黏膜过度表达并使其细胞增殖, TGF- β 1在GC患者的一级亲属中表达增加则使GC发生的风险性增大。近年来对TGF β 家族在人类GC组织中的分布与GC的发生及癌组织恶性程度关系的研究在不断深入, 但其对*H.pylori*感染患者胃镜活检组织中的表达及其意义国内外报道相对较少。笔者通过免疫组织化学方法对*H.pylori*感染组和非感染组的CSG、CAG、IM/Dy及GC的胃黏膜TGF- β 1表达进行检测, 以探讨TGF- β 1、*H.pylori*感染的关系。*H.pylori*除了通过本身的致病因素、黏附特性以及各种毒力因子造成对胃黏膜的直接损伤外, 宿主免疫应答的异常可能是一个重要的致病机制。但目前对*H.pylori*感染所致特异性细胞免疫应答, 尤其是胃黏膜局部细胞因子与免疫应答的研究国内外报道甚少。本研究应用流式细胞术检测*H.pylori*感染的不同胃黏膜病变患者外周血T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺比值并与*H.pylori*阴性者比较, 以了解*H.pylori*感染时的T淋巴细胞亚群的变化, 分析不同胃黏膜病变*H.pylori*感染、TGF- β 1与细胞免疫功能的关系, 并且进一步分析*H.pylori*感染在GC的发生过程中的生物学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 全部病例选自2005-2007年遵义医学院附属医院内镜中心72例患者不同胃黏膜病变组织的胃镜活检标本及外周肝素抗凝血标本。其中男38例, 女34例, 年龄21-77(平均56.3)岁。取材于胃窦小弯侧距幽门2-3 cm及病变明显处黏膜共5块组织, 诊断标准参照2006年上海中国慢性胃炎共识意见^[4], 结合胃镜和病理组织学检查, 诊断包

相关报道
任彦等用免疫细胞化学方法, 检测NF- κ B和TGF- α 在*H.pylori*阳性和阴性胃炎患者及正常人的胃窦部活检标本, 结果在*H.pylori*阳性组, NF- κ B和TGF- α 呈高表达, 与阴性组和正常组比较均有显著性差异, 认为NF- κ B和TGF- α 的检测对于根治*H.pylori*阳性胃炎患者临床疗效判定是一种简单而有价值的指标, 同时也指出NF- κ B、细胞因子和神经内分泌三者之间在胃黏膜病变的进程中的复杂关系。

创新盘点

本研究应用流式细胞术检测 *H.pylori* 感染的不同胃黏膜病变患者外周血T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺比值并与 *H.pylori* 阴性者比较, 以了解 *H.pylori* 感染时的T淋巴细胞亚群的变化, 分析不同胃黏膜病变 *H.pylori* 感染、TGF- β 1与细胞免疫功能的的关系, 并且进一步分析 *H.pylori* 感染在GC的发生过程中的生物学意义。

括CSG 28例, CAG 19例, IM及Dy 14例, GC 16例。外周血标本抽取后用肝素抗凝, 当天检测。

1.2 方法

1.2.1 *H.pylori* 的检测: 将组织切片行Giemsa染色, 操作如下: 常规石蜡切片, 脱蜡至水, 再用蒸馏水洗; 擦干切片周边的水分, 滴加Giemsa工作液覆盖组织片, 常温下放置1-2 min; 950 mL/L乙醇分化兼脱水, 无水乙醇片刻; 二甲苯透明, 中性树胶封片。结果: *H.pylori* 主要存在于胃黏膜表面的黏液中、细胞表面、胃小凹内、腺腔中及癌旁黏膜等, 蓝色或深蓝色, 呈海鸥状、弯曲状或杆状。同时, 行胃镜检查时在胃窦取黏膜组织, 经 *H.pylori* 尿素酶检测试剂(福建三强生物化工有限公司)的检测, 两者均阳性者为 *H.pylori* 阳性, 两者均阴性者为 *H.pylori* 阴性(仅其中1项阳性者不纳入研究范围)。 *H.pylori* 阳性41例, *H.pylori* 阴性31例。

1.2.2 免疫组织化学染色: 采用EnVision法, 第一抗体为即用型TGF- β 1多克隆抗体, 购自福州迈新生物技术公司; EnVision试剂盒(含DAB显色剂)购自上海基因公司。以PBS代替一抗作空白对照, 用已知阳性片作阳性对照。操作方法如下: (1)切片脱蜡至水化; (2)每步用PBS液洗3次, 每次3 min; (3)过氧化酶阻断剂10 min; (4)向标本中滴加TGF- β 1抗体置37 °C温箱孵育60 min; (5)滴加EnVision第二抗体, 置37 °C温箱孵育30 min; (6)DAB显色; (7)苏木素复染、中性树胶封固(具体操作详见说明书)。

1.2.3 T淋巴细胞亚群检测: 采用流式细胞术进行检测, 鼠抗人CD4/CD8/CD3, FITC/PE/PE-Cy5标记抗体购自深圳晶美生物工程有限公司。操作方法如下: 取100 μ L肝素抗凝全血加10 μ L CD4/CD8/CD3, FITC/PE/PE-Cy5标记抗体充分混匀, 室温避光放置20 min后加2 mL红细胞裂解液, 完全溶血后离心洗涤, 弃上清液加PBS 2 mL混匀, 离心弃上清液, 再加 PBS 2 mL洗涤1次, 弃上清液加 PBS 0.5 mL混匀后上机检测。用流式细胞仪(FACSCalibur型, 美国BD公司)及其配套软件取数和分析。

1.2.4 结果判定: TGF- β 1免疫组织化学染色结果判断: TGF- β 1为细胞质着色, 染色阳性以细胞质呈棕色颗粒状染色为标准, 且着色明显高于背景或背景不着色而细胞着色者为阳性细胞染色。按切片中细胞染色强度记分: 0分为细胞无染色, 1分为染色呈浅黄色, 2分为棕黄色, 3分为褐色; 再按切片中显色细胞所占比例记分: 每片

表 1 TGF- β 1在不同胃黏膜病变中的表达

组织类型	<i>n</i>	TGF- β 1 %(<i>n</i>)
CSG	23	39.1(9/23)
CAG	19	52.6(10/19)
IM/Dy	14	62.3(9/14) ^a
GC	16	87.5(14/16) ^a

^a*P*<0.05 vs CSG.

随机观察5个具有代表性的高倍视野, 计数500个细胞中染色阳性细胞数, 0分为无阳性染色细胞, 1分为染色细胞<30%, 2分为30%-70%, 3分为>70%。每张切片细胞染色积分 = 强度记分 \times 比例记分。按积分高低分为4级: 0分为阴性, 大于1分为阳性, 其中以1-3分为弱阳性(+), 4-6分为阳性(++), 7-9分为强阳性(+++)[5]。

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件处理数据, 计量资料以mean \pm SD表示。采用单因素方差分析、 χ^2 检验、直线相关分析, 以*P*<0.05为差异有统计学意义, *P*<0.01为差异有显著性。

2 结果

2.1 免疫组织化学染色阳性细胞定位分布 TGF- β 1阳性反应产物呈棕黄色或棕褐色, 主要分布于细胞质或细胞膜, 细胞核未见着色。在慢性浅表性胃炎中着色细胞较少, 主要分布于黏膜表层, 从慢性萎缩性胃炎、不典型增生或肠上皮化生至GC, 阳性染色细胞逐渐增多且分布不均。淋巴细胞、血管上皮细胞、红细胞和平滑肌组织均呈不同程度着色(图1)。

2.2 TGF- β 1在不同胃黏膜病变中的表达 从CSG到GC, TGF- β 1表达呈逐渐递增趋势, 在GC和IM/Dy中的表达显著高于CSG(均*P*<0.05, 表1)。

2.3 *H.pylori* 感染与TGF- β 1表达的关系 TGF- β 1在 *H.pylori* 阳性组表达(66.7%)虽高于 *H.pylori* 阴性组(46.7%), 但差异无统计学意义(*P*>0.05), 但在IM/Dy中 *H.pylori* 阳性者其表达(87.5%)高于 *H.pylori* 阴性者(33.3%), 差异有统计学意义(87.5% vs 33.3%, *P*<0.05), 而CSG、CAG中 *H.pylori* 阳性与 *H.pylori* 阴性者TGF- β 1表达无统计学意义(*P*>0.05, 表2)。

2.4 不同类型胃黏膜病变患者外周血T淋巴细胞亚群的检测 72例患者, 其中CSG、CAG、IM/Dy、GC分别为23、19、14、16例, 正常对照组10例, T淋巴细胞检测结果见表3。

2.5 不同胃黏膜病变中TGF- β 1表达与T淋巴细

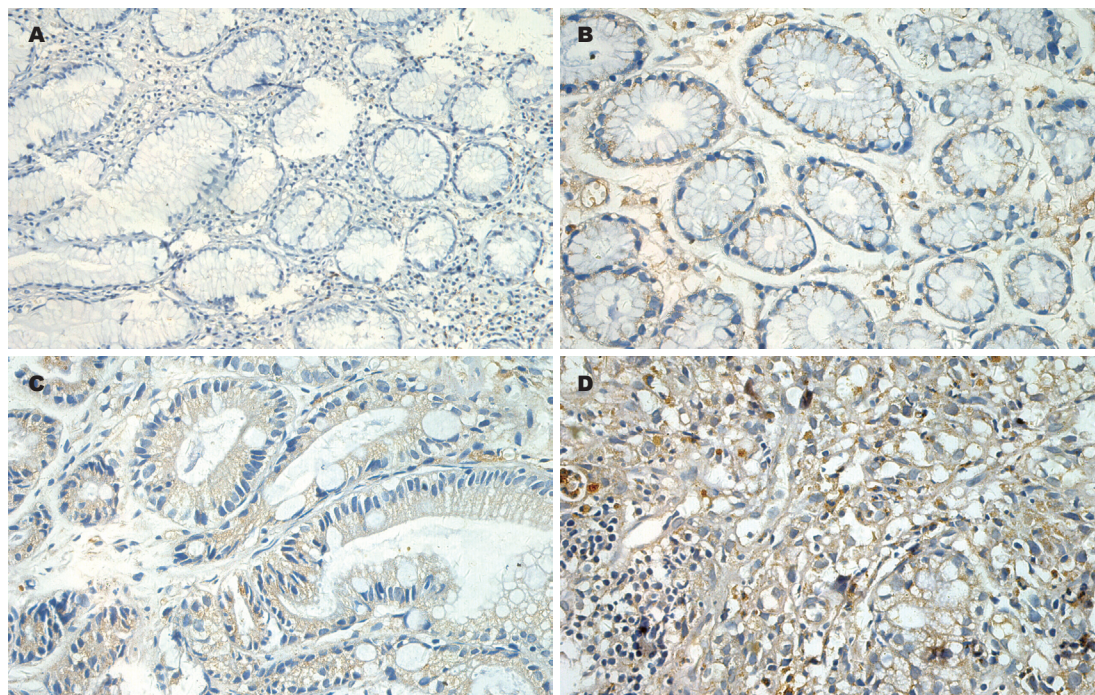


图 1 TGF- β 1在不同胃黏膜组织中的表达(EnVision). A: CSG($\times 200$); B: CAG($\times 400$); C: IM/Dy($\times 400$); D: GC($\times 400$).

应用要点
本研究提示, IM/Dy及GC患者存在明显的细胞免疫功能紊乱, 而动态观察T细胞亚群变化, 不失为对CAG患者进行随访中的一项主要指标, 以利早期发现病变.

表 2 *H.pylori*感染与TGF- β 1表达的关系

组织类型	n	<i>H.pylori</i> %(n)	
		+	-
CSG	23	41.7(5/12)	36.4(4/11)
CAG	19	54.5(6/11)	50.0(4/8)
IM/Dy	14	87.5(7/8) ^a	33.3(2/6)
GC	16	90.9(10/11)	80.0(4/5)
合计	72	66.7(28/42)	46.7(14/30)

^a $P < 0.05$ vs *H.pylori*(-).

胞亚群的关系 不同胃黏膜病变TGF- β 1表达与CD3⁺T细胞呈负相关($r = -0.237$, $P < 0.05$), 与CD4⁺T细胞呈负相关($r = -0.491$, $P < 0.01$), 与CD4⁺/CD8⁺也呈负相关($r = -0.484$, $P < 0.01$), 与CD8⁺T细胞呈正相关($r = 0.262$, $P < 0.05$).

3 讨论

GC为我国常见的恶性肿瘤之一, 他的发生是一个多因子作用、多步骤反应的生物学过程。*H.pylori*作为GC的重要危险因素已被世人公认, 动物实验也证实显示, 早期根除*H.pylori*可预防GC的发生。*H.pylori*可以通过诱发炎症、调节癌基因和抑癌基因的表达、诱导黏膜上皮增殖和凋亡异常及其代谢产物包括一些酶类、毒素和蛋白直接损害黏膜引发疾病。流行病学资料表明, *H.pylori*感染在胃黏膜的癌变模式中起到重

要作用, *H.pylori*感染胃黏膜导致萎缩性胃炎、肠化生、异型增生, 最终导致GC。*H.pylori*可以引起胃黏膜上皮细胞的过度增生和凋亡异常, 进而增加处于旺盛状态的DNA的受损机会, 促使细胞发生癌变^[6]。1998年日本Watanabe等^[7]报道了通过建立蒙古沙土鼠*H.pylori*感染模型研究*H.pylori*的致癌性, 结果显示所有感染*H.pylori*的蒙古沙土鼠很快出现慢性胃炎, 26 wk后2/3的动物出现肠上皮化生, 54 wk后有1/4发展为GC。日本Uemura等^[8]研究胃溃疡、十二指肠溃疡、胃黏膜增生、非溃疡性消化不良等患者共1 526例, 其中*H.pylori*阳性1 246例, *H.pylori*阴性280例。平均随访7.8年(其中最短1.0年, 最长10.6年), 结果发现*H.pylori*阳性组有36例(2.9%)发展为GC, 而*H.pylori*阴性组无一例GC发生, 均是*H.pylori*致癌的直接证据。然而, *H.pylori*致胃黏膜癌变的确切机制仍不清楚。

TGF- β 是一个多功能的细胞因子超家族, 其主要作用包括调节细胞增殖和分化, 参与胚胎发育调节, 促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)形成和抑制免疫反应, 在调节细胞的生长、分化、凋亡、黏附、细胞外基质合成与沉积、胚胎及形态发生和组织修复、炎症反应、间质纤维化、肿瘤的形成和发展中起重要的作用^[9]。在其5个亚型中哺乳动物只表达TGF- β 1, 2, 3, 三者的生物学作用相似, 序列同源性70%-80%, 其中TGF- β 1含量最高, 有代表

同行评价
本研究对临床常见的GC癌前病变进行观察,具有一定的理论意义和潜在的临床价值。

表 3 各组外周血CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T细胞百分数及CD4⁺/CD8⁺ (mean ± SD)

分组	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照	10	62.01 ± 4.89	36.94 ± 3.82	23.07 ± 3.84	1.65 ± 0.36
CSG	23	59.88 ± 8.98	33.52 ± 6.75	24.36 ± 7.17	1.53 ± 0.62
CAG	19	56.32 ± 5.79	29.84 ± 5.22 ^b	24.47 ± 5.52	1.31 ± 0.53
IM/Dy	14	54.23 ± 10.69	23.60 ± 6.77 ^b	28.64 ± 8.56	0.90 ± 0.38 ^b
GC	16	53.33 ± 14.18 ^{ad}	21.89 ± 7.06 ^{bc}	29.44 ± 9.85 ^a	0.81 ± 0.33 ^{bc}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs CSG.

性,是体内的主要形式.他是一种多功能的细胞因子,他在许多细胞中具有广泛的但可能互相矛盾的作用.对正常上皮细胞而言,TGF-β1发挥着普遍的生长抑制效应,在控制其细胞生长、胚胎发育、免疫调节和细胞凋亡等方面都具有重要作用;但GC、结直肠癌等某些肿瘤在其发生发展过程中,可摆脱TGF-β1的抑制甚至被TGF-β1刺激而生长.我们用免疫组织化学EnVision法检测和分析了*H.pylori*感染状态下不同病变类型胃黏膜TGF-β1表达,本研究结果显示,从正常胃黏膜组织到肠化及不典型增生组织,随着胃黏膜病变程度的加重,TGF-β1表达呈逐渐增加的趋势,在IM/Dy组其表达已接近GC组,提示TGF-β1与GC的发生有关.本研究还发现,TGF-β1表达在*H.pylori*阳性组虽稍高于*H.pylori*阴性组,但无统计学意义($P>0.05$);而IM/Dy中*H.pylori*阳性组TGF-β1表达高于*H.pylori*阴性组($P<0.05$),在CSG、CAG中,TGF-β1在*H.pylori*阳性组与阴性组中的表达无差异性,表明*H.pylori*感染则增强GC前病变中TGF-β1表达,这可能是*H.pylori*感染致GC机制中起始阶段的一个重要环节.

T淋巴细胞在机体免疫中占有重要的地位,外周血T淋巴细胞亚群的变化是反映机体细胞免疫状态的较好指标,CD8⁺Ts细胞与CD4⁺Th细胞的作用相反,对免疫应答具有重要的调节作用.在正常情况下,两者相互诱导和制约形式的T细胞网络,对维持免疫功能的平衡具有重要的意义^[10],当两者的比例失调时,即可导致细胞免疫功能紊乱或失调,而削弱机体抵抗力.通过本实验研究表明,IM/Dy患者T细胞亚群与正常对照组相比,CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺显著降低.因此,由于IM/Dy患者细胞免疫低下,而导致抗肿瘤能力减弱,对该类患者应密切观察,定期复查.诸多研究表明,肿瘤患者的细胞免疫功能呈低下状态,即与健康人相比,术前的GC患者CD3⁺、

CD4⁺T细胞数及CD4⁺/CD8⁺比例均降低,而CD8⁺则升高,表明患者的T细胞亚群间的平衡失调,总体免疫功能低下^[11].充分说明IM/Dy及GC患者存在细胞免疫功能紊乱,而动态观察T细胞亚群变化,不失为对CAG患者进行随访中的一项主要指标,以利早期发现病变.

TGF-β是很强的免疫抑制因子,可由多数肿瘤细胞产生,通过抑制宿主免疫系统杀伤肿瘤细胞,促进肿瘤的发生、侵袭和转移.其机制有:TGF-β对白细胞介素-2诱导的T淋巴细胞增殖和活化起负调控作用;抑制细胞毒性T淋巴细胞(包括肿瘤浸润淋巴细胞)、自然杀伤细胞和淋巴因子激活杀伤细胞的杀伤活性;增加CD8抑制性T细胞的产生;阻止免疫球蛋白的合成;抑制干扰素诱导的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II类抗原表达,阻止细胞毒性T淋巴细胞对肿瘤细胞的识别^[12],实验研究也证实了TGF-β在肿瘤逃避免疫监视方面发挥重要作用.通过本实验研究表明,在从慢性胃炎到GC的不同胃黏膜病变中,TGF-β1表达与CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞及CD4⁺/CD8⁺均呈负相关,TGF-β1表达水平明显升高,而细胞免疫功能低下,进一步说明TGF-β1对细胞免疫功能的抑制作用是IM/Dy、GC患者细胞免疫功能低下的原因之一.当然对T淋巴细胞的调节是由多种细胞因子参与的复杂过程,但是对于IM/Dy及GC患者,寻找抑制TGF-β1分泌或拮抗其作用的方法,不失为恢复细胞免疫功能的一条有效途径.

4 参考文献

- 1 刘天舒,王吉耀,陈世耀,乐凡.幽门螺杆菌相关性胃部疾病的病理变迁.中华消化杂志 2001; 21: 15-17
- 2 胡兰英,贾民,王学涵,袁淑芳.幽门螺旋杆菌感染患者白细胞介素-8与肿瘤坏死因子-α的关系.新疆医科大学学报 2008; 31: 1732-1734
- 3 Ebert MP, Yu J, Miehlke S, Fei G, Lendeckel U, Ridwelski K, Stolte M, Bayerdörffer E, Malfertheiner

- P. Expression of transforming growth factor beta-1 in gastric cancer and in the gastric mucosa of first-degree relatives of patients with gastric cancer. *Br J Cancer* 2000; 82: 1795-1800
- 4 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见 (2006, 上海). *胃肠病学* 2006; 11: 674-684
- 5 范秋虹, 冯一中, 徐永兴. 转化生长因子- β 1在结直肠癌中的表达及与预后的关系. *中华消化杂志* 2006; 28: 508-510
- 6 Isomoto H, Furusu H, Shin M, Ohnita K, Miyazaki M, Omagari K, Mizuta Y, Murase K, Inoue K, Murata I, Koji T, Kohno S. Enhanced expression of transcription factor E2F in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Helicobacter* 2002; 7: 152-162
- 7 Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648
- 8 Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789
- 9 肖业臣, 黄亚东, 李校堃, 苏志坚. 肿瘤中TGF- β 1/Smads信号通路的研究进展. *肿瘤防治研究* 2006; 33: 616-618
- 10 贾战生, 于兰. T淋巴细胞亚群的检测及其临床意义. *国外医学·临床生物化学与检验分册* 1992; 13: 157-160
- 11 王强. 慢性萎缩性胃炎及胃癌患者T细胞亚群变化的定量检测及临床意义. *辽宁医学杂志* 2002; 16: 245-246
- 12 Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF- β . *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 137-161

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》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 \pm 前后都要列出. 如37.6 $^{\circ}\text{C} \pm 1.2 ^{\circ}\text{C}$, 45.6 岁 ± 24 岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 pg/ml ± 0.27 pg/ml 应为3.56 ng/L ± 0.27 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 cm \times 6 cm \times 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、 CO_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 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} 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值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg \cdot 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.

超声评估门静脉与HCC患者肝移植预后的关系

马步云, 李 晋, 卢 强, 严律南, 罗 燕, 彭玉兰

背景资料
肝细胞癌(HCC)是我国常见的恶性肿瘤, 肝移植是根治HCC的最佳方法。超声是常规的检查方法, 通过术前超声对门静脉有无受累进行评估, 作为制定肝移植适应证的参考之一, 对于HCC治疗有重要的临床意义。

马步云, 卢强, 罗燕, 彭玉兰, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041
李晋, 严律南, 四川大学华西医院肝移植中心 四川省成都市 610041
作者贡献分布: 马步云与罗燕对此文所作贡献均等; 此课题由马步云与李晋设计; 研究过程由马步云、李晋、卢强、严律南、罗燕及彭玉兰操作完成; 数据分析和论文写作由马步云与李晋完成。
通讯作者: 罗燕, 主任医师, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院超声科。luoyan77@vip.sina.com
电话: 028-85422304 传真: 028-85423193
收稿日期: 2009-12-02 修回日期: 2009-12-31
接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-18

Prognostic value of portal vein involvement in patients undergoing liver transplantation for hepatocellular carcinoma

Bu-Yun Ma, Jin Li, Qiang Lu, Lv-Nan Yan, Yan Luo, Yu-Lan Peng

Bu-Yun Ma, Qiang Lu, Yan Luo, Yu-Lan Peng, Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Jin Li, Lv-Nan Yan, Center for Liver Transplantation, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyan77@vip.sina.com
Received: 2009-12-02 Revised: 2009-12-31
Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To evaluate the prognostic value of portal vein involvement in patients undergoing liver transplantation for hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: One hundred and forty-eight HCC patients who underwent liver transplantation at West China Hospital of Sichuan University from January 2000 to October 2006 were included in the study. The pathological, clinical and ultrasound imaging data for these patients were analyzed retrospectively.

RESULTS: The median follow-up was 16.4 months (range: 2.8-69.5 months). During the

follow-up, the overall tumor recurrence rate was 43.2%. Ultrasound examination revealed intra-hepatic portal vein involvement in 32 patients, main portal vein involvement in 14 patients, and no portal vein involvement in 102 patients. Univariate COX model analysis showed that portal vein involvement was an independent predictor of actuarial survival [relative risk (RR) = 2.673, $P = 0.000$] and recurrence-free survival (RR = 2.951, $P = 0.000$). Multivariate COX proportional hazards model analysis also showed portal vein involvement was an independent predictor of actuarial survival (RR = 2.426, $P = 0.000$) and recurrence-free survival (RR = 2.258, $P = 0.000$).

CONCLUSION: Portal vein involvement is an independent prognostic factor for survival in patients undergoing liver transplantation for HCC. Ultrasound assessment of portal vein involvement can help identify indications for liver transplantation in patients with HCC.

Key Words: Ultrasonography; Hepatocellular carcinoma; Portal vein; Liver transplantation; Prognosis

Ma BY, Li J, Lu Q, Yan LN, Luo Y, Peng YL. Prognostic value of portal vein involvement in patients undergoing liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 512-516

摘要

目的: 探讨超声检查肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)门静脉对肝移植患者预后的诊断价值。

方法: 收集2000-01/2006-10四川大学华西医院进行肝移植的HCC患者148例, 结合患者超声、病理以及临床资料, 对患者肝移植后生存情况进行回顾性分析。

结果: 全组随访时间2.8-69.5(平均16.4) mo。随访期间, 肿瘤复发率为43.2%。超声检查无门静脉受累者102例(68.9%), 门静脉肝内分支受累者32例(21.6%), 门静脉主干受累者14例(9.5%)。单因素COX模型分析结果显示: 门静脉受累是对累积生存率和无瘤生存率有统计

同行评议者
钱林学, 教授, 首都医科大学附属北京友谊医院内科

学意义的协变量($RR = 2.673, P = 0.000$). 多因素COX逐步回归分析结果显示: 门静脉受累是对累积生存率($RR = 2.426, P = 0.000$)和无瘤生存率($RR = 2.258, P = 0.000$)有影响的独立因素.

结论: 门静脉受累是独立性的预后影响因素, 超声检测HCC患者门静脉是否受累有助于患者适应证的选择.

关键词: 超声检查; 肝细胞癌; 门静脉; 肝移植; 预后

马步云, 李晋, 卢强, 严律南, 罗燕, 彭玉兰. 超声评估门静脉与HCC患者肝移植预后的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 512-516

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/512.asp>

0 引言

原发性肝癌(primary hepatic cancer, PHC)是最常见的恶性肿瘤之一, 位居全球恶性肿瘤发病率的第3位, 全世界每年大约有新发病例62.6万, 有59.8万人死于该疾病, 居肿瘤死亡原因的第3位, 我国约占其中的55%^[1]. 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占PHC的80%-90%, HCC已成为我国恶性肿瘤的第2大病因, 每年死亡患者列全球第1位^[2]. 从肿瘤的治疗原则上讲, 肝移植是根治HCC的最佳方法, 术后早期效果良好, 但肿瘤复发和转移导致的远期低存活率却严重制约了肝癌肝移植的开展. 多项研究表明^[3,4], 影响肝癌肝移植预后的因素包括肿瘤大小、数量、血管侵犯、肿瘤组织学分化程度和淋巴结转移等. 超声检查是肝脏疾病的常规方法, 在肝癌的术前诊断、术中监控和术后随访中发挥着重要的作用. 肝癌累及门静脉后, 在超声图像上可以形成门静脉栓塞的表现, 超声可以评估门静脉有无受累、受累部位及程度. 本文分析了148例HCC肝移植患者的超声及相关资料, 以探讨超声评估HCC患者的门静脉与肝移植预后的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 2000-01/2006-10我院进行肝移植的HCC患者148例, 男133例, 女15例, 年龄17-68(平均46)岁. 术前Child-Pugh评分: A级76例, B级57例, C级15例. MELD评分: <14分107例, ≥14分41例. 肿瘤TNM分期: I期27例, II期40例, IIIa期66例, IIIb期10例, IIIc期5例.

1.2 方法 影像学检查包括超声、CT、MRI和核素骨扫描, 以排除肝外远处转移. 超声仪器包括

GE 500、HP Sonos 4500、HDI 3500、HDI 5000和Acuson Sequoia 512等, 探头频率2-6 MHz. 应用超声仪器显示病肝及肿瘤的超声征象, 并对门静脉进行观察, 首先采用二维超声观察门静脉的管径、管壁以及管腔内回声, 然后进行彩色血流显像并测量频谱.

除了门静脉有无受累外, 本研究并对其他可能影响预后的因素进行了分析, 包括肿瘤的大小、数目、组织学分级和局部淋巴结有无受累等. 肝移植术式包括原位肝移植133例, 活体肝移植15例. 术前治疗情况: 肝动脉栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)30例, 经皮射频消融治疗(percutaneous radiofrequency ablation, PRFA)4例, 全身化疗9例, TACE+PRFA或PRFA+全身化疗4例, 未治疗101例.

切除的病肝当即进行病理大体标本检测, 方法为平行于肝脏水平面将肝脏切开, 切面间隔约1 cm, 仔细寻找癌灶, 详细记录肿瘤数目、大小、分布、门静脉和肝静脉的主干或分支有无癌栓, 肝门有无肿大的淋巴结. 再将病肝固定于350-400 mL/L甲醛液中, 由专业病理学者将标本石蜡包埋, 切片后采用Olympus显微镜观察, 记录肿瘤有无包膜及包膜受累情况, 肿瘤分化程度, 镜下有无微血管癌栓等, 免疫组织化学染色下观察HbsAg, HbcAg和HCVAg的染色情况. 肿瘤组织学分级按Edmondson标准分为I-IV级, I级为高度分化, II级和III级为中度分化, IV级为低度分化. 送检的淋巴结常规进行组织学病检, 判断有无转移.

肝移植术后常规进行抗感染、抗排斥和化疗. 患者出院后定期随访, 随访内容包括实验室和影像学检查. 记录肿瘤复发的时间和部位, 死亡日期和原因.

统计学处理 采用SPSS13.0软件. 累积生存率和无瘤生存率的计算及相应生存曲线的绘制均采用Kaplan-Meier方法, 组间差异采用Log-Rank检验法. 对每个可能影响肝癌肝移植预后的因素先采用单因素Cox比例风险模型进行分析, 由此筛选出有统计学意义的因素, 以 $P < 0.05$ 为纳入标准, 再利用多因素Cox比例风险模型进行分析, 从而确定独立预后因素.

2 结果

2.1 全组生存及死亡情况 全组随访2.8-69.5 mo, 平均16.4 mo. 存活81例, 包括无瘤生存69例和带瘤生存12例: 存活12 mo以内32例, 12-24 mo 32

研发前沿
肝移植是治疗HCC的研究热点之一, 影像学检查与移植预后的关系, 超声的相关报道较少. 常规超声的研究尚有不断深入的必要, 超声新技术, 例如超声造影的价值, 也需要在临床应用中进一步研究.

应用要点
本研究提示, 对于HCC肝移植适应证的制定, 术前超声评估可以作为一种简单、无创和有效的参考手段。

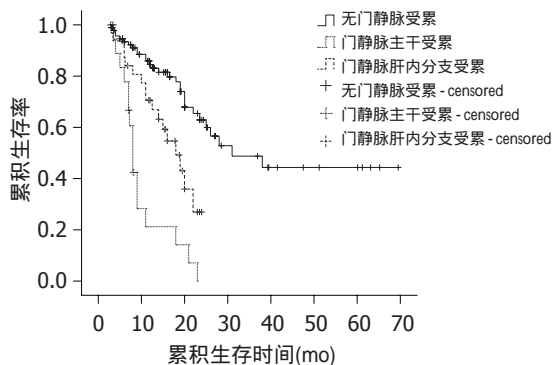


图1 门静脉有无受累的累积生存曲线。

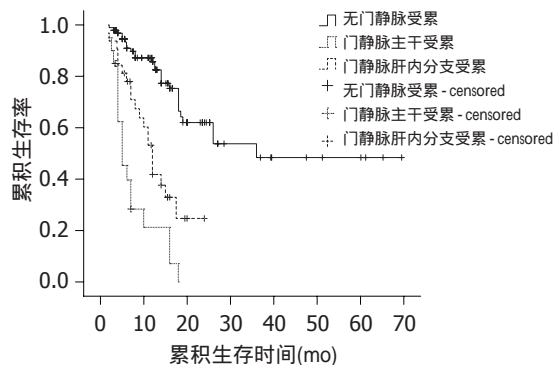


图2 门静脉有无受累的非瘤生存曲线。

表1 全组总体累积生存及无瘤生存情况(%)

生存情况	6 mo	12 mo	24 mo	36 mo	60 mo
累积生存	90.0	73.3	45.6	35.4	32.1
无瘤生存	82.1	67.0	44.3	34.5	34.5

例, 24-36 mo 6例, 36 mo以上11例。全组死亡62例, 包括肿瘤复发死亡52例和非肿瘤复发死亡10例, 从复发到死亡平均4.4 mo(1-15 mo)。全组失访5例。全组肿瘤复发64例(复发率43.2%): 6 mo以内复发者25例, 6-12 mo复发者18例, 12-24 mo复发者18例, 24-36 mo复发者3例。平均复发时间10.0 mo(8.4-11.7 mo)。

2.2 全组总体累积生存及无瘤生存分析 全组患者平均生存时间33.6 mo(95%CI: 27.5-39.6), 平均无瘤生存时间32.8 mo(95%CI: 26.4-39.1)(表1)。

2.3 门静脉是否受累的单因素分析 超声检查无门静脉受累者102例(68.9%), 门静脉肝内分支受累者32例(21.6%), 门静脉主干受累者14例(9.5%)。累积生存率和无瘤生存率的单因素相关分析结果(Log-rank检验)见表2。

2.4 Cox比例风险回归模型的结果 单因素COX模型分析结果显示: 门静脉受累是对累积生存率有统计学意义的协变量(RR = 2.673, 95%CI: 1.929-3.705, $P = 0.000$)。多因素COX逐步回归分析结果(Forward方式)显示: 门静脉受累是对累积生存率有影响的独立影响因素(RR = 2.426, 95%CI: 1.727-3.407, $P = 0.000$)(图1)。单因素COX模型分析结果显示: 门静脉受累是对无瘤生存率有统计学意义的协变量(RR = 2.951, 95%CI: 2.160-4.032, $P = 0.000$)。多因素COX逐步回归分析结果(Forward方式)显示: 门静脉受累是对无瘤生存率有影响的独立影响因素(RR = 2.258, 95%CI: 1.625-3.137, $P = 0.000$, 图2)。

3 讨论

手术切除肿瘤是临床上常用的肝癌治疗方法。由于早期肝癌患者缺乏典型的临床症状和体征, 导致多数患者在病变晚期才就诊, 丧失了手术治疗的最佳时期, 只有约10%的患者能够进行手术治疗, 术后5年生存率低于50%^[5-7]。近年来, 随着手术技术、麻醉技术和抗排斥药物等方面的进展, 肝移植在国内外发展迅速。从外科治疗原则上讲, 肝移植治疗HCC是以全肝切除为基础的手术, 符合根治要求, 在切除肿瘤的同时, 能够消除传统肝癌手术难以解决了肝硬化和门静脉高压问题^[8]。

通过对HCC患者肝移植的术后随访发现, 许多中晚期患者, 尽管在术后早期有一个较好的恢复期, 但有近70%的患者在术后2年内复发, 5年生存率低于30%-40%, 其生存期较良性肝病肝移植患者短^[9]。由于供肝严重短缺、肿瘤复发和转移等因素的影响, 限制了肝移植治疗肝癌的广泛开展。为了合理地利用供肝, 治愈或使其疗效与非肿瘤移植相当, 已经成为肝癌肝移植的目标。Mazzaferro等^[10]提出了基于肿瘤TNM分期基础之上的受体Milan标准, 认为经过严格选择的HCC受体可以取得令人满意的远期效果, 4年的累积和无瘤生存率分别为85%和92%。此后, 世界上许多肝移植中心都依照此标准或在此标准上进行改良, 并取得了良好的远期疗效。有选择的HCC患者肝移植术后5年生存率可达70%, 复发率降至10%-15%^[11,12]。本研究中, 患者pTNM为III期比例为54.8%, 1和2年累积生存率达到了73.3%和45.6%, 而复发率为43.2%, 这也反映了我国肝移植技术成熟的同时, 应该更加关注HCC患者适应证的制定。

Milan标准虽然可以取得令人满意的远期效果, 但是过高剔除率也使部分可能通过肝移植而获得治愈机会的HCC患者被拒之门外, 扩大

表 2 累积生存率和无瘤生存率的单因素相关分析 (%)

生存情况	无门静脉受累者			门静脉肝内分支受累者			门静脉主干受累者		
	1年	2年	3年	1年	2年	3年	1年	2年	3年
累积生存	84.5	62.9	48.7	70.6	26.9	0.0	21.2	0.0	0.0
无瘤生存	85.7	62.0	48.4	41.8	0.0	0.0	21.3	0.0	0.0

同行评价
本研究对肝癌门脉瘤栓患者移植生存情况进行了回顾性分析, 紧密结合临床, 具有很好的参考价值。

选择标准又可能会增加肿瘤复发, 降低远期疗效^[13]。目前, “有选择的HCC” 已经被公认为肝移植的适应证, 但是并没有在“如何选择”上达成共识。术后肿瘤复发转移是影响肝癌肝移植预后的最主要原因。多项研究证实, 血管受累, 尤其是门静脉受累是其中的主要影响因素之一^[4,14,15]。Shetty等^[16]通过对109例HCC肝移植的分析认为, 肉眼大血管受累是对累积和无瘤生存率都有显著性影响的预后因素, 而显微血管受累对预后无显著影响。HCC伴有门静脉受累时, 肿瘤可能已不局限于肝脏, 血循环中可能已存在肿瘤细胞。虽然并非所有播散在血循环中的肿瘤细胞会种植进而发展成远处转移, 但是术后免疫抑制治疗可能会在此基础上增加肿瘤转移的可能性。目前, 西方和亚洲绝大多数移植中心主张将门静脉主干或肝内分支癌栓的HCC患者排除在受体选择标准之外^[17]。本研究结果显示, 门静脉受累是影响累积和无瘤生存率的独立危险因素, 全组46例门静脉受累者中有35例于随访期内复发, 复发率高达76.1%。门静脉受累明显影响着患者的累积生存率和无瘤生存率, 尤其是主干受累者。无门静脉受累者2年的累积生存率和无瘤生存率分别为62.9%和62.0%, 而门静脉肝内分支受累者2年的累积生存率和无瘤生存率分别为26.9%和0, 门静脉主干受累者2年的累积生存率和无瘤生存率分别为0和0。极低的远期预后大大降低了肝移植手术的价值, 不符合长期无病存活的根本目标, 也造成了有限供肝资源的浪费。

因此, 早期发现肿瘤并对其进行准确的评估, 尤其是影响预后的门静脉是否受累, 是获得良好预后的重要前提之一。常规超声可以为临床提供HCC病肝及肿瘤的相关资料, 但是肝硬化背景、腹腔胀气等干扰因素的存在, 使得小肿瘤的发现和诊断较为困难。再者, 弥漫型肝癌常常在超声图像上不形成明显的肿块, 超声显示门静脉肝内分支栓塞也有一定困难, 导致漏诊的发生。对于门静脉栓塞, 常规超声也难以鉴别血栓和癌栓。近年来, 随着超声造影在肝脏疾

病中的广泛开展, 可以实时显示微血管的血流灌注, 弥补了常规超声难以显示的肿瘤滋养血管, 可以更早的发现肿瘤, 对其边界的确定也更为准确^[18,19]。门静脉血栓本身没有血液供应, 而癌栓是有动脉供血, 这是超声造影鉴别二者的重要病理学基础。超声造影动脉期, 由于癌栓内有动脉血供, 可见造影剂呈点状或条状的增强, 门静脉管腔内无增强; 静脉期由于有动、静脉瘘的形成, 癌栓内的造影剂快速消退, 形成充盈缺损^[20]。

在常规超声检查的基础上, 合理的应用超声造影, 可以早期发现和诊断HCC, 并对有无门静脉受累作出较为准确的评估, 有助于对选择合适的HCC患者进行肝移植手术, 对患者的预后将起到重要的作用。

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Steinmüller T, Jonas S, Neuhaus P. Review article: liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17 Suppl 2: 138-144
- 3 Schwartz M. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S268-S276
- 4 Zavaglia C, De Carlis L, Alberti AB, Minola E, Belli LS, Slim AO, Airoidi A, Giacomoni A, Rondinara G, Tinelli C, Forti D, Pinzello G. Predictors of long-term survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2708-2716
- 5 Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Qin LX, Sun HC, Ye QH, Wang L, Zhou J, Qiu SJ, Li Y, Ji XN, Liu H, Xia JL, Wu ZQ, Fan J, Ma ZC, Zhou XD, Lin ZY, Liu KD. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 187-196
- 6 Hemming AW, Greig PD, Langer B. Current surgical management of primary hepatocellular carcinoma. *Adv Surg* 1999; 32: 169-192
- 7 Fong Y, Sun RL, Jarnagin W, Blumgart LH. An analysis of 412 cases of hepatocellular carcinoma at a Western center. *Ann Surg* 1999; 229: 790-799; discussion 799-800
- 8 Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917
- 9 Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology* 1999; 30: 1434-1440
- 10 Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S,

- Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-699
- 11 Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, Ascher NL, Roberts JP. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 2001; 33: 1394-1403
 - 12 O'Grady JG, Polson RJ, Rolles K, Calne RY, Williams R. Liver transplantation for malignant disease. Results in 93 consecutive patients. *Ann Surg* 1988; 207: 373-379
 - 13 Fung J, Marsh W. The quandary over liver transplantation for hepatocellular carcinoma: the greater sin? *Liver Transpl* 2002; 8: 775-777
 - 14 Jonas S, Bechstein WO, Steinmüller T, Herrmann M, Radke C, Berg T, Settmacher U, Neuhaus P. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology* 2001; 33: 1080-1086
 - 15 Todo S, Furukawa H. Living donor liver transplantation for adult patients with hepatocellular carcinoma: experience in Japan. *Ann Surg* 2004; 240: 451-459; discussion 459-461
 - 16 Shetty K, Timmins K, Brensinger C, Furth EE, Rattan S, Sun W, Rosen M, Soulen M, Shaked A, Reddy KR, Olthoff KM. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma validation of present selection criteria in predicting outcome. *Liver Transpl* 2004; 10: 911-918
 - 17 Kienle P, Weitz J, Klaes R, Koch M, Benner A, Lehnert T, Herfarth C, von Knebel Doeberitz M. Detection of isolated disseminated tumor cells in bone marrow and blood samples of patients with hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2000; 135: 213-218
 - 18 Rettenbacher T. Focal liver lesions: role of contrast-enhanced ultrasound. *Eur J Radiol* 2007; 64: 173-182
 - 19 Konopke R, Bunk A, Kersting S. The role of contrast-enhanced ultrasound for focal liver lesion detection: an overview. *Ultrasound Med Biol* 2007; 33: 1515-1526
 - 20 项东英, 何文, 宁彬, 邬冬芳, 张红霞, 颜丹. 门静脉栓子的超声造影表现. *中国医学影像学杂志* 2008; 16: 15-17

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》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}, V_{max}不能写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*ln*-(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.

多吉美联合介入治疗原发性肝癌20例

李枫, 王峰, 李军, 杨新顺

李枫, 王峰, 李军, 杨新顺, 大连医科大学附属第一医院介入治疗科 辽宁省大连市 116001

作者贡献分布: 李枫与王峰对此文所作贡献均等; 课题设计由李枫与王峰共同完成; 资料统计由李枫完成; 数据分析及论文写作由李枫、王峰、李军及杨新顺共同完成。

通讯作者: 王峰, 教授, 116001, 辽宁省大连市, 大连医科大学附属第一医院介入治疗科. cjr.wangfeng@vip.163.com

电话: 0411-83635963-3248

收稿日期: 2009-11-15 修回日期: 2009-12-25

接受日期: 2009-12-29 在线出版日期: 2010-02-18

Nexavar in combination with interventional therapy for hepatocellular carcinoma: a report of 20 cases

Feng Li, Feng Wang, Jun Li, Xin-Shun Yang

Feng Li, Feng Wang, Jun Li, Xin-Shun Yang, Department of Interventional Therapy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Feng Wang, Department of Interventional Therapy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116001, Liaoning Province, China. cjr.wangfeng@vip.163.com

Received: 2009-11-15 Revised: 2009-12-25

Accepted: 2009-12-29 Published online: 2010-02-18

Abstract

AIM: To analyze the efficacy of Nexavar alone and in combination with interventional therapy for hepatocellular carcinoma.

METHODS: Twenty hepatocellular carcinoma patients, including 7 receiving Nexavar monotherapy and 13 receiving Nexavar in combination with interventional therapy, were retrospectively analyzed. All patients were followed up for 7-28 months. The primary study endpoint was tumor response rate and time to tumor progression (TTP).

RESULTS: Of 20 patients, 4 achieved a complete response (CR), 10 achieved a partial response (PR), 4 had stable disease (SD), and 2 had progressive disease (PD). In the Nexavar monotherapy group, no patients experienced a CR, 3 patients experienced a PR, two patients had SD, and 2 patients had PD. The median time to

tumor progression was 16 and 48 weeks in the monotherapy group and the combination treatment group, respectively.

CONCLUSION: Nexavar in combination with interventional therapy can increase the tumor response rate and prolong the time to tumor progression in patients with hepatocellular carcinoma.

Key Words: Nexavar; Interventional therapy; Hepatocellular carcinoma; Efficacy

Li F, Wang F, Li J, Yang XS. Nexavar in combination with interventional therapy for hepatocellular carcinoma: a report of 20 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(5): 517-520

摘要

目的: 对比多吉美单药治疗肝癌与联合介入治疗的效果。

方法: 回顾性分析20例系统服用多吉美的肝癌患者, 其中单药治疗的7例, 联合介入治疗的13例, 随访方式采用门诊随访及住院随访, 随访时间7-28 mo. 主要研究终点为肿瘤反应率和肿瘤进展时间。

结果: 20例患者中, CR 4例, PR 10例, SD 4例, PD 2例, 其中单药治疗组CR 0例, PR 3例, SD 2例, PD 2例; 单药治疗组及联合治疗组的中位肿瘤进展时间分别为16及48 wk。

结论: 多吉美联合肝癌介入治疗可增加肿瘤反应率, 延长肿瘤进展时间。

关键词: 多吉美; 介入治疗; 肝癌; 疗效

李枫, 王峰, 李军, 杨新顺. 多吉美联合介入治疗原发性肝癌20例. *世界华人消化杂志* 2010; 18(5): 517-520

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/517.asp>

0 引言

多吉美(甲磺酸索拉非尼)已被列为晚期肝癌治疗的标准用药, 作为一种新型的靶向治疗药物,

背景资料

多吉美作为一种新型的靶向药物, 已被证实临床肝癌治疗中的作用及地位, 但他与传统的肝动脉化疗栓塞的联合是否有协同作用, 尚待研究。

同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院消化内科

创新盘点
本文就多吉美联合介入治疗原发性肝癌与多吉美单药治疗的疗效进行对比分析,首次从临床获益方面得出结论,即多吉美与介入联合在原发性肝癌的治疗上具有协同作用。

由于在中国获批时间较短,针对中国人群疗效的报道尚少,而多吉美联合传统的肝癌介入治疗能否让患者得到更多的临床获益,即便在全球范围内,也缺乏足够的循证学依据。本研究自2008-04对20例系统服用多吉美治疗的肝癌患者进行了长期随访,并将资料加以总结分析,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2008-04/2009-10-31在我中心登记随访过的服用多吉美的晚期肝癌患者28例,其中男21例,女7例,中位年龄54(24-78)岁,所有患者均符合原发性肝癌的临床诊断标准(2001年第八届肝癌会议制定标准),服用多吉美前肝脏功能分级均为Child-Pugh A级或B级。其中20例患者服药超过3 mo进入随访,随访时间7-28 mo。进入随访的20例患者,中位年龄52(24-78)岁,其中男15例(75%);肝脏功能Child-Pugh分级A级12例, B级8例; BCLC分期Stage B级9例, C级11例。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 多吉美的服用剂量采用400 mg, 每日2次口服, 对于出现难以耐受的不良反应的患者(如严重手足皮肤反应、胃肠道反应等)予以减量(改为400 mg, 每日1次)或暂停服药2 wk, 根据不良反应减轻程度决定是否继续服药及服药剂量。全组28例患者中有20例患者服药超过3 mo, 进入随访。其中联合肝动脉化疗栓塞的12例, 联合局部消融治疗的1例, 多吉美单药治疗的7例(2例为肝移植后肝外转移, 2例拒绝联合介入治疗, 3例不适合介入治疗)。

1.2.2 随访: 采用住院随访及门诊随访, 随访间隔为每月1次。门诊随访内容包括血常规, 生化肝功, 凝血时间, 甲胎蛋白, 强化CT或MR(每2月1次), 药物不良反应及ECOG评分。联合介入治疗的患者需要定期住院复查及治疗。

1.2.3 疗效评价: 从患者耐受情况、肿瘤反应、肿瘤进展时间(TTP)三个方面进行疗效评价。肿瘤反应的评价手段采用强化CT或MR, 对于联合TACE治疗的患者由于碘油的存在可能会影响到对肿瘤强化程度的判断, 我们采用强化MR或联合DSA造影判断肿瘤血供的情况。评价标准采用了“存活肿瘤”的概念, 既2008年美国肝脏病协会(AASLD)提出的RECIST修订标准^[1], 以“目标病灶动脉期的增强显影的变化情况作为判断肿瘤大小变化的标准”。

2 结果

全部28例患者中2例服药后0.5-1 mo出现严重手足、胃肠道反应, 无法耐受停药; 2/28例患者服药后0.5-2 mo出现黄疸停药; 1/28例患者服药0.5 mo出现皮肤大片淤斑, 血小板显著下降, 停药1 mo后缓解, 继续服药并进入随访。严重不良反应率: 5/28(17.5%)。4例患者服药及随访时间短, 未进入本组研究。进入本组研究的20例患者均未出现III级以上的严重不良反应。肿瘤反应评价参照AASLD提出的RECIST修订标准, 全组患者CR 4例, PR 10例, SD 4例, PD 2例, 其中单药治疗组CR 0例, PR 3例, SD 2例, PD 2例(基线指标及疗效对比见表1), 单药治疗组及联合治疗组的中位肿瘤进展时间分别为16及48 wk(图1)。

3 讨论

多吉美作为一种新型的分子靶向治疗药物, 已被列为中晚期肝癌治疗的标准用药。关于其治疗原发性肝癌的疗效, 目前共有两组大样本的研究报道, 分别是针对欧洲人群的SHARP研究以及针对亚洲人群的Oriental研究^[2,3]。两组研究结果均肯定了多吉美可显著延长晚期肝癌患者的生存期。其中SHARP和Oriental研究中的中位OS分别为10.7 mo和6.5 mo, 较对照组分别延长了44%和47%, 中位TTP分别达到5.5 mo和2.8 mo, 较对照组分别延长了74%和73%。在多吉美出现前虽然也有部分化疗药物及生物制剂被认为对肝癌有效, 但有效率均较低, 且可重复性差, 循证学证据不足。而上述两组研究取得的结果令人鼓舞, 最终奠定了多吉美作为晚期肝癌治疗首选药物的地位。

虽然目前的证据表明多吉美治疗肝癌有效, 但单药治疗的中位OS延长的时间仍非常有限, 在SHARP研究中, 治疗组的中位OS较对照组仅延长了2.8 mo。因此, 要提高肝癌患者的远期生存率, 多种治疗方式的联合成为必然。

中晚期肝癌的传统治疗首选肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE), 已有多项RCT研究证实了TACE可显著延长肝癌患者的生存期^[4,5]。但TACE的远期疗效欠佳, 制约其疗效的主要因素在于栓塞后残瘤的复发及转移。临床实践中发现, 即使我们认为非常彻底的栓塞也不能保证完全消灭瘤组织, 残瘤细胞在特定机制的调控下逐渐适应了这种乏氧、乏营养微环境, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)高表

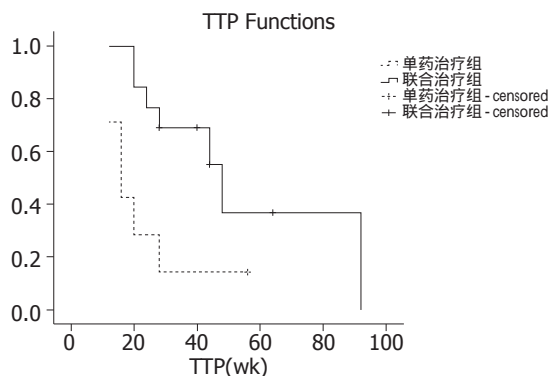


图1 肿瘤进展时间曲线。

达, 肿瘤血管生成, 侵袭转移能力提高^[6,7]。TACE后残存瘤细胞可在乏氧条件下通过信号传递诱导乏氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor 1, HIF-1α)表达, 增加VEGF基因转录, 上调VEGF、PDGF及其受体表达, 刺激启动血管形成, 造成肿瘤局部复发^[8]。因此, 如何降低TACE后VEGF的表达是提高TACE远期疗效的关键。

多吉美作为一种新型的分子靶向治疗药物, 一方面通过抑制RAF-1激酶和B-RAF激酶, 抑制ERK的磷酸化, 达到抑制肿瘤细胞增殖作用的目的; 另一方面通过抑制细胞表面VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR-B、FLT-3和c-KIT受体的自身磷酸化, 影响下游酪氨酸激酶活性, 抑制肿瘤新生血管生成。正是基于多吉美能够抑制肿瘤新生血管生成这一机制, 使得TACE联合多吉美治疗原发性肝癌理论上存在可行性。

目前, 国际上已有多个中心在进行多吉美联合TACE治疗原发性肝癌的临床实验, 但最终结果尚未公布。在我们的这组病例中, 介入治疗(主要为TACE)联合多吉美治疗原发性肝癌的中位TTP达到48 wk, 而多吉美单药治疗组的中位TTP仅为16 wk。从这组数据中我们大致可以看出, 多吉美单药治疗组的中位TTP时间与以亚洲人群为样本的Oriental研究结果相似, 低于以欧洲人群为样本的SHARP研究, 而联合治疗组的中位TTP时间则明显高于上述两组研究。两组病例的肿瘤反应情况也有明显的不同, 参照AASLD提出的RECIST修订标准, 联合治疗组的完全缓解率达到4/13, 而单药治疗组则没有完全缓解的病例。从上述结果可以看出, 多吉美联合介入治疗可明显延长患者的TTP时间, 增加肿瘤反应率。

我们注意到在两组病例中, 患者的基线情况存在差异, 而且由于样本量小, 所得结论缺乏统计学的支持。尽管如此, 上述两组病例疗效的巨大差异仍使我们相信, 多吉美联合介入治疗原发

表1 联合治疗组及单药治疗组基线及疗效对比

分组	联合治疗组(n = 13)	单药治疗组(n = 7)
中位年龄(岁)	51	65
男性 n(%)	13(100)	2(28.6)
ECOG评分		
0	8	1
1	5	3
2	0	3
C - P分级		
A	9	3
B	4	4
BCLC分期		
Stage B	8	1
Stage C	5	6
中位TTP(wk)	48	16
肿瘤反应		
CR	4	0
PR	7	3
SD	2	2
PD	0	2

性肝癌的前景广阔, 不仅理论上存在可行性, 实践治疗中同样会让患者获得更大的临床获益。

4 参考文献

- Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, Kramer BS, Lencioni R, Zhu AX, Sherman M, Schwartz M, Lotze M, Talwalkar J, Gores GJ. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 698-711
- Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390
- Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, Luo R, Feng J, Ye S, Yang TS, Xu J, Sun Y, Liang H, Liu J, Wang J, Tak WY, Pan H, Burock K, Zou J, Voliotis D, Guan Z. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2009; 10: 25-34
- Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 6-25
- Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-442
- Sergio A, Cristofori C, Cardin R, Pivetta G, Ragazzi R, Baldan A, Girardi L, Cillo U, Burra P, Giacomini A, Farinati F. Transcatheter arterial chemoembolization

应用要点
本研究证实了多吉美与肝动脉化疗栓塞在原发性肝癌的治疗上具有协同作用, 为其临床进一步推广提供依据。

同行评价
本研究选题较好,
结论有一定临床
应用价值.

- (TACE) in hepatocellular carcinoma (HCC): the role of angiogenesis and invasiveness. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 914-921
- 7 Shim JH, Park JW, Kim JH, An M, Kong SY, Nam BH, Choi JI, Kim HB, Lee WJ, Kim CM. Association between increment of serum VEGF level and prognosis after transcatheter arterial

- chemoembolization in hepatocellular carcinoma patients. *Cancer Sci* 2008; 99: 2037-2044
- 8 von Marschall Z, Cramer T, Höcker M, Finkenzeller G, Wiedenmann B, Rosewicz S. Dual mechanism of vascular endothelial growth factor upregulation by hypoxia in human hepatocellular carcinoma. *Gut* 2001; 48: 87-96

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 •

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.

原发性肝血色病并急性胆源性胰腺炎1例

孙晓敏, 任大宾, 徐萍, 杨小娟, 赖跃兴, 何桂钧, 万红宇

孙晓敏, 任大宾, 徐萍, 杨小娟, 赖跃兴, 何桂钧, 万红宇, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院消化科 上海市 201600
作者贡献分布: 孙晓敏为主要贡献者; 此课题由孙晓敏设计; 研究过程由孙晓敏、任大宾、徐萍、杨小娟、赖跃兴、何桂钧及万红宇共同完成; 数据分析和论文写作由孙晓敏完成。

通讯作者: 孙晓敏, 副主任医师, 副教授, 201600, 上海市, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院消化科. sxmgclcy@163.com
电话: 021-67720451

收稿日期: 2009-11-26 修回日期: 2009-12-14

接受日期: 2009-12-21 在线出版日期: 2010-02-18

Primary haemochromatosis with acute biliary pancreatitis: a report of one case

Xiao-Min Sun, Da-Bin Ren, Ping Xu, Xiao-Juan Yang, Yue-Xing Lai, Gui-Jun He, Hong-Yu Wan

Xiao-Min Sun, Da-Bin Ren, Ping Xu, Xiao-Juan Yang, Yue-Xing Lai, Gui-Jun He, Hong-Yu Wan, Department of Gastroenterology, Songjiang Branch of the Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201600, China

Correspondence to: Associate Professor Xiao-Min Sun, Department of Gastroenterology, Songjiang Branch of the Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201600, China. sxmgclcy@163.com
Received: 2009-11-26 Revised: 2009-12-14

Accepted: 2009-12-21 Published online: 2010-02-18

Abstract

A 53-year-old male patient with a history of chronic jaundice presented due to abdominal pain and aggravated jaundice. Seven members of his family had the same history of chronic jaundice. Iron metabolism testing and imaging examinations revealed that he had primary haemochromatosis with acute biliary pancreatitis.

Key Words: Primary haemochromatosis; Diagnosis; Liver

Sun XM, Ren DB, Xu P, Yang XJ, Lai YX, He GJ, Wan HY. Primary haemochromatosis with acute biliary pancreatitis: a report of one case. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(5): 521-523

摘要

本院收治原发性肝血色病1例, 表现为慢性病程, 自幼皮肤黏膜黄染, 家族中有7人出现类似

症状。近期合并急性胆源性胰腺炎, 出现腹痛和黄疸加重而就诊。铁代谢及影像学等检查均提示肝血色素病。

关键词: 原发性血色病; 诊断; 肝脏

孙晓敏, 任大宾, 徐萍, 杨小娟, 赖跃兴, 何桂钧, 万红宇. 原发性肝血色病并急性胆源性胰腺炎1例. 世界华人消化杂志 2010; 18(5): 521-523

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/521.asp>

0 引言

血色病(hemochromatosis, HC)是北欧白人中最常见的遗传性疾病, 其人群中的发病率可达0.5%^[1]。在中国非常罕见, 中国自1957年发现血色病以来, 到现在只确诊20多例。血色病通常分原发性血色病和继发性血色病两类。原发性血色病, 又称遗传性血色病, 是一种常染色体隐性遗传病, 男性多见。继发性血色病主要由于严重的慢性贫血(重型β海洋性贫血和再生障碍性贫血)长期大量输血(一般在输血100次以上)以后, 造成体内铁贮积过多所致, 也有少数病例因多年摄入大量药物性铁或饮食中的铁后发生。

1 病例资料

男, 53岁, 汉族, 因反复上腹痛伴皮肤黏膜黄染6 mo, 再发并加重2 d于2009-08-26拟诊“黄疸待查(阻塞性黄疸); 胆囊炎”入院。患者否认“肝炎”病史, 否认外伤输血史。自幼发现皮肤黄、眼黄、尿黄, 因无明显不适, 未诊治。2009-02开始反复出现上腹痛, 同时皮肤黏膜黄染明显加重。入院体检: 体温(T): 37.2℃, 血压(BP): 110/70 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa), 脉搏(P): 84次/分, 呼吸(R): 18次/分。消瘦, 神志恍惚, 精神萎靡, 皮肤黏膜重度黄染, 呈暗黄绿色; 未见色素沉着、皮疹、出血点; 未见肝掌和蜘蛛痣。颈下、腋下、腹股沟未触及肿大淋巴结。心肺未见异常。腹平软, 中上腹压痛, Murphy征(±), 无反跳痛。肝肋下1 cm, 质软, 无触痛; 脾肋

背景资料

血色病(HC)是北欧白人中最常见的遗传性疾病, 其人群中的发病率可达0.5%。遗传基因位于6号染色体的短臂, 编码由343个氨基酸残基组成的HFE蛋白, HFE蛋白通过与转铁蛋白受体(TfR)结合形成复合物抑制细胞对含铁转运蛋白摄取。HFE基因缺陷导致HFE蛋白异常, 从而影响其与TfR结合, 进而对铁吸收的反馈抑制作用消失, 引起肠道铁的过度吸收, 该病在我国非常罕见。

同行评议者

崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外科

同行评价
本文临床资料丰富、指标正确、诊断依据较充分、治疗合理、讨论详尽,有较好的参考价值。

下2 cm,质中,无触痛。腹部移动性浊音阴性。双下肢无水肿。入院后检查,血象:白细胞 $11.6 \times 10^9/L$,中性0.89,淋巴0.07,单核0.04, Hb 121.0 g/L,血小板 $231 \times 10^9/L$ 。尿常规:尿葡萄糖(-),尿酮体(+),尿胆原(+++),胆红素(+++)。大便常规和隐血均为阴性。肝功能:总蛋白63 g/L,白蛋白44 g/L,谷丙转氨酶56 IU/L,谷草转氨酶88 IU/L,总胆红素(T-BiL)957.3 $\mu\text{mol/L}$,直接胆红素(D-BiL)560.0 $\mu\text{mol/L}$,碱性磷酸酶189 IU/L,谷氨酰转肽酶617 IU/L,总胆汁酸264 $\mu\text{mol/L}$ 。PT、APTT正常。尿素氮、肌酐正常。血淀粉酶527 U/L。血糖5.0 mmol/L,糖化血红蛋白4.30%。AFP、CEA、CA-125、CA-724均正常,CA199 159.2 U/L,轻度升高。乙型肝炎五项:抗-HBs阳性,余均阴性;甲、丙、丁、戊型肝炎病毒标志物均阴性。自身免疫肝病全套:抗ENA抗体、抗核抗体(ANA)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗肝肾微粒体抗体、抗肝溶质抗原I型抗体、抗可溶性肝抗原/肝胰抗原抗体、抗线粒体抗体、抗ds-DNA、抗ss-DNA均阴性。血清铁71.0 $\mu\text{mol/L} \uparrow \uparrow \uparrow$,铁蛋白7160 $\mu\text{g/L} \uparrow \uparrow \uparrow$,转铁饱和度97.26% $\uparrow \uparrow \uparrow$,转铁蛋白受体3.90 mg/L $\uparrow \uparrow$;总铁结合力73 $\mu\text{mol/L}$,未饱和铁结合力2.0 $\mu\text{mol/L} \downarrow \downarrow \downarrow$,转铁蛋白1.37 g/L \downarrow 。Cooms test(-); Ham test(-)。血清铜18.6 $\mu\text{mol/L}$,铜蓝蛋白56.6 mg/dL。骨穿未见异常,未见K-F环。上腹部B超、CT示:双肾错构瘤可能性大,右侧为著,肝脏、肾脏小囊肿,脾脏大,胆囊肿、胆囊结石。上腹部MRI-MRCP检查所见肝脏形态及轮廓正常,横轴位T1W1示肝实质信号较低,信号欠均匀,呈“黑肝征”;中肝叶可见一小圆形T1W1相对高信号、T2W1极高信号影,边缘光滑。门脉显示正常。胆囊扩大,壁增厚。MRCP示肝内外胆管无扩张,肝总管细小,胆管内未见明显异常信号。脾脏增大,信号减低,脾后部见一小圆形T2W1较高信号影。胰腺形态正常,轮廓饱满,未见占位性病变。右肾见一外突的块状T1W1高低杂乱信号、T2W1稍高信号影,大小约4.5 cm \times 5.2 cm。诊断:右肾占位,建议增强CT排除肾癌;肝脾血色素病;中肝叶及脾脏囊肿或血管瘤可能;胆囊肿。增强CT示双肾错构瘤可能性大,右侧为著;肝肾小囊肿;脾大;胆囊肿、胆囊结石。诊断为:(1)肝脾血色素病(先天性);(2)急性胆源性胰腺炎;(3)胆囊肿,胆囊结石;(4)双肾错构瘤;(5)肝肾小囊肿。入院后给予禁食,抑酸抑酶(洛赛克、善得定),控制感染(左

氧氟沙星、替硝唑),保肝降黄(多烯磷脂酰胆碱、还原型谷胱甘肽和思美泰、熊去氧胆酸)及营养支持治疗,病情渐好转,皮肤巩膜黄染明显减轻,T-BiL降至151.3 $\mu\text{mol/L}$,要求出院。

2 讨论

血色病遗传基因(hemochromatosis gene, HFE gene)位于6号染色体的短臂,编码由343个氨基酸残基组成的HFE蛋白,HFE蛋白主要分布于人体胃肠道上皮细胞,在十二指肠隐窝细胞中分布最多,通过与转铁蛋白受体(transferrin receptor, Tfr)结合形成复合物抑制细胞对含铁转运蛋白摄取。HFE基因缺陷导致HFE蛋白异常,从而影响其与Tfr结合,进而对铁吸收的反馈抑制作用消失,引起肠道铁的过度吸收^[2]。本文病例属遗传性血色病,具有明显家族性,家族中有7人出现皮肤黄染史,建议患者家族中其他人员到医院进一步诊治,家人认为无不适,是先天黄染,拒绝就诊。该患者本次因急性胆源性胰腺炎、胆石症,出现腹痛,诱发黄疸加重而就诊。

血色病基本发病机制为铁质长期过度沉积于肝脏、心脏、胰腺及其他实质组织和器官,并对这些组织器官的结构和功能造成损害的疾病状态。HC起病隐匿,进展缓慢,男:女>10:1,发病年龄多在40-50岁。当体内铁储存量达25-50 g时才出现临床症状。典型表现为多器官损害,包括皮肤色素沉着、肝脾肿大、肝硬化、糖尿病、心脏病变(心律失常、心脏扩大、心力衰竭)、关节病变和性功能减退等。实验室检查可发现血清铁、铁蛋白、转铁蛋白饱和度明显增高。CT和磁共振能间接证实血色病。肝穿为诊断的金标准,在国外逐渐被基因检测所取代。

本例患者没有肝穿也未行基因检测(患者拒绝)而诊断先天性血色病,依据如下^[3,4]:(1)自幼有皮肤黏膜黄染史;(2)具有明显家族性;(3)血清铁、铁蛋白、转铁蛋白饱和度明显增高;(4)影像学示:肝脾血色素病^[5];(5)排除重症肝炎、病毒性肝炎、自身免疫性肝病、肝癌、肝内外梗阻占位性病变以及溶血性黄疸和肝豆状核变性;(6)无贫血、输血史及长期药物服用史和特殊含铁食物饮用史。

该例患者在诊断上未走很多弯路,主要得益于仔细详细的询问病史和及时有效的相关检查,如明确的家族史以及血清铁代谢明显异常和MRI相对特异性影像学表现等。仍需继续动员患者及其家人做血色病的进一步诊治,力求早

发现、早诊断、早治疗.

3 参考文献

- 1 Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504
- 2 Acton RT, Barton JC, Snively BM, McLaren CE, Adams PC, Harris EL, Speechley MR, McLaren GD, Dawkins FW, Leidecker-Foster C, Holup JL, Balasubramanyam A. Geographic and racial/ethnic differences in HFE mutation frequencies in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) Study. *Ethn Dis* 2006; 16: 815-821
- 3 Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology* 2001; 33: 1321-1328
- 4 Qaseem A, Aronson M, Fitterman N, Snow V, Weiss KB, Owens DK. Screening for hereditary hemochromatosis: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2005; 143: 517-521
- 5 Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003; 101: 15-19

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》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、补充或删除时, 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内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 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.