

ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2012 年 5 月 18 日 第 20 卷 第 14 期 (Volume 20 Number 14)



14/2012

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
何松教授

洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师

林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛高平教授
孟庆华教授
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
杨建民教授

姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪巍副主任医师
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凇教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何晓顺教授
何裕隆教授
黄志勇教授

季加孚教授
莫卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李旭副教授
李永翔教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘建教授
刘颖斌主任医师
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕云福教授
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
邵升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授
田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王健生教授
王蒙副教授

王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
禹正杨副教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
赵刚副教授
智绪亭教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
刘正稳教授
钱林学主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员

刘绍能主任医师
南极星教授
牛英才研究员
王富春教授
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
李璦教授
刘宝瑞教授
刘平教授
刘云鹏教授
沈克平主任医师
王阁教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员

陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授

黄园教授
李刚教授
李君文研究员
李增山副教授
刘克辛教授
刘森副教授
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
魏继福研究员
吴道澄教授
吴军研究员

吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2012年5月18日 第20卷 第14期 (总第382期)

述 评	1171 胆管癌分子靶向治疗 李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道
基础研究	1178 三七总皂苷预处理对大鼠小肠缺血再灌注损伤的保护作用 钱忠义, 申丽娟, 王芳, 阮永华 1184 丁酸钠对DMH诱导大鼠肠道肿瘤的作用 朱丹, 王爱英, 金珠
临床研究	1191 CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证的相关性 秦蕾, 张军峰, 杨亚平, 李谨, 佟书娟, 张春兵, 赵旺胜, 杨学文, 邱红, 董伟, 詹臻 1199 前入路绕肝提拉法对右半肝切除术中中心静脉循环肿瘤细胞的影响 余锋, 罗昆仑, 方征, 刘洪, 董志涛, 田志强, 陈磊, 殷正丰 1204 肝衰竭患者血浆对HepG2细胞增殖的抑制及表皮生长因子的调控作用 李玮, 林世德, 龙骏 1210 NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性 林美娇, 吕小平, 陈兰, 詹灵凌
文献综述	1216 MSCs分化为功能性肝细胞的研究进展 张国尊, 李春生, 张晓岚 1222 阿达木单抗治疗克罗恩病的研究进展 郑连民, 庞智
研究快报	1229 温肾降浊化癥方对溃疡性结肠炎CD14/TLR4-NF- κ B通路的影响 黄晓燕, 张涛, 宋雅芳
临床经验	1234 腹腔镜Nissen胃底折叠术与腹腔镜前180°部分胃底折叠术后5年临床效果的比较 蔡旺, 秦鸣放, 邹富胜, 李大勇 1238 TGF- β 1和Smad2在胃癌中的表达及意义 沈卫东, 刘鹏飞, 刘兵团, 项斌, 张伟 1242 PGC在不同胃疾病黏膜中的表达以及与血清学水平比较 王恬, 冯义朝, 王浩 1246 预防性使用抗生素对急性坏死性胰腺炎治疗作用的Meta分析 饶春燕, 胡昌伦, 赵晓晏 1252 线阵超声内镜对直肠子宫内膜异位症的诊断价值 李银鹏, 王娜, 张琳, 朱惠明, 王立生, 师瑞月 1256 山莨菪碱在腹部脏器出血DSA术中的应用 徐力扬, 李京雨, 刘涛, 路军良 1259 间苯三酚在混合痔术后的临床疗效观察66例 伍洲颂, 刘丽兵, 汤国辉, 邓秋林
病例报告	1263 嗜酸性粒细胞性胃肠炎1例 赵亮, 赵子夜, 柏愚, 邹多武, 李兆申 1266 原发性肝癌合并胆道出血致急性胰腺炎1例 庞慧芳, 覃华, 黎培员, 朱亮, 卢晓云, 徐胜南, 赵慧贞, 赵秋

附 录	1270 《世界华人消化杂志》投稿须知 1275 2012年国内国际会议预告
志 谢	1276 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1177 《世界华人消化杂志》正文要求 1198 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1209 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1215 2011年度《世界华人消化杂志》发文情况 1228 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1233 WJG成功通过评审被PMC收录 1237 《世界华人消化杂志》外文字符标准 1251 《世界华人消化杂志》出版流程 1262 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.694 1265 《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》 1269 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科
本期责任人	编务 周媛; 送审编辑 李军亮, 张姗姗; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 张姗姗; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2012-05-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p> <p>编 辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>出 版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p>	<p>主 编 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 党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科 江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科 刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科 吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科 马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科 王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心 张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心</p> <p>编 辑 部 主 任 李军亮</p>	<p>印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱) 订购 全国各地邮电局</p> <p>《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。</p> <p>《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。</p> <p>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。</p> <p>2012年版权归世界华人消化杂志所有</p>
---	--	--

World Chinese Journal of Digestology

May 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 14

EDITORIAL	1171 Progress in molecularly targeted therapy for cholangiocarcinoma <i>Li QY, Wu WZ, Han TQ, Zhang SD</i>
BASIC RESEARCH	1178 Pretreatment with Panax notoginseng saponins protects against small intestinal ischemia-reperfusion injury in rats <i>Qian ZY, Shen LJ, Wang F, Ruan YH</i> 1184 Effect of sodium butyrate on DMH-induced small intestinal and large intestinal tumors in rats <i>Zhu D, Wang AY, Jin Z</i>
CLINICAL RESEARCH	1191 Association between CDH1 gene polymorphisms and tongue coatings in patients with gastric adenocarcinoma <i>Qin L, Zhang JF, Yang YP, Li J, Tong SJ, Zhang CB, Zhao WS, Yang XW, Qiu H, Dong W, Zhan Z</i> 1199 Monitoring of the generation of circulating tumor cells in central venous blood of patients undergoing right hepatectomy using anterior liver hanging maneuver <i>Yu F, Luo KL, Fang Z, Liu H, Dong ZT, Tian ZQ, Chen L, Yin ZF</i> 1204 Plasma from patients with liver failure inhibits the proliferation of HepG2 cells <i>Li W, Lin SD, Long J</i> 1210 Correlation of R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene with susceptibility to inflammatory bowel disease in Zhuang population in Guangxi, China <i>Lin MJ, Lv XP, Chen L, Zhan LL</i>
REVIEW	1216 Progress in research of differentiation of mesenchymal stem cells into functional hepatocytes <i>Zhang GZ, Li CS, Zhang XL</i> 1222 Advances in treatment of Crohn's disease with adalimumab <i>Zheng LM, Pang Z</i>
RAPID COMMUNICATION	1229 Effect of Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction on the expression of CD14, TLR-4 and NF- κ B in ulcerative colitis in mice <i>Huang XY, Zhang T, Song YF</i>
CLINICAL PRACTICE	1234 Five-year efficacy of laparoscopic Nissen fundoplication versus anterior 180° partial fundoplication in the management of reflux esophagitis: A randomized controlled trial <i>Cai W, Qin MF, Zou FS, Li DY</i> 1238 Expression of TGF- β 1 and Smad2 in human gastric cancer <i>Shen WD, Liu PF, Liu BT, Xiang B, Zhang W</i> 1242 Comparison of gastric expression and serum levels of PGC in patients with various gastric diseases <i>Wang T, Feng YC, Wang H</i> 1246 Role of prophylactic antibiotics in the management of acute necrotizing pancreatitis: A meta-analysis <i>Rao CY, Hu CL, Zhao XY</i> 1252 Value of linear endoscopic ultrasonography in the diagnosis of rectal endometriosis <i>Li YP, Wang N, Zhang L, Zhu HM, Wang LS, Shi RY</i> 1256 Application of anisodamine to emergency digital subtraction angiography for abdominal organ hemorrhage <i>Xu LY, Li JY, Liu T, Lu JL</i> 1259 Efficacy of phloroglucinol in the treatment of patients after surgery for mixed hemorrhoid <i>Wu ZS, Liu LB, Tang GH, Deng QL</i>

CASE REPORT	<p>1263 Eosinophilic gastroenteritis: A case report <i>Zhao L, Zhao ZY, Bai Y, Zou DW, Li ZS</i></p> <p>1266 Acute pancreatitis secondary to primary liver cancer with hemobilia: A case report and literature review <i>Pang HF, Qin H, Li PY, Zhu L, Lu XY, Xu SN, Zhao HZ, Zhao Q</i></p>
APPENDIX	<p>1270 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p> <p>1275 Meeting events calendar in 2012</p>
ACKNOWLEDGMENT	1276 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group), Benxi 117000, Liaoning Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Shan-Shan Zhang</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i></p> <p>English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Shan-Shan Zhang</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i></p> <p>Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 18, 2012

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION
 Department of Science and Technology
 of Shanxi Province

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

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

PRINTING
 Beijing Kexin Printing House

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

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue
 RMB 2448 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2012 Published by *World Chinese Journal of Digestology (WCJD)*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2012 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

胆管癌的分子靶向治疗

李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道

李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科 上海消化外科研究所 上海市 200025
韩天权, 教授, 主要从事肝胆胰外科的基础与临床研究.

上海市科委医学导引基金资助项目, No. 08411968000

作者贡献分布: 本文由吴卫泽与李勤裕共同完成; 李勤裕负责胆管癌靶向治疗的实验研究; 张圣道与韩天权指导文章写作和研究方向.

通讯作者: 吴卫泽, 主任医师, 200025, 上海市瑞金二路197号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科. wuweize2003@163.com
电话: 021-64370045-666043 传真: 021-64373909

收稿日期: 2011-08-03 修回日期: 2012-03-22

接受日期: 2012-04-20 在线出版日期: 2012-05-18

Progress in molecularly targeted therapy for cholangiocarcinoma

Qin-Yu Li, Wei-Ze Wu, Tian-Quan Han, Sheng-Dao Zhang

Qin-Yu Li, Wei-Ze Wu, Tian-Quan Han, Sheng-Dao Zhang, Department of Surgery, the Affiliated Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine; Shanghai Institute of Digestive Surgery, Shanghai 200025, China

Supported by: Shanghai Science Foundation, Medical Branch, No. 08411968000

Correspondence to: Wei-Ze Wu, Chief Physician, Department of Surgery, the Affiliated Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine; Shanghai Institute of Digestive Surgery, 197 Ruijin 2nd Road, Shanghai 200025, China. wuweize2003@163.com

Received: 2011-08-03 Revised: 2012-03-22

Accepted: 2012-04-20 Published online: 2012-05-18

Abstract

Cholangiocarcinoma (CC) is an uncommon tumor that may arise anywhere from the biliary epithelium. Chinese CC patients account for more than 55% of CC cases in the world. Complete tumor resection has been recognized as the most effective therapy for CC. Unfortunately, only 10% of the patients are considered candidates for surgical resection. Long-term survival remains poor in these patients, and the 5-year survival rate is about 5%. Median survival of patients with the tumor unresectable is only a few months. Although standard systemic chemotherapy approaches are emerging, the prognosis remains poor. Molecularly targeted therapies are a new treatment for advanced CC. The results of recent clinical trials of targeted therapies for CC appear promising. This article will review the molecular

basis for targeted therapies for CC and evaluate recent clinical trials on targeted agents.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Treatment; Molecular target

Li QY, Wu WZ, Han TQ, Zhang SD. Progress in molecularly targeted therapy for cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1171-1177

摘要

胆管癌是起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 临床较少见. 中国胆管癌患者数较多, 因而胆管癌研究在我国具有特殊意义. 手术切除是所有胆管癌的最佳治疗, 但由于早期诊断困难, 仅10%患者得到手术治疗. 胆管癌患者术后5年生存率约5%, 未切除胆管癌患者生存期<1年. 胆管癌的临床化疗效果并不尽理想. 近期开展的进展期胆管癌分子靶向治疗临床研究是令人期待的探索. 本文归纳分析胆管癌靶向治疗药物的分子生物学基础以及临床探索的研究结果.

关键词: 胆管癌; 治疗; 分子靶向

李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道. 胆管癌的分子靶向治疗. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1171-1177

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1171.asp>

0 引言

胆管癌是起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 临床较少见, 与胆囊癌、壶腹癌同属于胆道癌. 1979年与1998年美国胆管癌发病率资料为1.4-1.7/100 000^[1]. 临床根据肿瘤部位将胆管癌分为肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, IHCC)、肝门胆管癌与肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, EHCC)^[2]. IHCC曾分类于原发性肝癌范畴, 由于病因、发病机制、病理学以及临床诊治都与肝细胞癌不同^[3], Blumgart以及Blechacz等^[4]和吴志勇等^[5]先后强调IHCC非原发性肝癌, 应归属于胆管癌. 肝门胆管癌又名Klatskin瘤, 是美国耶鲁大学医院内科医生

■背景资料

胆管癌是起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 临床较少见. 中国胆管癌患者数量较多, 因而胆管癌研究在我国具有特殊意义.

■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科

■研发前沿

手术切除虽然是所有胆管癌的最佳治疗,但由于早期诊断困难,仅10%患者得到手术治疗。胆管癌患者术后5年生存率约5%,未切除胆管癌患者生存期低于1年。胆管癌的临床化疗效果不尽理想。近期开展的进展期胆管癌分子靶向治疗临床研究是令人期待的探索。

Klatskin于1965年发表“肝门肝管分叉部腺癌”而命名^[6]。EHCC分为上、中、下3段。肝门胆管癌有时称为肝门周围胆管癌和上端胆管癌,由于邻近上段EHCC,在不少文献属于上段EHCC^[2],而中段EHCC较少,使胆管癌分类实际为肝内、肝门和远端3部分^[7,8]。中国胆管癌患者数较多,约占全球胆管癌的55%^[3]。因此,胆管癌研究在我国具有特殊意义。胆管癌发生与胆管结石^[9]、胆道细菌感染和寄生虫感染、原发性硬化性胆管炎、胆管囊肿(包括Caroli病与胆总管囊肿)、乙型和丙型肝炎以及遗传因素^[10]等有关。细菌感染的内毒素、炎症因子等使胆管细胞分泌多能细胞因子,促使细胞分裂,从胆管炎、慢性炎症刺激、胆管细胞增生、慢性增生性胆管炎转变为胆管细胞癌,发生进行性病理变化^[3]。根据肿瘤形态学和生长方式, IHCC分为肿块型、浸润型与胆管内生长型, EHCC为硬化型、结节型、乳头状型和弥漫型。胆管癌以高、中分化为多数,组织学有腺癌、印戒细胞癌、腺鳞癌、鳞状细胞癌及小细胞癌,其中以腺癌为最常见。

1 胆管癌治疗难点

手术切除是所有胆管癌的最佳治疗。但由于早期胆管癌缺乏特异症状,也无敏感肿瘤标记及内镜诊断方法^[11,12],因此,临床患者大多进入进展期和晚期,仅10%患者得到早期诊断,适合手术治疗^[7]。缺乏早期诊断使胆管癌患者术后5年生存率(与胆囊癌合计)仅5%^[13]。近年胆管癌R0根治性切除率上升到64%-71%,但切除后的5年生存率仅提高到21%-30%^[14]。肝源短缺及肝移植术后5年生存率与手术切除相似,使得肝移植只适用于早期胆管癌^[8],肝移植治疗进展期胆管癌需慎重考虑^[14]。未能切除的肝门胆管癌患者中位生存期3-4 mo,胆管引流(内镜胆管支架、胆肠吻合或手术外引流)增加生存期到4-10 mo^[15]。总之,未切除胆管癌患者生存期<1年^[8,16]。

胆管癌的临床化疗使用健择(gemcitabine)、顺铂、奥沙利铂、卡培他滨和5-氟尿嘧啶,单药或联合用药^[8]。Eckel等^[16]回顾1985-2006年包括胆囊癌在内的进展期胆道癌姑息化疗研究,并纳入1996-2006年美国临床肿瘤学会(American society of clinical oncology, ASCO)报道的研究摘要,包括小样本及非随机研究,合计研究资料112份,含1个三期和2个二期临床研究,共2 810例患者。化疗患者的反应率(完全反应和部分反应)22.6%,肿瘤控制率(完全反应、部分

反应和疾病稳定)57.3%,中位肿瘤进展期4.1 mo,中位总生存期8.2 mo。2009年ASCO会议, Valle报道410例胆管癌和胆囊癌患者的三期随机研究,支持健择联合顺铂的疗效优于健择单药,中位无进展生存期(8.0 mo vs 5.0 mo),总生存期(11.7 mo vs 8.1 mo),危险比0.64。总体上,目前尚无胆管癌的放疗和放、化疗标准方案^[13]。细胞研究显示胆管癌对放、化疗不敏感^[17]。光动力治疗可改善无法切除肝门胆管癌患者的症状,提高生存率,但仅为局部治疗措施^[18]。

因此,提高胆管癌治疗效果不但要努力提高早期诊断和根治性手术切除率,研制新的化疗药物和方法,还需探索新的治疗。胆管癌的分子靶向治疗是研究方向之一。

2 胆管癌靶向治疗药物的分子生物学机制

肿瘤靶向治疗通过干扰促进癌细胞生长的特异受体与信号途径发挥作用。靶向药物分单克隆抗体和小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)两种。受体酪氨酸激酶家族含表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及其受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、血小板来源生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)等。单克隆抗体作用方式是与细胞外部分的生长因子受体结合,抑制受体酪氨酸激酶信号;TKI则进入细胞内干扰下游信号^[19]。靶向药物的分子作用机制是治疗的基础,但不干扰DNA复制,不良反应相对较小,不同于化疗药物的毒性^[20]。原代培养胆管细胞显示,EGF、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、白介素6等能促进胆管细胞DNA合成^[3],进一步为胆管癌靶向治疗提供了依据。

2.1 对EGFR的靶向治疗 人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor, HER)家族成员HER-1、HER-2、HER-3与HER-4,其中HER-1又称为EGFR或ErbB-1^[21],为糖蛋白受体,通过结合其他EGFR家族成员以及磷酸化激活下游信号等发挥作用^[22]。EGFR突变或过表达会影响增生、转移等肿瘤病理机制。

EGFR靶向药物包括单克隆抗体和小分子TKI,前者抑制EGFR信号途径,后者作用于细胞内,两者的毒性亦不相同。小分子TKI分为4类^[15]:(1)选择性抑制EGFR,如erlotinib(厄洛替尼,又名Tarceva)和gefitinib(吉非替尼,又名Ir-

essa); (2)同时抑制EGFR和HER-2, 如lapatinib(拉帕替尼, 又名Tykerb, GW572016); (3)抑制所有4个EGFR成员; (4)联合抑制EGFR和VEGFR, 如vandetanib(又名ZACTIMA、ZD6474)和NVP-AEE788. 细胞和体内实验表明vandetanib对胆管癌靶向治疗有效, 其作用受KRAS突变制约^[23].

EGFR抗体cetuximab(西妥昔单抗, 又名Erbix、爱必妥)通过结合EGFR使之降解, 使肿瘤细胞表面受体下调, 抑制增殖, 使之凋亡, 同时提高放疗敏感性, 不良反应为躯干和面部皮疹. trastuzumab(曲妥珠单抗, 又名Herceptin、赫塞丁)作用于HER-2家族受体^[24], 其心脏毒性明显. 抗体Panitumumab(又名Vectibix)阻断受体结合, 但不使之降解.

2.2 对血管内皮生长因子的靶向治疗 正常细胞和肿瘤细胞都产生血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)来调节血管生成. VEGF为糖蛋白配体, 家族含6个异构体, 跨膜结合酪氨酸激酶受体, 继而激活信号传导, 增加血管通透性. 血管生成是肿瘤生长所必需, 靶向抑制VEGF可使肿瘤血供和新生血管形成减少, 肿瘤维持相对静止. 肿瘤细胞还过表达VEGFR, 对其抑制也能治疗肿瘤. 癌细胞产生血小板来源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和碱性成纤维细胞生长因子, 起同样作用.

Bevacizumab(贝伐珠单抗, 又名Avastin、阿伐斯丁)是美国FDA首个批准的VEGF抑制剂, 为人单克隆抗体, 通过结合抑制VEGF, 阻止与内皮细胞表面的FLT-1等受体结合, 抑制细胞增殖. 该药还使肿瘤细胞升高的间质压力降低, 增强化疗药进入癌细胞. 药物可结合VEGF所有异构体, 抑制形成新生血管, 使肿瘤血管减少, 破坏多种实体肿瘤. 其毒性涉及胃肠道穿孔、出血和血栓形成, 影响伤口愈合. Sorafenib(索拉菲尼、BAY 43-9006, 又名Nexavar)是小分子VEGF抑制剂, 与VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR、c-kit、Raf/Mek/Erk的信号通路和蛋白质激酶结合^[25], 抑制肿瘤血管生成, 是多激酶抑制剂^[26]. sunitinib(舒尼替尼, 又名Sutent)也作用于抗血管生成^[27].

2.3 对c-kit酪氨酸激酶受体的靶向治疗 治疗胃肠道间质瘤的Imatinib(伊马替尼, 又名Gleevec)是针对c-kit和PDGFR的小分子口服靶向抑制剂. sunitinib, 对c-kit、VEGFR-1-3以及PDGFR均有抑制作用. Kamenz检测发现EHCC的c-kit阳性率达37%(7/19例), 尽管是2例中度表达, 5例弱

表达^[28]. c-kit酪氨酸激酶受体靶向治疗可能使胆管癌患者潜在受益.

2.4 对c-Met/HGF的靶向治疗 促癌基因c-Met位于染色体7q, 编码HGF受体, 为酪氨酸激酶生长因子受体. HGF结合到c-Met, 促进细胞内酪氨酸激酶磷酸化后, 结合到受体的β亚单位. 半数以上胆管癌患者过表达c-Met^[29]. Farazi等^[30]通过小鼠模型证明IHCC过表达c-met达80%以上. 目前正研究与c-Met相关的胆管癌靶向治疗, 有多个药物针对c-Met及HGF作用, 可用于治疗胆管癌, AMG102、XL880等在动物实验和临床研究阶段^[31].

2.5 对环氧合酶-2的靶向治疗 环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)参与体内前列腺素的合成. 报道多数胆管癌患者和动物胆管癌上皮COX-2上调. COX-2作用表现为促癌细胞生长及生存, 在胆管癌发病机制中有重要意义^[32]. COX-2表达增加, 导致前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)合成增加. 在胆管上皮细胞以及癌细胞中检测到大量前列腺素. PGE2活化EGFR, 为胆管癌细胞生长的重要机制, 肿瘤生长受COX-2和PGE2所介导. 激活的EGFR进一步上调COX-2, 放大了COX-2、PGE2、EGFR的信号系统. 通常的非类固醇抗炎药物能抑制COX-1和COX-2, 选择性抑制COX-2有SC-236、NS-398和celecoxib等药物^[33].

2.6 EGFR与COX-2的联合靶向治疗 在胆管癌发生中存在ErbB2/HER-2表达与COX-2上调间的相关性^[33]. 由此, 瑞金医院采用免疫组织化学方法检测33例肝门胆管癌手术切除标本的肿瘤相关蛋白质表达率, 结果为EGFR 36.4%、磷酸化丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 75.8%、VEGF 57.6%、COX-2 93.9%, EGFR分别与磷酸化MARK、VEGF表达有关联. 临床相关的研究结果是, EGFR表达与淋巴管和神经侵犯相关, 磷酸化MARK与肝脏侵犯相关, 胆管癌患者EGFR表达阳性的中位生存期(15 mo)显著低于阴性组(35 mo). 鉴于EGFR在胆管癌患者的肿瘤侵犯性和COX-2在胆管癌患者的高表达, 以及胆管癌在EGFR活化后上调COX-2表达, 放大COX-2/PGE2/EGFR的信号作用^[34], 在此基础上采用细胞实验与裸鼠实验分别研究erlotinib抑制EGFR与celecoxib抑制COX-2的作用. 靶向药物对两个肝门胆管癌细胞株(QBC939, FRH)都有剂量依赖与时间依赖的抑制癌细胞生长作用, 两药联合的作用叠加. 抑

■ 相关报道

Eckel等回顾1985-2006年包括胆管癌在内的进展期胆道癌姑息化疗研究, 并纳入1996-2006年美国临床肿瘤学会(ASCO)报道的研究摘要, 包括小样本及非随机研究, 合计研究资料112份, 含1个三期和2个二期临床研究, 共2 810例患者.

同行评价

文章书写思路清晰、规范,意义明确,而且具有重要的临床意义。

制作用表现为诱导细胞凋亡,阻滞细胞周期于G₀-G₁期。裸鼠实验证实两药联合抑制胆管癌生长,同时见EGFR的下游蛋白MARK下调,VEGF表达降低。erlotinib和celecoxib抑制胆管癌的体内与体外实验结果^[35]为临床靶向治疗研究提供了依据。

3 胆管癌靶向治疗的临床探索

人类基因组测序研究完善了对基因与蛋白质的识别能力。对肿瘤发病机制与恶性肿瘤表型的认识,为设计靶向药物、临床分子靶向治疗研究和转化医学奠定基础。临床靶向治疗在结直肠癌^[36]、乳腺癌^[37]、胰腺癌^[38]、胃肠道基质瘤^[39]、肝细胞癌^[27]、肺癌^[40]等原发性和转移性肿瘤,以及肿瘤干细胞^[41]取得较大发展。

首次关于胆管癌EGFR等靶向蛋白表达的大样本队列研究(1991-2004年)共236例^[42],其中IHCC 106例, EHCC包括肝门胆管癌在内130例。IHCC患者的EGFR、VEGF与HER-2蛋白过表达率分别为27.4%、53.8%、0.9%, EHCC患者为19.2%、59.2%、8.5%。EHCC临床病理特征与EGFR过表达有关联的是肿块型、淋巴结转移、肿瘤分期与神经浸润,VEGF过表达与IHCC肝内转移有关。多因素分析显示EGFR表达提示IHCC肿瘤复发,是胆管癌的强烈预后指标,表达阳性的预后危险度2.67,对IHCC复发危险度1.89。研究表示EGFR表达与胆管癌进展有关,VEGF涉及血液转移。这项胆管癌治疗靶点的临床前期研究具有重要意义。

3.1 抑制EGFR的靶向治疗 针对EGFR(HER-1)的erlotinib二期临床靶向治疗研究^[43]共42例进展期胆管癌(未切除或转移)患者,EGFR表达率占81%。治疗后7例患者(17%)疾病无进展期为6 mo, 3例部分反应为4、4、14 mo的无进展期,中位总生存期7.5 mo。药物引起1-2级轻微皮疹,3例因2-3级皮疹而剂量减少。研究表示erlotinib对胆管癌治疗有益。近期Lubner^[44]报道erlotinib联合靶向VEGF的bevacizumab治疗53例胆道癌患者二期联合研究,6例(12%)部分反应,25例(51%)疾病稳定,无进展期4.4 mo,中位生存期9.9 mo,疗效受EGFR内含子1多态性与k-ras野生基因型的影响。该研究显示erlotinib联合bevacizumab靶向治疗的优点。2009年ASCO会议上,Malka等报道首次国际开放性胆道癌随机二期临床研究(BINGO),组1用单独GEMOX方案(健择和奥沙利铂),组2用GEMOX联合cetuxinab方

案,2 wk为1个周期。2007-10/2008-10有101例进入研究,86%有转移,76%为胆管癌。期中分析36例,组1和组2各完成6与8个中位治疗周期,4个月的疾病无进展期分别占44%、61%,显示靶向联合化疗略优于单纯化疗。两组有不同程度血细胞减少、周围神经病变、疲劳、胃肠道反应和皮疹过敏反应。2010年,Gruenberger等^[45]分析GEMOX联合cetuxinab的单组二期临床研究,30例胆道癌患者中19例(63%)获得客观反应,3例完全反应,16例部分反应。中位无进展生存期8.3 mo,中位总生存期12.7 mo,其中9例(30%)患者得到再次手术的潜在根治切除,13例出现3级不良反应,无4级反应。该研究结果令人鼓舞。活性小分子Lapatinib的胆道胰腺癌一期临床研究^[46],同时靶向作用于EGFR和HER-2,其阴性结果原因可能是肿瘤低表达HER-2。2009年Ramanathan的二期研究结果相同^[47]。上述临床研究表明,erlotinib无论单药或靶向联合都较有效地治疗进展期胆管癌,GEMOX化疗联合cetuxinab靶向治疗的前景尚待期盼。

3.2 bevacizumab抑制VEGF的靶向治疗 2006年报道首例用bevacizumab联合顺铂、大剂量氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸迅速缓解胆管癌肝转移^[48]。2007年开始bevacizumab联合GEMOX治疗未切除或转移胆道癌单组二期临床研究,治疗结果有效^[49]。25例胆管癌和10例胆囊癌患者中,14例获部分反应,10例(34%)疾病稳定,中位总生存期12.7 mo,中位无进展生存期7.0 mo,6 mo的无进展生存率达63%。出现可预期的3-4级毒性反应。

3.3 多激酶抑制剂sorafenib的靶向治疗 两项sorafenib二期研究结果相似。其一是2007年ASCO报道治疗转移胆道癌,36例进入研究,其中5例退出,1例无关死亡,2例患者部分反应,9例疾病稳定,20例疾病进展,有手足综合征、胃肠道穿孔与出血等较多不同药物反应。2007年与2008年的中位疾病无进展生存期为2 mo和76 d,估计中位生存期为6 mo和4.4 mo。治疗结果中等有效,毒性发生率高;其二是Bengala等^[50]报道的二期研究,共46例(27例IHCC,5例EHCC,14例胆囊癌)患者,36例完成45 d以上的单药治疗,26例(56%)接受过化疗。客观反应率2%,12 wk的疾病控制率32.6%,中位无进展生存率2.3 mo,中位总生存期4.4 mo。有皮疹、疲劳等毒性反应,22%治疗需要减量。结论是单药sorafenib对胆管癌治疗作用较弱,患者状况好的无进展生存期较长,不良反应可控。

3.4 其他靶向治疗 除了1例用Imatinib治疗胆管癌有效外^[51], 无临床研究证明Imatinib有治疗胆管癌作用, 但Wiedmann等^[52]研究发现胆道癌细胞表达c-kit和PDGF分别为50%和75%, 成为Imatinib治疗的基础。2009年Sprenger等在ASCO会议报道多中心二期研究, 用Imatinib结合5-氟尿嘧啶与甲酰四氢叶酸治疗无法切除/转移的41例胆道癌(19例胆囊癌, 22例胆管癌)患者, 经4个周期以上治疗, 15例疾病控制, 占可评估反应26例的58%, 其中1例完全反应, 1例部分反应, 13例疾病稳定。Wiedmann等^[52]双中心单组Imatinib二线前瞻性二期临床研究, 结果仅1例c-kit表达, 9例无客观反应, 6例疾病进展, 中位疾病进展时间2.8 mo, 中位生存期4.9 mo。由于胆管癌不表达c-kit, 建议Imatinib为一线治疗, 但不作二线治疗, 其与常规化疗的联合作用尚未经过研究。其他有针对蛋白酶抑制剂bortezomib靶向治疗的胆道癌二期临床研究(2009年ASCO会议), 和selumetinib(AZD6244)针对MAPK激酶靶向治疗的胆道癌临床研究(2009年AACR年会)。上述靶向治疗的作用尚不确定。

4 结论

通过胆管癌靶向治疗的临床研究, 初步探讨了erlotinib、cetuximab联合GEMOX、bevacizumab联合GEMOX治疗的有效性和在胆管癌治疗中的潜在地位。sorafenib治疗作用较弱及其毒性作用, 使sorafenib的临床应用受到一定影响。其他靶向药物的作用还不明确。从分子水平深入认识胆管癌的发病机制、早期与进展期胆管癌的特征; 认识胆管癌病理与发病的不同亚型, 亚型自身特性, 亚型间以及与临床的关联, 是胆管癌靶向治疗中需进一步研究的问题。目前尚无批准用于临床治疗胆管癌的靶向药物。靶向药物cetuximab与erlotinib的互相干扰, 靶向药物的配伍, erlotinib联合celecoxib的临床应用, sorafenib的不良反应等问题有待研究。若干胆管癌靶向治疗的预初临床研究结果仅见于ASCO等肿瘤会议, 有待成熟其研究结果。胆管癌的病例数相对较少, 制药企业的较低关注也制约胆管癌靶向治疗的发展。需要多家医疗单位参与的多中心联合研究可解决病例数较少的难点。任重道远, 胆管癌治疗期待靶向治疗的发展与突破。

5 参考文献

- Lazaridis KN, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. *Gastroenterology* 2005; 128: 1655-1667
- 黄志强, 林言箴, 祝学光, 吴在德. 腹部外科学理论与实践. 第2版. 北京: 科学出版社, 2011: 265-289
- 黄志强. 肝胆管外科的发展方向. *外科理论与实践* 2011; 16: 329-331
- Blechacz BR, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 131-150, ix
- 吴志勇, 罗蒙. 肝内胆管癌的新认识. *外科理论与实践* 2009; 14: 135-139
- Klatskin G. Adenocarcinoma of the hepatic duct at its bifurcation within the porta hepatis: An unusual tumor with distinctive clinical and pathological features. *Am J Med* 1965; 38: 241-256
- Chai RS, Shah SA. Biliary system. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, eds. *Sabiston textbook of surgery*. 18th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008: 1547-1588
- Hezel AF, Zhu AX. Systemic therapy for biliary tract cancers. *Oncologist* 2008; 13: 415-423
- Hsing AW, Gao YT, Han TQ, Rashid A, Sakoda LC, Wang BS, Shen MC, Zhang BH, Niwa S, Chen J, Fraumeni JF. Gallstones and the risk of biliary tract cancer: a population-based study in China. *Br J Cancer* 2007; 97: 1577-1582
- Hsing AW, Bai Y, Andreotti G, Rashid A, Deng J, Chen J, Goldstein AM, Han TQ, Shen MC, Fraumeni JF, Gao YT. Family history of gallstones and the risk of biliary tract cancer and gallstones: a population-based study in Shanghai, China. *Int J Cancer* 2007; 121: 832-838
- Malaguarnera G, Giordano M, Paladina I, Rando A, Uccello M, Basile F, Biondi A, Carnazzo S, Alessandria I, Mazzarino C. Markers of bile duct tumors. *World J Gastrointest Oncol* 2011; 3: 49-59
- Tamada K, Ushio J, Sugano K. Endoscopic diagnosis of extrahepatic bile duct carcinoma: Advances and current limitations. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 203-216
- Brown KM. Multidisciplinary approach to tumors of the pancreas and biliary tree. *Surg Clin North Am* 2009; 89: 115-131, ix
- Friman S. Cholangiocarcinoma--current treatment options. *Scand J Surg* 2011; 100: 30-34
- Wiedmann MW, Mössner J. Molecular targeted therapy of biliary tract cancer--results of the first clinical studies. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 834-850
- Eckel F, Schmid RM. Chemotherapy in advanced biliary tract carcinoma: a pooled analysis of clinical trials. *Br J Cancer* 2007; 96: 896-902
- He XR, Wu XP. Difference in biological characteristics and sensitivity to chemotherapy and radiotherapy between intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma cells in vitro. *Chin Med Sci J* 2008; 23: 54-59
- Ortner ME, Caca K, Berr F, Liebetruht J, Mansmann U, Huster D, Voderholzer W, Schachschal G, Mössner J, Lochs H. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology* 2003; 125: 1355-1363
- Riley LB, Desai DC. The molecular basis of cancer and the development of targeted therapy. *Surg Clin North Am* 2009; 89: 1-15, vii
- Zureikat AH, McKee MD. Targeted therapy for solid tumors: current status. *Surg Oncol Clin N Am* 2008; 17: 279-301, vii-viii
- Grandis JR, Sok JC. Signaling through the epidermal growth factor receptor during the development of malignancy. *Pharmacol Ther* 2004; 102: 37-46

- 22 Bednarz N, Blaut K, Sworczak K, Oseka T, Bielawski KP. The profile of ErbB/Her family genes copy number assessed by real-time PCR in parathyroid adenoma and hyperplasia associated with sporadic primary hyperparathyroidism. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 83-88
- 23 Yoshikawa D, Ojima H, Kokubu A, Ochiya T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Vandetanib (ZD6474), an inhibitor of VEGFR and EGFR signalling, as a novel molecular-targeted therapy against cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1257-1266
- 24 张俊, 朱正纲, 林言箴. 胃癌分子靶向治疗进展. *外科理论与实践* 2011; 16: 221-223
- 25 Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 2004; 64: 7099-7109
- 26 Villanueva A, Llovet JM. Targeted therapies for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2011; 140: 1410-1426
- 27 Zhu AX, Hezel AF. Development of molecularly targeted therapies in biliary tract cancers: reassessing the challenges and opportunities. *Hepatology* 2011; 53: 695-704
- 28 Kamenz T, Caca K, Blüthner T, Tannapfel A, Mössner J, Wiedmann M. Expression of c-kit receptor in human cholangiocarcinoma and in vivo treatment with imatinib mesilate in chimeric mice. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1583-1590
- 29 Terada T, Nakanuma Y, Sirica AE. Immunohistochemical demonstration of MET overexpression in human intrahepatic cholangiocarcinoma and in hepatolithiasis. *Hum Pathol* 1998; 29: 175-180
- 30 Farazi PA, Zeisberg M, Glickman J, Zhang Y, Kalluri R, DePinho RA. Chronic bile duct injury associated with fibrotic matrix microenvironment provokes cholangiocarcinoma in p53-deficient mice. *Cancer Res* 2006; 66: 6622-6627
- 31 Socoteanu MP, Mott F, Alpini G, Frankel AE. c-Met targeted therapy of cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2990-2994
- 32 Endo K, Yoon BI, Pairajkul C, Demetris AJ, Sirica AE. ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions. *Hepatology* 2002; 36: 439-450
- 33 Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacol Rep* 2010; 62: 233-244
- 34 Yoon JH, Higuchi H, Werneburg NW, Kaufmann SH, Gores GJ. Bile acids induce cyclooxygenase-2 expression via the epidermal growth factor receptor in a human cholangiocarcinoma cell line. *Gastroenterology* 2002; 122: 985-993
- 35 李勤裕, 施敏敏, 杨卫平, 彭承宏. 埃罗替尼和塞来昔布协同抑制胆管癌细胞生长. *外科理论与实践* 2010; 15: 398-405
- 36 Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, Idziaszczyk S, Harris R, Fisher D, Kenny SL, Kay E, Mitchell JK, Madi A, Jasani B, James MD, Bridgewater J, Kennedy MJ, Claes B, Lambrechts D, Kaplan R, Cheadle JP. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377: 2103-2114
- 37 Burstein HJ. Novel agents and future directions for refractory breast cancer. *Semin Oncol* 2011; 38 Suppl 2: S17-S24
- 38 Aggarwal S, Yadav S, Gupta S. EGFR targeted PLGA nanoparticles using gemcitabine for treatment of pancreatic cancer. *J Biomed Nanotechnol* 2011; 7: 137-138
- 39 Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, Heinrich MC, Tuveson DA, Singer S, Janicek M, Fletcher JA, Silverman SG, Silberman SL, Capdeville R, Kiese B, Peng B, Dimitrijevic S, Druker BJ, Corless C, Fletcher CD, Joensuu H. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347: 472-480
- 40 Gridelli C. First-line treatment for advanced non-small cell lung cancer harboring activating epidermal growth factor receptor mutation: epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors or chemotherapy? *Curr Opin Oncol* 2011; 23: 131-132
- 41 Mimeault M, Hauke R, Mehta PP, Batra SK. Recent advances in cancer stem/progenitor cell research: therapeutic implications for overcoming resistance to the most aggressive cancers. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 981-1011
- 42 Yoshikawa D, Ojima H, Iwasaki M, Hiraoka N, Kosuge T, Kasai S, Hirohashi S, Shibata T. Clinicopathological and prognostic significance of EGFR, VEGF, and HER2 expression in cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2008; 98: 418-425
- 43 Philip PA, Mahoney MR, Allmer C, Thomas J, Pitot HC, Kim G, Donehower RC, Fitch T, Picus J, Erlichman C. Phase II study of erlotinib in patients with advanced biliary cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3069-3074
- 44 Lubner SJ, Mahoney MR, Kolesar JL, Loconte NK, Kim GP, Pitot HC, Philip PA, Picus J, Yong WP, Horvath L, Van Hazel G, Erlichman CE, Holen KD. Report of a multicenter phase II trial testing a combination of biweekly bevacizumab and daily erlotinib in patients with unresectable biliary cancer: a phase II Consortium study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3491-3497
- 45 Gruenberger B, Schueller J, Heubrandtner U, Wrba F, Tamandl D, Kaczirek K, Roka R, Freimann-Pircher S, Gruenberger T. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 1142-1148
- 46 Safran H, Miner T, Resnick M, Dipetrillo T, McNulty B, Evans D, Joseph P, Plette A, Millis R, Sears D, Gutman N, Kennedy T. Lapatinib/gemcitabine and lapatinib/gemcitabine/oxaliplatin: a phase I study for advanced pancreaticobiliary cancer. *Am J Clin Oncol* 2008; 31: 140-144
- 47 Ramanathan RK, Belani CP, Singh DA, Tanaka M, Lenz HJ, Yen Y, Kindler HL, Iqbal S, Longmate J, Mack PC, Lurje G, Gandour-Edwards R, Dancey J, Gandara DR. A phase II study of lapatinib in patients with advanced biliary tree and hepatocellular cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64: 777-783
- 48 Tai CJ, Chiou HY, Wu CH, Pan S, Liu JD. Rapid resolution of liver metastasis from cholangiocarcinoma after bevacizumab with cisplatin and high-

- dose fluorouracil plus leucovorin. *Onkologie* 2006; 29: 179-180
- 49 Zhu AX, Meyerhardt JA, Blaszkowsky LS, Kam-badakone AR, Muzikansky A, Zheng H, Clark JW, Abrams TA, Chan JA, Enzinger PC, Bhargava P, Kwak EL, Allen JN, Jain SR, Stuart K, Horgan K, Sheehan S, Fuchs CS, Ryan DP, Sahani DV. Efficacy and safety of gemcitabine, oxaliplatin, and bevacizumab in advanced biliary-tract cancers and correlation of changes in 18-fluorodeoxyglucose PET with clinical outcome: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 48-54
- 50 Bengala C, Bertolini F, Malavasi N, Boni C, Aitini E, Dealis C, Zironi S, Depenni R, Fontana A, Del Giovane C, Luppi G, Conte P. Sorafenib in patients with advanced biliary tract carcinoma: a phase II trial. *Br J Cancer* 2010; 102: 68-72
- 51 Holcombe RF, Gu M, Imagawa D, Milovanovic T. Expression of Kit and platelet-derived growth factor receptors alpha and beta in cholangiocarcinoma, and case report of therapy with imatinib mesylate (STI571). *Anticancer Drugs* 2003; 14: 651-657
- 52 Wiedmann M, Kreth F, Feisthammel J, Deininger M, Mössner J, Caca K. Imatinib mesylate (STI571; Glivec)--a new approach in the treatment of biliary tract cancer? *Anticancer Drugs* 2003; 14: 751-760

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

三七总皂苷预处理对大鼠小肠缺血再灌注损伤的保护作用

钱忠义, 申丽娟, 王芳, 阮永华

■背景资料

小肠缺血性再灌注(IR)是一种常见的临床病理生理过程,在临床上发生IR时有可能启动全身炎症反应综合征(SIRS),因而肠黏膜屏障成为近年来缺血再灌注研究热点,其核心是肠黏膜通透性增高和细菌移位。

钱忠义, 申丽娟, 王芳, 阮永华, 昆明医科大学病理学教研室
云南省昆明市 650500

钱忠义, 高级实验师, 主要从事肝病病理研究。

作者贡献分布: 此课题由钱忠义与阮永华设计; 研究过程由钱忠义、申丽娟、王芳及阮永华操作完成; 论文撰写由钱忠义与阮永华完成。

通讯作者: 阮永华, 教授, 650500, 云南省昆明市呈贡新城雨花街道春融西路1168号, 昆明医科大学基础医学院。

rryyhhcn@yahoo.com.cn

电话: 0871-5922865

收稿日期: 2012-01-01 修回日期: 2012-01-17

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Pretreatment with Panax notoginseng saponins protects against small intestinal ischemia-reperfusion injury in rats

Zhong-Yi Qian, Li-Juan Shen, Fang Wang,
Yong-Hua Ruan

Zhong-Yi Qian, Li-Juan Shen, Fang Wang, Yong-Hua Ruan, Department of Pathology, Kunming Medical University, Kunming 650500, Yunnan Province, China

Correspondence to: Yong-Hua Ruan, Professor, Department of Pathology, Kunming Medical University, Kunming 650500, Yunnan Province, China. rryyhhcn@yahoo.com.cn

Received: 2012-01-01 Revised: 2012-01-17

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To explore the mechanism underlying the protective effect of Panax notoginseng saponins (PNS) against intestinal ischemia-reperfusion injury in rats.

METHODS: A rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury was generated. Rats were divided into four groups: sham-operation group, model control group, low- (200 mg/kg) and high-dose (400 mg/kg) PNS groups. After pretreatment with PNS, plasma levels of D-lactate and lipopolysaccharide (LPS) were determined. Samples of the liver, spleen, mesenteric lymph nodes and blood were taken for culturing aerobic bacteria. The expression of NF- κ B and TNF- α in the intestine was detected by immunohistochemistry. Cell apoptosis in the intestine was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated

ated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay.

RESULTS: The number of positive bacterial cultures in the liver, spleen, mesenteric lymph nodes and blood was significantly lower in the PNS group than in the model control group (all $P < 0.05$). Plasma levels of D-lactate and LPS were significantly lower in the PNS group (200 mg/kg, 400 mg/kg) than in the model control group (LPS: 461 EU/L, 320 EU/L vs 570 EU/L; D-lactate: 0.37 mmol/L, 0.31 mmol/L vs 0.44 mmol/L, both $P < 0.05$). Treatment with PNS reduced the expression of NF- κ B and TNF- α and the number of apoptotic cells in intestinal tissue (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Pretreatment with PNS protects against intestinal ischemia-reperfusion injury in rats possibly by reducing mucosal cell apoptosis and down-regulating NF- κ B and TNF- α expression in the small intestine.

Key Words: Ischemia-reperfusion; Panax notoginseng saponins; Small intestine

Qian ZY, Shen LJ, Wang F, Ruan YH. Pretreatment with Panax notoginseng saponins protects against small intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1178-1183

摘要

目的: 探讨三七总皂苷对大鼠小肠缺血再灌注(ischemia-reperfusion, IR)损伤的保护机制。

方法: 用肠系膜上动脉夹闭-松夹方式复制SD大鼠IR模型。检测血浆脂多糖和D-乳酸含量; 取血液、肝、脾、肠系膜淋巴结, 做细菌培养; 免疫组织化学检测小肠组织中的NF- κ B及TNF- α 表达; 用脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记技术检测小肠组织细胞凋亡。

结果: PNS组肝、脾、肠系膜淋巴结及血液细菌培养阳性数显著低于模型组($P < 0.05$); 三七总皂苷200 mg/kg和400 mg/kg PNS组血浆脂多糖浓度分别是461 EU/L, 320 EU/L, 与模型组(570 EU/L)比较差异显著($P < 0.05$); PNS组的血浆D-乳酸浓度分别是0.37 mmol/L, 0.31 mmol/L,

■同行评议者

白爱平, 副教授,
江西省南昌大学
第一附属医院消化病研究所

与模型组(0.44 mmol/L)比较差异显著($P<0.05$);三七总皂苷也可降低NF- κ B和TNF- α 的表达,且细胞凋亡数密度低于模型组。

结论:三七总皂苷通过降低NF- κ B和TNF- α 表达,减轻细胞因子对小肠的损伤,减少小肠黏膜细胞凋亡,发挥对小肠IR损伤的保护作用。

关键词: 缺血再灌注; 三七总皂苷; 小肠

钱忠义, 申丽娟, 王芳, 阮永华. 三七总皂苷预处理对大鼠小肠缺血再灌注损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1178-1183

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1178.asp>

0 引言

小肠缺血再灌注(ischemia-reperfusion, IR)是一种常见的临床病理生理过程,甚至发生在严重的心理创伤时^[1]。临床上发生IR时,肠源性细菌内毒素和缺氧等的共同作用使多种炎性介质和活性氧(reactive oxygen species, ROS)释放,导致肠道黏膜通透性升高^[2]。肠上皮细胞的凋亡和坏死也导致肠黏膜的不可逆性损伤,肠黏膜的正常屏障功能遭到破坏,导致肠道内细菌移居和内毒素入血^[3]。肠道中细菌产生的大量D-乳酸也透过受损的肠黏膜进入血液,使血液中D-乳酸水平升高。侵入机体的细菌和内毒素以及由此引发的细胞因子的连锁反应,有可能启动全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的发生。因而肠黏膜屏障成为近年来IR研究热点,其核心是肠黏膜通透性增高和细菌移位。三七总皂苷(panax notoginseng total saponins, PNS)是从三七中提取的有效活性成分。现代化学和药理学研究发现PNS在血液系统、心脑血管系统、神经系统、物质代谢以及抗炎、抗肿瘤等方面均有较好活性^[4,5]。

本研究针对IR损伤的有关因素,探索大鼠小肠IR病理过程中PNS对小肠黏膜屏障的保护作用。通过对IR小肠组织NF- κ B及TNF- α 表达进行检测,明确PNS对其表达的影响,应用脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated nick end labeling, TUNEL)技术检测IR小肠组织细胞凋亡,以研究实验中肠黏膜屏障的损伤机制及PNS对其影响。检测血液中脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)及D-乳酸,以研究实验中肠黏膜屏障通透性及PNS的影响。探索PNS对大鼠小肠IR损伤是否具有保护作用及作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级(specific pathogen free, SPF)SD大鼠80只,雌雄各半。体质量:雌鼠200-220 g,雄鼠350-380 g,由昆明医学院实验动物中心提供[合格证号: SCXK(滇)2008-2011]。PNS由昆明圣火制药有限公司提供(批号: 20080812)。

1.2 方法

1.2.1 分组: SD大鼠共分4组, 20只/组,即模型组、PNS 200 mg/kg、400 mg/kg PNS组和假手术组。

1.2.2 急性肠缺血再灌注: 采用肠系膜上动脉夹闭-松夹方式复制肠IR损伤模型^[6,7]。PNS组在建立模型12 h前灌胃给予PNS预处理。实验结束后取材,在取血浆及肝、脾、淋巴结后,再取IR回肠一段,用4%中性甲醛固定,用于免疫组织化学检查。

1.2.3 LPS: PNS组和模型组大鼠缺血1 h,再灌注1 h后,假手术组暴露肠系膜上动脉2 h后,采集肠系膜上静脉血,采用鲨实验偶氮显色法检测血浆LPS。

1.2.4 血浆D-乳酸: 采集肠系膜静脉血血浆标本,用肝素作为抗凝剂,采用酶联紫外分光光度法检测血浆D-乳酸^[8]。

1.2.5 肠道细菌移居培养: PNS组和模型组大鼠再灌注1 h后,假手术组暴露肠系膜上动脉2 h,按无菌手术要求,取肠系膜静脉血,取肝、脾、肠系膜淋巴结称质量匀浆,将肝、脾匀浆稀释2、4、8、16倍,淋巴结稀释成4、16、64、256。分别取1 mL移入含基础培养基的培养皿内,置入CO₂培养箱中做需氧细菌培养,48 h后观察结果。

1.2.6 免疫组织化学检测TNF和NF- κ B: 石蜡切片脱蜡至水,高温高压抗原修复,3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶的活性,非免疫小牛血清封闭,每张切片加50 μ L一抗,37 $^{\circ}$ C恒温箱作用1 h, PBS冲洗,每张切片加50 μ L二抗,37 $^{\circ}$ C恒温箱作用15 min, DAB显色5 min,苏木素复染,中性树脂胶封固。细胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性,阳性物用HPIA-2000图文分析系统定量分析,结果用吸光度(A)值来表示,A值越大,说明免疫组织化学阳性物质越多。

1.2.7 肠黏膜上皮细胞凋亡检测: 应用TUNEL技术检测IR小肠组织细胞凋亡,试剂购自美国Roche。组织切片用蛋白酶K(200 mg/L)在37 $^{\circ}$ C消化15 min, 50 μ L TdT加450 μ L荧光素标记的dUTP配成TUNEL反应混合液,阳性对照片预先经过加入100 μ L DNase处理,每片滴加TUNEL反应液37 $^{\circ}$ C孵育1 h。阴性对照片仅加50 μ L荧光素

■研究前沿

IR损伤机制复杂,救治困难,因而是近年研究热点。细胞因子和凋亡是IR组织损伤的重要基础。

■相关报道

Joep等研究显示, IR诱导补体C3及其产物激活, IR肠组织出现IL-8, IL-6及TNF- α mRNA强表达, 并伴以IL-6和IL-8释放进入血液循环, 认为人类肠道IR会诱导炎症, 具有补体活化, 生产并释放细胞因子进入血液循环, 内皮细胞激活, 嗜中性粒细胞涌入IR损伤组织等特征。

表 1 PNS对小肠缺血再灌注大鼠血浆LPS和D-乳酸浓度的影响 ($n=20$, mean \pm SD)

分组	剂量(mg/kg)	LPS浓度(EU/L)	D-乳酸浓度(mmol/L)
模型组	0	570 \pm 61	0.44 \pm 0.60
PNS组	200	461 \pm 54 ^a	0.37 \pm 0.44 ^a
PNS组	400	320 \pm 52 ^{a,c}	0.31 \pm 0.41 ^{a,c}
假手术组	0	270 \pm 44 ^a	0.27 \pm 0.13 ^a

^a $P<0.05$ vs 模型组; ^c $P<0.05$ vs PNS(200 mg/kg)。

标记的dUTP液。PBS漂洗2次, 滴加抗荧光素抗体-碱性磷酸酶复合物孵育37 $^{\circ}$ C 30 min。BCIP/NBT显色8 min。核快红复染3 min, 水性封片剂封片。结果为TUNEL凋亡细胞核呈蓝紫色, 正常细胞核呈红色。阳性细胞用HPIA-2000图文分析系统计数分析, 结果用数密度(凋亡细胞数/检测面积)表示, 数密度值越大, 表明凋亡细胞越多。

统计学处理 实验数据在Windows XP操作系统中, 应用SPSS11.5统计软件进行分析检验。对血浆LPS浓度、小肠组织免疫组织化学TNF- α 和NF- κ B的表达进行相关性统计分析。

2 结果

2.1 血浆内毒素及D-乳酸水平 PNS组血浆LPS浓度为320 EU/L, 明显低于模型组(570 EU/L, $P<0.05$), 但略高于假手术组。PNS组血浆D-乳酸比模型组低(0.31 mmol/L vs 0.44 mmol/L, $P<0.05$), 但接近假手术组水平(表1)。

2.2 脏器细菌移居培养 模型组培养阳性数较高, 20例SD大鼠中, 淋巴结、肝、脾和血液中培养的阳性数分别是19例、18例、18例和18例; PNS组相对较低, 20例PNS组(200 mg/kg)SD大鼠中, 在淋巴结、肝、脾和血液中培养的阳性数分别是12例、9例、9例和10例; 20例PNS组(400 mg/kg)SD大鼠中, 在淋巴结、肝、脾和血液中培养的阳性数分别是10例、8例、9例和7例。PNS组与模型组比较差异显著($P<0.05$), 假手术组全部为零(表2)。

2.3 小肠组织TNF- α 和NF- κ B的表达 绒毛上皮细胞浆内可见棕黄色的TNF- α 、NF- κ B阳性表达颗粒, 绒毛固有膜内淋巴细胞、单核细胞及中性粒细胞也有TNF- α 表达, 其中模型组表达强度最高, 假手术组呈弱表达(图1)。运用病理图文分析系统对表达结果做定量分析, PNS组TNF- α 和NF- κ B A值比模型组低($P<0.05$, 表3)。

2.4 TUNEL肠黏膜细胞凋亡检测 PNS能减少小肠组织细胞凋亡数密度(凋亡细胞阳性数/检测

表 2 PNS对缺血再灌注大鼠小肠细菌移居的影响 ($n=20$)

分组	剂量(mg/kg)	细菌培养阳性数			
		淋巴结	肝	脾	血
模型组	0	19	18	18	18
PNS组	200	12 ^a	9 ^a	9 ^a	10 ^a
PNS组	400	10 ^a	8 ^a	9 ^a	7 ^{a,c}
假手术组	0	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

^a $P<0.05$ vs 模型组; ^c $P<0.05$ vs PNS(200 mg/kg)。

表 3 PNS对缺血再灌注小肠组织TNF- α 和NF- κ B表达的影响 ($n=20$, mean \pm SD)

分组	剂量(mg/kg)	A值	
		TNF- α	NF- κ B
模型组	0	65.1 \pm 11.2	61.1 \pm 10.4
PNS组	200	25.2 \pm 4.0 ^a	43.1 \pm 6.1 ^a
PNS组	400	15.4 \pm 3.3 ^{a,c}	20.2 \pm 6.4 ^{a,c}
假手术组	0	2.90 \pm 0.9 ^a	1.50 \pm 2.3 ^a

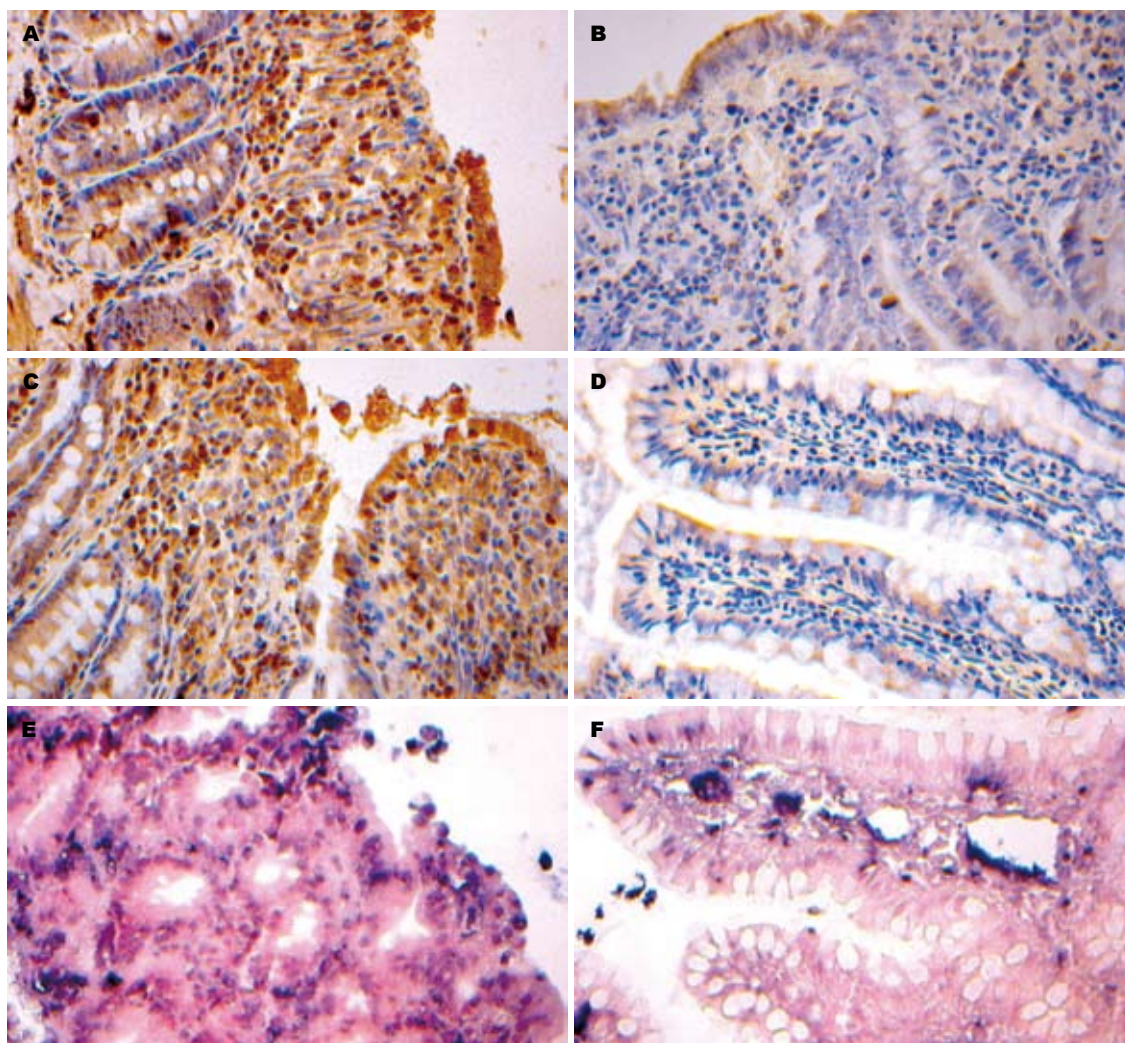
^a $P<0.05$ vs 模型组; ^c $P<0.05$ vs PNS(200 mg/kg)。

面积), 200和400 mg/kg PNS组细胞凋亡数密度依次为0.44 \pm 0.07、0.32 \pm 0.06, 模型组和假手术组依次为0.57 \pm 0.07、0.18 \pm 0.04, 组间比较差异显著($P<0.05$, 图1)。

2.5 相关性 LPS血浆浓度与TNF- α 、NF- κ B的表达均呈显著正相关($r=0.912$, $P<0.01$), 且TNF- α 和NF- κ B二者的表达也呈显著正相关($r=0.867$, $P<0.01$)。

3 讨论

在小肠IR损伤病理生理过程中, LPS是一个关键的损伤因素和重要观察指标。白细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞等都可能是LPS作用的靶细胞。LPS对这些细胞的激活或损伤导致多种病理过程的发生^[9]。内皮细胞受LPS刺激后可产生白介素(Interleukins, ILs)、生长因子和NO,



■创新盘点

本研究针对IR损伤的有关因素, 不仅仅研究作为结果的细胞凋亡和细菌移居, 而且检测小肠组织中的NF- κ B、TNF- α 、Bax及Bcl-2表达, 探索IR病理过程中PNS对小肠黏膜屏障的保护机制。

图1 小肠细胞免疫组织化学表达及细胞凋亡变化($\times 400$)。A: 模型组小肠绒毛细胞浆NF- κ B高表达; B: 400 mg/kg PNS组小肠绒毛细胞浆NF- κ B中等强度表达; C: 模型组小肠绒毛细胞浆TNF- α 高表达; D: 400 mg/kg PNS组小肠绒毛细胞浆TNF- α 中等强度表达; E: 模型组TUNEL细胞凋亡; F: 400 mg/kg PNS组TUNEL细胞凋亡。

表达黏附分子和激活NF- κ B, 这些变化在弥散性血管内凝血(diffuse intravascular coagulation, DIC)、脓毒血症和多系统器官功能衰竭(multiple system organ failure, MSOF)的发生中起重要作用^[10,11]。研究发现p38在LPS诱导TNF- α 生成中具有重要作用^[12,13]。通过一系列的分子之间信号传导机制, LPS可迅速引起细胞骨架蛋白的解聚和重组, 细胞与细胞间以及细胞与基底膜间的黏附连接松解, 细胞间缝隙形成, 最后导致微血管通透性升高和肠黏膜屏障的破坏^[14]。研究中, PNS组LPS明显低于模型组, 表明PNS对IR肠黏膜屏障具有较好保护作用, 从而阻止细菌及其产物LPS向肠外器官移位。发生IR情况时, 肠黏膜屏障遭到破坏, 肠黏膜上皮细胞间紧密连接破坏, 甚至黏膜上皮细胞坏死脱落, 因而大量LPS进入血液循环。进入血液循环的LPS将激活多种细胞, 产生大量细胞因子, 活化相关信号传

导通路, 导致组织细胞损伤。LPS刺激多种生物活性物质生成与释放, 激活补体系统和凝血系统, 这些活性物质作用于小血管造成功能紊乱而导致微循环障碍, 诱发DIC、低血压等^[15], 导致患者内毒素休克, 甚至发展为SIRS。

肠道内细菌移位产生的菌血症和败血症可能导致严重临床后果, 细菌移位在基础研究中可作为评价肠黏膜屏障功能可靠的重要指标^[16,17]。研究中模型组细菌培养阳性数较高, 表明模型组小肠黏膜屏障已受到损伤, 而PNS组细菌培养阳性数明显减少。研究结果表明PNS对肠黏膜屏障有良好保护作用, PNS预处理大鼠IR小肠仍然保留完整的阻挡细菌移位的肠黏膜屏障功能。

研究中, 模型组D-乳酸显著高于PNS组, 200 mg/kg与400 mg/kg PNS组血浆D-乳酸比较差异显著, 体现了PNS良好的量效关系。D-乳酸

应用要点

研究表明PNS具有减少NF- κ B、TNF- α 、Bax及Bcl-2的作用,挖掘三七的药理功效有助于三七在临床上的合理应用,并为发现三七的临床新用途提供科学依据。

是肠道固有细菌的代谢终产物。D-乳酸只有在D-乳酸脱氢酶的作用下才能被代谢,而人类以及哺乳类动物体内只有L-乳酸脱氢酶,血液中的少量D-乳酸主要通过尿路被排泄^[18]。因此血浆D-乳酸可以作为反应肠道IR损伤的有效标志物^[19]。本研究结果表明,PNS能够有效保护肠黏膜屏障损伤,其保护作用的有效性可通过检测血浆D-乳酸来反映。

引起IR损伤的细胞因子主要是一类具有炎症介质效应的趋化因子(chemokine)。这些趋化因子包括IL-1、IL-8、TNF- α 、中性粒细胞趋化因子(cytokine-induced neutrophil chemoattractant, CINC)和ICAM-1等。在对心肌IR损伤研究中,Bartee等^[20]认为TNF- α 产生的可能机制是IR过程中NF- κ B通过I κ B磷酸化或通过氧化应激反应直接被激活后^[21],NF- κ B就转位到细胞核内,激活包括TNF- α 基因在内的众多致炎因子,最终导致IR损伤的发生。研究显示,模型组TNF- α 呈高表达,特别是绒毛间质内的炎症细胞出现较多的TNF- α 表达。实验数据经相关性统计分析得出TNF- α 的表达量与血浆LPS浓度具有正相关性,模型组血浆LPS浓度较高时,小肠黏膜TNF- α 表达A值也较高,认为LPS能够诱导TNF- α 表达,这与Baregamian等^[22]研究一致。顾国嵘等^[23]研究认为PNS预处理早期通过抑制TNF- α 释放,对IR心肌产生早期保护作用,可见PNS可在减少LPS之外同样能够减少TNF- α 表达。研究结果显示,经PNS预处理的肠标本TNF- α 表达减少,与张毅等^[24]研究结论一致。可以认为,一方面PNS减少进入血液的LPS而降低TNF- α 表达,另一方面PNS也可能通过另外途径直接减少TNF- α 的表达。结果显示PNS能减少小肠TNF- α 表达,减轻TNF- α 导致的肠黏膜损伤。

NF- κ B通常与其抑制蛋白I κ B(inhibitor of NF- κ B)相结合,并以非活性状态贮存于细胞质中,在某些有效激活因子的作用下NF- κ B可被激活,从而进入细胞核发挥作用^[14]。有研究显示缺血和再灌注时产生的氧自由基可激活NF- κ B^[25,26],LPS也是激活NF- κ B的有效因子^[27]。唐旭东等^[28]研究提示PNS通过抑制核因子NF- κ B的活化,从而起到对IR心肌的保护作用。模型组小肠组织NF- κ B表达显著高于PNS组,经相关性分析表明NF- κ B表达与血浆LPS浓度及TNF- α 表达呈良好正相关性,有理由认为,血浆LPS浓度升高与小肠组织NF- κ B表达有某种关联,支持LPS可作为NF- κ B的激活因子的观点。激活的NF- κ B

继而通过复杂的分子转导机制,激活TNF- α 基因的转录与表达,最终导致组织细胞的损伤。研究中PNS组NF- κ B表达减少,说明PNS通过某种机制减少NF- κ B表达,最终减少TNF- α 等致炎性细胞因子的产生,从而发挥对IR损伤组织的保护作用。

肠黏膜细胞凋亡是IR发生过程中肠黏膜屏障损伤的重要机制之一^[29,30]。研究运用TUNEL技术检测小肠黏膜上皮细胞凋亡发现,模型组上皮细胞凋亡数密度明显增加,这表明细胞凋亡在IR导致损伤过程中扮演重要角色,而PNS能减少小肠组织细胞凋亡数密度。本研究结果也支持NF- κ B的活化在诱导上皮细胞凋亡过程中具有一定作用的观点。

总之,PNS预处理对IR肠黏膜屏障有良好保护作用,其有效性可通过细菌移位、血浆D-乳酸和LPS来反应。PNS预处理可通过减少NF- κ B及TNF- α 表达,减少IR小肠组织细胞凋亡发挥对小肠IR损伤的保护作用。

参考文献

- Li Q, Zhang Q, Xu G, Yin P, Li N, Li J. Metabonomics study of intestinal transplantation using ultrahigh-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Digestion* 2008; 77: 122-130
- Santos CH, Gomes OM, Pontes JC, Mijji LN, Bispo MA. The ischemic preconditioning and postconditioning effect on the intestinal mucosa of rats undergoing mesenteric ischemia/reperfusion procedure. *Acta Cir Bras* 2008; 23: 22-28
- Bretz B, Blaze C, Parry N, Kudej RK. Ischemic postconditioning does not attenuate ischemia-reperfusion injury of rabbit small intestine. *Vet Surg* 2010; 39: 216-223
- Huang YS, Yang ZC, Yan BG, Hu XC, Li AN, Crowther RS. Improvement of early postburn cardiac function by use of Panax notoginseng and immediate total eschar excision in one operation. *Burns* 1999; 25: 35-41
- Chan P, Thomas GN, Tomlinson B. Protective effects of trilinolein extracted from panax notoginseng against cardiovascular disease. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 1157-1162
- Sukhotnik I, Shehadeh N, Mogilner J, Shamir R, Helou H, Lurie M, Shiloni E. Beneficial effects of oral insulin on intestinal recovery following ischemia-reperfusion injury in rat. *J Surg Res* 2005; 128: 108-113
- Gomes OM, Brasileiro Filho G, Porto LA, Prata PH, Paixão Rde M. Ischemia-reperfusion histopathology alterations of the rabbit intestinal wall with and without exclusion of the collateral mesenteric circulation supply. *Acta Cir Bras* 2010; 25: 318-321
- Grootjans J, Thuijls G, Verdam F, Derikx JP, Lenaerts K, Buurman WA. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2: 61-69
- Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang PC, Ngan

- BY, McKay DM, Soderholm JD, Perdue MH, Sherman PM. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* 2006; 55: 1553-1560
- 10 Park SW, Chen SW, Kim M, Brown KM, Kolls JK, D'Agati VD, Lee HT. Cytokines induce small intestine and liver injury after renal ischemia or nephrectomy. *Lab Invest* 2011; 91: 63-84
- 11 Efsthathopoulos N, Tsaganos T, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kaldis P, Nicolaou V, Papalois A, Koutoukas P, Papachristou G, Giamarellou H. Early apoptosis of monocytes contributes to the pathogenesis of systemic inflammatory response and of bacterial translocation in an experimental model of multiple trauma. *Clin Exp Immunol* 2006; 145: 139-146
- 12 Seitz G, Warmann SW, Guglielmetti A, Heitmann H, Ruck P, Kreis ME, Fuchs J. Protective effect of tumor necrosis factor alpha antibody on experimental necrotizing enterocolitis in the rat. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1440-1445
- 13 Park JJ, Chung KY, Nam YS. Two-day fasting prior to intestinal ischemia-reperfusion injury on bacterial translocation in rats. *J Invest Surg* 2011; 24: 262-266
- 14 Hunninghake GW, Doerschug KC, Nymon AB, Schmidt GA, Meyerholz DK, Ashare A. Insulin-like growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 517-525
- 15 Hei ZQ, Gan XL, Huang PJ, Wei J, Shen N, Gao WL. Influence of Ketotifen, Cromolyn Sodium, and Compound 48/80 on the survival rates after intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 42
- 16 Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 40: 1-12
- 17 Grootjans J, Lenaerts K, Derikx JP, Matthijsen RA, de Bruïne AP, van Bijnen AA, van Dam RM, Dejong CH, Buurman WA. Human intestinal ischemia-reperfusion-induced inflammation characterized: experiences from a new translational model. *Am J Pathol* 2010; 176: 2283-2291
- 18 Assadian A, Assadian O, Senekowitsch C, Rotter R, Bahrami S, Fürst W, Jaksch W, Hagmüller GW, Hübl W. Plasma D-lactate as a potential early marker for colon ischaemia after open aortic reconstruction. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 31: 470-474
- 19 Herrera DJ, Morris K, Johnston C, Griffiths P. Automated assay for plasma D-lactate by enzymatic spectrophotometric analysis with sample blank correction. *Ann Clin Biochem* 2008; 45: 177-183
- 20 Bartee E, Mohamed MR, McFadden G. Tumor necrosis factor and interferon: cytokines in harmony. *Curr Opin Microbiol* 2008; 11: 378-383
- 21 Wang J, Qiao L, Li Y, Yang G. Ginsenoside Rb1 attenuates intestinal ischemia-reperfusion-induced liver injury by inhibiting NF-kappaB activation. *Exp Mol Med* 2008; 40: 686-698
- 22 Baregamian N, Song J, Bailey CE, Papaconstantinou J, Evers BM, Chung DH. Tumor necrosis factor-alpha and apoptosis signal-regulating kinase 1 control reactive oxygen species release, mitochondrial autophagy, and c-Jun N-terminal kinase/p38 phosphorylation during necrotizing enterocolitis. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2: 297-306
- 23 顾国嵘, 黄培志, 葛均波, 童朝阳, 姚晨玲, 施东伟, 樊帆. 缺血及三七总皂苷预处理对心肌缺血—再灌注损伤的保护作用. *中华急诊医学杂志* 2005; 14: 307-309
- 24 张毅, 叶启发, 明英姿, 许贤林, 肖建生, 李运明. 三七总皂苷预处理大鼠供肝对细胞凋亡及TNF- α 、Caspase-3表达的影响. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 172-176
- 25 Wright CJ, Zhuang T, La P, Yang G, Dennery PA. Hyperoxia-induced NF-kappaB activation occurs via a maturationally sensitive atypical pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296: L296-L306
- 26 De Plaen IG, Liu SX, Tian R, Neequaye I, May MJ, Han XB, Hsueh W, Jilling T, Lu J, Caplan MS. Inhibition of nuclear factor-kappaB ameliorates bowel injury and prolongs survival in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 2007; 61: 716-721
- 27 Arndt PG, Suzuki N, Avdi NJ, Malcolm KC, Worthen GS. Lipopolysaccharide-induced c-Jun NH2-terminal kinase activation in human neutrophils: role of phosphatidylinositol 3-Kinase and Syk-mediated pathways. *J Biol Chem* 2004; 279: 10883-10891
- 28 唐旭东, 姜建青, 姜大春, 侯常文, 刘宝玉, 顾大勇. 三七总皂苷对心肌缺血再灌注中中性粒细胞核因子- κ B活化及其粘附的影响. *中国药理学通报* 2002; 18: 556-560
- 29 Vyas D, Robertson CM, Stromberg PE, Martin JR, Dunne WM, Houchen CW, Barrett TA, Ayala A, Perl M, Buchman TG, Coopersmith CM. Epithelial apoptosis in mechanistically distinct methods of injury in the murine small intestine. *Histol Histopathol* 2007; 22: 623-630
- 30 Bedirli N, Akyürek N, Kurtipek O, Kavutcu M, Kartal S, Bayraktar AC. Thoracic epidural bupivacaine attenuates inflammatory response, intestinal lipid peroxidation, oxidative injury, and mucosal apoptosis induced by mesenteric ischemia/reperfusion. *Anesth Analg* 2011; 113: 1226-1232

同行评价

本文探讨了三七总皂苷预处理对大鼠小肠IR损伤的保护作用, 选题准确, 具有一定的临床意义。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

丁酸钠对DMH诱导大鼠肠道肿瘤的作用

朱丹, 王爱英, 金珠

■背景资料

关于DMH诱导大鼠大肠肿瘤模型已经成熟, 但对于DMH诱导小肠肿瘤的研究甚少. 丁酸钠(NaBt)作为一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 对肿瘤的抑制作用成为众多学者研究的热点, 观点也不统一.

朱丹, 王爱英, 金珠, 北京大学第三医院消化科 北京市100191

朱丹, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究.

作者贡献分布: 此课题由王爱英设计; 研究过程由王爱英与金珠指导, 朱丹完成; 研究所用试剂及分析工具由王爱英提供; 数据分析由朱丹完成; 本论文写作由朱丹与王爱英共同完成.

通讯作者: 王爱英, 主任医师, 100191, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院消化科. wangaiy@bjmu.edu.cn

电话: 010-82265533

收稿日期: 2011-12-16 修回日期: 2012-03-30

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Effect of sodium butyrate on DMH-induced small intestinal and large intestinal tumors in rats

Dan Zhu, Ai-Ying Wang, Zhu Jin

Dan Zhu, Ai-Ying Wang, Zhu Jin, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Correspondence to: Ai-Ying Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China. wangaiy@bjmu.edu.cn

Received: 2011-12-16 Revised: 2012-03-30

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To investigate whether 1,2-dimethylhydrazine (DMH) can induce small intestinal tumors in rats and to examine the effect of sodium butyrate on DMH-induced small intestinal and large intestinal tumors.

METHODS: Eighty male Wistar rats were randomly divided into four groups: DMH group, DMH + NaBt group, NaBt group, and control group. After 30-32 weeks, rats were euthanized with an overdose of intravenous pentobarbital (200 mg/kg). After laparotomy, the small intestine and large intestine were dissected. The location, number, shape and size of intestinal tumors were examined and recorded. All tissues were subjected to hematoxylin and eosin (H&E) staining to observe histological changes.

RESULTS: The mortality rate of rats was 60.00% (18/30) in the DMH group and 48.00% (12/25) in the DMH + NaBt group. The intestinal tu-

mor incidence was 66.67% (8/12) in the DMH group with four small intestinal tumors and twelve large intestinal tumors observed. Four rats beared a single tumor while other four rats had multiple tumors. The mean number of beared tumors was 1.33. The intestinal tumor incidence was 84.62% (11/13) in the DMH + NaBt group with three small intestinal tumors and sixty large intestinal tumors observed. Six rats beared a single tumor while other five rats had multiple tumors. The mean number of beared tumors was 1.46. There were no significant differences in tumor incidence and mean tumor number between the DMH + NaBt group and DMH group. The large intestinal tumor incidence was significantly higher than the small intestinal tumor incidence in both the DMH group and DMH + NaBt group (75.00% vs 25.00%, $P < 0.05$; 84.21% vs 15.79%, $P < 0.01$). There were significant differences in average tumor volume (37.50% vs 73.68%, $P < 0.05$) and tumor infiltration depth (43.75% vs 10.53%, $P < 0.05$) between the DMH group and DMH + NaBt group.

CONCLUSION: These results suggest that small intestinal tumors can also be induced by DMH. Sodium butyrate can increase tumor malignancy by increasing tumor volume and infiltration depth.

Key Words: 1,2-Dimethylhydrazine; Sodium butyrate; Small intestinal tumors; Large intestinal tumors

Zhu D, Wang AY, Jin Z. Effect of sodium butyrate on DMH-induced small intestinal and large intestinal tumors in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1184-1190

摘要

目的: 观察1,2-二甲基肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)是否可以诱导出小肠肿瘤, 并与大肠进行比较. 并探讨丁酸钠(sodium butyrate, NaBt)对DMH诱导肠道肿瘤的作用.

方法: 实验动物用SPF级♂ Wistar大鼠, 大小为

■同行评议者

黄培林, 教授, 东南大学肿瘤学

8-9周龄, 共分4组: DMH组、DMH+NaBt组、NaBt组、对照组. 实验30-32 wk之后过量麻醉使大鼠安乐死, 取出小肠和大肠, 观察肿瘤部位、数量、大小等; 然后用10%甲醛固定, 制作病理切片, 观察各部位组织学改变.

结果: 实验结束时DMH组大鼠死亡率60.00% (18/30), DMH+NaBt组死亡率48.00% (12/25). DMH组肠道肿瘤发生率66.67% (8/12), 4只肿瘤单发, 4只多发, 荷瘤率1.33 (16/12), 小肠肿瘤4个, 大肠肿瘤12个; DMH+NaBt组肠道肿瘤发生率84.62% (11/13), 6只为单发肿瘤, 5只多发, 荷瘤率1.46 (19/13), 小肠肿瘤3个, 大肠肿瘤16个. 两组之间肿瘤发生率及荷瘤率均无统计学差异. 无论是DMH组还是DMH+NaBt组, 结肠肿瘤发生率都高于小肠肿瘤, 统计学有显著性差异 (75.00% vs 25.00%, $P<0.05$; 84.21% vs 15.79%, $P<0.01$). DMH组中肿瘤平均体积 $>0.05\text{ cm}^3$ 个数占37.5%; DMH+NaBt组中肿瘤平均体积 $>0.05\text{ cm}^3$ 个数占73.68%, 两组肿瘤大小有统计学差异 (37.50% vs 73.68%, $P<0.05$). 与DMH+NaBt组相比, DMH组浸润深度多局限于黏膜层内, 有统计学差异 (43.75% vs 10.53%, $P<0.05$).

结论: DMH也可诱导大鼠小肠肿瘤的发生, 但发生率明显低于大肠肿瘤; NaBt可能促进肿瘤生长, 关于NaBt对DMH诱导的肠道肿瘤作用仍需做进一步的深入研究.

关键词: 1,2-二甲基肼; 丁酸钠; 小肠肿瘤; 大肠肿瘤

朱丹, 王爱英, 金珠. 丁酸钠对DMH诱导大鼠肠道肿瘤的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1184-1190
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1184.asp>

0 引言

有关大肠肿瘤的研究已有许多文献报道, 用1,2-二甲基肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)诱导大肠肿瘤的动物模型也已经成熟, 但是药物诱导小肠肿瘤动物模型报道很少, DMH对小肠肿瘤的诱导作用更是甚少报道. 丁酸钠(sodium butyrate, NaBt)作为一种去乙酰化酶抑制剂, 对DMH诱导动物大肠肿瘤的作用是近年研究的热点, 观点也不统一. 本研究用DMH诱导大鼠肠道肿瘤, 在观察大肠肿瘤形成的同时, 重点观察DMH是否可以诱导出小肠肿瘤, 并与大肠进行比较. 同时研究NaBt对DMH诱导的肠道肿瘤的作用, 为NaBt是否具有抗肿瘤特性提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物采用SPF级♂ Wistar大鼠, 大小为8-9周龄, 体质量约260 g. 饲养环境为北京大学医学部动物中心SPF实验室, 恒温、恒湿条件下喂养, 控制每日光照使昼夜时间各12 h, 饲料、水均不受限制. 动物购自北京维通利华实验动物技术有限公司, SPF级饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供. 实验药物DMH和NaBt均购自Sigma公司.

1.2 方法

1.2.1 肠道肿瘤模型的构建: 实验大鼠共分4组: (1)DMH组(30只), 实验第1天单次腹腔注射DMH(120 mg/kg, ip), 分别于第5周和第7周再次腹腔注射(20 mg/kg, ip); (2)DMH+NaBt组(25只), DMH给药方式同上, NaBt给药方法为实验开始第1天用动物饮用水配制为1.5%浓度供大鼠日常饮用, 每日1次, 现用现配; (3)NaBt组(15只), NaBt给药方法同上; (4)Control组(10只), 生理盐水注射, 给药方式同DMH. 动物实验经北京大学生物医学伦理委员会批准.

1.2.2 观察项目和取材: 实验过程中观察大鼠一般情况: 毛发色泽、腹部膨隆程度, 饮食、排便、营养状况、活跃状态、对刺激反应, 肛门有无红肿、糜烂, 每周观察体质量变化情况. 实验30-32 wk过量麻醉使大鼠安乐死, 充分暴露腹腔, 取出小肠和大肠, 将肠道沿纵轴剪开, 照相并记录肿瘤数量、部位、大小、肿瘤平均体积 = 长 \times (宽²/2)^[1], 转移等. 取肿瘤和瘤旁约2-3 cm的组织, 全层充分展开固定于10%甲醛溶液中, 经过脱水、透明、石蜡包埋、5 μm 厚连续切片, HE染色, 观察各部位组织学改变. 正常取材部位包括空肠、回肠和结肠.

统计学处理 用SPSS18.0统计软件包对数据进行 χ^2 检验, t 检验, 以 $P<0.05$ 判定为有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 实验结束时, DMH组大鼠死亡率60.00% (18/30), DMH+NaBt组死亡率48.00% (12/25), 两组比较无统计学差异; NaBt组和Control组各死亡1只. 解剖后多发现大鼠肠管胀气, 未发现肠道肿瘤和结节形成, 死亡原因可能为肠梗阻或自然死亡. 实验最初6 wk, 各组大鼠毛发光泽, 毛白顺滑, 饮食排便正常, 对刺激反应活跃. 实验6 wk后, 与Control组比较, DMH组和DMH+NaBt组大鼠毛发枯黄粗糙, 饮水、进

■ 研发前沿

目前DMH诱导大鼠大肠肿瘤的模型, 主要用于一些肿瘤抑制剂的观察和研究. NaBt对肿瘤的抑制作用也是近年来研究的热点和重点, 其对肿瘤作用的机制仍需进一步深入研究.

■相关报道

在NaBt对肿瘤生长的研究中发现,NaBt可以诱导前列腺癌、膀胱癌、子宫内膜癌等肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤的生长.对大肠癌的作用观点不一,对小肠癌的作用罕见文献报道.

表 1 各组大鼠肠道肿瘤发生率和荷瘤率

	DMH组(<i>n</i> = 12)	DMH+NaBt组(<i>n</i> = 13)	NaBt组(<i>n</i> = 14)	Control组(<i>n</i> = 9)
小肠肿瘤(个/只)	4/2	3/2	0/0	0/0
小肠肿瘤发生率(%)	16.67	15.38	0	0
小肠荷瘤率(%)	0.33	0.23	0	0
结肠肿瘤(个/只)	12/7	16/11	0/0	0/0
大肠肿瘤发生率(%)	58.33	84.62	0	0
大肠荷瘤率(%)	1.00	1.23	0	0

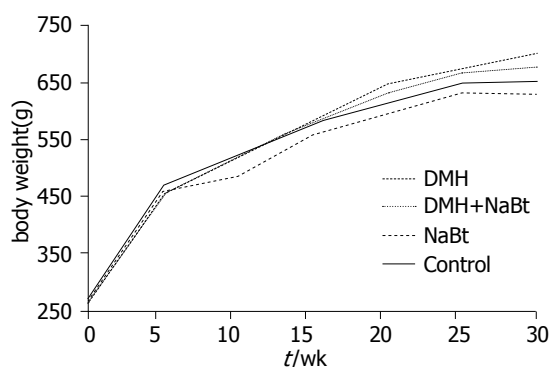


图 1 各组大鼠体重变化.

食、排便明显减少,经常表现为困倦呆滞状,蜷缩少动,对刺激反应缓慢.NaBt组饮水、进食、精神等正常,排稀便且量增多,体质量增长比其他组缓慢.

2.2 体质量生长变化 前6 wk大鼠体质量增长较快,6 wk以后体质量增长减缓,26 wk后各组体质量增长进入平台期(图1).前6 wk各组大鼠之间的体质量无显著性差异,实验6-16 wk,DMH组、DMH+NaBt组、Control组体质量变化与NaBt组体质量变化比较有显著性差异($P < 0.05$),后者体质量增加缓慢,DMH组、DMH+NaBt组和Control组之间大鼠体质量无显著性差异;16 wk以后各组之间体质量比较无显著性差异,实验结束时各组大鼠平均体质量分别为:DMH组 $699.33 \text{ g} \pm 86.82 \text{ g}$,DMH+NaBt组 $676.15 \text{ g} \pm 93.79 \text{ g}$,NaBt组 $631.73 \text{ g} \pm 62.06 \text{ g}$,Control组 $653.70 \text{ g} \pm 74.15 \text{ g}$,各组间比较均无显著性差异.

2.3 肿瘤发生情况

2.3.1 肿瘤数目: DMH组肠道肿瘤发生率66.67% (8/12),4只大鼠单发,4只多发,其中1只大鼠小肠和大肠共有肿瘤4个;DMH+NaBt组肠道肿瘤发生率84.62%(11/13),6只单发,5只多发,其中2只大鼠小肠和大肠共有肿瘤6个.DMH组1只大鼠出现大肠多发肿瘤并周围淋巴结转移;DMH+NaBt组1只出现小肠、大肠多发肿

瘤及腹腔广泛转移.DMH组共发现肿瘤16个,荷瘤率1.33(16/12),其中小肠肿瘤4个,大肠肿瘤12个;DMH+NaBt组共发现肿瘤19个,荷瘤率1.46(19/13),其中小肠肿瘤3个,大肠肿瘤16个,两组比较无统计学差异.无论是DMH组还是DMH+NaBt组,结肠肿瘤发生率都明显高于小肠肿瘤,有统计学差异(DMH组75.00% vs 25.00%, $P < 0.05$; DMH+NaBt组84.21% vs 15.79%, $P < 0.01$).两组之间大肠肿瘤发生率无显著性差异,荷瘤率无显著性差异.NaBt组和Control组未见肿瘤(表1).

2.3.2 肿瘤的部位和大小: DMH组小肠肿瘤1个位于十二指肠,3个位于空肠,最大径0.2-0.8 cm;DMH+NaBt组小肠肿瘤3个均位于空肠,最大径0.4-3.2 cm,小肠肿瘤体积略大于DMH组.DMH组位于大肠近、中、远端1/3处的肿瘤个数分别为4、1、7(其中2个在直肠);DMH+NaBt组位于大肠近、中、远端1/3处的肿瘤个数分别为7、2、7(其中2个在直肠).DMH组结肠肿瘤最大径 $< 0.5 \text{ cm}$, $0.5 \text{ cm} < \text{最大径} < 1 \text{ cm}$ 以及 $> 1 \text{ cm}$ 的肿瘤个数分别为6、4、2;DMH+NaBt组对应依次为4、9、2个.DMH组肿瘤平均体积 $< 0.05 \text{ cm}^3$ 有10个, $> 0.05 \text{ cm}^3$ 有6个;DMH+NaBt组肿瘤平均体积 $< 0.05 \text{ cm}^3$ 有5个, $> 0.05 \text{ cm}^3$ 有14个,DMH组和DMH+NaBt组肠道肿瘤平均体积有统计学差异($P < 0.05$).

2.3.3 肿瘤生长方式: DMH组小肠肿瘤2个向腔外生长,2个向腔内生长,大肠肿瘤1个向腔外生长,11个向腔内生长;DMH+NaBt组小肠肿瘤2个向腔外生长,1个向腔内生长,大肠肿瘤2个向腔外生长,14个向腔内生长.向腔外生长的肿瘤最大径均 $> 0.5 \text{ cm}$.两组大鼠小肠肿瘤均以腔外生长方式为主,大肠肿瘤均以腔内生长方式为主(图2).

2.3.4 肿瘤及瘤旁组织学改变和浸润深度: DMH组和DMH+NaBt组小肠肿瘤分化均较差,病理

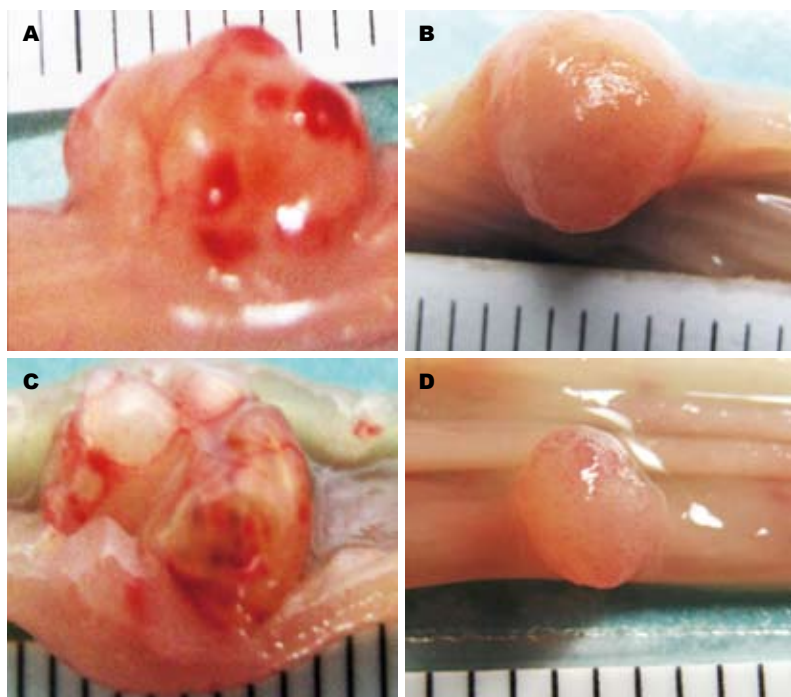


图 2 肿瘤生长方式. A: DMH组小肠肿瘤腔外生长; B: DMH组大肠肿瘤腔内生长; C: DMH+NaBt组小肠肿瘤腔外生长; D: DMH+NaBt组大肠肿瘤腔内生长.

■应用要点

由于DMH不仅可成功诱导出大鼠大肠肿瘤,也可诱导出小肠肿瘤,可作为小肠肿瘤发生、发展及肿瘤抑制剂进一步研究的实验基础;并与大肠进行对照,找出两者肿瘤发生的异同点.

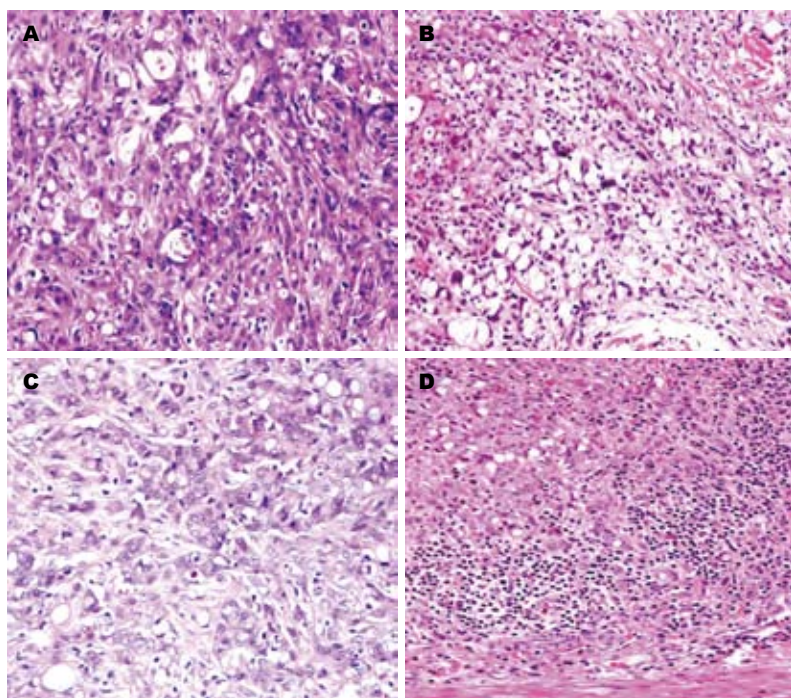


图 3 肿瘤病理类型HE染色(×200). A: DMH组小肠低分化管理腺癌; B: DMH组大肠印戒细胞癌; C: DMH+NaBt组小肠低分化管理腺癌; D: DMH+NaBt组大肠低分化腺癌.

类型为低分化管理腺癌(图3A, C)、印戒细胞癌和黏液腺癌. DMH组和DMH+NaBt组大肠肿瘤均以管状腺癌为主,前者管状腺癌1个,高中分化管理腺癌5个,中低分化管理腺癌5个,印戒细胞癌1个(图3B);后者高中分化管理腺癌6个,中低分化管理腺癌7个,低分化腺癌2个(图3D),印戒细胞癌1个. 两组小肠肿瘤瘤旁组织学改变为黏膜层有少量淋巴细胞浸润;大肠肿瘤瘤旁组织学改变除了黏膜层大量淋巴细胞浸润外,11个瘤旁有淋巴滤泡形成,并可

见增生的淋巴滤泡浸润黏膜层和黏膜下层(图4). DMH组肿瘤浸润深度以黏膜层为主,7个在黏膜内生长,2个浸润至黏膜下层,7个侵犯固有肌层或浆膜层;DMH+NaBt组2个在黏膜内生长,9个浸润至黏膜下层,8个侵犯至肌层或浆膜层. 与DMH+NaBt组相比,DMH组浸润深度多局限于黏膜层内,有统计学差异($P<0.05$). NaBt组3只大鼠组织学改变有大肠黏膜腺体萎缩,其余和Control组一样,肠壁组织无明显炎性细胞浸润.

■同行评价

本研究重点观察和比较DMH诱导大鼠小肠肿瘤和/或大肠肿瘤的作用,同时观察NaBt对DMH诱导肠道肿瘤的作用。文稿具有一定的科学性、实用性和可读性。

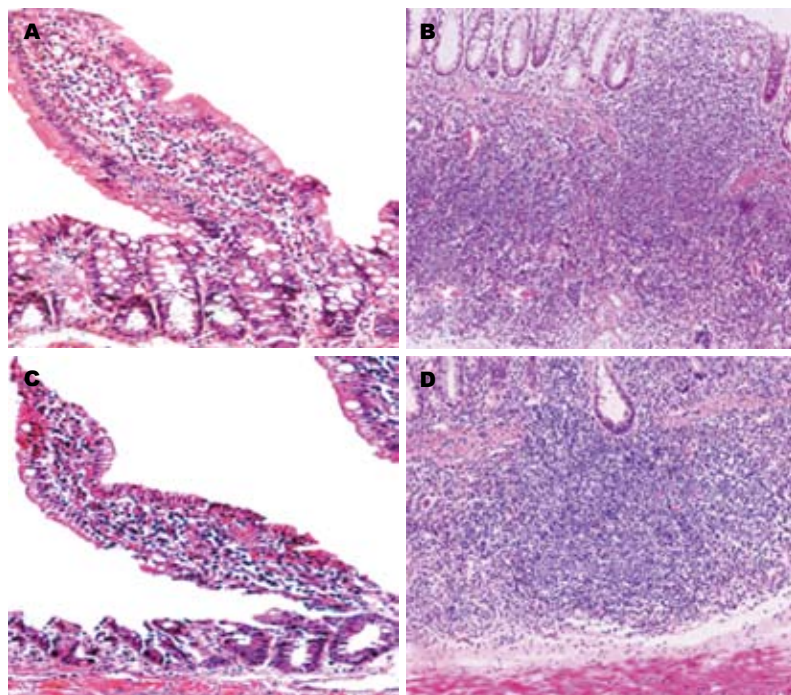


图4 瘤旁组织($\times 100$)。A: DMH组小肠肿瘤瘤旁,可见少量淋巴细胞;B: DMH组大肠肿瘤瘤旁,可见黏膜层和黏膜下层大量淋巴细胞浸润;C: DMH+NaBt组小肠肿瘤瘤旁可见少量淋巴细胞;D: DMH+NaBt组大肠肿瘤瘤旁,可见黏膜层和黏膜下层大量淋巴细胞浸润。

3 讨论

有关肠道肿瘤的研究主要集中于结直肠部位,自1970年Druckrey首次报道用DMH成功诱导出大鼠结肠肿瘤模型以来,该模型已经广泛应用于结直肠肿瘤的研究。但是DMH诱导大鼠小肠肿瘤的研究罕有报道。Thurnherr等^[2]用DMH诱导大鼠结直肠肿瘤约35 wk后,从直肠到升结肠均见肿瘤生长,尤其集中在距肛门2-4 cm处,但小肠并未见肿瘤形成,小肠黏膜炎性反应与对照组相比也没有明显差异。Rogers等^[3]用DMH诱导大鼠38 wk后,发现除了结直肠有肿瘤形成外,十二指肠和空肠也有肿瘤生成,但并没有对小肠肿瘤进行详细描述,也没有和大肠进行对比。本研究以DMH诱导Wistar大鼠肠道肿瘤为实验模型,观察DMH诱发小肠和大肠肿瘤的情况。实验结果显示DMH不仅可诱导出大鼠大肠肿瘤,也可成功诱导出小肠肿瘤,但小肠肿瘤发生率明显低于大肠肿瘤($P<0.05$),与临床发病非常类似。

DMH组和DMH+NaBt组中有4只大鼠形成7个小肠肿瘤,其中3只同时伴有大肠肿瘤形成,这可能与大鼠个体差异、药物敏感性以及肿瘤易感性有关。与大肠肿瘤相比,两组小肠肿瘤体积均较大,以腔外生长方式为主,组织学恶性度较高,病理类型以低分化管状腺癌,印戒细胞癌和黏液腺癌为主,除1个为黏膜内癌,其他均浸润到肌层和浆膜层。两组大鼠中有18只共有28个大肠肿瘤,肿瘤大小不一,以腔内生长方式为主,仅DMH组大肠有1个管状腺癌,半数以上

病理类型为中低分化管状腺癌,部分伴印戒细胞癌和黏液腺癌。DMH组和DMH+NaBt组大肠肿瘤以黏膜层和黏膜下层浸润为主(15/28)。小肠和大肠瘤旁的组织学改变也有不同,小肠瘤旁组织黏膜内仅可见少量淋巴细胞浸润,而在大肠瘤旁黏膜和黏膜下层却可见大量淋巴细胞浸润及淋巴滤泡形成。这可能是大肠黏膜在DMH刺激下,使反应性淋巴细胞增生更明显。无论是DMH组还是DMH+NaBt组,小肠肿瘤发生率明显低于大肠肿瘤,差异有显著性($P<0.05$, $P<0.01$)。

肿瘤的形成和细胞的增殖、凋亡失衡有关,小肠自身的凋亡保护机制可能是小肠肿瘤低发的原因之一。Potten等^[4]通过对人类肠道细胞的研究发现,DMH引起肠道细胞凋亡的主要部位并不相同,小肠细胞凋亡更多出现在小肠隐窝干细胞处,大肠细胞凋亡主要在隐窝顶部上皮。说明在致癌因素作用下,小肠出现异常的干细胞自动凋亡,防止突变的干细胞进展成为肿瘤细胞,而结肠干细胞凋亡能力远不如前者,突变在干细胞分化和生长过程中逐渐累积,最终可能导致肿瘤的发生。近年,研究结果显示正常人类小肠组织细胞凋亡水平远高于结肠组织,机制可能与Bax、Bid蛋白的高表达和Bcl-x1低表达有关^[5,6]。也有研究表明DMH诱导大肠肿瘤可能与Wnt/ β -catenin、PI3K/PTEN/Akt信号转导通路有关^[7,8],并与线粒体改变有关^[9]。本研究结果中小肠肿瘤的发生率低于大肠肿瘤可能与小肠

和大肠的凋亡部位、凋亡水平、凋亡途径及凋亡相关蛋白表达水平不同有关。

NaBt是一种纤维膳食类四碳短链脂肪酸, 促进肠道蠕动, 这可能与本实验NaBt组大鼠排便增多, 6-16 wk体质量增长缓慢的现象有关($P<0.05$)。NaBt可以促进肠道营养, 改善肠黏膜损害和减少炎性浸润, 口服NaBt可以治疗溃疡性结肠炎并且降低患结肠癌的风险^[10,11]。NaBt的肠道营养作用可能解释本实验16 wk后NaBt组体质量与其他组无差异的原因。NaBt作为一种重要的组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 通过抑制核小体组蛋白去乙酰化, 减少组蛋白去乙酰化酶对转录的抑制, 使转录因子激活特异性调控基因, 使细胞周期受到阻滞从而抑制肿瘤生长。文献报道, NaBt可以诱导结直肠癌^[12]、胰腺癌^[13]、前列腺癌^[14]、膀胱癌^[15]、子宫内膜癌^[16]、白血病^[17]、嗜铬细胞瘤^[18]等肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤的生长。但对NaBt用于消化系统肿瘤的治疗研究出现2种不同观点。

一方面, 很多研究者认为NaBt可以减少由DMH诱发的大鼠结直肠肿瘤数目和降低肿瘤恶性程度^[19], 并且可以显著减少DMH诱发的Wistar大鼠结直肠异型隐窝灶(ACF)的发生^[20]。有研究表明NaBt抑制肿瘤生长除了与抑制组蛋白去乙酰化酶活性有关外, 还可能参与其促进肿瘤细胞凋亡的机制: (1)NaBt以一种SOCE依赖方式引起结肠肿瘤细胞凋亡, 即NaBt可促进内质网 Ca^{2+} 释放入胞浆中, 引起细胞外 Ca^{2+} 大量内流进而引发细胞凋亡^[21]; (2)NaBt使人结肠腺瘤COLO205细胞系对内源性线粒体凋亡途径和TNF- α 依赖的外源性细胞凋亡途径更敏感^[12,22]; (3)也有报道NaBt促进肿瘤细胞凋亡是通过线粒体途径而并非TNF- α 途径^[23], NaBt通过促使caspase-10的表达引起细胞凋亡^[24]; (4)NaBt促凋亡与细胞膜上死亡受体(DR4/5)的高表达有关, 后者可激活TGF- β 依赖的凋亡通路Smad3蛋白; NaBt促使细胞凋亡也与下调抗凋亡蛋白(cFLIP, XIAP)和活化促凋亡蛋白tBid的表达密切相关^[25]。有研究显示在大鼠肠道形成肿瘤过程中, NaBt使黏膜上皮凋亡指数上调, 但是对肿瘤增殖及ACF的形成并无作用^[26]。

但是另一方面, Silva等^[27]报道NaBt并不能有效预防结直肠肿瘤的进展, Caderni等^[28]也发现NaBt不能有效减少大鼠患肠道肿瘤的概率。本研究以DMH诱导Wistar大鼠肠道肿瘤为研究模型, 观察NaBt对肠道肿瘤的作用。结果

显示用NaBt后, 虽然DMH+NaBt组死亡率低于DMH组, DMH组大肠肿瘤发生率(58.33%)低于DMH+NaBt组(84.62%), 但两组之间肠道肿瘤发生率、荷瘤率、肿瘤生长方式和组织学类型均无统计学差异。但是NaBt对肠道肿瘤大小和浸润深度有统计学差异($P<0.05$, $P<0.05$), 表现为DMH+NaBt组肿瘤平均体积 $\geq 0.5 \text{ cm}^3$ 的个数多于DMH组, 且肿瘤浸润较DMH组深, 仅2个为黏膜内浸润。提示NaBt可能促进肠道肿瘤的生长和浸润。在肿瘤早期, NaBt可以抑制肿瘤的发生^[29], 这可能与NaBt的免疫调节作用^[30-32]有关, 但在肿瘤生长晚期, 由于NaBt的肠道营养作用, 在长期营养肠道细胞的同时可能也促使了肿瘤细胞的生长。因此关于NaBt可否用于肠道肿瘤的预防及治疗仍需做进一步的深入研究。

致谢 感谢北京大学第三医院消化科病理室及中心实验室为本论文工作提供的帮助和指导。

4 参考文献

- 1 Naito S, von Eschenbach AC, Giavazzi R, Fidler IJ. Growth and metastasis of tumor cells isolated from a human renal cell carcinoma implanted into different organs of nude mice. *Cancer Research* 1986; 46: 4109-4115
- 2 Thurnherr N, Deschner EE, Stonehill EH, Lipkin M. Induction of adenocarcinomas of the colon in mice by weekly injections of 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Res* 1973; 33: 940-945
- 3 Rogers AE, Herndon BJ, Newberne PM. Induction by dimethylhydrazine of intestinal carcinoma in normal rats and rats fed high or low levels of vitamin A. *Cancer Res* 1973; 33: 1003-1009
- 4 Potten CS, Li YQ, O'Connor PJ, Winton DJ. A possible explanation for the differential cancer incidence in the intestine, based on distribution of the cytotoxic effects of carcinogens in the murine large bowel. *Carcinogenesis* 1992; 13: 2305-2312
- 5 Gao C, Wang AY. Significance of increased apoptosis and Bax expression in human small intestinal adenocarcinoma. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 1139-1148
- 6 郭文娟, 王爱英, 高春. 小肠腺癌组织的细胞凋亡及相关蛋白Bid和Bcl-xL的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1127-1133
- 7 Allameh A, Dadkhah A, Rahbarizadeh F, Ashrafi-Helan J, Fatemi F. Effect of dietary caraway essential oils on expression of β -catenin during 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic carcinogenesis. *J Nat Med* 2012 Mar 15. [Epub ahead of print]
- 8 Vaish V, Sanyal SN. Role of Sulindac and Celecoxib in the regulation of angiogenesis during the early neoplasm of colon: Exploring PI3-K/PTEN/Akt pathway to the canonical Wnt/ β -catenin signaling. *Biomed Pharmacother* 2012 Feb 17. [Epub ahead of print]
- 9 Saini MK, Sanyal SN, Vaiphei K. Piroxicam and C-phycocyanin mediated apoptosis in 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride induced colon carcino-

- genesis: exploring the mitochondrial pathway. *Nutr Cancer* 2012; 64: 409-418
- 10 Vieira EL, Leonel AJ, Sad AP, Beltrão NR, Costa TF, Ferreira TM, Gomes-Santos AC, Faria AM, Peluzio MC, Cara DC, Alvarez-Leite JL. Oral administration of sodium butyrate attenuates inflammation and mucosal lesion in experimental acute ulcerative colitis. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 430-436
- 11 D'Argenio G, Cosenza V, Delle Cave M, Iovino P, Delle Valle N, Lombardi G, Mazzacca G. Butyrate enemas in experimental colitis and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gastroenterology* 1996; 110: 1727-1734
- 12 Pajak B, Gajkowska B, Orzechowski A. Sodium butyrate sensitizes human colon adenocarcinoma COLO 205 cells to both intrinsic and TNF-alpha-dependent extrinsic apoptosis. *Apoptosis* 2009; 14: 203-217
- 13 Masaki K, Hiroyuki S, Sumiya I, Shinichi U, Shoji N. Effects of a histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, on 53-kDa protein expression and sensitivity to anticancer drugs of pancreatic cancer cells. *Curr Ther Res* 2010; 71: 162-172
- 14 Kim J, Park H, Im JY, Choi WS, Kim HS. Sodium butyrate regulates androgen receptor expression and cell cycle arrest in human prostate cancer cells. *Anticancer Res* 2007; 27: 3285-3292
- 15 Wang D, Wang Z, Tian B, Li X, Li S, Tian Y. Two hour exposure to sodium butyrate sensitizes bladder cancer to anticancer drugs. *Int J Urol* 2008; 15: 435-441
- 16 Kato K, Kuhara A, Yoneda T, Inoue T, Takao T, Ohgami T, Dan L, Kuboyama A, Kusunoki S, Takeda S, Wake N. Sodium butyrate inhibits the self-renewal capacity of endometrial tumor side-population cells by inducing a DNA damage response. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1430-1439
- 17 dos Santos MP, Schwartzmann G, Roesler R, Brunetto AL, Abujamra AL. Sodium butyrate enhances the cytotoxic effect of antineoplastic drugs in human lymphoblastic T-cells. *Leuk Res* 2009; 33: 218-221
- 18 Cayo MA, Cayo AK, Jarjour SM, Chen H. Sodium butyrate activates Notch1 signaling, reduces tumor markers, and induces cell cycle arrest and apoptosis in pheochromocytoma. *Am J Transl Res* 2009; 1: 178-183
- 19 Medina V, Afonso JJ, Alvarez-Arguelles H, Hernández C, González F. Sodium butyrate inhibits carcinoma development in a 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon cancer. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1998; 22: 14-17
- 20 Peluzio M, Moreira A, Queiroz I, Dias C, Franceschini S, Alvarez-leite J, Natali A, Sabarense C. Oral administration of sodium butyrate reduces chemically induced preneoplastic lesions in experimental. *Revista de Nutrição* 2009; 22: 717-725
- 21 Sun S, Li W, Zhang H, Zha L, Xue Y, Wu X, Zou F. Requirement for store-operated calcium entry in sodium butyrate-induced apoptosis in human colon cancer cells. *Biosci Rep* 2012; 32: 83-90
- 22 Pajak B, Orzechowski A. Sodium butyrate-dependent sensitization of human colon adenocarcinoma COLO 205 cells to TNF-alpha-induced apoptosis. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58 Suppl 3: 163-176
- 23 Wang L, Luo HS, Xia H. Sodium butyrate induces human colon carcinoma HT-29 cell apoptosis through a mitochondrial pathway. *J Int Med Res* 2009; 37: 803-811
- 24 Nohara K, Yokoyama Y, Kano K. The important role of caspase-10 in sodium butyrate-induced apoptosis. *Kobe J Med Sci* 2007; 53: 265-273
- 25 Pajak B, Orzechowski A, Gajkowska B. Molecular basis of sodium butyrate-dependent proapoptotic activity in cancer cells. *Adv Med Sci* 2007; 52: 83-88
- 26 Caderni G, Luceri C, Lancioni L, Tessitore L, Dolara P. Slow-release pellets of sodium butyrate increase apoptosis in the colon of rats treated with azoxymethane, without affecting aberrant crypt foci and colonic proliferation. *Nutr Cancer* 1998; 30: 175-181
- 27 Silva FG, Penido LC, Valente FX, Mendes MC, Rosa DD, Glória MB, Peluzio Mdo C. Sodium butyrate does not decrease the evolution of precancerous lesions in rats. *Acta Cir Bras* 2010; 25: 507-512
- 28 Caderni G, Luceri C, De Filippo C, Salvadori M, Giannini A, Tessitore L, Dolara P. Slow-release pellets of sodium butyrate do not modify azoxymethane (AOM)-induced intestinal carcinogenesis in F344 rats. *Carcinogenesis* 2001; 22: 525-527
- 29 Wong CS, Sengupta S, Tjandra JJ, Gibson PR. The influence of specific luminal factors on the colonic epithelium: high-dose butyrate and physical changes suppress early carcinogenic events in rats. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 549-559
- 30 Segain JP, Raingeard de la Blétière D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C, Ferrier L, Bonnet C, Blottière HM, Galmiche JP. Butyrate inhibits inflammatory responses through NFkappaB inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 397-403
- 31 Lührs H, Gerke T, Müller JG, Melcher R, Schaubert J, Boxberge F, Scheppach W, Menzel T. Butyrate inhibits NF-kappaB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 458-466
- 32 Inan MS, Rasoulpour RJ, Yin L, Hubbard AK, Rosenberg DW, Giardina C. The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF-kappaB activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology* 2000; 118: 724-734

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证的相关性

秦蕾, 张军峰, 杨亚平, 李 谨, 佟书娟, 张春兵, 赵旺胜, 杨学文, 邱 红, 董 伟, 詹 臻

秦蕾, 张军峰, 杨亚平, 佟书娟, 董伟, 詹臻, 南京中医药大学
中西医结合学科 江苏省南京市 210046
李谨, 南京医科大学口腔医学研究所 江苏省南京市 210029
张春兵, 杨学文, 江苏省中医院 江苏省南京市 210029
赵旺胜, 江苏省人民医院 江苏省南京市 210029
邱红, 中国人民解放军第八一医院 江苏省南京市 210002
秦蕾, 硕士, 讲师, 主要从事中西医结合慢性流行病学研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 30973715; No. 81001502
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008461
江苏高校优势学科建设工程基金资助项目(PAPD)
作者贡献分布: 秦蕾负责调查表设计、数据分析、论文撰写; 佟书娟与董伟负责信息调查; 杨亚平负责舌苔辨证和中医诊断信息设计; 李谨、张春兵、赵旺胜、杨学文及邱红负责样本取材; 詹臻与张军峰负责课题设计、协调、文章审阅和修改。
通讯作者: 詹臻, 教授, 210046, 江苏省南京市仙林大道138号, 南京中医药大学中西医结合学科。zhanzhan5607@sina.com
电话: 025-85811925
收稿日期: 2012-02-21 修回日期: 2012-03-25
接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Association between CDH1 gene polymorphisms and tongue coatings in patients with gastric adenocarcinoma

Lei Qin, Jun-Feng Zhang, Ya-Ping Yang, Jin Li, Shu-Juan Tong, Chun-Bing Zhang, Wang-Sheng Zhao, Xue-Wen Yang, Hong Qiu, Wei Dong, Zhen Zhan

Lei Qin, Jun-Feng Zhang, Ya-Ping Yang, Shu-Juan Tong, Wei Dong, Zhen Zhan, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China
Jin Li, School of Stomatology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Chun-Bing Zhang, Xue-Wen Yang, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Wang-Sheng Zhao, People's Hospital of Jiangsu, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hong Qiu, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30973715 and 81001502; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008461; the Priority Academic Program of Jiangsu Higher Education Institutions
Correspondence to: Zhen Zhan, Professor, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 138 Xianlin Road, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China. zhanzhan5607@sina.com
Received: 2012-02-21 Revised: 2012-03-25
Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To investigate the association between

CDH1 gene polymorphisms and tongue coatings in patients with gastric adenocarcinoma.

METHODS: PCR-RFLP method was used to detect the polymorphisms of the CDH1 gene in 387 patients with gastric adenocarcinoma and 392 normal control subjects.

RESULTS: The percentages of subjects not eating on time, those eating salty flavor, and smoking subjects were higher in the gastric adenocarcinoma group than in the control group ($\chi^2 = 9.124, P = 0.010$; $\chi^2 = 74.409, P < 0.001$; $\chi^2 = 18.019, P < 0.001$). The frequencies of regularly eating soy products and fresh fruit in the gastric adenocarcinoma group were significantly lower than those in the control group ($\chi^2 = 10.669, P = 0.014$; $\chi^2 = 59.905, P < 0.001$). The frequencies of mutated genotypes of rs13689 and rs17690554 and yellow tongue coating were significantly higher in the case group than in the control group ($\chi^2 = 4.064, P = 0.044$; $\chi^2 = 5.868, P = 0.015$).

CONCLUSION: CDH1 gene polymorphisms may be associated with the change in tongue coatings in patients with gastric adenocarcinoma.

Key Words: Gastric adenocarcinoma; CDH1 gene; Gene polymorphism; Tongue coatings

Qin L, Zhang JF, Yang YP, Li J, Tong SJ, Zhang CB, Zhao WS, Yang XW, Qiu H, Dong W, Zhan Z. Association between CDH1 gene polymorphisms and tongue coatings in patients with gastric adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1191-1198

摘要

目的: 研究CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证的关系。

方法: 应用连接酶检测反应, 对387例胃腺癌患者和392例健康对照的CDH1基因的4个位点进行基因分型, 并且按中医舌诊辨证要求, 由中医诊断学专家进行舌色、舌质的诊断。

结果: 胃腺癌组不按时吃饭的比例高于对照组($\chi^2 = 9.124, P = 0.010$), 胃腺癌组与对照

■背景资料

胃癌中医证型的大样本研究发现, 舌象是中医胃癌临床证候分类的重要指标, 对于判断疾病的性质、推断病情的进退和预测疾病预后有着重要的作用。

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■相关报道

E-cad编码基因CDH1是已经确认的肿瘤抑制基因,已有研究表明CDH1基因5'端启动子区rs16260位点的单核苷酸多态性,可下调基因的转录活性,导致蛋白表达水平下调,增加对上皮性肿瘤的易感性。

组相比饮食口味偏咸($\chi^2 = 74.409, P < 0.001$),胃腺癌组的吸烟率高于对照组($\chi^2 = 18.019, P < 0.001$),胃腺癌组经常吃豆制品的频率明显低于对照组($\chi^2 = 10.669, P = 0.014$),并且其经常吃新鲜水果的频率明显低于对照组($\chi^2 = 59.905, P < 0.001$). rs13689、rs17690554位点携带突变基因型并且苔色为黄色的个体在病例组的分布频率明显高于对照组($\chi^2 = 4.064, P = 0.044$; $\chi^2 = 5.868, P = 0.015$). 两组人群在各位点同一基因型的不同苔质的差异均具有统计学意义($P < 0.050$).

结论: CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证有一定关联,本研究结果有助于揭示胃腺癌患者基因位点突变与舌苔形成和变化的科学内涵。

关键词: 胃腺癌; CDH1基因; 基因多态性; 舌苔

秦蕾, 张军峰, 杨亚平, 李谨, 佟书娟, 张春兵, 赵旺胜, 杨学文, 邱红, 董伟, 詹臻. CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1191-1198
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1191.asp>

0 引言

胃腺癌是中国人群常见的恶性肿瘤之一,有关其病变过程从中医和西医的角度众多专家给予了不同的解释. 中医认为,舌为“心之苗,胃之镜,外感温热病之候”,舌诊是中医临床望诊的重要内容之一,对临床辨证论治有重要诊断价值,为历代医家所重视^[1,2],也是识病养生、自我康复的重要判断指标^[3]. 近代医家在进行舌诊时,将各种舌象特征作精细的诊察和描述,其中舌苔(包括苔色和苔质)在辨证中的价值最大^[4]. 胃癌中医证型的大样本研究发现,舌象是中医胃癌临床证候分类的重要指标,对于判断疾病的性质、推断病情的进退和预测疾病预后有着重要的作用^[5]. 因此,在胃的病变过程中,观察舌苔变化可了解病邪的深浅、病证的性质、邪正的消长及胃气的存亡^[6].

许多研究发现E-钙粘蛋白(E-cad)介导的细胞间黏附作用在胃腺癌发生、发展及转移过程中发挥重要作用,其在癌组织中表达异常是胃腺癌重要的恶性生物学特征,可能成为胃腺癌恶性程度的一种生物学指标^[7-9]. E-cad编码的基因为CDH1,是一种肿瘤抑制基因和肿瘤转移抑制基因,定位于16q 22.1,其产物为Ca²⁺依赖性细胞黏附分子,几乎表达于所有的上皮细胞,对于介导同型细胞的黏附、维持上皮细胞的极性和

完整性至关重要,与多种上皮来源的恶性肿瘤的发生、发展、侵袭转移密切相关^[10]. 本课题组的前期研究结果表明E-cad在不同舌苔中表达差异显著且具有明显的规律^[11]. 从基因角度来看,在胃腺癌发生发展和患者舌苔形成过程中,基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可能也是一个重要影响因素,参与基因表达的调控^[12].

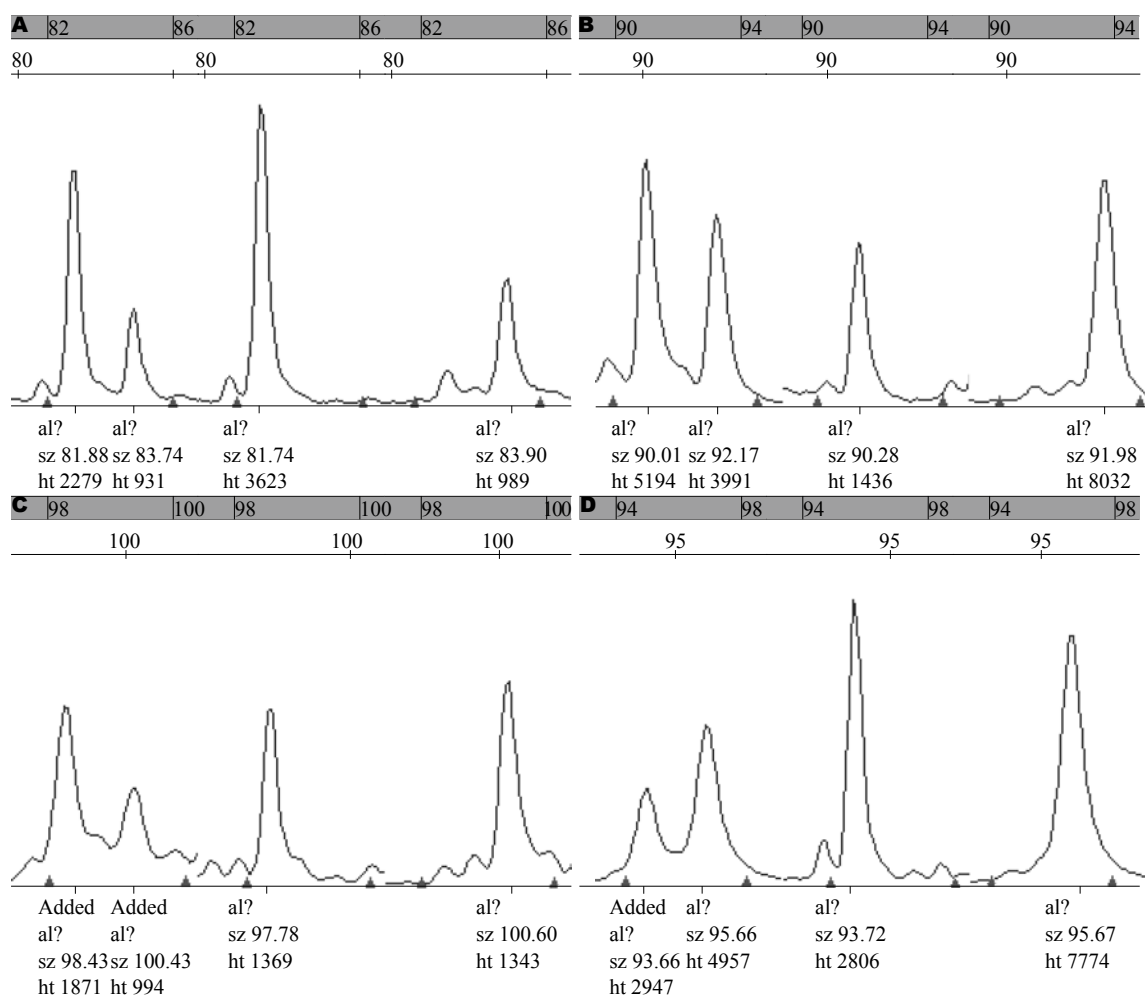
已有很多证据表明肿瘤患者、重症患者、急症患者的舌苔变化很明显,与正常人相比有很大差异,究其为何会有这种表现是我们课题组想探索研究的问题. 本研究设计的目的是探讨胃腺癌患者舌苔的苔色和苔质的变化与CDH1基因多态性的关系. 同为胃癌患者可能会有不同的舌苔类型,也可能会有不同的基因型(包括野生型、杂合型和突变型),为了开展相关研究以及控制相关临床研究中的条件,本研究以单一病种为基础,采用病例对照方法,通过人群流行病学研究,分析舌苔辨证分型与基因分型之间的关联,揭示基因位点突变是否与舌苔表型在胃腺癌的发生、发展过程中起到协同作用. 阐明上述现象之间的规律性和相关性,其医学意义不仅在于揭示舌苔形成和变化的科学内涵、调控舌苔变化的相关分子机制以及研究胃腺癌发生的潜在危险因素,亦为寻找既具备胃腺癌的危险基因又具备异常舌苔表型的高危人群筛查提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 病例组: 2009-07/2010-07在江苏省中医院、江苏省人民医院、八一医院收治的江苏籍胃腺癌患者,经过统一的病理组织学诊断确诊,共计387例. 对照组: 随机选取2009-07/2010-07在上述3家医院健康体检合格的江苏籍居民(无消化系统疾病史)392例.

1.2 方法

1.2.1 问卷调查: 采用统一设计的调查表,分别对病例组人群和健康对照进行面访调查. 调查内容包括一般人口学特征、饮食生活习惯、中医四诊信息等,由中医高年资主任医师和中医诊断学专家进行舌苔的辨证和分型,其中苔色分为2组: 白苔组和黄苔组,苔质按照临床常见的厚苔、薄苔、剥苔和其他苔质(因为统计学需要,将其他少见类型苔质合并为一组进行处理)进行大类分类. 以上研究对象均签署了知情同意书并提供了外周静脉血5 mL,用于实验室检



■ 创新盘点

将中医舌诊与基因多态性结合起来开展中西医结合研究, 揭示胃癌患者基因位点突变与舌苔形成和变化的科学内涵, 具有较好的医学意义。

图 1 4个位点基因分型图. A: rs13689 C/T 82/84; B: rs1801552 C/T 90/92; C: rs17690554 C/G 98/100; D: rs16260A/C94/96.

测相关指标及基因多态性检测。

1.2.2 基因多态性检测: 经过PUBMED数据库筛选CDH1基因5' near gene区rs16260位点、rs17690554位点, 3'UTR区rs13689位点以及1个同义突变位点rs1801552. 利用引物延伸法进行基因多态性检测, 由上海翼和应用生物技术有限公司完成。

统计学处理 用Epidata3.0软件建立数据库, 双重录入全部数据后核对并经逻辑检查无误后经SPSS13.0进行统计分析. 统计方法包括 t 检验、 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 研究对象的一般特征 胃癌病例组男271例, 平均年龄 61.21 ± 10.33 岁; 女116例, 平均年龄 55.15 ± 13.60 岁. 对照组男237例, 平均年龄 50.24 ± 13.59 岁; 女155例, 平均年龄 51.23 ± 12.66 岁. 基因位点检测情况: rs13689进行成功基因分型744例(95.5%), rs1801552进行成功基因分型767例(98.5%), rs17690554进行成

功基因分型724例(92.9%), rs16260进行成功基因分型715例(91.8%). 对照组基因型经Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验, 各基因型频率达到遗传平衡, 具有群体代表性(P 分别为0.348、0.526、0.053、0.057). 4个位点基因分型图片见图1。

2.2 饮食生活习惯与胃癌 胃癌组不按时吃饭的比例高于对照组($\chi^2 = 9.124, P = 0.010$), 胃癌组与对照组相比饮食口味偏咸($\chi^2 = 74.409, P < 0.001$), 胃癌组的吸烟率高于对照组($\chi^2 = 18.019, P < 0.001$), 胃癌组经常吃豆制品的频率明显低于对照组($\chi^2 = 10.669, P = 0.014$), 并且其吃新鲜水果的频率明显低于对照组($\chi^2 = 59.905, P < 0.001$, 表1)。

2.3 病例组和对照组CDH1基因4个多态性位点等位基因频率和基因型频率分布 4个位点的等位基因频率及基因型频率在病例组和对照组的分布均无统计学差异(表2, 3)。

2.4 两组人群白苔和黄苔的基因分型 rs13689位点携带突变基因型TC/CC并且苔色为黄色

■应用要点

本研究胃腺癌发生的潜在危险因素, 所得结果将为胃腺癌的预防及高危人群筛查提供中西医理论支持。

表 1 饮食生活习惯与胃腺癌易感性关系的分析

	病例组n(%) n = 387	对照组n(%) n = 392	χ^2 值	P值
按时吃饭				
经常不按时	36(9.3)	17(4.3)	9.124	0.010
有时不按时	47(12.1)	39(9.9)		
按时	304(78.6)	336(85.7)		
进食速度				
快	212(54.8)	188(48.0)	3.988	0.136
适中	157(40.6)	179(45.7)		
慢	18(4.70)	25(6.4)		
饮食口味 ¹				
偏咸	203(52.5)	101(26.0)	74.409	0.000
适中	147(38.0)	175(45.1)		
偏淡	37(9.60)	112(28.9)		
吃豆制品 ²				
完全不吃	6(3.7)	13(3.6)	10.669	0.014
偶尔吃	58(36.0)	83(22.7)		
经常吃	93(57.8)	262(71.6)		
天天吃	4(2.5)	8(2.2)		
吃新鲜水果 ³				
完全不吃	18(10.4)	16(4.3)	59.905	0.000
偶尔吃	91(52.6)	97(26.1)		
经常吃	59(34.1)	190(51.1)		
天天吃	5(2.9)	69(18.5)		
是否吸烟				
否	204(52.7)	265(67.6)	18.019	0.000
是	183(47.3)	127(32.4)		

¹缺失值4例; ²缺失值252例; ³缺失值234例。

表 2 CDH1基因位点等位基因频率分布情况

位点	等位基因	病例组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
rs13689	T	606(81.2)	612(82.5)	0.389	0.533
	C	140(18.8)	130(17.5)		
rs1801552	C	477(62.8)	490(63.3)	0.049	0.825
	T	283(37.2)	284(36.7)		
rs17690554	C	574(81.1)	609(82.3)	0.362	0.547
	G	134(18.9)	131(17.7)		
rs16260	C	529(74.4)	554(76.7)	0.789	0.374
	A	179(25.3)	168(23.3)		

的个体在病例组的分布频率明显高于对照组, 其差异具有统计学差异($\chi^2 = 4.064$, $P = 0.044$); rs17690554位点携带突变基因型CG/GG并且苔色为黄色的个体在病例组的分布频率明显高于对照组, 其差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.868$, $P = 0.015$, 表4)。

2.5 两组人群不同苔质舌苔与基因分型 在相同苔质的条件下, 各位点基因分型在病例和对照

组间尚未观察到统计学差异(表5); 两组人群在各位点同一基因型的不同苔质的差异均具有统计学意义(均 $P < 0.050$, 表6)。

3 讨论

胃腺癌的发生是环境因素和遗传因素共同作用的结果。就环境因素而言, 幽门螺杆菌感染, 高盐饮食, 维生素C摄入不足, 吸烟等被认为与胃

表 3 CDH1基因位点基因型频率分布比较

位点	基因型	病例组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
rs13689	TT	243(65.1)	255(68.7)	1.081	0.299
	TC/CC	130(34.9)	116(31.3)		
rs1801552	CC	149(39.2)	158(40.8)	0.355	0.837
	CT	179(47.1)	174(45.0)		
	TT	52(13.7)	55(14.2)		
rs17690554	CC	233(65.8)	257(69.5)	1.096	0.295
	CG/GG	121(34.2)	113(30.5)		
rs16260	CC	196(55.4)	219(60.7)	3.481	0.175
	CA	137(38.7)	116(32.1)		
	AA	21(5.9)	26(7.2)		

■名词解释

舌苔: 散布在舌体表面的一层苔垢, 是由脾胃之气上熏、胃津上潮、凝聚于舌面而生。舌苔与脾胃的生理、病理关系十分密切, 在胃的病变过程中, 舌苔的变化反映病邪的深浅、疾病的性质和邪正的消长。

表 4 白苔和黄苔人群的基因分型在病例组和对照组间的分布

位点	苔色	基因分型	病例组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
rs13689	白色	TT	145(66.8)	173(66.3)	0.015	0.901
		TC/CC	72(33.2)	88(33.7)		
	黄色	TT	33(58.9)	48(76.2)	4.064	0.044
		TC/CC	23(41.1)	15(23.8)		
rs1801552	白色	CC	78(35.9)	103(39.5)	0.624	0.430
		CT/TT	139(64.1)	158(60.5)		
	黄色	CC	28(50.0)	29(44.4)	0.367	0.544
		CT/TT	28(50.0)	35(55.6)		
rs17690554	白色	CC	147(67.7)	176(67.4)	0.005	0.943
		CG/GG	70(32.3)	85(32.6)		
	黄色	CC	33(58.9)	50(79.4)	5.868	0.015
		CG/GG	23(41.1)	13(20.6)		
rs16260	白色	CC	118(54.4)	154(59.0)	1.034	0.309
		CA/AA	99(45.6)	107(41.0)		
	黄色	CC	29(51.8)	39(61.9)	1.240	0.266
		CA/AA	27(48.2)	24(38.1)		

癌的发生密切相关^[13]。本研究结果显示, 不按时吃饭、饮食口味偏咸、吸烟为胃腺癌发生的高危因素, 而经常吃豆制品、新鲜水果则可以降低胃腺癌的发病风险。

从组织学上看, 舌苔的形成与舌黏膜上皮细胞的分裂、增殖、分化、迁移和脱落密切相关, 若机体发生病变影响到这一代谢过程, 那么就会形成厚薄不同、颜色各异的舌苔^[14]。因此, 研究舌背黏膜上皮细胞增殖、分化和凋亡相关基因的表达模式, 有助于揭示舌苔形成的分子机制。秦鉴等^[15]应用mRNA差异显示技术克隆常见舌苔形成相关基因, 结果显示与舌苔厚度变化相关的45条差异表达cDNA均为细胞凋亡相关基因, 进一步证实舌苔厚度变化与舌背黏膜上皮细胞的凋亡基因表达密切相关。由于舌苔的观察较为直观和客观, 且简便易行, 有形可循,

舌苔不仅可以作为多种疾病的辅助诊断指标^[16], 也可以作为肿瘤^[17]、艾滋病^[18]、SARS^[19]等重大疾病的辅助诊断指标。究其机体的不同生理状态为何会有不同舌象的变化是我们课题组研究想探索的问题, 为了控制相关临床研究中的条件, 本研究以单一病种(胃腺癌)为基础进行分析, 已有了一些初步的发现, 但具体深入的结论还需要大规模流行病学调查加以验证。

有研究显示E-cad在不同舌苔中表达差异显著且具有明显的规律性^[20]。很多研究发现E-cad介导的细胞间黏附作用在胃癌发生、发展及转移过程中发挥重要作用, 其在癌组织中表达异常是胃癌重要的恶性生物学特征, 可能成为胃癌恶性程度的一种生物学指标^[21-23]。E-cad编码基因CDH1是已经确认的肿瘤抑制基因, E-cad的异常表达对胃癌的转移有重要促进作用。若

■同行评价

本研究试图研究CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证的相关性,对胃腺癌的发病机制探讨及舌苔的中医诊断提供了一定参考价值.

表 5 两组人群相同苔质舌苔不同基因分型比较

位点	苔质	基因分型	病例组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
rs13689	薄苔	TT	72(69.2)	159(69.4)	0.001	0.971
		TC/CC	32(30.8)	70(30.6)		
	厚苔	TT	59(64.1)	48(64.9)	0.010	0.922
		TC/CC	33(35.9)	26(35.1)		
	剥苔	TT	23(69.7)	3(75.0)		1.000 ¹
		TC/CC	10(30.3)	1(25.0)		
rs1801552	其他苔质舌苔	TT	24(54.5)	11(64.7)	0.518	0.472
		TC/CC	20(45.5)	6(35.3)		
	薄苔	CC	43(41.3)	88(38.4)	0.255	0.613
		CT/TT	61(58.7)	141(61.6)		
	厚苔	CC	37(40.2)	36(48.6)	1.183	0.277
		CT/TT	55(59.8)	38(51.4)		
rs17690554	剥苔	CC	11(33.3)	3(75.0)		0.142 ¹
		CT/TT	22(66.7)	1(25.0)		
	其他苔质舌苔	CC	15(34.1)	4(23.5)	0.638	0.425
		CT/TT	29(65.9)	13(76.5)		
	薄苔	CC	72(69.2)	159(69.4)	0.001	0.971
		CG/GG	32(30.8)	70(30.6)		
rs16260	厚苔	CC	61(66.3)	51(68.9)	0.128	0.721
		CG/GG	31(33.7)	23(31.1)		
	剥苔	CC	23(69.7)	3(75.0)		1.000 ¹
		CG/GG	10(30.3)	1(25.0)		
	其他苔质舌苔	CC	24(54.5)	13(76.5)	2.470	0.116
		CG/GG	20(45.5)	4(23.5)		
rs16260	薄苔	CC	56(53.8)	134(58.5)	0.636	0.425
		CA/AA	48(46.2)	95(41.5)		
	厚苔	CC	55(59.8)	47(63.5)	0.241	0.624
		CA/AA	37(40.2)	27(36.5)		
	剥苔	CC	14(42.4)	1(25.0)		0.633 ¹
		CA/AA	19(57.6)	3(75.0)		
	其他苔质舌苔	CC	22(50.0)	11(64.7)	1.068	0.301
		CA/AA	22(50.0)	6(35.3)		

¹Fisher确切概率法.

E-cad分子结构中有2个氨基酸残基发生改变即可影响E-cad与钙离子的结合,从而会导致细胞黏附的异常^[24]. Li等^[25]研究表明CDH1基因5'端启动子区rs16260位点的SNP可以下调基因的转录活性,导致蛋白表达水平下调,增加对上皮性肿瘤的易感性; Cattaneo等^[26]研究表明, CDH1 rs16260单核苷酸多态性可改变基因转录活性,从而可能改变上皮性肿瘤发病风险和侵袭转移能力; Meta分析研究显示在白种人中CDH1基因-160C>A多态性与胃癌易感性相关^[27]; 曹伟军等^[28]对该位点基因多态性进行Meta分析结果显示其与胃癌的易感性无关,但对人群的分层分析显示,其在亚洲人群中有降低胃癌发生的趋势,在高加索人群中有增加胃癌发生的趋

势,提示此现象可能与不同人群之间的遗传背景不同有关;国内外已有多项研究涉及rs16260位点的多态性与胃癌发病风险的相关研究,但均尚无定论^[29,30]. 然而本项研究结果也尚未显示rs16260位点的单核苷酸多态性与江苏籍胃腺癌患者的疾病易感性相关. rs13689、rs1801552、rs17690554位点多态性在病例组和对照组中也未见统计学差异,可能与样本含量较小有关系.

在对舌苔的苔色、苔质与基因分型的研究过程中发现, rs13689位点携带突变基因型TC/CC并且苔色为黄色的个体在病例组的分布频率明显高于对照组($P = 0.044$), rs17690554位点携带突变基因型CG/GG并且苔色为黄色的个体在病例组的分布频率明显高于对照组($P = 0.015$),

表 6 两组人群相同基因分型不同苔质舌苔的比较

位点	基因分型	苔质	病例组n(%)	对照组n(%)	χ^2 值	P值
rs13689	TT	薄苔	72(40.4)	159(71.9)	50.058	0.000
		厚苔	59(33.1)	48(21.7)		
		剥苔	23(12.9)	3(1.4)		
		其他苔质舌苔	24(13.5)	11(5.0)		
	TC/CC	薄苔	32(33.7)	70(68.0)	29.615	0.000
		厚苔	33(34.7)	26(25.2)		
		剥苔	10(10.5)	1(1.0)		
		其他苔质舌苔	20(21.1)	6(5.8)		
rs1801552	CC	薄苔	43(40.6)	88(67.2)	24.042	0.000
		厚苔	37(34.9)	36(27.5)		
		剥苔	11(10.4)	3(2.3)		
		其他苔质舌苔	15(14.2)	4(3.1)		
	CT/TT	薄苔	61(36.5)	141(73.1)	58.487	0.000
		厚苔	55(32.9)	38(19.7)		
		剥苔	22(13.2)	1(0.5)		
		其他苔质舌苔	29(17.4)	13(6.7)		
rs17690554	CC	薄苔	72(40.0)	159(70.4)	47.715	0.000
		厚苔	61(33.9)	51(22.6)		
		剥苔	23(12.8)	3(1.3)		
		其他苔质舌苔	24(13.3)	13(5.8)		
	CG/GG	薄苔	32(34.4)	70(71.4)	33.264	0.000
		厚苔	31(33.3)	23(23.5)		
		剥苔	10(10.8)	1(1.0)		
		其他苔质舌苔	20(21.5)	4(4.1)		
rs16260	CC	薄苔	56(38.1)	134(69.4)	42.129	0.000
		厚苔	55(37.4)	47(24.4)		
		剥苔	14(9.5)	1(0.5)		
		其他苔质舌苔	22(15.0)	11(5.7)		
	CA/AA	薄苔	48(38.1)	95(72.5)	37.706	0.000
		厚苔	37(29.4)	27(20.6)		
		剥苔	19(15.1)	3(2.3)		
		其他苔质舌苔	22(17.5)	6(4.6)		

提示含有rs13689和rs17690554位点的突变基因型个体且舌苔为黄色的人患胃腺癌的风险较高,这2个位点的基因突变可能与舌苔苔色(表型)在胃腺癌的发生、发展过程中起到了协同作用,两组人群在各位点同一基因型的不同苔质舌苔的差异均具有统计学意义,这反映了胃腺癌组和对照组的苔质差别有明显的统计学差异,对照组薄苔比例较高,而病例组异常舌苔的比例较高。此结果初步揭示了CDH1基因多态性与胃腺癌患者舌苔辨证有一定关联,强调了在中医临床诊断中望舌苔辨证的科学意义,丰富舌诊临床应用的科学内涵,为寻找既具备胃腺癌的危险基因又具备异常舌苔表型的高危个体提供线索,为中医舌诊方法的现代化提供科学根据。

本研究初步进行2种苔色和4种苔质与E-cad

编码基因CDH1的rs16260位点、rs17690554位点,3'UTR区rs13689位点以及一个同义突变位点rs1801552的单核苷酸多态性分析,进一步的研究要着重于扩大样本量和收集更多的相关生物学指标以及基因型和表型的相关性研究,以期得出更加可靠和准确的结论,为胃腺癌患者易感基因的鉴定、舌诊与胃腺癌之间的关系,以及疾病的防治奠定基础。

4 参考文献

- 1 费兆馥, 顾亦棣. 望舌识病图谱. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1-8
- 2 王季黎, 杨拴成. 舌诊源鉴. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 5-19
- 3 周阿高, 董佳容, 李琰, 洪声. 消化系统肿瘤患者舌象研究概况. 中医文献杂志 2011; 29: 54-56
- 4 陈涛, 李克乾, 陈茂华, 梁嵘. 4400例当代名医医案的

- 5 舌象分布频数分析. 辽宁中医杂志 2007; 34: 1217-1220
- 6 孙大志, 刘龙, 矫健鹏, 魏品康, 姜林娣, 许玲. 767例胃癌中医证候特点及不同证候构成. 中西医结合学报 2010; 8: 332-340
- 7 边玲艳, 刘化恩. 浅谈脾胃功能与舌苔. 中外健康文摘 2007; 4: 127-128
- 8 周永宁, 徐采朴, 韩彪, 王金穗, 房殿春, 彭贵勇, 杨建民, 刘海峰. 胃癌E-钙黏蛋白表达与临床病理学的关系. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1121-1124
- 9 刘爱东, 刘士生, 许志萍, 庞久玲. E-cadherin在胃癌中的表达及意义. 广东医学 2007; 28: 1086-1087
- 10 尤立光, 邹小明, 徐亚东, 佟立权. 上皮型钙黏素、细胞周期素D1和 β -连环蛋白表达与胃癌的关系. 临床外科杂志 2007; 15: 756-759
- 11 Van Aken E, De Wever O, Correia da Rocha AS, Mareel M. Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. *Virchows Arch* 2001; 439: 725-751
- 12 詹臻, 张军峰, 范媛, 汪红. E-钙粘蛋白mRNA的表达与舌苔形成的关系研究. 陕西中医 2007; 28: 1088-1091
- 13 张秀凤, 王益民, 王瑞, 魏丽珍, 李琰, 郭炜, 王娜, 张健慧. E-钙粘蛋白基因多态性与食管癌、贲门癌的关系. 癌症 2005; 24: 513-519
- 14 Krejs GJ. Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Dig Dis* 2010; 28: 600-603
- 15 高金金, 张葆青. 中医舌象研究概况. 辽宁中医药大学学报 2012; 14: 141-143
- 16 秦鉴, 吴正治, 吴国珍, 刘红健. 应用mRNA差异显示技术克隆常见舌苔相关基因. 深圳中西医结合杂志 2007; 17: 291-293
- 17 李春富. 胃、十二指肠疾病的舌苔观察. 河南职工医学院学报 2004; 16: 135-137
- 18 周阿高, 董佳容, 洪声, 黄纲, 黄晓莺, 毛旭明. 恶性肿瘤患者舌象的研究进展. 浙江中医杂志 2006; 41: 726-729
- 19 王融冰, 王晓静, 赵红心, 卢联合. 艾滋病患者舌象分析与辨证. 中医杂志 2006; 47: 291-292
- 20 齐文升, 边永军, 宋庆桥, 李攻戌, 唐旭东, 姜在, 付亚龙, 王映辉. SARS恢复期患者舌象特征及其演变规律探讨. 中国中医基础医学杂志 2003; 9: 831-833
- 21 张军峰, 范媛, 汪红, 詹臻. TGF- α 基因表达水平与常
- 22 见舌苔形成的关系. 新中医 2007; 39: 67-69
- 23 韩亮, 沈世强, 童仕伦, 向进见. E-钙粘蛋白和 γ -连环蛋白在胃镜活检胃癌组织中的表达及其意义. 武汉大学学报(医学版) 2003; 24: 28-31
- 24 许玲, 刘龙, 孙大志, 魏品康. E-钙粘蛋白与胃癌中医证型关系的研究. 成都中医药大学学报 2004; 27: 40-43
- 25 王东华, 易继林. 胃癌中E-cadherin和nm23-h1的表达与转移的关系. 临床外科杂志 2007; 15: 674-675
- 26 张军峰, 高珏, 詹臻. 胃癌患者舌苔形成分子机制研究进展. 医学信息 2011; 25: 1238-1239
- 27 Li LC, Chui RM, Sasaki M, Nakajima K, Perinchery G, Au HC, Nojima D, Carroll P, Dahiya R. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. *Cancer Res* 2000; 60: 873-876
- 28 Cattaneo F, Venesio T, Molatore S, Russo A, Fiocca R, Frattini M, Scovassi AI, Ottini L, Bertario L, Ranzani GN. Functional analysis and case-control study of -160C/A polymorphism in the E-cadherin gene promoter: association with cancer risk. *Anticancer Res* 2006; 26: 4627-4632
- 29 Chen B, Zhou Y, Yang P, Liu L, Qin XP, Wu XT. CDH1-160C/A gene polymorphism is an ethnicity-dependent risk factor for gastric cancer. *Cytokine* 2011; 55: 266-273
- 30 曹伟军, 张振玉, 岳巧艳. CDH1 C-160A基因多态性与胃癌易感性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1270-1274
- Humar B, Graziano F, Cascinu S, Catalano V, Ruzzo AM, Magnani M, Toro T, Burchill T, Futschik ME, Merriman T, Guilford P. Association of CDH1 haplotypes with susceptibility to sporadic diffuse gastric cancer. *Oncogene* 2002; 21: 8192-8195
- Park WS, Cho YG, Park JY, Kim CJ, Lee JH, Kim HS, Lee JW, Song YH, Park CH, Park YK, Kim SY, Nam SW, Lee SH, Yoo NJ, Lee JY. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter-160 is not associated with risk of Korean gastric cancer. *J Korean Med Sci* 2003; 18: 501-504

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

前入路绕肝提拉法对右半肝切除术中中心静脉循环肿瘤细胞的影响

余 锋, 罗昆仑, 方 征, 刘 洪, 董志涛, 田志强, 陈 磊, 殷正丰

余锋, 罗昆仑, 方征, 刘洪, 董志涛, 田志强, 中国人民解放军南京军区腹腔镜外科中心第101中心医院普通外科 江苏省无锡市 214044

陈磊, 殷正丰, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科研究所分子肿瘤实验室 上海市 200438

余锋, 硕士, 主治医师, 主要从事肝胆疾病的外科治疗研究。

作者贡献分布: 此课题由罗昆仑、余锋及殷正丰设计; 研究过程由余锋、罗昆仑、方征、刘洪、董志涛、田志强及陈磊操作完成; 研究所用试剂及实验材料由殷正丰提供; 数据分析由余锋与罗昆仑完成; 本文写作由余锋与罗昆仑共同完成。

通讯作者: 罗昆仑, 主任医师, 214044, 江苏省无锡市, 中国人民解放军南京军区腹腔镜外科中心第101中心医院普通外科。lk197041@yahoo.com.cn

电话: 0510-85142402

收稿日期: 2012-02-04 修回日期: 2012-03-18

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Monitoring of the generation of circulating tumor cells in central venous blood of patients undergoing right hepatectomy using anterior liver hanging maneuver

Feng Yu, Kun-Lun Luo, Zheng Fang, Hong Liu, Zhi-Tao Dong, Zhi-Qiang Tian, Lei Chen, Zheng-Feng Yin

Feng Yu, Kun-Lun Luo, Zheng Fang, Hong Liu, Zhi-Tao Dong, Zhi-Qiang Tian, Department of Hepatobiliary Surgery, the 101st Hospital of Chinese PLA, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China

Lei Chen, Zheng-Feng Yin, Laboratory of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

Correspondence to: Kun-Lun Luo, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, 101st Hospital of Chinese PLA, 214044 Wuxi, Jiangsu Province, China. lk197041@yahoo.com.cn

Received: 2012-02-04 Revised: 2012-03-18

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To monitor the generation of circulating tumor cells in central venous blood of patients undergoing right hepatectomy using anterior liver hanging (ALH) maneuver.

METHODS: From January 2008 to June 2011, 40 patients undergoing right hepatectomy were randomly allocated to ALH and conventional approach (CA) groups. Blood samples were col-

lected from all patients through a central venous catheter, just before skin incision, just before parenchymal transection (after hilar dissection in the ALH group and after mobilization of the liver in the CA group), and after delivery of the tumor. All samples were detected for CTCs using an asialoglycoprotein receptor-based isolation strategy. The proportions of CTC-positive patients at various stages of surgery were compared between the two groups.

RESULTS: The proportion of CTC-positive patients showed no significant difference before surgery between the two groups (2/18 vs 1/19, $P > 0.05$) but was significantly lower in the ALH group than in the CA group before parenchymal transection and at the end of surgery after delivery of the tumor (20% vs 55%, 40% vs 80%; $P = 0.022, 0.010$).

CONCLUSION: Right hepatectomy using anterior liver hanging maneuver can reduce intraoperative blood-borne spread of tumor cells compared with the conventional method.

Key Words: Hepatectomy; Liver hanging maneuver; Anterior approach; Circulating tumor cells

Yu F, Luo KL, Fang Z, Liu H, Dong ZT, Tian ZQ, Chen L, Yin ZF. Monitoring of the generation of circulating tumor cells in central venous blood of patients undergoing right hepatectomy using anterior liver hanging maneuver. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1199-1203

摘要

目的: 探讨前入路绕肝提拉法右半肝切除对术中肿瘤细胞释放的影响。

方法: 选择2008-01/2011-06我院收治的拟行右半肝切除患者40例, 随机分为常规肝切除组和前入路绕肝提拉法肝切除组, 分别于手术开始前(切皮前)、术中离断肝实质之前(前入路绕肝提拉法组为分离肝后隧道、安置绕肝带、分离结扎右侧肝动脉和门静脉后; 常规肝切除组为游离肝周韧带, Pringle法阻断第一肝门

■背景资料

传统的右半肝切除手术分离肝周韧带时压迫肝脏可能会加重肿瘤细胞播散进入循环系统或肝内门静脉系统。改良式前入路绕肝提拉法肝切除术在不游离肝脏的情况下完成肝切除, 避免了对肝癌的强行分离, 从理论上减少了肿瘤细胞播散转移的机会。

■同行评议者

金山, 主任医师, 内蒙古医学院附属医院普通外科

■研发前沿

目前分离循环肿瘤细胞(CTCs)的标准方法是依赖于肿瘤细胞表面上皮性抗原的免疫磁珠富集技术。上皮细胞黏附分子(EpCAM)是一种上皮细胞特异性黏附分子,广泛表达于上皮细胞和上皮来源的肿瘤细胞表面。基于EpCAM抗体磁珠的Cellsearch System已被FDA批准用于检测乳腺癌、结肠癌、前列腺癌CTCs。

后)、肝肿瘤切除后3个时间点,自中心静脉置管处抽取血样,行循环肝源性细胞检测。比较两组患者中在各时间点检测结果阳性患者的比例。

结果:前入路绕肝提拉法组和常规法组术前检测结果阳性患者比例无显著差异(2/18 vs 1/19, $P>0.05$)。术中肝切除前,前入路绕肝提拉法组中心静脉血样肝源性细胞检测结果阳性患者显著少于常规法组(20% vs 55%, $P=0.022$);肝肿瘤切除后,前入路绕肝提拉法组中心静脉血样肝源性细胞检测结果阳性患者亦显著少于常规法组(40% vs 80%, $P=0.010$)。

结论:前入路绕肝提拉法较常规法肝切除可减少术中肿瘤细胞的血源性播散,理论上减少了肝癌术中肿瘤细胞医源性播散,降低了术后转移复发的风险。

关键词:肝切除术;绕肝提拉法;前入路;循环肿瘤细胞

余锋, 罗昆仑, 方征, 刘洪, 董志涛, 田志强, 陈磊, 殷正丰. 前入路绕肝提拉法对右半肝切除术中中心静脉循环肿瘤细胞的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1199-1203

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1199.asp>

0 引言

肝切除手术中会造成肿瘤细胞播散,这些播散至循环中的肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs),可能与肝癌术后肝内转移及远处转移密切相关^[1]。传统的右半肝切除术需在离断肝实质之前完全游离右半肝,分离肝周韧带时压迫肝脏可能会加重肿瘤细胞播散进入循环系统或肝内门静脉系统。2001年Belghiti等^[2]采用绕肝提拉法完成肝切除术,我中心对此技术进行了改进^[3],即改良式前入路绕肝提拉法(anterior liver hanging maneuver, ALH)肝切除术,利用止血钳插入肝后下腔静脉前间隙,建立肝后隧道并留置弹力带,提拉肝脏达到局部肝血流控制,在不游离肝脏的情况下完成肝切除术。该方法不必提前游离肝脏和肿瘤,直接断肝,避免了对肝癌的强行分离,从理论上减少了肿瘤细胞播散转移的机会。本研究拟利用基于去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)的循环肝癌细胞分离检测技术^[4],检测前入路绕肝提拉法和常规法(conventional approach, CA)右半肝切除术两种方法手术期间中心静脉循环肝癌细胞存在情况,了解其术后复发转移的发生机制,为防

止肝癌术中的血行播散提供理论依据和方法。

1 材料和方法

1.1 材料 40例患者中,男31例,女9例,年龄37-70岁,中位年龄56岁。肝细胞癌30例,肝海绵状血管瘤7例,肝内胆管癌2例,Caroli病1例,均行右半肝切除术。随机分为常规法组和前入路绕肝提拉法组。

1.2 方法

1.2.1 常规肝切除法(CA法):游离肝周韧带,Pringle法阻断第一肝门。肝硬化患者每次最长阻断时间为15 min,间隔5 min后再次阻断;无肝硬化患者每次最长阻断时间为20 min,间隔5 min后再次阻断。切断肝实质,肝内离断出入肝的血管和胆道,移除标本。

1.2.2 前入路绕肝提拉、半肝血流阻断法(简称ALH法):按照罗昆仑等^[3,5]介绍的方法进行,即:(1)分离肝后下腔静脉前间隙,建立肝后隧道,置入绕肝提拉带;(2)解剖第一肝门,结扎右侧肝动脉和门静脉,阻断右半肝入肝血流;(3)前入路劈开肝实质,直视下切除右半肝及肿瘤。前入路绕肝提拉法组20例患者均成功建立肝后隧道并安置绕肝带。切肝时无明显出血,视野清晰,断面管段系统显示清晰便于分别结扎。绕肝带提拉肝脏后,使肝后下腔静脉与肝脏之间产生接近1-2 cm的间隙,切肝时无1例损伤肝后下腔静脉及肝静脉。

手术方式包括,ALH法组:右半肝切除14例,右半肝切除+右尾状叶切除2例,右半肝切除+右门静脉癌栓取出3例,右半肝切除+部分左内叶切除1例;CA法组:右半肝切除17例,右半肝切除+右尾状叶切除1例,右半肝切除+右门静脉癌栓取出2例。

1.2.3 标本采集:两组患者均于手术开始前(切皮前)、术中离断肝实质之前(ALH组为分离肝后隧道、安置绕肝带、分离结扎右侧肝动脉和门静脉后;CA组为游离肝周韧带,Pringle法阻断第一肝门后)与肝肿瘤切除后,自中心静脉置管处各取血1次,每次取血量为5 mL,用含EDTA 5 mL抗凝管(Greiner bio-one, Germany)收集。标本保存于4 °C,并且在采集后6 h内处理。

1.2.4 循环肝源性细胞检测:(1)采用Ficoll-Paque PLUS分离单个核细胞;(2)将细胞与生物素化去唾液酸胎球蛋白充分混合,加入2 mmol/L的氯化钙溶液200 μL,于37 °C孵育45 min。稀释缓冲液洗涤2次,用20 μL抗生物素抗体磁珠4 °C作用

■创新盘点

本研究通过中心静脉循环肝癌细胞的检测证实:前入路绕肝提拉法较常规肝切除法减少了术中肿瘤细胞的血源性播散。这一结论为手术方式的改进,对减少肝癌术中肿瘤细胞医源性播散和术后转移复发的风险提供了理论依据。

表 1 两组一般资料

	ALH法(<i>n</i> = 20)	CA法(<i>n</i> = 20)
性别(男:女)	15:5	16:4
年龄(岁)	54.6 ± 9.4	55.9 ± 8.1
HBV阳性	10	11
伴肝硬化	8	10
Child分期(A/B)	19/1	17/3
肿瘤大小(cm)	13.6 ± 3.3	12.1 ± 2.9
肝细胞癌	14	16
肝海绵状血管瘤	4	3
肝内胆管癌	1	1
Caroli病	1	0

15 min进行磁性标记,然后将细胞用稀释缓冲液洗涤,再用1 mL稀释缓冲液悬浮。用稀释缓冲液平衡MS分离柱,再使经磁性标记的细胞流经其中。用稀释缓冲液($3 \times 500 \mu\text{L}$)将阴性细胞从分离柱中洗去。然后将分离柱移开磁场,用1 mL稀释缓冲液将残留在分离柱中的细胞快速冲出。用离心涂片机将富集到的细胞组分在多聚赖氨酸玻片上制成细胞涂片,37 °C干燥15 min。用4%甲醛固定15 min,进行免疫荧光染色;(3)采用小鼠抗人肝细胞单克隆抗体(anti-human hepatocyte, Hep Par 1; Dako, Copenhagen, Denmark)鉴定肝癌细胞;(4)荧光显微镜下鉴定和计数。Hep Par 1阳性、DAPI阳性、CD45阴性,并且符合形态学特征的细胞记为CTCs。我们用中心静脉血样中的肝源性细胞作为术中肿瘤细胞播散的证据。ASGPR特异表达于肝实质细胞和肝癌细胞^[6,7],且Hep Par 1抗体能识别包括正常细胞和肝癌细胞在内的肝源性细胞^[8,9]。因此可认为用我们的系统检测到的细胞即为肝源性细胞。

统计学处理 计数资料采用 χ^2 检验。所有统计分析均采用SPSS18.0统计软件(SPSS/PC+, SPSS Inc., Chicago, IL)进行。 $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者临床病例资料 2组病例在性别比例、年龄、肝硬化情况、肿瘤大小、HBV阳性率、良恶性比例及肝切除方式的差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性(表1)。

2.2 免疫荧光染色循环肝癌细胞特征 Hep Par 1阳性、DAPI阳性、CD45阴性,细胞呈圆至椭圆形,细胞核完整,具有细胞体积大、核浆比高等恶性肿瘤细胞特征。排除细胞碎片和非特异染色的细胞,符合上述特征的细胞记为CTCs(图1)。

表 2 两组患者在肝切除前、肝肿瘤切除后循环肝源性细胞检测结果比较

	阴性(<i>n</i>)	阳性(<i>n</i>)	<i>P</i> 值
肝切除前			
ALH法	16	4	0.022
CA法	9	11	
肿瘤切除后			
ALH法	12	8	0.010
CA法	4	16	

2.3 2组患者围手术期不同时间点中心静脉CTCs检测 手术开始前(切皮前)ALH法组2例中心静脉血样肝源性细胞检测阳性,18例阴性;CA组1例检测结果阳性,19例阴性,两组阳性患者阳性率无显著差异($P > 0.05$)。肝实质离断之前ALH法组4例患者中心静脉血样肝源性细胞检测阳性,16例检测结果为阴性;CA法组11例检测结果为阳性,9例阴性。肝肿瘤切除后,ALH法组8例检测结果阳性,12例检测结果阴性;CA法组4例检测阴性,16例检测结果阳性。在肝切除前、肝肿瘤切除后两个时间点上,ALH法组患者中心静脉血样肝源性细胞检测结果阳性率均显著低于CA法组(20% vs 55%, 40% vs 80%; P 值分别为0.022、0.010;表2)。

3 讨论

目前认为,肿瘤微转移灶起源于侵入循环中的肿瘤细胞。因此,CTCs可能是肿瘤远处转移的一种标志^[10]。多数学者认为肝癌细胞的血源性播散是肝癌肝外转移的主要方式。由于肝癌组织细胞间黏附作用较正常组织下降,肿瘤细胞之间黏附因子缺乏,手术过程肝癌组织和正常肝组织的挤压而造成的直接损伤,导致肿瘤细胞入血;手术外力亦可促进肿瘤细胞入血^[11,12]。外周血液或骨髓中存在的CTCs,是导致肿瘤切除或肝移植术后复发转移的关键。所以在手术前后检测外周血中是否存在肝癌细胞,可作为患者肿瘤复发、转移和预后的重要指标。

目前分离CTCs的标准方法是依赖于肿瘤细胞表面上皮性抗原的免疫磁珠富集技术^[13]。上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)是一种上皮细胞特异性黏附分子,广泛表达于上皮细胞和上皮来源的肿瘤细胞表面^[14,15]。基于EpCAM抗体磁珠的Cellsearch System已被FDA批准用于检测乳腺癌、结肠癌、前列腺癌CTCs^[16]。尽管肝癌细胞属于上皮

■应用要点

通过检测围手术期中心静脉中CTCs的存在情况,了解不同手术方式对术中肿瘤细胞释放的影响,为防止肝癌术中肿瘤细胞医源性播散提供了客观检测依据。

■名词解释

循环肿瘤细胞 (CTCs): 存在于原发瘤和转移瘤之外的肿瘤细胞统称为游离肿瘤细胞, 其中进入血流的又称循环肿瘤细胞。目前CTCs的临床意义在乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等多种肿瘤中逐渐得到肯定, 乳腺癌CTCs的检测甚至已被引进最新的乳腺癌TNM分期标准。

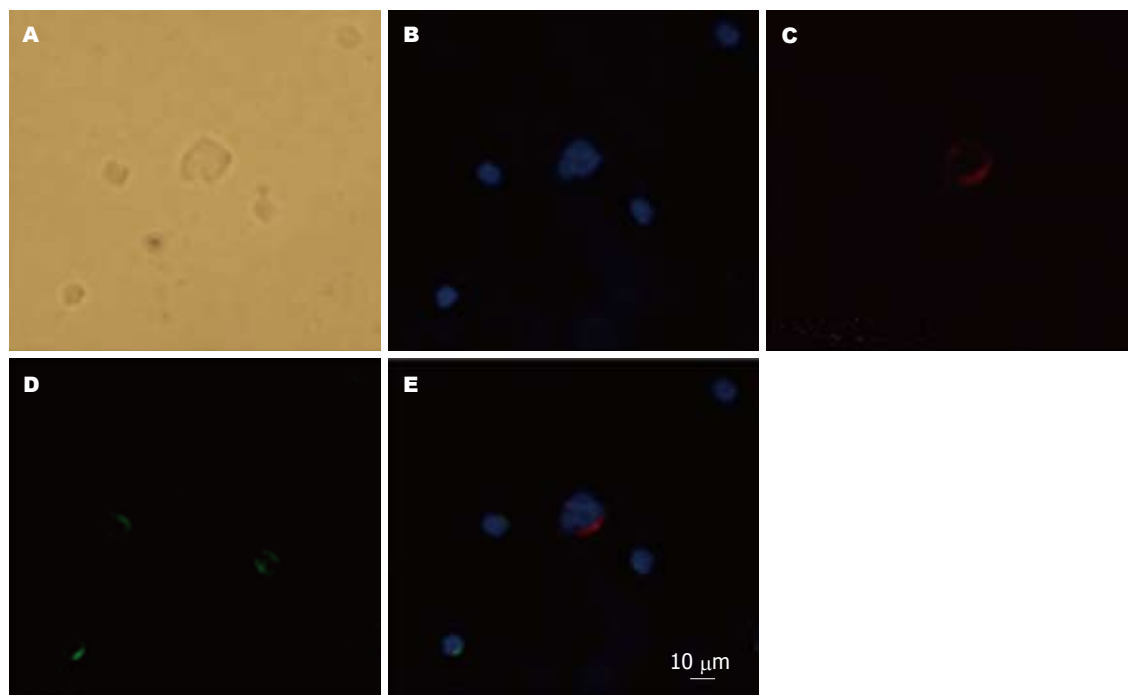


图1 自肝癌患者中心静脉血样总检测出的CTCs ($\times 400$). A: CTCs; B: DAPI; C: Hep Par 1; D: CD45; E: Merge.

性细胞, 但是肝癌细胞表面EpCAM表达率仅约35%左右^[17-19]. 因此, Cellsearch System不适合用于富集、检测循环肝癌细胞, 并已被实验证实. ASGPR特异表达于肝实质细胞和肝癌细胞^[20,21], 且Hep Par 1抗体能识别包括正常细胞和肝癌细胞在内的肝源性细胞^[22,23]. 通常认为正常肝细胞一般不会进入血液循环, 除非演变成肿瘤细胞后才有这种可能, 因此可认为用我们的系统检测到的细胞即为肝癌细胞. 有报道显示感染了淋球菌的尿道上皮细胞和近端肾小管上皮细胞也表达ASGPR^[24,25], 然而这些细胞一般不会出现于外周血中. 事实上, 即使有少量ASGPR阳性的非肝源性细胞存在于富集细胞组分中, 也不会产生阳性结果, 因为我们采用肝细胞特异性抗体Hep Par 1检测肝癌细胞. 有30%左右HCC病例AFP阴性^[26], 因此AFP抗体用于检测循环肝癌细胞可能会产生假阳性. 此外, 相比较于广谱角蛋白抗体CK3-6H5, 考虑到潜在的假阳性结果可能, 我们也更倾向于使用肝细胞特异性抗体Hep Par 1检测循环肝癌细胞.

右肝巨大肿瘤行常规右半肝切除手术时, 常需强行游离或搬动肝脏, 极易造成静脉撕裂出血、残肝血运障碍、术中肿瘤破裂和肿瘤细胞血源性播散等缺点^[27,28]. Belghiti等对传统肝切除方法进行了技术改进, 利用止血钳插入肝后下腔静脉前间隙, 建立肝后隧道并留置弹力带, 提拉肝脏达到局部肝血流控制, 在不游离肝脏的

情况下完成肝切除术, 即前入路绕肝提拉法. 该方法不必提前游离肝脏和肿瘤, 直接断肝, 这就避免了对肝癌的强行分离, 从而避免了肿瘤破裂或血管撕裂或游离面出血^[29,30]. 阻断切除侧的全部肝静脉, 即使损伤肝静脉, 也可避免大出血及空气进入, 可以从容地进行分离及结扎、修补. 术中操作时肿瘤细胞也无法进入被切除肝段外的血管系统, 从理论上减少了肿瘤细胞播散转移的机会. 本研究结果显示, 在肝切除前、肝肿瘤切除后两个时间点上, ALH法组中中心静脉血样肝源性细胞检测结果阳性的患者均显著少于CA法组(20% vs 55%, 40% vs 80%; P 值分别为0.022、0.010). 我们的研究通过中心静脉循环肝癌细胞的检测进一步证实: 前入路绕肝提拉法较常规肝切除法减少了术中肿瘤细胞的血源性播散. 这一结论为手术方式的改进对减少肝癌术中肿瘤细胞医源性播散和术后转移复发的风险提供了理论依据.

4 参考文献

- 1 Louha M, Nicolet J, Zylberberg H, Sabile A, Vons C, Vona G, Poussin K, Tournebise M, Capron F, Pol S, Franco D, Lacour B, Bréchet C, Paterlini-Bréchet P. Liver resection and needle liver biopsy cause hematogenous dissemination of liver cells. *Hepatology* 1999; 29: 879-882
- 2 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

- 3 罗昆仑, 方征, 董志涛, 徐健, 吴胜, 李界明. 经前路改良式绕肝提拉法在右半肝切除术中的应用. *中国普通外科杂志* 2010; 19: 790-792
- 4 Xu W, Cao L, Chen L, Li J, Zhang XF, Qian HH, Kang XY, Zhang Y, Liao J, Shi LH, Yang YF, Wu MC, Yin ZF. Isolation of circulating tumor cells in patients with hepatocellular carcinoma using a novel cell separation strategy. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3783-3793
- 5 罗昆仑, 方征, 余锋, 刘洪, 田志强. 肝后隧道手术高危区的解剖特点及临床应用研究. *中国普通外科杂志* 2012; 21: 1-4
- 6 Ashwell G, Harford J. Carbohydrate-specific receptors of the liver. *Annu Rev Biochem* 1982; 51: 531-554
- 7 Trerè D, Fiume L, De Giorgi LB, Di Stefano G, Migaldi M, Derenzini M. The asialoglycoprotein receptor in human hepatocellular carcinomas: its expression on proliferating cells. *Br J Cancer* 1999; 81: 404-408
- 8 Wennerberg AE, Nalesnik MA, Coleman WB. Hepatocyte paraffin 1: a monoclonal antibody that reacts with hepatocytes and can be used for differential diagnosis of hepatic tumors. *Am J Pathol* 1993; 143: 1050-1054
- 9 Minervini MI, Demetris AJ, Lee RG, Carr BI, Madariaga J, Nalesnik MA. Utilization of hepatocyte-specific antibody in the immunocytochemical evaluation of liver tumors. *Mod Pathol* 1997; 10: 686-692
- 10 余锋, 张好, 施乐华, 殷正丰. 循环肿瘤细胞检测的临床应用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2346-2349
- 11 Tacke J, Mahnken A, Roggan A, Günther RW. Multipolar radiofrequency ablation: first clinical results. *Rofo* 2004; 176: 324-329
- 12 Curley SA, Marra P, Beaty K, Ellis LM, Vauthey JN, Abdalla EK, Scaife C, Raut C, Wolff R, Choi H, Loyer E, Vallone P, Fiore F, Scordino F, De Rosa V, Orlando R, Pignata S, Daniele B, Izzo F. Early and late complications after radiofrequency ablation of malignant liver tumors in 608 patients. *Ann Surg* 2004; 239: 450-458
- 13 Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007; 253: 180-204
- 14 Moldenhauer G, Momburg F, Möller P, Schwartz R, Hämmerling GJ. Epithelium-specific surface glycoprotein of Mr 34,000 is a widely distributed human carcinoma marker. *Br J Cancer* 1987; 56: 714-721
- 15 Balzar M, Winter MJ, de Boer CJ, Litvinov SV. The biology of the 17-1A antigen (Ep-CAM). *J Mol Med (Berl)* 1999; 77: 699-712
- 16 Miller MC, Doyle GV, Terstappen LW. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol* 2010; 2010: 617421
- 17 de Boer CJ, van Krieken JH, Janssen-van Rhijn CM, Litvinov SV. Expression of Ep-CAM in normal, regenerating, metaplastic, and neoplastic liver. *J Pathol* 1999; 188: 201-206
- 18 Ruck P, Wichert G, Handgretinger R, Kaiserling E. Ep-CAM in malignant liver tumours. *J Pathol* 2000; 191: 102-103
- 19 Yamashita T, Forgues M, Wang W, Kim JW, Ye Q, Jia H, Budhu A, Zanetti KA, Chen Y, Qin LX, Tang ZY, Wang XW. EpCAM and alpha-fetoprotein expression defines novel prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 1451-1461
- 20 Díaz C, Vargas E, Gätjens-Boniche O. Cytotoxic effect induced by retinoic acid loaded into galactosyl-sphingosine containing liposomes on human hepatoma cell lines. *Int J Pharm* 2006; 325: 108-115
- 21 Jain V, Nath B, Gupta GK, Shah PP, Siddiqui MA, Pant AB, Mishra PR. Galactose-grafted chylomicron-mimicking emulsion: evaluation of specificity against HepG-2 and MCF-7 cell lines. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61: 303-310
- 22 Butler SL, Dong H, Cardona D, Jia M, Zheng R, Zhu H, Crawford JM, Liu C. The antigen for Hep Par 1 antibody is the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1. *Lab Invest* 2008; 88: 78-88
- 23 Lugli A, Tornillo L, Mirlacher M, Bundi M, Sauter G, Terracciano LM. Hepatocyte paraffin 1 expression in human normal and neoplastic tissues: tissue microarray analysis on 3,940 tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 721-727
- 24 Seow YY, Tan MG, Woo KT. Expression of a functional asialoglycoprotein receptor in human renal proximal tubular epithelial cells. *Nephron* 2002; 91: 431-438
- 25 Harvey HA, Ketterer MR, Preston A, Lubaroff D, Williams R, Apicella MA. Ultrastructural analysis of primary human urethral epithelial cell cultures infected with *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect Immun* 1997; 65: 2420-2427
- 26 Murugavel KG, Mathews S, Jayanthi V, Shankar EM, Hari R, Surendran R, Vengatesan A, Raghuram K, Rajasambandam P, Murali A, Srinivas U, Palaniswamy KR, Pugazhendhi T, Thyagarajan SP. Alpha-fetoprotein as a tumor marker in hepatocellular carcinoma: investigations in south Indian subjects with hepatotropic virus and aflatoxin etiologies. *Int J Infect Dis* 2008; 12: e71-e76
- 27 Makuuchi M, Mori T, Gunvén P, Yamazaki S, Hasegawa H. Safety of hemihepatic vascular occlusion during resection of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164: 155-158
- 28 吴孟超, 陈汉, 沈锋. 原发性肝癌的外科治疗5524例报告. *中华外科杂志* 2001; 39: 417-421
- 29 Hirai I, Murakami G, Kimura W, Kanamura T, Sato I. How should we treat short hepatic veins and paracaval branches in anterior hepatectomy using the hanging maneuver without mobilization of the liver? An anatomical and experimental study. *Clin Anat* 2003; 16: 224-232
- 30 Sato TJ, Hirai I, Murakami G, Kanamura T, Hata F, Hirata K. An anatomical study of short hepatic veins, with special reference to delineation of the caudate lobe for hanging maneuver of the liver without the usual mobilization. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 55-60

同行评价

本研究通过改良血流阻断方式减少了肿瘤细胞的播散, 有一定的临床意义。

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静

肝衰竭患者血浆对HepG2细胞增殖的抑制及表皮生长因子的调控作用

李 玮, 林世德, 龙 骏

■背景资料

我国慢性乙型肝炎病毒携带者近1.2亿人, 部分患者病情加重发展肝衰竭, 其死亡率高达50%-80%。因而, 探讨肝衰竭患者的发病机制及提高其内科治疗效果非常必要, 并一直是国内外学者的研究热点。

李玮, 林世德, 龙骏, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000

李玮, 硕士研究生, 主要从事重型肝炎再生发病机制及其治疗方面的研究。

贵州省重大国际合作基金资助项目, No. 黔科合外字(2007)400121

作者贡献分布: 此课题由林世德与李玮共同设计; 研究过程由林世德指导, 李玮操作完成, 龙骏提供实验技术支持; 数据分析由李玮完成; 论文写作由林世德指导, 李玮完成。

通讯作者: 林世德, 教授, 563000, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院感染科, linshide6@hotmail.com

电话: 0852-8609183

收稿日期: 2012-02-01 修回日期: 2012-03-15

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Plasma from patients with liver failure inhibits the proliferation of HepG2 cells

Wei Li, Shi-De Lin, Jun Long

Wei Li, Shi-De Lin, Jun Long, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: the International Cooperation Foundation of Guizhou Province, No. (2007)400121

Correspondence to: Shi-De Lin, Professor, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Street, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. linshide6@hotmail.com

Received: 2012-02-01 Revised: 2012-03-15

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To explore the mechanisms by which plasma from patients with liver failure inhibits the proliferation of HepG2 cells and to evaluate whether epidermal growth factor (EGF) can reverse this inhibitory effect.

METHODS: Plasma samples were collected from three patients with acute-on-chronic liver failure during plasma exchange therapy and treated with heparin. After HepG2 cells were cultured in medium containing 50% plasma from patients with liver failure with or without EGF stimulation, cell proliferation and apoptosis were detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay and Hoechst staining, respectively. The expression of intracellular cyclin D1 and cyclin-

dependent kinase 4 (CDK4) in HepG2 cells was examined by Western blotting.

RESULTS: Treatment with 50% plasma from patients with liver failure for 12 to 72 hours significantly inhibited the proliferation of HepG2 cells in a time-dependent manner when compared to cells cultured with 50% normal control plasma (NCP). EGF at a concentration of 5, 10 or 20 $\mu\text{g/L}$ significantly induced the proliferation of HepG2 cells cultured with NCP, while only high-dose EGF (20 $\mu\text{g/L}$) showed a transient promotion to the proliferation of HepG2 cells cultured with plasma from patients with liver failure. After stimulation with 20 $\mu\text{g/L}$ EGF, the proliferation was still significantly inhibited in cells cultured with patient plasma compared to those cultured with NCP. The presence of 50% patient plasma did not significantly alter apoptosis index of HepG2 cells ($P > 0.05$). The expression of intracellular cyclin D1 and CDK4 in HepG2 cells was obviously inhibited after treatment with patient plasma for 12 to 72 hours.

CONCLUSION: Plasma from patients with liver failure inhibits the proliferation of HepG2 cells possibly by down-regulating the expression of intracellular cyclin D1 and CDK4. EGF can not reverse this inhibitory effect.

Key Words: Liver failure; Plasma; HepG2; Growth; Proliferation

Li W, Lin SD, Long J. Plasma from patients with liver failure inhibits the proliferation of HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1204-1209

摘要

目的: 探讨肝衰竭患者血浆(liver failure plasma, LFP)抑制HepG2细胞生长、增殖的机制及表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)对其抑制作用的调控作用。

方法: 通过用50%LFP与HepG2细胞共同培养(肝衰竭组), 以相同浓度正常人血浆(正常

■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

对照组)作对照. 采用四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、Hoechst法分别观察不同时间点细胞增殖率及凋亡率, 并用Western blotting法检测细胞周期蛋白Cyclin D1、细胞周期蛋白依赖激酶4(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)表达. 进一步观察不同浓度EGF对LFP培养的HepG2细胞生长及增殖的刺激作用.

结果: 50%LFP对HepG2细胞生长及增殖有明显的抑制作用, 且呈时间依赖性. EGF对正常对照组HepG2细胞的生长及增殖有明显促进作用, 但仅大剂量EGF对肝衰竭组HepG2细胞生长和增殖有一过性刺激作用. 与EGF刺激正常对照组比较, 肝衰竭组各时间点细胞增殖仍受到明显抑制. LFP与HepG2细胞培养后, 细胞凋亡率无明显增加($P>0.05$). 随着作用时间的延长, LFP抑制HepG2细胞内Cyclin D1、CDK4的表达.

结论: LFP对HepG2细胞生长及增殖具有较强的抑制作用, 但并不明显诱导其凋亡. 大剂量EGF对LFP培养的HepG2细胞增殖虽有一过性刺激作用, 但不能逆转其抑制作用. LFP抑制HepG2细胞生长和增殖的机制可能与其抑制细胞内Cyclin D1、CDK4的表达有关.

关键词: 肝衰竭; 血浆; HepG2细胞株; 生长; 增殖

李玮, 林世德, 龙骏. 肝衰竭患者血浆对HepG2细胞增殖的抑制及表皮生长因子的调控作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1204-1209

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1204.asp>

0 引言

我国有1.3亿慢性乙型肝炎病毒感染者, 部分慢性乙型肝炎患者病情恶化发展为慢加急性肝衰竭^[1,2]. 目前国内外对肝衰竭的内科治疗缺乏有效手段, 其死亡率高达50%-80%^[3]. 越来越多的研究表明, 肝衰竭患者存在肝再生障碍是其死亡率高的一个主要因素^[4-6]. 因此, 探讨肝衰竭患者肝再生障碍的原因及提高肝再生能力的可能性对提高肝衰竭患者生存率有重要临床意义.

目前国内外对肝衰竭患者肝再生障碍的机制尚未阐明, 有研究提示肝衰竭患者血清抑制肝细胞生长和增殖, 但对其机制缺乏深入了解; 另外有研究提示肝衰竭患者外周血肝再生刺激因子与肝再生抑制因子的不平衡升高可能是其肝再生迟缓的原因之一, 但临床上广泛使

用促肝细胞生长素治疗肝衰竭的疗效有限, 肝再生刺激因子能不能促进肝衰竭患者肝细胞增殖尚缺乏实验依据. 在本研究中, 我们通过观察肝衰竭患者血浆(liver failure plasma, LFP)对HepG2细胞生长和增殖、细胞增殖相关蛋白Cyclin D1及其辅助激酶(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)表达的影响, 初步探讨LFP抑制肝细胞生长和增殖的机制. 并进一步探讨不同浓度表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)对LFP抑制肝细胞生长和增殖的调控作用.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2购自上海细胞库(ATCC); DMEM高糖培养基购自Gibco公司; 新生小牛血清购自杭州四季清公司; 四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)细胞增殖试剂盒购自上海凯基生物有限公司; Hoechst细胞凋亡染色试剂盒购自碧云天生物有限公司; 表皮生长因子购自R&D公司; 鼠抗人Cyclin D1多克隆抗体、兔抗人CDK4多克隆抗体及内参 β -actin抗体购自美国Santa cruz公司; 辣根过氧化物酶标记羊抗鼠或羊抗兔IgG抗体购自碧云天生物有限公司.

实验所用血浆来自本科室3例慢加急性LFP置换时分离血浆, 实验前血浆未经过任何处理. 诊断参照中华医学会感染病学分会和肝病学会修订的《肝衰竭诊疗指南》诊断标准^[7]. 患者均为乙型肝炎病毒感染, 并除外甲型、丙型、戊型肝炎病毒感染. 血浆置换前, 3例患者均未使用过促肝细胞生长素、糖皮质激素、胰岛素等已知对肝细胞生长和增殖有影响的药物治疗. 3例患者凝血功能和生化等检查如下: 凝血酶原时间 23.7 ± 10.6 s, 总胆红素 $680.1 \mu\text{mol/L} \pm 153.1 \mu\text{mol/L}$, 总蛋白 $28.7 \text{ g/L} \pm 2.0 \text{ g/L}$. HBsAg均阳性, HBV-DNA都在 10^6 copies/mL以上. 用50%正常人血浆(normal control plasma, NCP)作对照, 正常对照血浆来自3例肝功能正常的本院职工, 除外肝炎病毒感染, 年龄及性别与肝衰竭患者无统计学差异. 根据预实验采用10%、20%、30%、40%、50%浓度LFP与HepG2细胞培养, 发现50%LFP抑制作用最明显, 因此, 本实验选择50%LFP进行. 所有实验都采用3例LFP并重复2次进行, 最后取平均值.

1.2 方法

1.2.1 MTT法检测细胞增殖实验: 以含100 mL/L

■ 相关报道

Aladjem等研究显示在小鼠2/3肝切除后的DNA合成前, Cyclin D1的mRNA和蛋白量达到最高水平; Hirsch等通过在G₁期给纤维母细胞株进行抗Cyclin D1抗体细胞内微注射, 则S期的启动被阻止.

■创新盘点

本研究发现大剂量EGF对肝衰竭患者血浆(LFP)培养的HepG2细胞增殖虽有一过性刺激作用,但不能逆转其抑制作用;LFP抑制HepG2细胞生长和增殖的机制可能与其抑制细胞内Cyclin D1、CDK4的表达有关。

小牛血清的DMEM培养基调整HepG2细胞至 $1 \times 10^4/\text{mL}$ 浓度,接种于96孔板中培养6 h,去除培养基,用无血清培养基同步后,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗3遍,分别加入含50%LFP(肝衰竭组)、50%NCP(正常对照组)和100 mL/L小牛血清的DMEM培养基继续培养6、12、24、48、72 h后,用MTT法检测细胞增殖,在490 nm波长下,酶标仪测吸光度(A)值。

1.2.2 EGF对HepG2细胞生长与增殖的影响:在肝衰竭组及正常对照组培养基中加入EGF,使EGF浓度分别达到5、10、20 $\mu\text{g/L}$,同上述实验方法培养细胞,并用MTT法观察细胞生长及增殖情况。

1.2.3 Hoechst法检查细胞凋亡:取对数期生长的HepG2细胞,制成细胞悬液,调整细胞浓度为 $1 \times 10^4/\text{mL}$,取适量细胞悬液进行爬片,加入50%LFP或50%NCP培养6、12、24、48、72 h后,用Hoechst33258试剂进行染色,荧光显微镜下观察细胞核变化($\times 200$),每个时间点任意视野下选取100个细胞计算细胞凋亡率,实验重复3次,结果取平均值。

1.2.4 Western blot检测HepG2细胞内Cyclin D1、CDK4蛋白表达:首先观察50%NCP对HepG2细胞Cyclin D1的调节,再观察50%LFP对HepG2细胞Cyclin D1及CDK4的调节。方法如下:加入50%NCP或50%LFP培养细胞6、12、24、48、72 h后,用全细胞蛋白质抽提试剂盒提取各组HepG2细胞蛋白质,用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。取40 μg 蛋白质样品加上样缓冲液煮沸变性后,8%SDS-PAGE分离蛋白,转移至硝酸纤维素膜,用含5%脱脂奶粉的TBST封闭1 h,分别加入鼠抗人Cyclin D1多抗,兔抗人CDK4多抗,摇匀后,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜;TBST洗膜3次,每次10 min,分别加入兔抗鼠及羊抗兔二抗室温下反应1 h,TBST洗膜3次,每次10 min,以化学发光法特异性检测膜上Cyclin D1或CDK4的表达。

统计学处理 实验所得数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用SPSS13.0统计分析软件包对数据进行分析,利用单因素方差分析,独立样本 t 检验进行差异比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 肝衰竭患者血浆抑制HepG2细胞生长和增殖与正常对照组相比,在所有时间段LFP培养的HepG2细胞生长与增殖均受到抑制,A值有不同

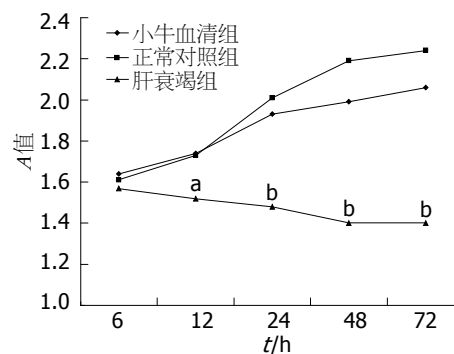


图1 肝衰竭患者血浆抑制HepG2细胞的生长与增殖。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常对照组。

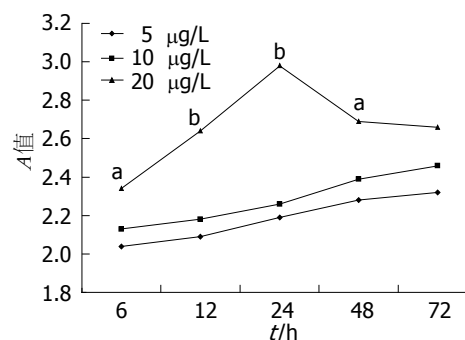


图2 EGF刺激正常对照组HepG2细胞生长与增殖。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs EGF(5 $\mu\text{g/L}$)组。

程度下降,血浆作用时间越长,下降越明显。12 h时明显低于正常对照组($P < 0.05$),24 h时与正常对照组比较有显著差异($P < 0.01$,图1)。

2.2 肝衰竭患者血浆不诱导HepG2凋亡 LFP培养HepG2细胞后,6、12、24、48、72 h的凋亡率分别为 $14\% \pm 3\%$ 、 $13\% \pm 4\%$ 、 $13\% \pm 5\%$ 、 $11\% \pm 6\%$ 及 $13\% \pm 7\%$,与正常对照组比较无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 EGF不能逆转肝衰竭患者血浆对HepG2细胞生长和增殖的抑制作用 不同浓度EGF对正常对照组HepG2细胞生长均有刺激作用,呈浓度依赖性,在24 h时,20 $\mu\text{g/L}$ 浓度组与10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 浓度组有显著差异($P < 0.01$,图2)。然而,仅大剂量EGF对肝衰竭组HepG2细胞生长与增殖有一过性刺激作用,在48 h时,20 $\mu\text{g/L}$ EGF浓度组细胞数明显多于5 $\mu\text{g/L}$ EGF浓度组($P < 0.05$),72 h时,20 $\mu\text{g/L}$ 浓度组与5 $\mu\text{g/L}$ 浓度组差异无统计学意义(图3)。进一步比较20 $\mu\text{g/L}$ EGF对正常对照组及肝衰竭组HepG2细胞的刺激作用发现,肝衰竭组HepG2细胞各时间点仍明显低于正常对照组($P < 0.01$,图4)。提示大剂量EGF虽然对LFP培养HepG2细胞增殖有一过性刺激作用,但仍然不能逆转LFP对HepG2细胞的抑制作用。

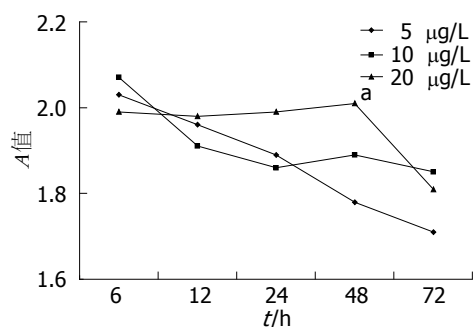


图 3 EGF不能逆转肝衰竭患者血浆对HepG2细胞的抑制作用。^a $P<0.05$ vs EGF(5 μg/L)组。

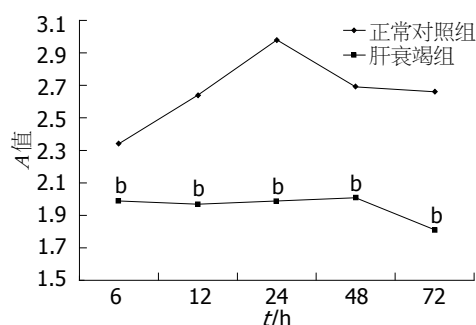


图 4 EGF(20 μg/L)对正常对照组及肝衰竭组HepG2细胞的作用。^b $P<0.01$ vs 肝衰竭组。

2.4 肝衰竭患者血浆下调HepG2细胞内Cyclin D1及CDK4表达 HepG2细胞经正常对照血浆培养后, Cyclin D1表达增加(图5), 经LFP培养后, 细胞内Cyclin D1和CDK4表达受到抑制, 其中以Cyclin D1变化明显, 当LFP作用12 h时, Cyclin D1的表达明显下降, 同时CDK4表达也有所降低, 并且随作用时间的延长, LFP对HepG2细胞内Cyclin D1、CDK4表达的抑制作用越明显(图6)。

3 讨论

急性或亚急性(包括慢加急性或亚急性)肝衰竭患者预后主要和肝脏炎症坏死程度和肝再生能力有关^[8,9], 部分肝衰竭患者通过合理治疗后, 可以通过肝脏再生恢复肝脏功能。但多数肝衰竭患者肝脏损伤后迟迟不能再生, 存在肝再生障碍, 肝脏功能得不到恢复, 最后出现各种并发症而死亡^[10,11]。国内外学者对肝衰竭患者肝再生障碍的机制作了初步探索^[12-14], 可能与很多因素有关, 包括肝损害程度过重、促肝细胞生长因子浓度相对不足及其信号传导通路障碍、肝细胞增殖相关基因表达和蛋白水平低下等^[15-18]。

既往研究证实肝衰竭患者血清或血浆抑制肝细胞增殖^[19,20], 但对其抑制机制尚缺乏了

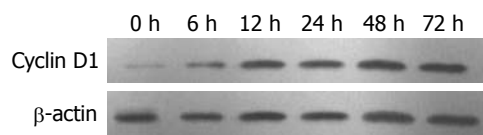


图 5 正常对照组血浆诱导HepG2细胞Cyclin D1表达。

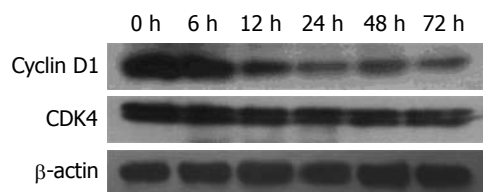


图 6 肝衰竭患者血浆抑制HepG2细胞Cyclin D1和CDK4表达。

解。在本研究中, LFP与HepG2细胞共同培养后, MTT法检测发现其活力逐渐下降, 并且这种作用随着时间的延长而增强, 细胞凋亡无明显增加, 提示LFP抑制HepG2细胞生长与增殖, 与既往研究结果一致。肝癌细胞株虽然与正常肝细胞在其生长、增殖及增殖信号的传递等方面可能存在差异, 但由于肝癌细胞株是一种生长、繁殖较快的细胞株, 对生长抑制信号更为敏感^[20]。因而, 我们在本研究中采用肝癌细胞株HepG2细胞初步探讨LFP抑制肝细胞生长和增殖的机制。

肝细胞增殖是一个复杂的过程^[21], 他需要通过几个关键周期。细胞周期蛋白在细胞周期中起到非常重要的作用, 其中CyclinD1及CDK4是调控细胞从G₁期进入S期的关键蛋白^[22-24]。通过本实验我们发现LFP下调HepG2细胞内Cyclin D1、CDK4的表达, 其中以CyclinD1较明显, 提示LFP抑制HepG2细胞生长与增殖的机制可能与其抑制细胞内Cyclin D1、CDK4的表达有关。

既往研究中我们及其他学者均发现肝衰竭患者外周血肝再生促进因子和肝再生抑制因子都有不同程度升高^[25], 因而, 有学者认为肝再生促进因子与肝再生抑制因子的不平衡升高可能是肝衰竭患者肝再生障碍的原因之一。本实验中我们进一步用外源性EGF刺激HepG2细胞, 通过改变LFP中肝再生促进因子水平及肝再生促进因子与肝再生抑制因子的平衡, 观察LFP对HepG2细胞生长与增殖的作用。发现在正常对照组EGF对HepG2细胞的生长与增殖有较强的刺激作用; 但在肝衰竭组, 仅大剂量EGF有一过性刺激作用, 持续时间明显缩短, 说明大剂量EGF不能逆转LFP对HepG2细胞的抑制, 提示

■应用要点

了解Cyclin D1、CDK4在肝衰竭患者肝再生障碍中的作用, 有助于阐明肝衰竭患者肝再生障碍的机制, 为肝衰竭患者的治疗提供理论基础。

同行评价

本研究LFP对HepG2细胞生长、增殖的抑制作用及可能机制,并进一步探讨EGF对这种抑制作用的调控作用;课题设计较为合理,论据较为充分,对阐明肝衰竭的发病机制有一定意义。

LFP抑制HepG2细胞生长及增殖的原因,可能与肝再生促进因子与肝再生抑制因子的平衡失调无明显关系。

EGF虽被认为是强有力的促进细胞生长因子,但其必须与其受体EGFR结合,使EGFR磷酸化,并通过细胞内一系列信号传递,才能发挥刺激细胞生长的作用^[26-29]。LFP是否会引起HepG2细胞EGFR表达下降及细胞内信号传递障碍值得进一步研究。有报道肝衰竭小鼠肝细胞存在内质网应激反应^[30],而内质网应激反应会降低EGFR的表达^[31]。另外,通过增加其他肝再生促进因子如HGF能不能逆转LFP对正常肝细胞的抑制作用有待今后做进一步研究。

总之,我们的研究结果提示肝衰竭患者肝再生障碍的原因之一可能与其血浆抑制肝细胞增殖有关,增加血浆中肝再生促进因子EGF并不能明显改善肝衰竭患者肝细胞增殖能力。

参考文献

- Liu Q, Liu Z, Wang T, Wang Q, Shi X, Dao W. Characteristics of acute and sub-acute liver failure in China: nomination, classification and interval. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2101-2106
- Sarin SK, Kumar A, Almeida JA, Chawla YK, Fan ST, Garg H, de Silva HJ, Hamid SS, Jalan R, Komolmit P, Lau GK, Liu Q, Madan K, Mohamed R, Ning Q, Rahman S, Rastogi A, Riordan SM, Sakhuja P, Samuel D, Shah S, Sharma BC, Sharma P, Takikawa Y, Thapa BR, Wai CT, Yuen MF. Acute-on-chronic liver failure: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the study of the liver (APASL). *Hepatol Int* 2009; 3: 269-282
- Shi XL, Gu JY, Zhang Y, Han B, Xiao JQ, Yuan XW, Zhang N, Ding YT. Protective effects of ACLF sera on metabolic functions and proliferation of hepatocytes co-cultured with bone marrow MSCs in vitro. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2397-2406
- Riordan SM, Williams R. Perspectives on liver failure: past and future. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 137-141
- Rutherford A, Chung RT. Acute liver failure: mechanisms of hepatocyte injury and regeneration. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 167-174
- Stravitz RT, Kramer DJ. Management of acute liver failure. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 542-553
- 中华医学会感染学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 643-646
- Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43: S45-S53
- Zhu RZ, Xiang D, Xie C, Li JJ, Hu JJ, He HL, Yuan YS, Gao J, Han W, Yu Y. Protective effect of recombinant human IL-1Ra on CCl4-induced acute liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2771-2779
- O'Grady JG. Acute liver failure. *Postgrad Med J* 2005; 81: 148-154
- McKenzie TJ, Lillegard JB, Nyberg SL. Artificial and bioartificial liver support. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 210-217
- 林世德, 李玮, 龙骏, 铃木一幸. 重型肝炎肝再生障碍的相关因素. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 796-798
- Su AI, Guidotti LG, Pezacki JP, Chisari FV, Schultz PG. Gene expression during the priming phase of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 11181-11186
- Yu CH, Chen HL, Chen YH, Chang MF, Chien CS, Chang MH. Impaired hepatocyte regeneration in acute severe hepatic injury enhances effective repopulation by transplanted hepatocytes. *Cell Transplant* 2009; 18: 1081-1092
- Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol* 2007; 213: 286-300
- Rozga J. Hepatocyte proliferation in health and in liver failure. *Med Sci Monit* 2002; 8: RA32-RA38
- 李玮, 林世德, 龙骏, 铃木一幸. 细胞因子对肝再生的调节. *贵州医药* 2009; 33: 371-373
- Gatzidou E, Kouraklis G, Theocharis S. Insights on augmenters of liver regeneration cloning and function. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4951-4958
- 程永波, 陈志, 王英杰, 张世昌, 刘俊. 重型肝炎病人血浆对体外培养HepG2细胞生长和解毒功能的影响. *第三军医大学学报* 2005; 27: 1953-1955
- Shi Q, Gaylor JD, Cousins R, Plevris J, Hayes PC, Grant MH. The effects of serum from patients with acute liver failure on the growth and metabolism of Hep G2 cells. *Artif Organs* 1998; 22: 1023-1030
- Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000; 32: 19-31
- Boylan JM, Gruppiso PA. D-type cyclins and G1 progression during liver development in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 330: 722-730
- Makino H, Shimada H, Morioka D, Kunisaki C, Morita T, Matsuyama R, Kubota T, Shimizu D, Ichikawa Y, Tanaka K, Matsuo K, Togo S, Endo I, Nagashima Y, Okazaki Y, Hayashizaki Y. Analysis of gene expression profiles in fatal hepatic failure after hepatectomy in mice. *J Surg Res* 2011; 169: 36-43
- Ehrenfried JA, Ko TC, Thompson EA, Evers BM. Cell cycle-mediated regulation of hepatic regeneration. *Surgery* 1997; 122: 927-935
- Lin SD, Kawakami T, Ushio A, Sato A, Sato S, Iwai M, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K. Ratio of circulating follistatin and activin A reflects the severity of acute liver injury and prognosis in patients with acute liver failure. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 374-380
- Hornberg JJ, Bruggeman FJ, Binder B, Geest CR, de Vaate AJ, Lankelma J, Heinrich R, Westerhoff HV. Principles behind the multifarious control of signal transduction. ERK phosphorylation and kinase/phosphatase control. *FEBS J* 2005; 272: 244-258
- Reinehr R, Häussinger D. CD95 death receptor and epidermal growth factor receptor (EGFR) in liver cell apoptosis and regeneration. *Arch Biochem Biophys* 2012; 518: 2-7
- Natarajan A, Wagner B, Sibilio M. The EGF receptor is required for efficient liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 17081-17086
- Khai NC, Takahashi T, Ushikoshi H, Nagano S, Yuge K, Esaki M, Kawai T, Goto K, Murofushi Y, Fujiwara T, Fujiwara H, Kosai K. In vivo hepatic HB-EGF gene transduction inhibits Fas-induced liver injury and induces liver regeneration in mice: a comparative study to HGF. *J Hepatol* 2006; 44: 1046-1054
- 周惠娟, 谢青, 姜山, 李光明, 周霞秋, 刘海防, 俞红, 郭

- 清. Caspase-12在D-氨基半乳糖联合脂多糖诱导小鼠急性肝功能衰竭中的表达及作用. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 685-688
- 31 Ling YH, Li T, Perez-Soler R, Haigentz M. Activa-

tion of ER stress and inhibition of EGFR N-glycosylation by tunicamycin enhances susceptibility of human non-small cell lung cancer cells to erlotinib. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64: 539-548

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、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.

NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性

林美娇, 吕小平, 陈 兰, 詹灵凌

■背景资料

研究发现遗传易感性在炎症性肠病(IBD)发病中起着重要作用。NOD2/CARD15基因是第1个被发现的CD易感基因,已证实该基因上的3个SNPs(R702W、G908R和L1007fs)与西方白种人CD有显著相关性,但在亚洲人群中未得到证实。

林美娇, 吕小平, 陈兰, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

詹灵凌, 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部 广西壮族自治区南宁市 530021

林美娇, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科回0832009

广西卫生厅中医药科技专项课题基金资助项目, No. GZKZ10-108

作者贡献分布: 林美娇与吕小平对此文所作贡献均等; 此课题由林美娇、陈兰及吕小平设计; 研究过程由林美娇与陈兰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由詹灵凌提供; 数据分析由林美娇完成; 本论文写作由林美娇与吕小平完成。

通讯作者: 吕小平, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科。lxxp58@hotmail.com

电话: 0771-3277211

收稿日期: 2012-02-02 修回日期: 2012-03-15

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Correlation of R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene with susceptibility to inflammatory bowel disease in Zhuang population in Guangxi, China

Mei-Jiao Lin, Xiao-Ping Lv, Lan Chen, Ling-Ling Zhan

Mei-Jiao Lin, Xiao-Ping Lv, Lan Chen, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ling-Ling Zhan, Department of Clinical Experimental Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0832009; and the Chinese Traditional Medicine Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. GZKZ10-108

Correspondence to: Xiao-Ping Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lxxp58@hotmail.com

Received: 2012-02-02 Revised: 2012-03-15

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

inflammatory bowel disease (IBD) in a Zhuang population in Guangxi, China.

METHODS: Intestinal tissue samples of 70 Zhuang and 76 Han unrelated IBD patients and 80 Zhuang and 84 Han unrelated healthy people were collected in Guangxi from February 2007 to October 2010. Genomic DNA was prepared from these intestinal samples and used to genotype the R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

RESULTS: None of the patients with IBD and healthy controls had heterozygous or homozygous SNP variants. The distributions of genotype and allele frequencies were not significantly different between the IBD group and healthy control group. No significant differences were noted in the NOD2/CARD15 gene R702W, G908R and L1007fs polymorphisms among patients with Crohn's disease, ulcerative colitis and control subjects in Zhuang and Han populations in Guangxi (all $P > 0.05$). Gene mutation genotypes of the NOD2/CARD15 gene R702W, G908R and L1007fs polymorphisms were not found in these populations.

CONCLUSION: R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene are not associated with susceptibility to IBD in the Zhuang population in Guangxi.

Key Words: Inflammatory bowel disease; NOD2/CARD15; Single nucleotide polymorphism

Lin MJ, Lv XP, Chen L, Zhan LL. Correlation of R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene with susceptibility to inflammatory bowel disease in a Zhuang population in Guangxi, China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1210-1215

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

Abstract

AIM: To investigate the relationship between R702W, G908R and L1007fs polymorphisms of the NOD2/CARD15 gene and susceptibility to

摘要

目的: 探讨我国广西壮族人群NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs的遗传多态性

与炎症性肠病的相关性.

方法: 分别收集2007-02/2010-10在广西地区无亲缘关系的壮族($n = 70$)和汉族($n = 76$)IBD患者及壮族($n = 80$)和汉族($n = 84$)正常对照者的肠黏膜组织. 采用酚氯仿法提取各组织样本DNA, 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP)方法对NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs进行检测, 统计基因型及等位基因频率, 分析上述3个多态性位点与广西壮族人群炎症性肠病的相关性.

结果: 广西壮族和汉族IBD患者与正常对照者均未发现NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs突变型基因型, 所有多态性位点上的基因型全部为野生型纯合子, 其基因型频率和等位基因频率分布在IBD患者和正常对照者中差异无统计学意义($P > 0.05$).

结论: NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病无明显相关性.

关键词: 炎症性肠病; NOD2/CARD15基因; 单核苷酸多态性

林美娇, 吕小平, 陈兰, 詹灵凌. NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1210-1215
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1210.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)两种临床类型. 目前关于炎症性肠病的病因和发病机制尚未有定论, 大多数学者的观点是携带遗传易感基因的人群在环境因素、细菌感染及自身免疫等多种因素的共同作用下, 引起肠道黏膜慢性感染, 黏膜抗原屏障缺陷, 自身免疫功能失衡最终导致疾病的发生^[1,2]. 其中, 遗传易感性在IBD发病中起着重要作用. 迄今, 已发现多个与西方白人IBD发病相关的易感基因和易感单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点^[3-5]. NOD2/CARD15基因是第1个被发现的CD易感基因, 已证实该基因上的3个SNPs(R702W、G908R和L1007fs)与西方白种人CD有显著相关性^[6,7], 但在亚洲人群中未得到证实^[8-10]. 在广西壮族人群中, NOD2/CARD15基因变异与IBD的相关性如何目前尚未见报道. 因此, 本研究以广西壮族人

群为研究样本, 通过聚合酶链限制性片段分析(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)方法对NOD2基因的多态性位点进行检测, 从分子水平上探讨该基因多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-02/2010-10广西医科大学第一附属医院消化内科就诊的广西地区无亲缘关系的IBD患者146例, 男74例, 女72例, 年龄 38 ± 11 岁, UC患者86例, CD患者60例, 其中壮族患者70例, 汉族患者76例. UC及CD诊断参照2007年中华医学会消化病学分会制定的标准^[9], 并除外合并其他自身免疫性疾病. 另取广西地区无亲缘关系的健康对照者164例, 男81例, 女83例, 年龄 42 ± 9 岁, 其中壮族80例, 汉族84例. IBD组和健康对照组间年龄及性别比较差异无统计学意义($P > 0.05$).

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取: 收集两组新鲜的肠黏膜组织约30-50 mg, 保存于液氮灌中. 将新鲜标本用生理盐水清洗干净、剪碎, 加入450 μ L TES、50 μ L 10%SDS和5 μ L蛋白酶K(20 g/L), 混匀后置于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴4-6 h, 加入等体积苯酚, 混匀后4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min离心10 min; 提取上清液于另一试管, 加入等体积酚、氯仿和异戊醇(25:24:1), 混匀后4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min离心10 min; 提取上清液于另一试管, 加入等体积氯仿和异戊醇(24:1), 混匀后4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min离心10 min. 提取上清液移至另一试管中, 加入2.5倍体积无水乙醇, 反复抽吸直至看到白色絮状沉淀完全析出; 在白色絮状物中加入75%乙醇混匀洗涤2次, 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 r/min离心5 min, 去掉上清液, 放置于冰箱挥干, 将挥干的DNA加入50-100 μ L TE溶解, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 并测定DNA纯度与浓度.

1.2.2 PCR扩增目的片段: 采用限制性片段长度PCR技术扩增NOD2/CARD15目的基因. 引物序列参考文献[10]设计, 由上海生工生物工程技术有限公司合成(表1). PCR反应总体积为25 μ L, 包括10 \times PCR buffer 2.5 μ L, 2 \times Taq 酶1 U, dNTP mix 0.5 μ L, 上下游引物各1 μ L, DNA模版1 μ L, ddH₂O补足至25 μ L. PCR扩增反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性35 s, 退火40 s(温度见表1), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸50 s, 35个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终末延伸

■ 研发前沿

IBD是一种复杂的多基因疾病, 其易感性涉及多个基因位点, 且有着显著的种族、地域和人群差异性, 其具体的发生机制及如何将其运用于IBD患者的诊断和治疗尚待进一步研究. 迄今为止, 还没有找到与我国乃至亚洲IBD人群明显相关的基因和SNP位点.

■创新盘点

本研究通过PCR-RFLP分析方法发现NOD2/CARD15基因R702W、G908W及L1007fs的单核苷酸多态性位点与中国广西壮族群IBD发病的易感性无相关性,而与西方白人种人CD有显著相关性,提示IBD基因单核苷酸多态性位点突变有着显著的种族和地域差异性。

表 1 NOD2/CARD15基因目的片段PCR引物

SNPs	引物序列	片段长度(bp)	退火温度(°C)
R702W	F: 5'TTCAGATCACAGCAGCCTTC3' R: 5'CCCACACTGCAAAATGTCAAC3'	313	53
G908R	F: 5'TCTGGCTGGGACTGCAGAGG3' R: 5'CCCCTCGTCACCCACTCTGTCGC3'	131	56
3020insC	F: 5'GGCAGAAGCCCTCCTGCAGGGCC3' R: 5'CCTCAAAATTCTGCCATTCC3'	151	63

表 2 NOD2/CARD15基因3个SNP位点的限制性内切酶及酶切片段

SNP	突变点	内切酶	野生型酶切片段(bp)	突变型酶切片段
R702W	2104C→T	<i>Msp</i> I	34, 20, 259	130, 183
G908R	2722G→C	<i>Bst</i> U I	131	109, 22
1007finsC	3020insC	<i>Apa</i> I	151	20, 131

5 min. PCR产物置4 °C冰箱保存, 取PCR产物于2%琼脂糖凝胶电泳, 并在紫外分析仪下分析鉴定。

1.2.3 PCR-RFLP: 取PCR产物10 μL, 分别加入10×Buffer缓冲液1.5 μL, 限制性内切酶1 μL, 灭菌双蒸水1.5 μL, 使反应总体积为15 μL, 混匀后1 000 r/min离心1 min, 置于37 °C的恒温水浴箱中酶切消化10 h. 将酶切好的PCR产物10 μL, 加样到含有核酸染料(Goldview)的3%琼脂糖凝胶中, 以1×TBE为电泳缓冲液, 100 V电泳40-60 min, 在紫外分析成像仪上拍照并保存图像(各位点对应的内切酶及酶切后片段大小见表2)。

统计学处理 采用统计学软件SPSS15.0进行分析, 用计数法计算R702W、g908R及L1007fs 3个多态性位点基因型频率和等位基因频率, 并进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验, 比较各组间基因型及等位基因分布的差异采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR扩增目的片段的鉴定 所有研究对象的PCR产物与目的片段大小一致, R702W、G908R、L1007fs位点扩增的目的长度分别为313 bp、131 bp、151 bp(图1), 说明扩增成功。

2.2 酶切产物电泳

2.2.1 R702W位点: PCR扩增产物长度为313 bp, 被限制性内切酶*Msp* I 酶切后, CC纯合子可被酶切成259 bp、20 bp和34 bp 3个片段, CT杂合子可被酶切成259 bp、20 bp、34 bp、130 bp、183 bp和313 bp 6个片段, TT纯合子则被切割成

130 bp和183 bp 2个片段. 图2A为R702W位点的酶切电泳结果, 均为CC纯合子基因型, 未发现突变型基因型(因20 bp和34 bp片段过小, 电泳后已移到凝胶以外)。

2.2.2 G908R位点: PCR扩增产物长度为131 bp, 被限制性内切酶*Bst*U I 酶切后, CC纯合子可被酶切成109 bp和22 bp 2个片段, GC杂合子可被酶切成22 bp、109 bp和131 bp 3个片段, GG纯合子则不能被切割. 图2B为G908R的酶切电泳图, 均为GG纯合子。

2.2.3 L1007fs位点: PCR产物长度为151 bp, 经限制性内切酶*Apa* I 酶切后, 纯合子突变型可被酶切成20 bp和131 bp 2个片段, 杂合子突变型可被酶切成20 bp、131 bp和151 bp 3个片段, 纯合子野生型则不能被切割. 图2C为L1007fs酶切电泳图结果, 均为纯合子野生型。

2.3 基因型及等位基因频率分布 对NOD2/CARD15基因的3个SNP(R702W、G908R和L1007fs)位点的基因型和等位基因频率分布进行Hardy-Weinberg平衡检验, 各组间差异无统计学意义($\chi^2 = 0.000$, $P = 1.000$, $P>0.05$), 说明病例组和对照组均是达到遗传平衡的群体, 具有群体代表性. 在IBD患者和正常对照者中, NOD2/CARD15基因3个常见多态性位点的基因型均为野生型纯合子, 未发现突变型基因型; IBD患者与正常对照组NOD/CARD15基因的3个等位基因携带频率比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$, 表3), 提示NOD2/CARD15基因的R702W、G908R及L1007fs位点的多态性可能与中国广西壮族自治区的IBD无明显相关性。

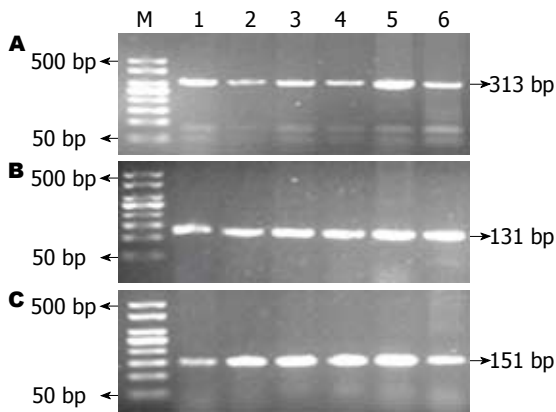


图 1 广西壮族、汉族人群IBD患者及对照组中R702W、G908R及L1007fs PCR产物电泳图. A: R702W; B: G908R; C: L1007fs. M: Marker; 1, 2: 正常对照组; 3, 4: 汉族人UC、CD组; 5, 6: 壮族人UC、CD组.

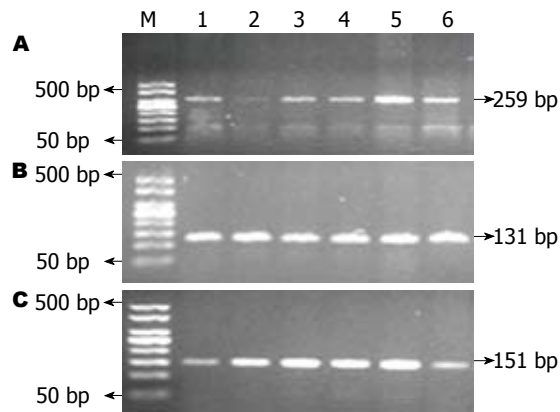


图 2 广西壮族、汉族人群IBD患者及对照组中R702W、G908R及L1007fs酶切产物电泳图. A: R702W; B: G908R; C: L1007fs. M: Marker; 1, 2: 正常对照组; 3, 4: 汉族人UC、CD组; 5, 6: 壮族人UC、CD组.

■应用要点
IBD基因单核苷酸多态性位点突变有着显著的种族和地域差异性, 因此, 在我国人群中应展开大规模的易感基因及易感突变位点的筛查.

表 3 NOD2/CARD15基因R702W、G908R、L1007fs基因型和等位基因分布

SNPs	基因型	IBD(壮族, n)	IBD(汉族, n)	正常对照组(n)
R702W	C/C	70	76	164
	C/T	0	0	0
	T/T	0	0	0
	T等位基因频率(%)	0	0	0
G908R	G/G	70	76	164
	G/C	0	0	0
	C/C	0	0	0
	C等位基因频率(%)	0	0	0
1007finsC	WT/WT	70	76	164
	WT/M	0	0	0
	M/M	0	0	0
	insC等位基因频率(%)	0	0	0

3 讨论

人类NOD2/CARD15基因位于16q12, 编码的NOD2蛋白包含2个N末端caspase征集区(caspase recruitment domain, CARD), 1个中央核酸结合域(nucleotide binding domain, NBD)和1个C末端富含亮氨酸重复区(Leucine rich repeat, LRR), LRR区域具有结合脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)等微生物成分的活性. NOD2蛋白是参与细胞凋亡调控的Apaf-ced4超家族的第3成员, 主要在外周血单核巨噬细胞中表达, 其功能包括介导细胞凋亡、诱导核因子(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)活化以及影响肠道先天性防御功能如小肠潘氏细胞防御素的表达^[11]. NOD2蛋白的功能与自身结构密切相关, 当基因发生突变时, 其编码的蛋白功能也将发生改变. NOD2通过激活NF- κ B而参与应答细菌LPS和PGNs的免疫反应, 然

后通过信号转导途径诱导一系列炎性细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素及抗炎因子的转录和表达, 这些炎性因子可引起炎性细胞向病原体侵入部位作趋化运动并释放炎性介质, 引起局部防御性炎性改变^[12]. NOD2/CARD15基因发生突变时均可降低NF- κ B的活性, 使人体对细菌产物的先天性免疫反应减弱, 受到未及时清除的细胞成分及细菌产物的损害, 导致CD特征性的肠道改变^[13]. 有研究发现转染野生型NOD2的Caco2细胞清除细菌的能力明显强于转染突变型NOD2的细胞, 机制可能是CARD15通过LRR识别细菌肽聚糖MDP, 后刺激包括 α 防御素等抗微生物肽的分泌来保护机体^[13], 在CD患者体内防御素水平下降, 尤其是携带NOD2基因变异的患者体内下降更明显, 这也支持了NOD2基因突变与CD发病相关的结论. 大多数研究表明, NOD2基

■名词解释

PCR-RFLP: 聚合酶链限制性片段分析, 是集限制性内切酶、核酸电泳、印迹技术、探针杂交等技术于一体的综合应用, 多用于临床遗传性疾病的基因诊断, 其常用于生物群体的遗传分析。

因的3个多态性只与CD相关, 而与UC无关, 并且与CD患者的发病年龄、发病部位、病情严重程度及是否有并发症密切相关^[14-16], 说明了UC和CD为IBD的2种不同临床类型。

对比多个国内外的研究结果, 发现NOD2/CARD15基因3个SNP位点的基因型和等位基因携带频率分布均存在明显的地域、种族及人群的差异, 即研究样本的种族和遗传背景不同, 研究结果也不一致。在高加索白人IBD患者中, NOD2基因的3个等位基因携带频率分别为R702W 3.5%-12.9%, G908W 0.8%-6.0%, L1007fs 1.7%-13.7%, 而在挪威3个等位基因的携带率相对较低^[15-17]。普遍认为, NOD2突变率在北美、欧洲中部和西部发生率较高(19.1%-29.0%), 而非裔美国人的突变率却较低(2.6%)^[18-21]。NOD2基因多态性与亚洲人群的相关性研究与西方国家研究结果不一致, NOD2基因3个SNP的突变率在亚洲人群中(包括日本、中国浙江、香港和韩国^[10,22-24])不存在或者极低。另外, 对巴西IBD患者的研究发现R702W突变率(9.63%)与欧洲人群相似, 而3020insC突变率(3.47%)却比西欧、北美国家低(6%-16%)低, 这一现象在芬兰、苏格兰、西班牙也可观察到^[25-29]。这些充分说明不同的基因突变型对不同种族和不同地区人群的IBD发病易感性的影响不同, 种族差异性遗传异质性的分子基础之一, 验证了基因多态性作为疾病易感性遗传标记的复杂性。

本研究通过PCR-RFLP分析方法对NOD2/CARD15的3个单核苷酸多态性位点与中国广西壮族IBD患者的相关性进行检测。在146例IBD患者和164例健康对照者中均未能检测到NOD2/CARD15基因R702W、G908W及L1007fs的突变, 提示这3个西方白种人常见的NOD2基因多态性位点发生率在中国广西壮族人群中极低或者不存在, 说明NOD2/CARD15基因R702W、G908W及L1007fs多态性可能与中国广西壮族人群IBD发病的易感性无相关性。而在其他国家和地区报道他们与IBD发病的易感性有相关性, 可能是由于明显的地域、种族及人群的差异性所致。

4 参考文献

- Irving PM, Gibson PR. Infections and IBD. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 18-27
- Matricon J, Barnich N, Ardid D. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Self Nonself* 2010; 1: 299-309
- Gazouli M, Pachoula I, Panayotou I, Mantzaris G,

- Chrousos G, Anagnou NP, Roma-Giannikou E. NOD2/CARD15, ATG16L1 and IL23R gene polymorphisms and childhood-onset of Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1753-1758
- Cucchiara S, Latiano A, Palmieri O, Staiano AM, D'Inca R, Guariso G, Vieni G, Rutigliano V, Borrelli O, Valvano MR, Annese V. Role of CARD15, DLG5 and OCTN genes polymorphisms in children with inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1221-1229
- Newman WG, Zhang Q, Liu X, Amos CI, Siminovitch KA. Genetic variants in IL-23R and ATG16L1 independently predispose to increased susceptibility to Crohn's disease in a Canadian population. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 444-447
- Lapis K. [Barrier- and autophagic functions of the intestinal epithelia: role of disturbances in the pathogenesis of Crohn's disease]. *Orv Hetil* 2010; 151: 1645-1655
- Bamias G, Cominelli F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 365-369
- Pelteková VD, Wintle RF, Rubin LA, Amos CI, Huang Q, Gu X, Newman B, Van Oene M, Cescon D, Greenberg G, Griffiths AM, St George-Hyslop PH, Siminovitch KA. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet* 2004; 36: 471-475
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-496
- Li M, Gao X, Guo CC, Wu KC, Zhang X, Hu PJ. OCTN and CARD15 gene polymorphism in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4923-4927
- Strober W, Watanabe T. NOD2, an intracellular innate immune sensor involved in host defense and Crohn's disease. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 484-495
- Salucci V, Rimoldi M, Penati C, Sampietro GM, van Duist MM, Matteoli G, Saibeni S, Vecchi M, Ardizzone S, Porro GB, Rescigno M. Monocyte-derived dendritic cells from Crohn patients show differential NOD2/CARD15-dependent immune responses to bacteria. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 812-818
- Hruz P, Eckmann L. Innate immune defence: NOD2 and autophagy in the pathogenesis of Crohn's disease. *Swiss Med Wkly* 2011; 140: w13135
- Okazaki T, Wang MH, Rawsthorne P, Sargent M, Datta LW, Shugart YY, Bernstein CN, Brant SR. Contributions of IBD5, IL23R, ATG16L1, and NOD2 to Crohn's disease risk in a population-based case-control study: evidence of gene-gene interactions. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1528-1541
- Núñez C, Barreiro M, Domínguez-Muñoz JE, Lorenzo A, Zapata C, Peña AS. CARD15 mutations in patients with Crohn's disease in a homogeneous Spanish population. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 450-456
- Protic MB, Pavlovic ST, Bojic DZ, Krstic MN, Radjovic ZA, Tarabar DK, Stevanovic AZ, Karan Djurasevic TZ, Godjevac MV, Svorcan PV, Dapcevic BD, Jovic NZ. CARD15 gene polymorphisms in Serbian patients with Crohn's disease: genotype-phenotype analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 978-984
- Mitrović M, Potočnik U. High-resolution melting curve analysis for high-throughput genotyping of NOD2/CARD15 mutations and distribution of

- these mutations in Slovenian inflammatory bowel diseases patients. *Dis Markers* 2011; 30: 265-274
- 18 Hugot JP, Zaccaria I, Cavanaugh J, Yang H, Vermeire S, Lappalainen M, Schreiber S, Annesse V, Jewell DP, Fowler EV, Brant SR, Silverberg MS, Cho J, Rioux JD, Satsangi J, Parkes M. Prevalence of CARD15/NOD2 mutations in Caucasian healthy people. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1259-1267
- 19 van der Linde K, Boor PP, Houwing-Duistermaat JJ, Crusius BJ, Wilson PJ, Kuipers EJ, de Rooij FW. CARD15 mutations in Dutch familial and sporadic inflammatory bowel disease and an overview of European studies. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 449-459
- 20 Rigoli L, Romano C, Caruso RA, Lo Presti MA, Di Bella C, Procopio V, Lo Giudice G, Amorini M, Costantino G, Sergi MD, Cuppari C, Calabro GE, Gallizzi R, Salpietro CD, Fries W. Clinical significance of NOD2/CARD15 and Toll-like receptor 4 gene single nucleotide polymorphisms in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4454-4461
- 21 Lakatos PL, Lakatos L, Szalay F, Willheim-Polli C, Osterreicher C, Tulassay Z, Molnar T, Reinisch W, Papp J, Mozsik G, Ferenci P. Toll-like receptor 4 and NOD2/CARD15 mutations in Hungarian patients with Crohn's disease: phenotype-genotype correlations. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1489-1495
- 22 Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, Fukuda Y, Takahashi S, Ogura Y, Inohara N, Núñez G, Kishi Y, Koike Y, Shimosegawa T, Shimoyama T, Hibi T. Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 86-91
- 23 Wang ZW, Ji F, Teng WJ, Yuan XG, Ye XM. Risk factors and gene polymorphisms of inflammatory bowel disease in population of Zhejiang, China. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 118-122
- 24 Leong RW, Armuzzi A, Ahmad T, Wong ML, Tse P, Jewell DP, Sung JJ. NOD2/CARD15 gene polymorphisms and Crohn's disease in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1465-1470
- 25 Medici V, Mascheretti S, Croucher PJ, Stoll M, Hampe J, Grebe J, Sturniolo GC, Solberg C, Jahnsen J, Moum B, Schreiber S, Vatn MH. Extreme heterogeneity in CARD15 and DLG5 Crohn disease-associated polymorphisms between German and Norwegian populations. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 459-468
- 26 Arnott ID, Nimmo ER, Drummond HE, Fennell J, Smith BR, MacKinlay E, Morecroft J, Anderson N, Kelleher D, O'Sullivan M, McManus R, Satsangi J. NOD2/CARD15, TLR4 and CD14 mutations in Scottish and Irish Crohn's disease patients: evidence for genetic heterogeneity within Europe? *Genes Immun* 2004; 5: 417-425
- 27 Baptista ML, Amarante H, Picheth G, Sdepanian VL, Peterson N, Babasukumar U, Lima HC, Kugathasan S. CARD15 and IL23R influences Crohn's disease susceptibility but not disease phenotype in a Brazilian population. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 674-679
- 28 Tukel T, Shalata A, Present D, Rachmilewitz D, Mayer L, Grant D, Risch N, Desnick RJ. Crohn disease: frequency and nature of CARD15 mutations in Ashkenazi and Sephardi/Oriental Jewish families. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 623-636
- 29 Lappalainen M, Halme L, Turunen U, Saavalainen P, Einarisdottir E, Färkkilä M, Kontula K, Paavola-Sakki P. Association of IL23R, TNFRSF1A, and HLA-DRB1*0103 allele variants with inflammatory bowel disease phenotypes in the Finnish population. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1118-1124

■同行评价

本研究提示NOD-2/CARD15基因的3个单核苷酸多态性位点可能与中国广西壮族人群IBD发病的易感性无相关性,这对于研究我国壮族人群IBD遗传易感基因有较重要的临床意义,具有较好的实用性。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2011年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2011-01-01/2011-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1576篇,退稿932篇,退稿率59.13%,发表文章644篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评35篇(5.43%),基础研究135篇(20.96%),临床研究71篇(11.02%),焦点论坛17篇(2.64%),文献综述111篇(17.24%),研究快报58篇(9.01%),临床经验189篇(29.35%),病例报告24篇(3.73%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(编辑部主任:李军亮 2012-01-01)

MSCs分化为功能性肝细胞的研究进展

张国尊, 李春生, 张晓岚

■背景资料

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一, 肝移植是肝硬化、终末期肝病的唯一治疗方法, 由于肝源紧张、免疫排斥及费用昂贵限制了肝移植的临床应用。近年来研究发现, 干细胞移植可作为替代肝移植的一种新的移植治疗方法。

张国尊, 张晓岚, 河北医科大学第二医院消化科 河北省石家庄市 050000

李春生, 顺平县医院内科 河北省顺平县 072250

张国尊, 主要从事MSCs治疗肝纤维化及肝硬化方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由张国尊与李春生完成; 张晓岚审核。

通讯作者: 张晓岚, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院消化科。xiaolanzh@126.com

电话: 0311-66002955

收稿日期: 2011-12-23 修回日期: 2012-03-15

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Progress in research of differentiation of mesenchymal stem cells into functional hepatocytes

Guo-Zun Zhang, Chun-Sheng Li, Xiao-Lan Zhang

Guo-Zun Zhang, Xiao-Lan Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Chun-Sheng Li, Department of Internal Medicine, Hebei Shunping Hospital, Shunping 072250, Hebei Province, China

Correspondence to: Xiao-Lan Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. xiaolanzh@126.com

Received: 2011-12-23 Revised: 2012-03-15

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) are a group of stem cells deriving from mesodermal mesenchyme. They can be recovered from a variety of tissues, including bone marrow, umbilical cord tissue, umbilical cord blood, peripheral blood and adipose tissue. Under given conditions, MSCs can differentiate into bone, fat, nerve cells, hepatocytes and many other cells, and thus can be used as a new treatment to substitute for organ transplantation. In recent years, the incidence of end-stage liver disease has been increasing and it has become one of the major diseases affecting human health. Donor scarcity and immunological rejection limit the clinical application of liver transplantation. Numerous studies have confirmed the therapeutic effects of MSCs on hepatic fibrosis, cirrhosis and other liver diseases, which may be related to the differentiation of MSCs into functional hepatocytes.

This paper reviews the capacity, regulation and molecular mechanism of MSC differentiation and discusses the therapeutic effects of different sources of stem cells for liver fibrosis.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Differentiation; Hepatocytes

Zhang GZ, Li CS, Zhang XL. Progress in research of differentiation of mesenchymal stem cells into functional hepatocytes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1216-1221

摘要

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)来源于中胚层间充质, 广泛存在于骨髓、脐带组织、脐血、外周血、脂肪等组织中。在特定条件下, 可以分化为骨、脂肪、神经细胞及肝细胞等多种细胞, 进而作为一种替代器官移植的新的治疗方法。近年来, 肝硬化等终末期肝病的发病率日益上升, 成为影响人类健康的重大疾病之一。肝源紧张、免疫排斥限制了肝移植的临床应用, 然而众多研究证实MSCs对肝纤维化、肝硬化等肝病的治疗作用可能与其分化为功能性肝细胞有关, 但具体机制尚不十分清楚。本文就MSCs的分化能力及其分化的调控、分子机制和不同来源干细胞对肝纤维化的治疗作用作一综述。

关键词: 间充质干细胞; 分化; 肝细胞

张国尊, 李春生, 张晓岚. MSCs分化为功能性肝细胞的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1216-1221

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1216.asp>

0 引言

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一, 肝移植是肝硬化、终末期肝病的唯一治疗方法, 但是由于长期缺乏供体、操作复杂、移植后免疫排斥、治疗费用昂贵等问题, 限制了肝移植的临床应用^[1]。近年来研究发现, 干细胞移植可作为替代肝移植的一种新的移植治疗方法^[2,3]。与器官移植相比, 干细胞移植来源丰富^[4], 移植

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

创伤性小, 可反复进行, 可降低急性肝衰竭的死亡率^[5]. 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种多能干细胞, 不仅可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、肌肉细胞等中胚层间质组织细胞^[6-9], 还可跨越胚层界限, 分化为外胚层的神经元及内胚层的肝细胞等^[10]. 众多研究证实, 将MSCs移植入肝纤维化及肝硬化的大鼠体内, 肝功能可以得到明显改善, 但具体作用机制尚不十分清楚, 可能与分化为肝细胞有关.

1 MSCs的体内外分化

1.1 MSCs的体外分化 不同来源的MSCs均可分化为肝细胞, 其中促进分化的分子机制非常复杂, 单纯适当的培养基对于诱导分化出特定的细胞类型是远远不够的, 即使是体外分化, 分化条件亦较难模拟, 在此我们强调培养细胞分化的微环境因子的重要性. 体外培养时, 培养基中加入适当可溶性因子通常对MSCs向间质组织分化至关重要. Pournasr等^[11]在培养基中相继加入肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor-4, FGF-4)进行第5代骨髓源间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)培养, 每3 d更换1次培养基. 发现起初6-7 d, 细胞出现了从双极的成纤维细胞向圆形的上皮样细胞的转变, 但此时细胞仍为纺锤形; 在分化的后期阶段, 细胞变得十分致密, 为圆形, 并呈现出清晰的单核或双核; 此后继续分化, 于14-40 d可见到小圆形或椭圆形的多面体细胞, 即为原始肝细胞. 在肝细胞的诱导分化过程中细胞不仅发生了形态学变化, 随后亦检测到了肝细胞的特有蛋白包括细胞角蛋白18(cytokeratin 18, CK18)、 α -抗胰蛋白酶(alpha-1 antitrypsin, AAT)及白蛋白(albumin, ALB)的表达, 从而证实了BM-MSCs向功能性肝细胞样细胞的分化. 同样体外添加HGF、FGF-4可诱导脐带源MSCs(umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UC-MSCs)^[12,13]、大鼠BM-MSCs^[14]及脂肪源间充质干细胞(adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, AT-MSCs)^[15]分化为功能性肝细胞样细胞(hepatocyte-like cells, HLCs). Pan等^[16]体外诱导肝源性MSCs分化, 将传统体外干细胞诱导分化3步法中的第3步改良, 加入JFH-1源HCV孵育, 30 d后检测到hALB、糖原等肝细胞特有标志物的表达, 并且具有与BM-MSCs分化来的肝细胞样细胞相似的特性, 从而证实肝源性MSCs

在体外亦可以分化为肝细胞样细胞.

1.2 MSCs的体内分化 在体内实验研究中, Ju等^[17]将GFP⁺的BM-MSCs移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 研究发现移植后4 wk细胞形态由圆形向肝细胞形态转变, 其中1/3的细胞表达肝细胞特有标志蛋白, 进而证实MSCs向功能性肝细胞的体内分化过程伴随形态学的变化, 这与体外研究结果一致. 其余2/3的细胞不表达肝细胞特有蛋白可能与以下因素有关: (1)移植的MSCs为不同时期的细胞, 其分化增殖能力不同, 检测到的只是一部分发生了转分化; (2)只有部分MSCs具有转分化功能; (3)由MSCs分化来的细胞部分已被CCl₄破坏, 但其具体机制尚不清楚. 吴雄志等^[18]分离并体外培养 δ 小鼠BM-MSCs, 将第5代BM-MSCs移植到肝切除的 δ 小鼠肝脏残余物中, 移植第5天和第14天通过荧光原位杂交和荧光免疫检测方法可以检测到受体鼠肝脏中出现Y染色体与CK18双阳性细胞, 移植14 d后受体鼠肝脏重量有所增加, 说明BM-MSCs能够被诱导分化成肝细胞, 参与肝脏再生. UC-MSCs移植入小鼠体内的2-4 wk内可检测到AFP、ALB等肝细胞标志物, 证实了UC-MSCs在小鼠体内的肝细胞分化^[19]. 将胎盘来源的MSCs移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 发现ALB表达明显上调, 再次证实了MSCs的肝分化^[20].

1.3 MSCs的分化受介质的动态变化所调控 MSCs在不同条件下可以分化为不同胚层来源的组织, 其中特定的细胞因子在MSCs的定向分化中发挥了重要作用. 例如转化生长因子 β (tumor-derived transforming growth factor, TGF- β)和骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)为软骨形成所必须; 有机磷酸盐为骨形成所必须; 激素刺激才能使其分化为脂肪组织^[21]. Piryaee等^[22]将鼠BM-MSCs在体外有或无纳米纤维的条件下培养至第18天及第36天分别分化为早期和晚期肝细胞样细胞, 随后各组分别移植入CCl₄诱导的肝纤维化小鼠体内, 研究发现纳米纤维可以促进MSCs向肝细胞分化, 并可以在长时间内使细胞保持其功能, 纳米纤维诱导分化的MSCs可以更好地改善肝纤维化小鼠的肝功能.

Mohsin等^[23]应用损伤的肝组织预处理MSCs, 随后将其移植入肝纤维化小鼠体内, 结果发现与未处理MSCs组相比, MSCs预处理移植组小鼠体内的CK8、CK18、ALB等表达较前者明显

■研发前沿

间充质干细胞(MSCs)可治疗肝纤维化、肝硬化等终末期肝病, 其具体作用机制尚不十分清楚, 可能与MSCs分化为功能性肝细胞及免疫调节等有关, 有待于进一步研究证实.

■相关报道

有报道检测MSCs分泌的一些细胞因子,证实MSCs在治疗肝硬化等终末期肝病中发挥了重要作用,从而证实了MSCs的免疫调节功能。

上调;同时有研究发现损伤的肝组织可以通过分泌细胞因子促进干细胞向肝细胞的分化^[24],从而证实损伤肝组织预处理干细胞可以增强其分化为肝细胞的能力。Dong等^[25]证实肝损伤环境中去除FGF-4、HGF及抑瘤素M(oncostatin M, OSM), BM-MSCs的肝分化明显受到抑制,当重新补充上述生长因子时又恢复其分化能力,进一步将以上3种因子单一或任意组合作用于BM-MSCs,结果发现FGF-4+HGF干预组细胞高表达AFP,低表达ALB; FGF-4+HGF+OSM干预组细胞的AFP及ALB均处于高表达水平,其他干预组的AFP及ALB均处于低表达水平。可见FGF-4、HGF及OSM在BM-MSCs的肝分化中起重要作用,其中FGF-4及HGF在BM-MSCs肝分化的早期阶段起协同作用, OSM对BM-MSCs后期肝分化过程中的肝细胞成熟至关重要。

Ayatollahi等^[26]分离BM-MSCs体外培养,在添加常规MSCs向肝细胞分化的诱导因子的基础上加入胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)诱导BM-MSCs向肝细胞分化,与对照组相比,无论是细胞形态评估,还是糖原含量测定, ALB、AFP及尿素分泌, IGF-1干预组细胞分化程度更佳,表明IGF-1可以促进BM-MSCs向肝细胞样细胞分化。

此外,完全活化的肝星状细胞可以促进MSCs向肝细胞样细胞的分化^[27,28]; HNF-4 α ^[29]及HNF3 β ^[30]过表达亦可以促进BM-MSCs向肝细胞样细胞的分化; HBV感染的血清可以抑制MSCs的增殖,但不会影响其向肝细胞的分化^[31]。

2 MSCs分化为功能性肝细胞的分子机制

2.1 MSCs和成纤维细胞 MSCs与成纤维细胞之间有密切关系^[32], MSCs和成纤维细胞的细胞表型(包括形态学、特定形成蛋白标志物)及生长能力无差别,他们是同一细胞的不同功能状态。人皮肤成纤维细胞在体内外特定诱导条件下可以分化为形态和功能类似肝细胞的肝细胞样细胞^[33]。Sun等^[34]在体外特定条件下培养人肝脏成纤维细胞,随着培养时间的延长,人肝脏成纤维细胞逐渐向具有多面体形态的肝细胞转化,同时伴随肝细胞特有标志物的表达;另外将人肝成纤维细胞注入免疫缺陷的小鼠体内,结果在小鼠体内可检测到人肝细胞蛋白,证明成纤维细胞在体内外可分化为肝细胞样细胞。成纤维细胞有进一步的分化潜能,支持成纤维细胞是干细胞系中进一步成熟的移行细胞的假说。

2.2 MSCs分化为功能性肝细胞的MET假说 尽管上述研究证实MSCs可分化为肝细胞样细胞,但是关于转分化及其分子机制尚不清楚。2008年Yamamoto等^[35]在胃癌患者行胃切除术中提取患者体内的脂肪组织,分离出其中的AT-MSCs后,再分选出CD105⁺的AT-MSCs,然后对AT-MSCs行肝细胞诱导分化。首先在肝细胞培养基中添加转铁蛋白、抗坏血酸、表皮生长因子、HGF、FGF-1、FGF-4等因子培养3 wk,之后肝细胞培养基中改添加OSM及地塞米松(dexamethasone, Dex)培养2 wk,接下来的5 wk于单纯肝细胞培养基中培养,聚类分析显示诱导组AT-MSCs与原代肝细胞的基因表达极为相似,说明以上方法诱导分化出AT-MSCs源肝细胞(AT-MSC-derived hepatocytes, AT-MSC-Hepa)。此外免疫细胞化学显示, AT-MSC-Hepa为圆形的上皮细胞样形态,而未分化的AT-MSCs为成纤维细胞样形态,即在肝分化过程中细胞形态发生了从成纤维细胞样向上皮细胞样的形态学转变。基因微点阵分析显示诱导上皮向间充质细胞转变(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)的因子Twist和Snail在细胞分化过程中表达下调;上皮细胞中表达的基因E-cadherin及alpha-catenin在AT-MSC-Hepa中表达上调;相反,间充质细胞中表达的基因N-cadherin及vimentin随分化而表达下调。同时,将人脐带血MSCs(human umbilical cord blood-derived MSCs, HMSCs)移植入肝纤维化大鼠体内,可检测到磷酸化肝间质上皮转换因子表达上调^[36],以上支持在MSCs向肝细胞分化过程中经历了MET的假说,即间充质细胞到上皮细胞的转变。

3 MSCs分化来的肝细胞样细胞对肝纤维化的治疗作用

3.1 AT-MSCs对肝纤维化的治疗作用 Banas等^[37]在征得受试者知情同意后,提取了腹部肿瘤术后患者的5 g皮下脂肪,分离其中的MSCs,添加HGF、FGF-1、FGF-4、OSM和Dex共培养40 d,随后几乎都转化为与肝细胞具有相似特性的细胞。研究这些肝细胞的特性时,检测到了十几种肝细胞特异性蛋白,比如血清组分白蛋白和药物代谢酶。Banas等^[15]将大约10⁷个AT-MSCs分化来的肝细胞移植入人为致药物性肝衰竭的鼠体内,升高的氨浓度在24 h内下降至接近正常水平,同时还发现这些细胞具有一定的细胞色素P450的代谢活性,这对肝脏中的药物代谢非常重要,

尤其像CYP2C9和CY2B6这些酶的产量与对照组培养的第1代人类肝细胞产生的量相当, 由此可见AT-MSCs通过分化为肝细胞样细胞对肝纤维化起到治疗作用。

3.2 HMSCs对肝纤维化的治疗作用 Jung等^[38]将HMSCs经尾静脉移植入CCl₄诱导的肝硬化大鼠体内, 分别于移植后1、2、4 wk处死大鼠, HE染色、MT染色及组织病理学纤维化评分显示与CCl₄模型组相比, HMSCs组肝纤维化明显减轻; 血清学检测显示HMSCs组的ALT、AST于移植后2、4 wk明显下降; HMSCs移植后4 wk组的肝组织中I型胶原、TGF- β 1及 α -SMA的表达较CCl₄模型组下降, 同时在HMSCs组的肝组织中检测到了hAFP、hALB的表达, 证明HMSCs可以改善肝硬化大鼠的肝功能, 减轻肝纤维化程度进而对肝硬化起到治疗作用, 其中HMSCs发生了向功能性肝细胞样细胞的分化。

3.3 BM-MSCs对肝纤维化的治疗作用 Hwang等^[39]将BM-MSCs经脾移植入硫代乙酰胺诱导的肝硬化大鼠体内, 发现BM-MSCs归巢至肝实质, 先分化为表达CK-19及Thy1的卵圆细胞, 随后分化为表达白蛋白的肝细胞样细胞, 并证实BM-MSCs移植可以修复损伤的肝细胞, 使肝星状细胞发生凋亡、减轻肝纤维化。与此同时, Li等^[40]将BM-MSCs与肝细胞共培养14 d后移植入CCl₄诱导的肝纤维化大鼠体内, 移植后1、3、4 wk处死大鼠, 结果显示肝纤维化得到明显改善, 免疫组织化学检测到ALB、AFP、CK19于移植后1 wk表达升高, RT-PCR和Western blot结果显示移植4 wk后CK18、CK19表达明显增加, ALB在蛋白水平增加。由此我们推测共培养的MSCs在移植后的前3 wk为肝前体细胞, 之后分化为肝细胞或胆管上皮细胞, 并且研究显示相对于用生长因子共培养MSCs, 肝细胞共培养组细胞移植体内后可向肝细胞继续分化的时间更长。从以上结果我们可以得出, MSCs分化来的肝前体细胞对肝纤维化有治疗作用, 今后有待于我们进一步研究促进MSCs向肝细胞分化从而对肝纤维化起到更佳治疗效果。

Peng等对527例乙肝肝衰竭患者进行相同内科治疗, 其中53例进行自体BM-MSCs移植, 105例作为对照。BM-MSCs移植组患者经肝动脉缓慢输注BM-MSCs后2-3 wk内, 与对照组相比, ALB、TBIL、PT及MELD评分得到明显改善, 移植后192 wk随访, 两组患者肝癌患病率或死亡率无明显差别, 同时肝硬化患者与无肝硬化患

者行BM-MSCs移植后肝癌患病率或死亡率亦无明显差别, 可见自体BM-MSCs移植对乙肝肝衰竭患者是安全的, 短期疗效较好, 但长期疗效不是十分理想。从改善的一些指标来看, BM-MSCs移植可用于肝硬化的治疗, 并且有可能降低肝硬化患者的肝癌发病率或死亡率。El-Ansary M等^[41]对15例Child-Pugh C级, MELD评分大于12分的丙肝肝硬化患者进行BM-MSCs移植, 移植又分为未分化BM-MSCs与分化BM-MSCs组, 移植后3 mo和6 mo, 随访患者显示其肝功能(包括凝血、白蛋白、胆红素及MELD评分)得到部分改善, 临床与实验结果未见未分化组与分化组有明显差别, 实验证明未分化与分化组的BM-MSCs移植对肝硬化均有治疗作用。有研究显示BM-MSCs体外可以抑制T细胞^[42]等多种免疫细胞的活性, 其具体机制尚不清楚, 这可能在MSCs治疗肝纤维化过程中起到了作用^[43]。目前研究证实干细胞对肝脏代谢疾病及各种原因引起的肝硬化均有一定的治疗作用^[44]。

4 不同来源的MSCs分化能力的比较

Chen等^[45]将UC-MSCs和BM-MSCs诱导分化为内皮细胞样细胞, 分析内皮细胞特有标志物及其功能, 结果显示二者具有相似的摄取低密度脂蛋白的能力, 但是UC-MSCs较BM-MSCs具有更强的增殖能力。Real-time PCR和免疫组织化学均证实UC-MSCs具有更强的表达内皮细胞特有标志物的能力。吕璐璐等^[46]证实UC-MSCs具有比BM-MSCs更强的增殖能力, 研究显示UC-MSCs HLA-ABC和CD106分子表达低于其在BM-MSCs中的表达, 即UC-MSCs具有更低的免疫原性; 其次, 分化出的肝细胞样细胞仍保持低免疫原性^[47], 有望成为BM-MSCs理想的替代来源。

近来一个关于BM-MSCs和羊膜源间充质干细胞(amniotic fluid-derived MSC, AF-MSC)的在体研究显示后者具有更强的分化能力、肝脏分化潜能, 遗传学上亦更加稳定。功能研究结果显示AF-MSCs来源的肝细胞样细胞表达肝细胞特有的标志物, 合成尿素、储存糖原及所有成熟肝细胞的功能。Puglisi等^[48]发现, 与BM-MSCs相比, AT-MSCs体外培养其功能维持的时间更长, 增殖能力亦更强^[49]; 并且AT-MSCs资源丰富, 通过简单的脂肪抽吸便可得到, 取材简便。另有研究证实与BM-MSCs相比, AT-MSCs可以分泌更多的粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-

■应用要点

本文总结了MSCs分化在其治疗终末期肝病中的作用及最新研究进展, 为临床MSCs治疗肝硬化等终末期肝病提供理论基础及指导作用。

■同行评价

本文综述了MSC向肝细胞分化的最新研究进展, 选题新颖, 对临床及基础研究具有重要指导意义。

stimulating factor, G-CSF)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、HGF等, 这些因子在肝衰竭的治疗中发挥了重要作用^[50]。

5 结论

大量实验表明, 不同来源MSCs可以定向分化为功能性肝细胞, 分化受细胞所处复杂微环境调控, 目前研究主要聚焦于MSCs在体外如何诱导分化为功能性肝细胞, 未来将重点探讨MSCs的体内诱导分化作用及其机制, 以期更好地发挥MSCs移植在终末期肝病中的治疗作用。

6 参考文献

- Baertschiger RM, Serre-Beinier V, Morel P, Bosco D, Peyrou M, Clément S, Sgroi A, Kaelin A, Buhler LH, Gonelle-Gispert C. Fibrogenic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells in injured liver. *PLoS One* 2009; 4: e6657
- Ren H, Zhao Q, Cheng T, Lu S, Chen Z, Meng L, Zhu X, Yang S, Xing W, Xiao Y, Ren Q, Chi Y, Gu D, Yang R, Han ZC. No contribution of umbilical cord mesenchymal stromal cells to capillarization and venularization of hepatic sinusoids accompanied by hepatic differentiation in carbon tetrachloride-induced mouse liver fibrosis. *Cytotherapy* 2010; 12: 371-383
- Lysy PA, Campard D, Smets F, Najimi M, Sokal EM. Stem cells for liver tissue repair: current knowledge and perspectives. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 864-875
- Jung KH, Uhm YK, Lim YJ, Yim SV. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve glucose homeostasis in rats with liver cirrhosis. *Int J Oncol* 2011; 39: 137-143
- Shi LL, Liu FP, Wang DW. Transplantation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells improves survival rates in a rat model of acute hepatic necrosis. *Am J Med Sci* 2011; 342: 212-217
- La Rocca G, Anzalone R, Corrao S, Magno F, Loria T, Lo Iacono M, Di Stefano A, Giannuzzi P, Marasà L, Cappello F, Zummo G, Farina F. Isolation and characterization of Oct-4⁺/HLA-G⁺ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix: differentiation potential and detection of new markers. *Histochem Cell Biol* 2009; 131: 267-282
- Yang XF, He X, He J, Zhang LH, Su XJ, Dong ZY, Xu YJ, Li Y, Li YL. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 2011; 18: 59
- Thanabalasundaram G, Arumalla N, Tailor HD, Khan WS. Regulation of differentiation of mesenchymal stem cells into musculoskeletal cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2012; 7: 95-102
- Satija NK, Singh VK, Verma YK, Gupta P, Sharma S, Afrin F, Sharma M, Sharma P, Tripathi RP, Gurudutta GU. Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 4385-4402
- Gregory CA, Prockop DJ, Spees JL. Non-hematopoietic bone marrow stem cells: molecular control of expansion and differentiation. *Exp Cell Res* 2005; 306: 330-335
- Pournasr B, Mohamadnejad M, Bagheri M, Aghdami N, Shahsavani M, Malekzadeh R, Baharvand H. In vitro differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Arch Iran Med* 2011; 14: 244-249
- Zhang YN, Lie PC, Wei X. Differentiation of mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord Wharton's jelly into hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2009; 11: 548-558
- 闰俊卿, 韩涛, 朱争艳. 人脐带间充质干细胞生物学特性及向类肝细胞的分化. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1639-1644
- 邢全台, 孙启龙, 李栋, 邢培祥, 马瑞萍, 陈丰哲, 邵美英, 姚永远, 关彦彦. 骨髓间充质干细胞向肝细胞样细胞的诱导分化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2654-2661
- Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828
- Pan Q, Fouraschen SM, Kaya FS, Versteegen MM, Pescatori M, Stubbs AP, van Ijcken W, van der Sloot A, Smits R, Kwekkeboom J, Metselaar HJ, Kazemier G, de Jonge J, Tilanus HW, Wagemaker G, Janssen HL, van der Laan LJ. Mobilization of hepatic mesenchymal stem cells from human liver grafts. *Liver Transpl* 2011; 17: 596-609
- Ju S, Teng GJ, Lu H, Jin J, Zhang Y, Zhang A, Ni Y. In vivo differentiation of magnetically labeled mesenchymal stem cells into hepatocytes for cell therapy to repair damaged liver. *Invest Radiol* 2010; 45: 625-633
- 吴雄志, 赵连三, 许倩, 张怡, 唐红. 骨髓间充质干细胞在肝部分切除模型小鼠体内向肝细胞分化. *生物医学工程学杂志* 2005; 22: 1234-1237
- Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848
- Lee MJ, Jung J, Na KH, Moon JS, Lee HJ, Kim JH, Kim GI, Kwon SW, Hwang SG, Kim GJ. Anti-fibrotic effect of chorionic plate-derived mesenchymal stem cells isolated from human placenta in a rat model of CCl₄-injured liver: potential application to the treatment of hepatic diseases. *J Cell Biochem* 2010; 111: 1453-1463
- Gregory CA, Ylostalo J, Prockop DJ. Adult bone marrow stem/progenitor cells (MSCs) are preconditioned by microenvironmental "niches" in culture: a two-stage hypothesis for regulation of MSC fate. *Sci STKE* 2005; 2005: pe37
- Piryaee A, Valojerdi MR, Shahsavani M, Baharvand H. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells on nanofibers and their transplantation into a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 103-118
- Mohsin S, Shams S, Ali Nasir G, Khan M, Javaid Awan S, Khan SN, Riazuddin S. Enhanced hepatic differentiation of mesenchymal stem cells after pre-treatment with injured liver tissue. *Differentiation* 2011; 81: 42-48
- Chen Y, Xiang LX, Shao JZ, Pan RL, Wang YX, Dong XJ, Zhang GR. Recruitment of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells towards injured liver. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 1494-1508
- Dong XJ, Zhang H, Pan RL, Xiang LX, Shao JZ.

- Identification of cytokines involved in hepatic differentiation of mBM-MSCs under liver-injury conditions. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3267-3278
- 26 Ayatollahi M, Soleimani M, Geramizadeh B, Imanieh MH. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) improves hepatic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Cell Biol Int* 2011; 35: 1169-1176
 - 27 何文艳, 刘树贤, 姜慧卿. 大鼠骨髓间充质干细胞向类肝细胞体外诱导分化. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2464-2469
 - 28 Deng X, Chen YX, Zhang X, Zhang JP, Yin C, Yue HY, Lin Y, Han ZG, Xie WF. Hepatic stellate cells modulate the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *J Cell Physiol* 2008; 217: 138-144
 - 29 Chen ML, Lee KD, Huang HC, Tsai YL, Wu YC, Kuo TM, Hu CP, Chang C. HNF-4 α determines hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells from bone marrow. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5092-5103
 - 30 Ishii K, Yoshida Y, Akechi Y, Sakabe T, Nishio R, Ikeda R, Terabayashi K, Matsumi Y, Gonda K, Okamoto H, Takubo K, Tajima F, Tsuchiya H, Hoshikawa Y, Kurimasa A, Umezawa A, Shiota G. Hepatic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by tetracycline-regulated hepatocyte nuclear factor 3 β . *Hepatology* 2008; 48: 597-606
 - 31 Hu WH, Ren J. [Impact of hepatitis B virus infected serum on the hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells]. *Beijing Daxue Xuebao* 2008; 40: 459-464
 - 32 McNulty RJ. Fibroblasts and myofibroblasts: their source, function and role in disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 666-671
 - 33 Lysy PA, Smets F, Sibille C, Najimi M, Sokal EM. Human skin fibroblasts: From mesodermal to hepatocyte-like differentiation. *Hepatology* 2007; 46: 1574-1585
 - 34 Sun YL, Yin SY, Zhou L, Xie HY, Zhang F, Wu LM, Zheng SS. Hepatocyte differentiation of human fibroblasts from cirrhotic liver in vitro and in vivo. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 55-63
 - 35 Yamamoto Y, Banas A, Murata S, Ishikawa M, Lim CR, Teratani T, Hatada I, Matsubara K, Kato T, Ochiya T. A comparative analysis of the transcriptome and signal pathways in hepatic differentiation of human adipose mesenchymal stem cells. *FEBS J* 2008; 275: 1260-1273
 - 36 Tsai PC, Fu TW, Chen YM, Ko TL, Chen TH, Shih YH, Hung SC, Fu YS. The therapeutic potential of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of rat liver fibrosis. *Liver Transpl* 2009; 15: 484-495
 - 37 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Quinn G, Okochi H, Ochiya T. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 219-228
 - 38 Jung KH, Shin HP, Lee S, Lim YJ, Hwang SH, Han H, Park HK, Chung JH, Yim SV. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int* 2009; 29: 898-909
 - 39 Hwang S, Hong HN, Kim HS, Park SR, Won YJ, Choi ST, Choi D, Lee SG. Hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a rat model of thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Cell Biol Int* 2012; 36: 279-288
 - 40 Li TZ, Kim JH, Cho HH, Lee HS, Kim KS, Lee SW, Suh H. Therapeutic potential of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells differentiated with growth-factor-free coculture method in liver-injured rats. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 2649-2659
 - 41 El-Ansary M, Abdel-Aziz I, Mogawer S, Abdel-Hamid S, Hammam O, Teaema S, Wahdan M. Phase II Trial: Undifferentiated Versus Differentiated Autologous Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Egyptian Patients with HCV Induced Liver Cirrhosis. *Stem Cell Rev* 2011 Oct 12. [Epub ahead of print]
 - 42 Bartholomew A, Polchert D, Szilagyi E, Douglas GW, Kenyon N. Mesenchymal stem cells in the induction of transplantation tolerance. *Transplantation* 2009; 87: S55-S57
 - 43 di Bonzo LV, Ferrero I, Cravanzola C, Mareschi K, Rustichell D, Novo E, Sanavio F, Cannito S, Zamara E, Bertero M, Davit A, Francica S, Novelli F, Colombatto S, Fagioli F, Parola M. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential. *Gut* 2008; 57: 223-231
 - 44 Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol* 2009; 217: 282-298
 - 45 Chen MY, Lie PC, Li ZL, Wei X. Endothelial differentiation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells in comparison with bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 2009; 37: 629-640
 - 46 吕璐璐, 宋永平, 魏旭东, 房伯俊, 张艳莉, 李玉富. 人脐带和骨髓源间充质干细胞生物学特征的对比研究. *中国实验血液学杂志* 2008; 16: 140-146
 - 47 Zhao Q, Ren H, Li X, Chen Z, Zhang X, Gong W, Liu Y, Pang T, Han ZC. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stromal cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2009; 11: 414-426
 - 48 Puglisi MA, Saulnier N, Piscaglia AC, Tondi P, Agnes S, Gasbarrini A. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and hepatic differentiation: old concepts and future perspectives. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 355-364
 - 49 de la Garza-Rodea AS, van der Velde-van Dijke I, Boersma H, Gonçalves MA, van Bekkum DW, de Vries AA, Knaän-Shanzer S. Myogenic properties of human mesenchymal stem cells derived from three different sources. *Cell Transplant* 2012; 21: 153-173
 - 50 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kawamata M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008; 26: 2705-2712

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

阿达木单抗治疗克罗恩病的研究进展

郑连民, 庞智

■背景资料

随着生物制剂的不断研发及在临床上的应用, 抗肿瘤坏死因子(TNF- α)生物制剂无疑给克罗恩病(CD)的治疗带来了一个新的里程碑. 阿达木单抗是继英夫利昔单抗又一用于治疗CD的抗TNF- α 制剂, 因其较好的疗效、方便的给药方式、更少的不良事件已于2010年在国内上市.

郑连民, 庞智, 南京医科大学附属苏州医院消化内科 江苏省苏州市 215008

庞智, 江苏省苏州市消化系疾病与营养研究中心 江苏省苏州市 215008

作者贡献分布: 此课题由庞智选题; 资料收集由庞智与郑连民完成; 写作由郑连民完成; 修改及审校由庞智完成.

通讯作者: 庞智, 主任医师, 博士, 硕士生导师, 215008, 江苏省苏州市广济路242号, 南京医科大学附属苏州医院消化内科. pangzhi0273@sina.com

电话: 0512-62363122 传真: 0512-65332028

收稿日期: 2011-08-06 修回日期: 2012-04-10

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Advances in treatment of Crohn's disease with adalimumab

Lian-Min Zheng, Zhi Pang

Lian-Min Zheng, Zhi Pang, Department of Gastroenterology, Suzhou Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China

Zhi Pang, Suzhou Institute for Digestive Diseases and Nutrition, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhi Pang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Suzhou Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 242 Guangji Road, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China. pangzhi0273@sina.com

Received: 2011-08-06 Revised: 2012-04-10

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

Adalimumab is a subcutaneously administered, fully humanized anti-TNF- α monoclonal IgG1 antibody and represents an important new therapeutic option for the treatment of Crohn's disease for its convenient mode of administration and less adverse events. Adalimumab is effective in inducing and maintaining clinical response and remission in patients with moderate to severe Crohn's disease, which permits to spare potential steroid usage, achieve mucosal healing and improve the quality of life in these patients. Adalimumab has also been shown to be beneficial to patients who lose response or are intolerant to infliximab and to promote the closure of the fistula orifice. This article reviews the recent advances in the treatment of Crohn's disease with adalimumab.

Key Words: Adalimumab; Anti-TNF- α agent; Crohn's

s disease

Zheng LM, Pang Z. Advances in treatment of Crohn's disease with adalimumab. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(14): 1222-1228

摘要

新型的抗TNF- α 制剂阿达木单抗(Adalimumab)是一种经皮下注射的重组人源性IgG1型抗TNF- α 单克隆抗体. 阿达木单抗因其方便的给药方式、更少的不良事件发生率已成为一种新的生物治疗方式试用于克罗恩病(Crohn's disease, CD). 阿达木单抗对中重度CD患者可以诱导和维持缓解, 减少或停止糖皮质激素的用量, 促进黏膜愈合, 提高生活质量. 阿达木单抗对英夫利昔单抗失去应答或不耐受患者有较好的疗效, 并能促进瘻管型CD患者瘻管的闭合. 本文就阿达木单抗治疗CD的研究进展作一综述.

关键词: 阿达木单抗; 抗TNF- α 制剂; 克罗恩病

郑连民, 庞智. 阿达木单抗治疗克罗恩病的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1222-1228

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1222.asp>

0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因尚不十分明确的非特异性慢性炎症性肠道疾病, 可发生在消化系的各个部位, 特别是末端回肠和邻近结肠, 常伴有腹泻、腹痛、肠瘻和肛瘻等. 临床上CD的治疗较为困难, 是困扰医学界多年的顽疾, 尽管已潜心进行研究数年, 但目前仍然无法完全治愈该病, 持续的药物治疗和长期随访仍是治疗CD的关键. 迄今, 5-氨基水杨酸制剂、糖皮质激素和免疫抑制剂是诱导和维持缓解治疗的最常用药物. 然而, 该传统药物的治疗在有效性和安全性上均存在局限性, 随着生物学疗法的问世, CD的药物治疗策略正发生着明显变化. 近年来, CD的治疗正从传统药物治疗逐渐向调节免疫的生物治疗转变, 新型生物制剂的出现为CD的治疗带来了希望. 生物制剂主

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

要针对炎症发病机制的某一具体步骤进行靶向治疗, 根据其原理可分为肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)拮抗剂、抑制T细胞激活药物、抑制炎症细胞迁移和黏附药物等, 研发和应用前景十分广阔. 作为治疗CD的第一种抗TNF- α 生物制剂英夫利昔单抗(Infliximab)批准进入临床后, 已经为CD的治疗带来了变革和突破, 是CD药物治疗的一个重大里程碑, 临床研究结果已经充分显示了其良好的临床有效性和安全性. 随着英夫利昔单抗临床应用经验的不断积累, 其他新型生物制剂的加速研发以及纯人源化抗TNF- α 的IgG1单抗阿达木单抗(Adalimumab)、人源化抗 α -4整联蛋白(integrin)的IgG4单抗Natalizumab和聚乙二醇化人抗TNF- α 抗体Fab片段产品Certolizumab Pegol等的临床应用, 生物制剂的疗效逐渐被人们所认同, 将为CD的治疗提供更多可选择的有效治疗方案. 近年来, 新的抗TNF- α 生物制剂阿达木单抗已经进入治疗CD的多中心临床试验研究. 最近, 有学者对阿达木单抗的相关文献分析证实, 阿达木单抗不但在CD诱导缓解方面疗效明显优于传统药物, 而且在维持治疗中也有巨大的潜力, 可以减少预期的住院风险和提高瘘管愈合率^[1].

1 作用机制

TNF- α 是由单核巨噬细胞产生的一种具有多种生物学效应的促炎细胞因子, 在CD的发病机制中起重要作用^[2], 因此, 抑制TNF- α 的生物学活性成为治疗CD的新方向. 阿达木单抗是一种重组全人源性IgG1型抗TNF- α 单克隆抗体, 其结构与人类IgG完全相同, 能特异性和高亲和性地与TNF- α 结合, 阻止TNF- α 与细胞表面的TNF- α 受体结合, 从而拮抗TNF- α 的生物学活性.

2 临床研究

阿达木单抗最初于2002-12被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗中-重度类风湿关节炎, 随后的一些临床试验也证实阿达木单抗在治疗其他自身免疫性疾病方面也有良好的疗效, 因此美国FDA和欧盟批准将阿达木单抗用于治疗银屑病关节炎、强直性脊柱炎和中至重度斑块型银屑病. 2007-02又被批准用于中、重度CD, 2010-08阿达木单抗已在中国上市.

阿达木单抗耐受性良好, 对于首次使用该生物制剂治疗的中、重度活动性CD及瘘管型CD患者疗效显著. Fiorino等^[3]通过对Medline,

PubMed等数据库里的相关文献研究分析, 证实阿达木单抗能诱导和维持缓解中、重度CD且耐受性良好, 能提高患者的生活质量, 减少CD相关的住院率和手术风险. 部分对英夫利昔单抗无应答、出现输液反应或迟发型超敏反应的CD患者改用阿达木单抗后取得良好疗效^[4], 能够明显减少或停止糖皮质激素的用量^[5].

对于中、重度CD和高危患者, 使用阿达木单抗后, 能迅速诱导缓解病情, 最大限度地降低CD并发症的发生率, 此方案即为目前临床上推荐治疗CD的降阶梯疗法^[6]. 阿达木单抗推荐使用方法为首次皮下注射负荷剂量160 mg, 第2周时80 mg进行诱导治疗, 然后每隔1 wk 40 mg维持治疗, 8 wk时评估阿达木单抗的有效性^[7]. 至于应用阿达木单抗治疗CD后何时可以撤药, 目前还没有足够的资料和经验. 最近, D'Haens等^[8]发现, 经阿达木单抗治疗后病情无活动迹象者, 临床症状缓解超过1年后可以停药.

2.1 诱导缓解治疗 靶向抗TNF- α 制剂治疗CD的主要目标是快速诱导缓解. 在FDA尚未正式批准阿达木单抗治疗CD之前, 阿达木单抗就被梅奥诊所试用于治疗CD患者, 通过观察诱导治疗CD的临床反应(完全应答、部分应答、无应答)来评估阿达木单抗的有效性和安全性^[9]. 该诊所2003-01/2007-06共有118例CD患者接受阿达木单抗治疗, 其中有113名(96%)之前曾接受过英夫利昔单抗治疗, 50例在接受阿达木单抗起始剂量的同时接受糖皮质激素的系统治疗. 结果有53名患者获得了完全的诱导缓解, 20例患者无应答. 1年后获得完全或部分诱导缓解的患者累积概率为81.3%, 而有59例患者(1年的累积概率为54.0%)的诱导剂量需要增加, 在接受糖皮质激素治疗的50例患者中, 其激素剂量也成功减量. 由此可见, 阿达木单抗能够快速的诱导缓解CD的临床症状.

CLASSIC-I 是一个较经典的评估阿达木单抗诱导缓解疗效的随机、双盲、安慰剂对照试验^[10]. 该研究对299例中、重度CD患者进行随机分组, 分别在0周和第2周皮下注射阿达木单抗40 mg和20 mg、80 mg和40 mg、160 mg和80 mg及安慰剂, 4 wk后观察各组的诱导缓解率分别为18%、24%、36%和12%. 表明阿达木单抗治疗组诱导中、重度CD缓解率明显优于安慰剂组, 同时该研究还建议最佳的给药方案为首次160 mg, 第2周80 mg.

另有一项前瞻性多中心的开放标记试验^[11],

■ 研发前沿

阿达木单抗对英夫利昔单抗失去应答或不耐受患者有较好的疗效, 并能促进瘘管型CD患者瘘管的闭合.

■相关报道

国外的临床研究已证实, 无论是对首次应用或者是对英夫利昔单抗失去应答或不耐受的CD患者, 阿达木单抗对中、重度活动性CD及瘘管型CD患者疗效显著。对于国内, 因其上市不久, 还缺乏相关的随机化或双盲设计实验及临床应用。

其目的是评价短期(4 wk)内阿达木单抗治疗英夫利昔单抗治疗失败的肠型/瘘管型CD患者的疗效。50例患者分别在0 wk和2 wk时接受阿达木单抗160 mg、80 mg的诱导缓解治疗。4 wk后36例肠型CD患者中有83%获得临床应答, 42%患者达到临床缓解; 22例瘘管型CD患者中, 5例(23%)患者瘘管闭合, 9例(41%)患者的瘘管分泌物减少。此研究认为对英夫利昔单抗失去应答、未缓解或不耐受的患者, 阿达木单抗可以安全有效地诱导缓解临床症状。

2.2 维持缓解治疗 CLASSIC-II试验的目的是评价阿达木单抗用于CD患者维持临床缓解的疗效与安全性^[12]。276例患者继CLASSIC-I试验后纳入CLASSIC-II试验, 病情缓解的55例患者分别随机接受阿达木单抗每隔1 wk 40 mg(19例)、每周40 mg(18例)、安慰剂治疗(18例); 56 wk时缓解率分别是79%、83%和44%, CDAI降低100分的患者比例分别为79%、89%和56%, 对CLASSIC-I试验中未获缓解的患者全部给予阿达木单抗每隔1 wk 40 mg治疗(仍无缓解者则每周40 mg), 在56 wk时, 46%的患者最终达到了临床缓解, CDAI降低100分的患者比例为65%。

CHARM/ADHERE试验是另2个经典的研究阿达木单抗维持缓解疗效的序贯试验, 证实了阿达木单抗可以长期的维持患者临床缓解, 提高生活质量, 降低住院率及手术风险。CHARM试验^[13]是一项为期56 wk的多中心、随机、双盲、安慰剂对照的III期临床试验, 所有854例患者在0 wk和2 wk时分别接受阿达木单抗开放标记诱导治疗, 4 wk时, 根据患者临床应答结果进行分组。778例患者随机接受阿达木单抗每隔1 wk 40 mg、每周40 mg或者安慰剂治疗, 观察26 wk和56 wk的临床缓解率。在26 wk时, 接受阿达木单抗每隔1 wk和每周40 mg的患者达到的缓解率均高于接受安慰剂的患者, 分别为40%、47%和17%; 在56 wk时, 接受阿达木单抗治疗与接受安慰剂治疗的患者相比, 治疗组的缓解率仍然较高(分别为36%、41%和12%)。Rubin等^[14]对CHARM试验中CD患者的实验室检查结果分析后发现, 经阿达木单抗治疗的中重度CD患者其营养水平、血红蛋白水平及其他炎性因子水平都得到持续的改善。Feagan等^[15]对CHARM试验中778例CD患者的住院和手术治疗风险进行评估, 结果表明阿达木单抗可以明显降低CD患者的手术治疗和住院的风险。与安慰剂组相比, 阿达木单抗治疗组3 mo和12 mo的住院风险明

显降低。阿达木单抗每隔1 wk和每周40 mg治疗组的手术率(0.4%、0.8%)也显著低于安慰剂组(3.8%)。进一步的研究表明^[16], 与安慰剂相比, 阿达木单抗的维持治疗可以持久的提高患者的生活质量。ADHERE是继CHARM的延长开放标记试验^[17], 其目的是为了进一步评估阿达木单抗维持长期临床缓解的疗效性和安全性。共有467例患者进入ADHERE随机双盲试验。经过长达2年的治疗后, 接受阿达木单抗每隔1 wk给药组、阿达木单抗每周给药组及安慰剂组的临床缓解分别为41.9%、49.8%和37.6%, 通过炎症性肠病问卷调查发现所有组别的患者临床症状均得到了持续改善, CD相关的住院风险也显著降低。

应用阿达木单抗在减少激素用量方面与英夫利昔单抗相似。一项CHARM亚组分析显示在56 wk时, 阿达木单抗组停用糖皮质激素(至少90 d)后的缓解率(29%)显著高于安慰剂组(5%)^[18]。Kamm等^[19]对CHARM/ADHERE试验中患者的3年间应用激素情况进行了评估, 在随机接受阿达木单抗治疗的206例患者中, 停用糖皮质激素1年和3年时的缓解率分别为26%和23%; 糖皮质激素减量的缓解率分别为29%和25%; 另外发现停用糖皮质激素治疗患者总的不良事件发生率、严重感染率和机会性感染率均低于持续应用糖皮质激素患者。另外, 阿达木单抗能促进黏膜的愈合。在EXTEND试验中^[20], 135例中、重度活动性的回结肠CD患者, 分别在0、2 wk时接受阿达木单抗160 mg、80 mg的开放标记诱导缓解治疗, 4 wk时则随机接受阿达木单抗(每隔1 wk, 40 mg)或安慰剂维持治疗至52 wk。该研究是首次的生物学研究主要终点定为黏膜的完全愈合。在12 wk时, 单纯诱导组和维持缓解组的黏膜完全愈合率分别为13.1%(8/61)和27.4%(17/62); 52 wk时, 2组的黏膜完全愈合率分别为0%(0/61)和24.2%(15/62)。结果表明阿达木单抗能促进并维持中重度或严重活跃CD的黏膜愈合。

亚洲地区开展阿达木单抗对CD患者疗效及安全性的研究有限。尽管亚洲地区CD的发病率和患病率均低于欧美地区且营养支持治疗方式不同, 但是阿达木单抗在诱导和维持缓解CD患者方面均具有相似的疗效。最近日本的一项研究表明^[21], 90例中、重度CD患者随机接受阿达木单抗160/80 mg(33例)、阿达木单抗80/40 mg(34例)及安慰剂(23例)的治疗。4 wk后各组的临床缓解率分别为33.3%、17.6%和13.0%。经过4 wk的

诱导缓解后, 有83名患者进入维持治疗. 56 wk时阿达木单抗组的维持缓解率明显高于安慰剂组, 分别为38.1%和9.1%. CDAI降低70分和100分以上的患者的比率阿达木单抗组均高于安慰剂组.

2.3 特殊CD患者的治疗研究

2.3.1 对英夫利昔单抗失去应答或不耐受患者的疗效: 阿达木单抗无论是对于初始应用者还是英夫利昔单抗治疗失去应答或不耐受的CD患者, 均能诱导其缓解^[22,23]. 对英夫利昔单抗治疗失败的瘻管型CD患者, 阿达木单抗能够促进瘻管闭合, 并能避免重大的腹部手术^[24]. GAIN试验是检验阿达木单抗治疗英夫利昔单抗失去应答的CD患者的一项III期双盲安慰剂对照研究^[22]. 在325例中重度CD患者中, 对英夫利昔单抗治疗失败的患者分别在0 wk和2 wk时随机皮下注射阿达木单抗160 mg和80 mg诱导治疗, 或者采用安慰剂治疗; 结果在4 wk时, 应用阿达木单抗治疗的患者有21%(34/159)取得缓解, 而安慰剂组只有7%(12/166)缓解; CDAI降低70分以上的患者比例分别为52%(82/159)和34%(56/166).

最近的一项CHOICE试验表明, 阿达木单抗能够安全有效地促进瘻管的闭合, 从而改善那些早期应用英夫利昔单抗治疗失败的CD患者的生活质量, 提高他们的工作能力. 该试验共纳入673例CD患者, 其中有17%的患者是接受英夫利昔单抗治疗>8 wk症状无缓解者, 另外有83%患者是初次使用阿达木单抗治疗者, 这些患者均接受开放标记的阿达木单抗诱导(160/80 mg, 0/2 wk)及维持缓解(40 mg, 每隔1 wk)治疗. 结果显示从第4-24周, 所有患者(包括英夫利昔单抗治疗失败者)的生活质量和工作能力都得到了持续改善, 39%的瘻管患者瘻管闭合^[25].

Cordero等^[26]通过对CDAI指数、CRP及瘻管的闭合情况的分析研究了25例英夫利昔单抗治疗失败的CD患者. 其中24例分别在0 wk和2 wk时随机接受皮下注射阿达木单抗160 mg和80 mg诱导治疗, 有1例接受80/40 mg的诱导剂量治疗. 24 wk时发现72%的患者取得临床缓解(CDAI得分<150); 48 wk时有60%的患者取得临床缓解, 血清CRP水平也从21 g/L降低到8 g/L, 有60%的患者可停用糖皮质激素治疗, 而11例瘻管型CD患者中也有3例经阿达木单抗治疗后瘻管取得完全闭合. 不过, 最近的一项前瞻性研究建议持续应用一种抗TNF- α 制剂, 例如将英夫利昔单抗更换为阿达木单抗后, 可能会导致病情复发, 甚至会有病情加重的风险^[27].

2.3.2 瘻管型CD的治疗: 肠瘻(特别是肛瘻)是CD的常见严重并发症, 传统的治疗方案往往难以获得较好的疗效, 临床研究发现阿达木单抗能够促进瘻管闭合并可较长时间的维持愈合. 在CHARM试验中, 阿达木单抗治疗瘻管的闭合率(26 wk 30%, 56 wk 33%)高于安慰剂组(26 wk和56 wk均为13%), 且26 wk瘻管闭合的患者在56 wk时仍能维持瘻管闭合状态^[13]. Colombel等^[28]在CHARM试验56 wk结束后进行的开放标记延长试验发现, 阿达木单抗可以有效维持改善CD患者的病情3年以上, 并可有效促进瘻管型CD患者的瘻管闭合, 大多数患者的瘻管闭合可维持2年.

对于英夫利昔单抗治疗失败和发生肛周病变的CD患者, 阿达木单抗结合多个学科的共同治疗可取得良好的疗效并降低复发率. 该项研究中有16例英夫利昔单抗治疗失败和发生肛周病变的CD患者接受阿达木单抗治疗, 简单瘻管患者分别在0周和第2周皮下注射阿达木单抗160 mg和80 mg诱导治疗, 4 wk后接受阿达木单抗40 mg每隔1 wk的维持治疗; 存在复杂瘻管的患者先使用磁共振成像进行评估(9例, 56%), 必要时进行了外科挂线疗法(7例, 43%). 结果显示4 wk后PDAI和CDAI明显下降, 患者的完全缓解率为50%(3例完全缓解而撤离挂线疗法), 并且患者一旦完全缓解, 再度复发的几率较低; 24 wk和48 wk后PDAI和CDAI仍维持在较低水平, 48 wk后仍有87.5%的患者得到维持缓解, 完全缓解率为43.75%^[29].

至于肠道外的瘻管, 还没有关于阿达木单抗疗效的大宗案例报道, 曾有报道1例颜面部瘻管的CD患者, 经各种非生物疗法及英夫利昔单抗治疗后瘻管迁延不愈, 后经阿达木单抗治疗瘻管逐渐闭合, 至6 mo后面部皮肤仅见一残余瘻的痕迹^[30], 这表明了在一种抗-TNF制剂治疗失败后可以考虑更换同一种类的生物制剂治疗能获得疗效. 一项多中心的开放标签的IIIb期试验研究了497例具有肠外表现的CD患者, 经阿达木单抗治疗20 wk后, 有51%患者的肠道外症状和体征均得到明显改善^[31]. 1例合并有肛周瘻管、皮肤溃疡、四肢红斑及坏疽性脓皮病的CD中年妇女, 经足量糖皮质激素治疗无明显改善后改用英夫利昔单抗仍无缓解, 遂改用阿达木单抗治疗2 mo后皮肤溃疡完全愈合, 3 mo后临床症状改善, 5 mo后肠道X线对比成像可见瘻管明显缩小, 空肠和回肠末端无明显炎症迹象^[32].

■应用要点

本文就国外的阿达木单抗诱导缓解、维持缓解治疗CD及瘻管型CD的几个经典临床实验进行了详细的分析描述, 尤其是和另一种抗TNF- α 生物制剂英夫利昔单抗的疗效及安全性进行了对比分析阐述, 为临床医师正确合理的选择此类药物提供了进一步帮助和指导.

■同行评价

阿达木单抗是近年治疗CD的新疗法,国外研究较多,国内尚欠缺,本文介绍这方面的临床研究进展及药物安全性,有助于普及新信息。

和英夫利西单抗一样,阿达木单抗可以预防和治疗CD的术后复发(POR)。最近的一项前瞻性单中心开放标记试验证明阿达木单抗可以降低内镜确认的术后复发(PO-ER)和临床表现的术后复发(PO-CR)的风险。该研究纳入23名行回盲部切除术的CD患者,均存在POR的高风险。其中术后14 d接受阿达木单抗治疗者为第1组($n = 8$),术后6 mo接受阿达木单抗治疗的PO-ER者为第2组($n = 15$),通过对每月的症状和实验室检查进行评估。阿达木单抗诱导维持治疗后,在6和24 mo根据RS得分对内镜下所见进行分级。在第1组中,6 mo后有1例出现PO-ER,1例患者则在24 mo后出现PO-ER和PO-CR。在第2组中,所有患者均出现PO-ER,其中9例患者(60%)在初始时即有PO-CR,24 mo后有9例患者(60%)得到完全缓解或黏膜接近完全的愈合,而5/9(56%)的患者得到临床缓解^[33]。

3 安全性

阿达木单抗有很好的耐受性,临床疗效确切,其疗效可能与年龄、手术史、病变类型及诱导剂量有关^[34],但仍有个别案例可出现不良反应。阿达木单抗引起的常见不良反应及严重不良反应主要包括以下几点:注射部位疼痛、头痛、皮疹、严重感染、神经系统反应、狼疮样综合征、充血性心力衰竭、脱髓鞘疾病、恶性肿瘤^[32]。

与其他TNF- α 抑制剂相似,阿达木单抗有发生细菌、分枝杆菌、侵袭性真菌、病毒或其他机会性病原体所致的严重感染的报道。Colombel等^[35]观察了3 160例中、重度CD患者进行阿达木单抗治疗的效果,发现感染是最常见的不良反应,腹腔内和胃肠道相关性脓肿是最常见的严重感染。阿达木单抗可能会增加结核感染或潜伏性结核再活动的机会,通过筛查试验及密切的监测,可以有效地控制结核的发生率^[36]。因此在应用阿达木单抗治疗前均应排除活动性结核及潜伏性结核以及真菌、寄生虫、病毒感染等,在治疗期间和治疗后,应严密监测患者的感染症状和体征,如果患者发生了严重的感染或败血症则应停止使用阿达木单抗。

目前还没有确切的数据来解释抗-TNF导致自身免疫性疾病的机制。Díaz-Lagares等^[37]通过Medline检索了从1990-01/2008-12的关于阿达木单抗导致全身性自身免疫性疾病的18篇相关参考文献,对符合要求的54例患者进行系统分析,显示阿达木单抗引起的自身免疫性疾病主要有

白塞病(16例)、特发性葡萄膜炎(13例)、结节病(5例)、风湿性疾病(5例)、脉管炎(3例)等。

接受阿达木单抗治疗的患者恶性肿瘤发病率与一般人群中预期的发病率类似。Burmester等^[38]分析了19 041例使用阿达木单抗的安全性,并与一般人群发生恶性肿瘤等数据进行比较。结果显示随着阿达木单抗使用时间的延长,各类患者中严重不良事件累积率并未增加。在CHARM/ADHERE试验2年的研究期间^[10],共有11例(1.3%)患者诊断为恶性肿瘤。目前还没有观察到阿达木单抗对妊娠会增加风险,但专家们还是主张在怀孕和母乳喂养期间慎用阿达木单抗^[39]。

4 结论

阿达木单抗自1997年开始应用于临床,至今已积累了较丰富的临床经验。目前阿达木单抗上市的国家有83个,超过了42万病例,已经在治疗类风湿关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、银屑病等方面取得了显著疗效。阿达木单抗已于2010-08在国内上市,这无疑为CD患者尤其是中重度或难治性患者带来新的曙光,随着研究的进一步深入,阿达木单抗在治疗CD领域的地位和作用将获得更进一步的认识和深化。作为一种新型的抗TNF- α 制剂,临床试验已经证实阿达木单抗对于中、重度活动性CD及瘘管型CD有显著的诱导缓解和维持缓解治疗作用,尤其适用于英夫利昔单抗失去应答或不耐受的CD患者,可以避免手术风险以及减少激素类药物的使用甚至停用,提高患者的生活质量。阿达木单抗经皮下注射给药,故无静脉输液反应,患者一般可以自己给药,并且阿达木单抗的不良事件发生率方面明显优于英夫利昔单抗,减低了患者的家庭护理负担。但因皮下注射给药且相对于英夫利昔单抗来说用药较为频繁,可能会增加了患者的经济负担。需要指出的是,由于目前的研究多为临床观察性研究,缺乏随机化或双盲设计,在结果上有可能导致某些偏倚,因此,在解释结果时仍需慎重。在未来,亟待开展随机、双盲设计的多中心研究,以明确阿达木单抗对CD患者的疗效,从而进一步帮助和指导医师正确选择使用此类药物,改善患者的病情和生活质量。

5 参考文献

- 1 Loftus EV, Johnson SJ, Wang ST, Wu E, Mulani PM,

- Chao J. Risk-benefit analysis of adalimumab versus traditional non-biologic therapies for patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 127-140
- 2 Ardizzone S, Bianchi Porro G. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs* 2005; 65: 2253-2286
- 3 Fiorino G, Szabó H, Fries W, Malesci A, Peyrin-Biroulet L, Danese S. Adalimumab in Crohn's disease: tips and tricks after 5 years of clinical experience. *Curr Med Chem* 2011; 18: 1230-1238
- 4 Sandborn WJ, Hanauer S, Loftus EV, Tremaine WJ, Kane S, Cohen R, Hanson K, Johnson T, Schmitt D, Jeche R. An open-label study of the human anti-TNF monoclonal antibody adalimumab in subjects with prior loss of response or intolerance to infliximab for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1984-1989
- 5 Papadakis KA, Shaye OA, Vasiliauskas EA, Ippoliti A, Dubinsky MC, Birt J, Paavola J, Lee SK, Price J, Targan SR, Abreu MT. Safety and efficacy of adalimumab (D2E7) in Crohn's disease patients with an attenuated response to infliximab. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 75-79
- 6 Meier J, Sturm A. [Top-down versus Step-Up: new strategies in the treatment of Crohn's disease]. *Z Gastroenterol* 2009; 47: 240-242
- 7 Rubin DT, Panaccione R, Chao J, Robinson AM. A practical, evidence-based guide to the use of adalimumab in Crohn's disease. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 1803-1813
- 8 D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, Vermeire S, Gassull M, Chowers Y, Hanauer SB, Herfarth H, Hommes DW, Kamm M, Löfberg R, Quarry A, Sands B, Sood A, Watermeyer G, Lashner B, Lémann M, Plevy S, Reinisch W, Schreiber S, Siegel C, Targan S, Watanabe M, Feagan B, Sandborn WJ, Colombel JF, Travis S. The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organization: when to start, when to stop, which drug to choose, and how to predict response? *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 199-212; quiz 213
- 9 Swoger JM, Loftus EV, Tremaine WJ, Faubion WA, Pardi DS, Kane SV, Hanson KA, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Adalimumab for Crohn's disease in clinical practice at Mayo clinic: the first 118 patients. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1912-1921
- 10 Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, Panaccione R, Wolf D, Pollack P. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 2006; 130: 323-333; quiz 591
- 11 Hinojosa J, Gomollón F, García S, Bastida G, Cabriada JL, Saro C, Ceballos D, Peñate M, Gassull MA. Efficacy and safety of short-term adalimumab treatment in patients with active Crohn's disease who lost response or showed intolerance to infliximab: a prospective, open-label, multicentre trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 409-418
- 12 Sandborn WJ, Hanauer SB, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh DG, Panaccione R, Wolf D, Kent JD, Bittle B, Li J, Pollack PF. Adalimumab for maintenance treatment of Crohn's disease: results of the CLASSIC II trial. *Gut* 2007; 56: 1232-1239
- 13 Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, Schreiber S, Byczkowski D, Li J, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 52-65
- 14 Rubin DT, Mulani P, Chao J, Pollack PF, Bensimon AG, Yu AP, Ghosh S. Effect of adalimumab on clinical laboratory parameters in patients with Crohn's disease: Results from the CHARM trial. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 818-825
- 15 Feagan BG, Panaccione R, Sandborn WJ, D'Haens GR, Schreiber S, Rutgeerts PJ, Loftus EV, Lomax KG, Yu AP, Wu EQ, Chao J, Mulani P. Effects of adalimumab therapy on incidence of hospitalization and surgery in Crohn's disease: results from the CHARM study. *Gastroenterology* 2008; 135: 1493-1499
- 16 Loftus EV, Feagan BG, Colombel JF, Rubin DT, Wu EQ, Yu AP, Pollack PF, Chao J, Mulani P. Effects of adalimumab maintenance therapy on health-related quality of life of patients with Crohn's disease: patient-reported outcomes of the CHARM trial. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3132-3141
- 17 Panaccione R, Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, D'Haens GR, Robinson AM, Chao J, Mulani PM, Pollack PF. Adalimumab sustains clinical remission and overall clinical benefit after 2 years of therapy for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1296-1309
- 18 Lichtenstein GR, Panaccione R, Mallarkey G. Efficacy and safety of adalimumab in Crohn's disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2008; 1: 43-50
- 19 Kamm MA, Hanauer SB, Panaccione R, Colombel JF, Sandborn WJ, Pollack PF, Zhou Q, Robinson AM. Adalimumab sustains steroid-free remission after 3 years of therapy for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 306-317
- 20 Rutgeerts P, Van Assche G, Sandborn WJ, Wolf DC, Geboes K, Colombel JF, Reinisch W; EXTEND Investigators, Kumar A, Lazar A, Camez A, Lomax KG, Pollack PF, D'haens G. Adalimumab Induces and Maintains Mucosal Healing in Patients With Crohn's Disease: Data From the EXTEND Trial. *Gastroenterology* 2012 Feb 8. [Epub ahead of print]
- 21 Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam MS, Camez A. Adalimumab for the induction and maintenance of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 160-173
- 22 Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Colombel JF, Panaccione R, D'Haens G, Li J, Rosenfeld MR, Kent JD, Pollack PF. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with infliximab: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 829-838
- 23 Triantafyllidis JK, Mantzaris G, Karagiannis J, Papavasiliou E, Papatheodoridis G, Fouskas J, Malgarinos G, Gikas A, Papamichael K, Mathou N, Symboulakis E, Karamanolis D. Similar response to adalimumab in patients with active Crohn's disease either naive to biologic agents or with prior loss of response or intolerance to infliximab. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2010; 114: 85-90
- 24 Oussalah A, Babouri A, Chevaux JB, Stancu L, Trouilloud I, Bensenane M, Boucekkine T, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Adalimumab for Crohn's disease with intolerance or lost response to infliximab: a 3-year single-centre experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 416-423

- 25 Lichtiger S, Binion DG, Wolf DC, Present DH, Bensimon AG, Wu E, Yu AP, Cardoso AT, Chao J, Mulani PM, Lomax KG, Kent JD. The CHOICE trial: adalimumab demonstrates safety, fistula healing, improved quality of life and increased work productivity in patients with Crohn's disease who failed prior infliximab therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1228-1239
- 26 Cordero Ruiz P, Castro Márquez C, Méndez Rufián V, Castro Laria L, Caunedo Álvarez A, Romero Vázquez J, Herreras Gutiérrez JM. Efficacy of adalimumab in patients with Crohn's disease and failure to infliximab therapy: a clinical series. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 294-298
- 27 Van Assche G, Vermeire S, Ballet V, Gabriels F, Norman M, D'Haens G, Claessens C, Humblet E, Vande Castele N, Gils A, Rutgeerts P. Switch to adalimumab in patients with Crohn's disease controlled by maintenance infliximab: prospective randomised SWITCH trial. *Gut* 2012; 61: 229-234
- 28 Colombel JF, Schwartz DA, Sandborn WJ, Kamm MA, D'Haens G, Rutgeerts P, Enns R, Panaccione R, Schreiber S, Li J, Kent JD, Lomax KG, Pollack PF. Adalimumab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 940-948
- 29 Echarri A, Castro J, Barreiro M, Carpio D, Pereira S, Lorenzo A. Evaluation of adalimumab therapy in multidisciplinary strategy for perianal Crohn's disease patients with infliximab failure. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 654-660
- 30 Doherty G, Kalachand R, Patchett S. Adalimumab as therapy for fistulizing orofacial Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 184-185
- 31 Löfberg R, Louis EV, Reinisch W, Robinson AM, Kron M, Camez A, Pollack PF. Adalimumab produces clinical remission and reduces extraintestinal manifestations in Crohn's disease: results from CARE. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1-9
- 32 Zold E, Nagy A, Devenyi K, Zeher M, Barta Z. Successful use of adalimumab for treating fistulizing Crohn's disease with pyoderma gangrenosum: Two birds with one stone. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2293-2295
- 33 Papamichael K, Archavlis E, Lariou C, Mantzaris GJ. Adalimumab for the prevention and/or treatment of post-operative recurrence of Crohn's disease: A prospective, two-year, single center, pilot study. *J Crohns Colitis* 2012 Mar 14. [Epub ahead of print]
- 34 Orlando A, Renna S, Mocciaro F, Cappello M, Di Mitri R, Randazzo C, Cottone M. Adalimumab in steroid-dependent Crohn's disease patients: Prognostic factors for clinical benefit. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 826-831
- 35 Colombel JF, Sandborn WJ, Panaccione R, Robinson AM, Lau W, Li J, Cardoso AT. Adalimumab safety in global clinical trials of patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1308-1319
- 36 Takeuchi T, Tatsuki Y, Nogami Y, Ishiguro N, Tanaka Y, Yamanaka H, Kamatani N, Harigai M, Ryu J, Inoue K, Kondo H, Inokuma S, Ochi T, Koike T. Postmarketing surveillance of the safety profile of infliximab in 5000 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 189-194
- 37 Díaz-Lagares C, Belenguer R, Ramos-Casals M. [Systematic review on the use of adalimumab in autoimmune. Efficacy and safety in 54 patients]. *Reumatol Clin* 2010; 6: 121-127
- 38 Burmester GR, Mease P, Dijkmans BA, Gordon K, Lovell D, Panaccione R, Perez J, Pangan AL. Adalimumab safety and mortality rates from global clinical trials of six immune-mediated inflammatory diseases. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1863-1869
- 39 Magro F, Portela F. Management of inflammatory bowel disease with infliximab and other anti-tumor necrosis factor alpha therapies. *BioDrugs* 2010; 24 Suppl 1: 3-14

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(编辑部主任:李军亮 2012-03-08)。

温肾降浊化瘀方对溃疡性结肠炎CD14/TLR4-NF-κB通路的影响

黄晓燕, 张涛, 宋雅芳

黄晓燕, 广西中医学院第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530023

张涛, 广西中医学院附属瑞康医院 广西壮族自治区南宁市 530011

宋雅芳, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

黄晓燕, 博士, 主治医师, 主要从事溃疡性结肠炎中医药防治研究。

广西壮族自治区卫生厅重点基金资助项目, No. 重2011041
作者贡献分布: 此课题由黄晓燕与张涛设计; 研究过程由黄晓燕与张涛完成; 实验方法由宋雅芳指导; 数据分析由黄晓燕完成; 本论文写作由黄晓燕与张涛完成。

通讯作者: 黄晓燕, 主治医师, 530023, 广西壮族自治区南宁市, 广西中医学院第一附属医院消化内科。

huangxiaoyan0705@163.com

电话: 0771-5848505

收稿日期: 2012-01-15 修回日期: 2012-03-28

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Effect of Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction on the expression of CD14, TLR-4 and NF-κB in ulcerative colitis in mice

Xiao-Yan Huang, Tao Zhang, Ya-Fang Song

Xiao-Yan Huang, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Tao Zhang, the Affiliated Ruikang Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ya-Fang Song, Piwei Institute, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510001, Guangdong Province, China

Supported by: the Key Project of Health Department of Guangxi, No. Z2011041

Correspondence to: Xiao-Yan Huang, Attending Physician, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of TCM, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangxiaoyan0705@163.com

Received: 2012-01-15 Revised: 2012-03-28

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To explore the mechanism by which Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction prevents ulcerative colitis by detecting the expression of CD14, TLR-4 and NF-κB in colon mucosa of mice with ulcerative colitis.

METHODS: Sixty Balb/c mice were randomly and equally divided into five groups: normal

group, blank group, and three intervention groups (low, medium, high doses). Except for the normal group, the other groups were given orally 5% DSS for four weeks. Mice in the intervention groups were intragastrically administered with different doses of Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction for four weeks, and the blank group was intragastrically administered with normal saline for the same duration. Colon histomorphology was assayed by naked eyes and light microscopy. The expression of CD14, TLR-4 and NF-κBp65 was detected by immunohistochemistry and real-time PCR.

RESULTS: Hyperemia, edema and ulcer were noted in the colon mucosa of mice in the blank group, while the changes in the intervention groups were characterized by hyperemia and edema. There was a significant difference in DAI index between the blank group and intervention groups (7.36 ± 0.27 vs 3.58 ± 0.37 , $P < 0.05$). The expression of CD14, TLR-4 and NF-κBp65 was up-regulated in the blank group compared to the normal group. However, the expression of CD14, TLR-4 and NF-κBp65 was significantly down-regulated in the intervention groups compared to the blank group (1.98 ± 0.33 vs 3.17 ± 0.55 , 1.75 ± 0.32 vs 3.86 ± 0.75 , 1.64 ± 0.27 vs 4.75 ± 0.52 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction may prevent ulcerative colitis by regulating the CD14/TLR-4-NF-κB signal pathway.

Key Words: Ulcerative colitis; CD14/TLR-4-NF-κB signal pathway; Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction

Huang XY, Zhang T, Song YF. Effect of Wenshen Jiangzhuo Huayu decoction on the expression of CD14, TLR-4 and NF-κB in ulcerative colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1229-1233

摘要

目的: 观察溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠结肠黏膜CD14、TLR-4及NF-κBp65表达变化, 探讨温肾降浊化瘀方干预UC的可能机制。

■背景资料

研究表明, 近年来溃疡性结肠炎(UC)在中国发病率呈逐年上升趋势, 因反复发作死于UC相关癌变是其重要危害所在, 因此如何有效控制UC的发生、发展对于UC相关癌变无疑是有益的。

■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

■研究前沿

UC病因尚未明确,结肠黏膜免疫功能紊乱被认为是UC发病的可能机制之一,先天固有免疫在UC的发生、发展中可能占据重要地位。CD14/TLR4信号通路被认为在先天固有免疫呈递级放大效应的重要通路之一,将有望成为缓解UC炎症反复发作的重要靶点之一。

方法: 60只清洁级Balb/c小鼠随机分5组,每组12只,正常组、模型组、治疗组(低、中、高剂量组);除外正常组,其余各组采用自由饮用5%DSS法制备UC模型,模型组给予等剂量生理盐水,治疗组分别给予不同剂量温肾降浊化瘀类方药提取物干预6 wk。分别应用光镜检测结肠黏膜组织形态学变化,免疫组织化学及实时荧光定量PCR检测结肠黏膜CD14、TLR-4以及NF- κ Bp65蛋白及其mRNA表达变化。

结果: 光镜示模型组小鼠结肠黏膜充血肿胀明显,上皮细胞脱落,伴溃疡明显,有大量中性细胞浸润;治疗组小鼠结肠黏膜充血、水肿、部分黏膜上皮脱落,未见溃疡形成;按结肠黏膜组织损伤评分,各治疗组评分(3.58 ± 0.37)均低于模型组(7.36 ± 0.27),有统计学意义($P < 0.05$)。模型组CD14、TLR-4以及NF- κ Bp65蛋白及其mRNA表达呈上升趋势(3.17 ± 0.55 , 3.86 ± 0.75 , 4.75 ± 0.52),治疗组上述指标表达(1.98 ± 0.33 , 1.75 ± 0.32 , 1.64 ± 0.27)呈下降趋势,有统计学意义,无剂量依赖性关系。

结论: 温肾降浊化瘀方药可能通过介导CD14/TLR-4-NF- κ B通路相关指标表达,发挥防治UC的效应。

关键词: 溃疡性结肠炎; CD14/TLR-4-NF- κ B通路; 温肾降浊化瘀方药

黄晓燕, 张涛, 宋雅芳. 温肾降浊化瘀方对溃疡性结肠炎CD14/TLR4-NF- κ B通路的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1229-1233

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1229.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是指结肠黏膜及黏膜下层的非特异性炎症,病变好发于直肠、乙状结肠。因其病因未明,目前尚缺乏有效的针对性治疗药物,临床治疗以缓解症状为主。大量文献研究表明,UC炎症的反复发作、病程迁延导致散发性结肠癌风险成倍增加,如何有效控制UC炎症的发生、发展是值得深入研究的科学命题^[1-3]。先天固有免疫-模式识别在UC发生、发展中具有重要地位,经由CD14/TLR4信号调控NF- κ B活化, NF- κ B在调节涉及黏膜炎症反应的基因中起核心作用,亦被认为在慢性炎症相关的恶性病变中具有关键作用^[4,5]。祖国医学依据UC的发病特点,将之归属于“休息痢”范畴,病久及肾,脾肾阳虚,气血运行不畅而致瘀瘀内阻,痰浊瘀血贯穿疾病始终,由此,本文

在中医药理论指导下,临床上采用温肾降浊化瘀之方药治疗UC,疗效显著。现结合现代医学研究进展,观察温肾降浊化瘀类方药对UC小鼠CD14/TLR4-NF- κ B通路中相关指标的影响,探讨温肾降浊化瘀方防治UC的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物为Balb/c小鼠60只,♂, SPF级, 5周龄,购自广西医科大学医学实验动物中心;葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)购自美国Sigma公司;甲醛、无水乙醇购自广州国药集团; PBS、0.9%生理盐水、10%水合氯醛购自广州科宏生物技术公司; CD14、TLR-4、NF- κ Bp65一抗购自武汉博士德生物有限公司;液氮由广西医科大学提供;二甲苯、Harris苏木精液、伊红染色液、1%盐酸酒精等;手术器械、研钵、直灌胃针、金属夹、石蜡油、一次性注射器; 0.5 mL及1.5 mL Eppendorf管购自美国AEGEN公司。TP1020自动脱水机、RM2135 Leica切片机、HI1210 Leica摊片机、HI1220 Leica烘片机、EG1160 Leica自动包埋机等。温肾降浊化瘀中药组方为补骨脂15 g、肉豆蔻12 g、当归12 g、吴茱萸10 g、黄连6 g、白术10 g、人参15 g、水蛭10 g、三七10 g、炙甘草6 g。用蒸馏水煎成健脾清热活血中药药液,浓缩配制制成1 g原生药/1 mL的药液,过滤分装4℃保存备用。

1.2 方法

1.2.1 造模方法: 参照文献报道^[6],取5周龄♂ Balb/c小鼠60只,适应性喂养1 wk后,按体质量随机分为模型组、治疗组(低、中、高剂量组)、正常组,每组12只。除正常组,其余各组在小鼠饮水中添加5%DSS(浓度为50 g/L),连续自由饮用4 wk。自第4周末起,模型组给予等剂量生理盐水灌胃4 wk,治疗组分别按成人用药量的3、6、12倍给药,即5.3 g/kg、10.6 g/kg、21.2 g/kg(实验动物与人按体表面积比等效剂量换算比率,将每天剂量折算成小鼠等效剂量作为中剂量组用量:小鼠用量 = 人每日口服生药量 $\times 0.0026/0.02 \text{ kg} = 66 \text{ g} \times 0.0026/0.02 \text{ kg} = 8.58 \text{ g/kg}$),药物用蒸馏水配成530 g/L、1 060 g/L、2 120 g/L,小鼠灌胃给药体积为0.4 mL/10 g^[7],观察各组小鼠毛发、体质量、耗食、大便、耗水及死亡等变化。

1.2.2 标本采集: 全部小鼠第8周末脱椎处死,迅速剖取全部结肠(从回盲瓣至肛门),选择性取材(挑取溃疡或糜烂最明显处病变肠段)沿纵轴切开,分为2部分,首先将第1部分用生理盐水迅速

表 1 小鼠结肠CD14、TLR4、NF-κBp65引物序列

基因	上游引物	下游引物	扩增长度(bp)
CD14	5'-TAC AGG GAT CCG GGT GGT AA-3'	5'-GCC GAG GCA AGA ACA AAG AA-3'	142
TLR4	5'-CAA GCC TTT CAG GGA ATT AAG C-3'	5'-TGG ACG TGT AAA CCA GCC AG-3'	107
NF-κBp65	5'-ACT TGA ATG CAG TGC GCC TC-3'	5'-GGG CCC GGT TAT CAA AAA TC-3'	108
GAPDH	5'-CGT GTT CCT ACC CCC AAT GT-3'	5'-TGT CAT CAT ACT TGG CAG GTT TCT-3'	73

表 2 结肠黏膜损伤评分统计 (n = 12, mean ± SD)

分组	肉眼损伤评分	光镜损伤评分
正常组	0 ^a	0 ^a
模型组	7.36 ± 0.27	4.45 ± 0.20
低剂量组	3.58 ± 0.37 ^c	2.78 ± 0.57 ^c
中剂量组	3.46 ± 0.45 ^c	2.54 ± 0.41 ^c
高剂量组	3.25 ± 0.32 ^c	2.31 ± 0.22 ^c

^aP<0.05 vs 治疗组; ^cP<0.05 vs 模型组.

冲净后, 置于标本体积10倍以上的40 g/L甲醛溶液中固定, 剩余部分置于液氮保存, 备测.

1.2.3 结肠病理改变情况的观察: 将已用40 g/L中性甲醛固定好的小鼠结肠取出, 然后切取病变处, 经用流水冲洗, 放入生物脱水机进行逐级脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋切片4 μm, 常规HE染色, 封片, 光镜下观察结肠黏膜组织形态学变化情况, 参照DAI指数评分^[8].

1.2.4 结肠CD14、TLR4、NF-κBp65蛋白表达: 应用免疫组织化学SABC法, 检测CD14、TLR4、NF-κBp65蛋白表达. 具体步骤严格按照试剂说明书进行操作, 以PBS代替一抗为阴性对照, 采用Image pro plus 4.0软件进行图像分析.

1.2.5 结肠CD14、TLR4、NF-κBp65 mRNA表达: 应用实时荧光定量PCR法(Real-time PCR), 以GAPDH为内参, 检测结肠CD14、TLR4、NF-κBp65的mRNA表达. 具体步骤: 组织总RNA提取-Primer5.0软件设计引物-逆转录cDNA-Real time PCR反应体系扩增-目的基因相对mRNA表达水平的计算分析. CD14、TLR4、NF-κBp65引物序列见表1.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 用SPSS11.5 for Windows软件进行数据处理与分析. One-way ANOVA进行各组间方差分析, 方差齐同时用LSD法, 方差不齐时用Tamane'S T2法, P<0.05为有统计学意义. 检验水准为α = 0.05.

2 结果

2.1 小鼠结肠黏膜光镜下病理变化 正常组: 结肠

黏膜未见明显异常; 模型组: 黏膜上皮脱落、溃疡形成多且大, 黏膜充血肿胀, 大量中性粒细胞浸润; 低剂量组: 黏膜上皮脱落, 糜烂, 少量中性粒细胞浸润; 中剂量组: 黏膜充血、水肿, 淋巴细胞浸润明显, 未见溃疡形成; 高剂量组: 黏膜上皮脱落, 充血、水肿, 未见明显溃疡. 初步表明温肾降浊化瘀方药具有缓解小鼠UC的效应, 以中剂量及高剂量组疗效明显(表2).

2.2 小鼠结肠CD14、TLR4、NF-κBp65蛋白表达变化 模型组CD14、TLR4、NF-κBp65阳性细胞表达均呈上升趋势; 治疗组CD14、TLR4、NF-κBp65阳性表达减少, 与模型组比较, 有统计学差异(P<0.05). 这说明, CD14/TLR4-NF-κB通路高表达, 先天固有免疫-模式识别过度反应, 致炎症放大, 加重结肠黏膜组织损伤, 调控CD14/TLR4-NF-κB通路中相关指标表达可能是温肾降浊化瘀方药作用所在(表3).

2.3 小鼠结肠CD14、TLR4、NF-κBp65 mRNA表达变化 模型组CD14、TLR4、NF-κBp65 mRNA表达呈上升趋势; 治疗组CD14、TLR4、NF-κBp65 mRNA表达呈下降趋势, 经比较有统计学差异(P<0.05). 这说明, UC存在CD14/TLR4-NF-κB通路过度激活, 下游靶基因NF-κBp65高转录的特点, 导致炎症反复发作, 温肾降浊化瘀类方药可能干预上述靶点, 发挥治疗效应(表4).

3 讨论

祖国医学虽无“UC”病名, 但依据其临床特点, 将之归属于“休息痢”范畴^[9], 该病初病在大肠, 与肝脾相关, 病久及肾, 痰浊瘀血贯穿疾病始终, 笔者结合自身临床经验, 以温肾降浊化瘀为治疗大法, 临床证实该法具有缓解UC患者临床症状的效用. 温肾降浊化瘀方以四神丸为基本方化裁, 方中以补骨脂辛苦大温, 能补相火以通君火, 火旺乃能生土; 肉豆蔻辛温能行气消食, 暖胃固肠, 五味咸能补肾, 酸能涩精; 吴茱萸辛热除湿燥脾, 能入少引厥阴气分而补火; 黄连清热解毒除余邪, 又防温燥太过; 当归、水蛭、三七活血化瘀、降浊生新; 人参、白术、甘草

■创新盘点

本研究应用现代分子生物学技术, 从CD14/TLR4-NF-κB通路介导UC角度, 探讨温肾降浊化瘀汤干预UC的研究, 与同类研究相比具有理论的创新性.

■应用要点

本研究结果初步提示,温肾降浊化瘀汤可能通过干预CD14/TLR4-NF-κB通路相关指标变化,发挥防治UC的效应,值得临床进一步推广验证,有较好的应用价值。

表 3 小鼠结肠β-catenin、C-myc蛋白阳性表达分布面积 ($\times 10^3$, $n = 12$, μm^2)

分组	CD14	TLR4	NF-κBp65
正常组	2338.76 ± 225.16 ^a	2095.63 ± 246.44 ^a	1638.54 ± 175.53 ^a
模型组	6417.31 ± 639.88	5791.37 ± 588.08	4652.98 ± 265.76
低剂量组	3793.43 ± 452.60 ^c	3973.66 ± 318.25 ^c	3122.64 ± 215.39 ^c
中剂量组	3541.78 ± 414.93 ^c	3863.01 ± 375.32 ^c	2989.38 ± 355.70 ^c
高剂量组	3421.98 ± 424.39 ^c	3736.51 ± 415.66 ^c	3152.27 ± 312.48 ^c

^a $P < 0.05$ vs 治疗组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。

表 4 小鼠结肠CD14、TLR4、NF-κBp65 mRNA表达变化 ($n = 12$, mean ± SD)

分组	CD14	TLR4	NF-κBp65
正常组	0.29 ± 0.09 ^a	0.55 ± 0.12 ^a	0.68 ± 0.14 ^a
模型组	3.17 ± 0.55	3.86 ± 0.75	4.75 ± 0.52
低剂量组	1.98 ± 0.33 ^c	1.75 ± 0.32 ^c	1.64 ± 0.27 ^c
中剂量组	1.77 ± 0.41 ^c	1.48 ± 0.49 ^c	1.95 ± 0.42 ^c
高剂量组	1.57 ± 0.45 ^c	1.86 ± 0.45 ^c	1.62 ± 0.31 ^c

^a $P < 0.05$ vs 治疗组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。

健脾除湿化痰, 全方共奏温肾降浊, 化瘀止泻之功。课题组基于上述研究基础, 从CD14/TLR4信号通路角度, 探讨温肾降浊化瘀方防治UC的可能机制及其靶点。

本研究结果发现, 温肾降浊化瘀类中药复方具有明确防治UC的效应, 以中剂量疗效最为明显。模型组结肠黏膜CD14/TLR4-NF-κB通路中相关指标如CD14、TLR4、NF-κBp65表达增多, 各治疗组CD14、TLR4、NF-κBp65表达较模型组相比, 呈下降变化。由此推测, 温肾降浊化瘀类方药可能通过介导CD14/TLR4-NF-κB通路中相关指标表达, 从而发挥防治UC效应。CD14/TLR4信号通路是介导内毒素诱导的炎症反应的最重要的通路^[8]。CD14基因位于5q13.1, 其表达产物是CD14分子, 他是一种LPS受体, 与LPS有较高的亲和力, 在哺乳动物体内以两种形式存在: 表达于髓样细胞表面的膜CD14(mCD14)和血清中的可溶性CD14(sCD14), 其中sCD14占CD14分子总量的99%^[10]。mCD14通过糖基化磷脂酰肌醇锚定在髓样细胞, 如单核巨噬细胞膜的外侧。sCD14游离于血清中, 无糖基化磷脂酰肌醇结构, 可将LPS信号输送至缺乏mCD14的细胞如内皮细胞和上皮细胞表面, 与TLR4结合, 再将信号转导到细胞内。在LBP/CD14存在的条件下, 极微量的LPS即可诱发炎症因子释放, 而敲除LBP/CD14或拮抗LBP/CD14则可显著抑制

LPS的致炎效应^[11,12]。

研究发现, 先天固有免疫-模式识别在UC发生、发展中占据重要地位^[13-15]。UC因炎症反复刺激, 经由信号调控NF-κB活化, NF-κBp65在调节涉及黏膜炎症反应的基因中起核心作用, CD14/TLR4-NF-κB信号通路高度激活, 促进炎症因子如NF-κBp65大量释放, 加重靶器官结肠组织损伤, 因此调控UC患者CD14/TLR4-NF-κB信号通路及其下游促炎症因子释放, 将是有望成为防治UC重要靶点。

总之, 本文认为CD14/TLR4-NF-κB信号通路过度激活在UC的发病中可能占据重要地位, 下一步我们将应用microRNA技术阻断该信号通路, 从整体动物实验和离体细胞实验2个层面, 对温肾降浊化瘀方的作用机制深入分析。

4 参考文献

- Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010; 140: 871-882
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444
- Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1073-1081
- Risques RA, Lai LA, Brentnall TA, Li L, Feng Z, Gallaher J, Mandelson MT, Potter JD, Bronner MP, Rabinovitch PS. Ulcerative colitis is a disease of accelerated colon aging: evidence from telomere attrition and DNA damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 410-418
- de Buhr MF, Hedrich HJ, Westendorf AM, Obermeier F, Hofmann C, Zschemisch NH, Buer J, Bumann D, Goyert SM, Bleich A. Analysis of Cd14 as a genetic modifier of experimental inflammatory bowel disease (IBD) in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1824-1836
- Anthoni C, Laukoetter MG, Rijcken E, Vowinkel T, Mennigen R, Müller S, Senninger N, Russell J, Jauch J, Bergmann J, Granger DN, Krieglstein CF. Mechanisms underlying the anti-inflammatory actions of boswellic acid derivatives in experimental colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G1131-G1137
- 陈奇. 中药药理研究方法学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1103

- 8 Liao J, Seril DN, Yang AL, Lu GG, Yang GY. Inhibition of chronic ulcerative colitis associated adenocarcinoma development in mice by inositol compounds. *Carcinogenesis* 2007; 28: 446-454
- 9 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准. 第1版. 南京: 南京大学出版社, 1994: 173
- 10 Frolova L, Drastich P, Rossmann P, Klimesova K, Tlaskalova-Hogenova H. Expression of Toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, and CD14 in biopsy samples of patients with inflammatory bowel diseases: up-regulated expression of TLR2 in terminal ileum of patients with ulcerative colitis. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 267-274
- 11 Tanaka K. Expression of Toll-like receptors in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 193-196
- 12 Tanaka T, Okanobu H, Kuga Y, Yoshifuku Y, Fujino H, Miwata T, Moriya T, Nishida T, Oya T. Clinical and endoscopic features of responders and non-responders to adsorptive leucocytapheresis: a report based on 120 patients with active ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34: 687-695
- 13 Yu ZH, Huang F, Xu N, Zhao DM, Hu FA, Liu J, Liu HF. Expression of Toll-like receptor 4, CD14, and NF- κ B in Chinese patients with ulcerative colitis. *J Immunoassay Immunochem* 2011; 32: 47-56
- 14 Baumgart DC, Thomas S, Przesdzin I, Metzke D, Bielecki C, Lehmann SM, Lehnardt S, Dörffel Y, Sturm A, Scheffold A, Schmitz J, Radbruch A. Exaggerated inflammatory response of primary human myeloid dendritic cells to lipopolysaccharide in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2009; 157: 423-436
- 15 Sivaram G, Tiwari SK, Bardia A, Anjum F, Vishnu-priya S, Habeeb A, Khan AA. Macrophage migration inhibitory factor, Toll-like receptor 4, and CD14 polymorphisms with altered expression levels in patients with ulcerative colitis. *Hum Immunol* 2012; 73: 201-205

■同行评价

本研究从CD14/TLR4-NF- κ B通路介导UC角度, 探讨温肾降浊化瘀汤干预UC的研究, 具有一定的创新性和科研意义。

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

腹腔镜Nissen胃底折叠术与腹腔镜前180°部分胃底折叠术后5年临床效果的比较

蔡旺, 秦鸣放, 邹富胜, 李大勇

■背景资料

腹腔镜Nissen胃底折叠术虽然能得到很好的抗反流效果,但也会出现如吞咽困难等一些并发症。腹腔镜前180°部分胃底折叠术可能在取得良好抗反流效果的同时减少这些并发症的发生。

蔡旺, 秦鸣放, 邹富胜, 李大勇, 天津市南开医院微创外科 天津市 300100

蔡旺, 主治医师, 主要从事腹腔镜内镜微创腹部外科的研究。

作者贡献分布: 蔡旺负责研究设计、实施及数据处理、论文写作; 秦鸣放负责研究设计、实施、论文修改; 邹富胜负责研究实施、数据收集、论文修改; 李大勇负责数据收集、统计计算。

通讯作者: 蔡旺, 主治医师, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 南开医院微创外科, caiwangmd@163.com

电话: 022-27435267

收稿日期: 2012-01-09 修回日期: 2012-02-15

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Five-year efficacy of laparoscopic Nissen fundoplication versus anterior 180° partial fundoplication in the management of reflux esophagitis: A randomized controlled trial

Wang Cai, Ming-Fang Qin, Fu-Sheng Zou, Da-Yong Li

Wang Cai, Ming-Fang Qin, Fu-Sheng Zou, Da-Yong Li, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Correspondence to: Wang Cai, Attending Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 122 Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. caiwangmd@163.com

Received: 2012-01-09 Revised: 2012-02-15

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the long-term clinical outcome of laparoscopic Nissen fundoplication versus anterior 180° partial fundoplication in the management of reflux esophagitis.

METHODS: One hundred and seven patients with reflux esophagitis were enrolled and randomly allocated into two groups to undergo laparoscopic Nissen fundoplication (Nissen group) and laparoscopic anterior 180° partial fundoplication (partial fundoplication group). The patients were followed for 5 years after operation, and clinical data, such as the incidences of heartburn, dysphagia, bloating or flatulence, belching ability, and degree of satisfaction with

the operation, were collected.

RESULTS: There were no statistical significances between the two groups for the incidence of heartburn symptom and consumption of PPI. Though the incidence of dysphagia was similar between the two groups, the severity of the symptom in the partial fundoplication group was much lower than that in the Nissen group. There is a higher incidence of epigastric bloating, difficulty of belching and flatulence in the Nissen group. The degree of overall satisfaction with the operation was similar between the two groups. Most patients were free of reflux symptoms during the 5-year follow-up period.

CONCLUSION: Laparoscopic anterior 180° partial fundoplication has good and durable anti-reflux effect and is associated with a lower incidence of post-operative complications compared to Nissen fundoplication, and can be employed as a routine procedure for treatment of gastro-esophageal reflux disease.

Key Words: Laparoscopic Nissen fundoplication; Laparoscopic anterior 180° partial fundoplication; Randomized controlled trial; Long-term outcome

Cai W, Qin MF, Zou FS, Li DY. Five-year efficacy of laparoscopic Nissen fundoplication versus anterior 180° partial fundoplication in the management of reflux esophagitis: A randomized controlled trial. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1234-1237

摘要

目的: 随机对照研究腹腔镜Nissen胃底折叠术及镜前180°部分胃底折叠术2种手术方式在术后5年的临床效果。

方法: 2006-03/12共有107例接受腹腔镜抗反流手术的患者随机分入腹腔镜Nissen胃底折叠术组和腹腔镜前180°部分胃底折叠术组, 各组均采用标准手术操作。术后定期随访, 对随访记录包括有无烧心反酸、吞咽困难、胀气症状、嗝气、是否排气过多等症状及手术满意度等进

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

行主观评分.临床数据进行统计分析.

结果:两组之间烧心症状以及服用质子泵抑制剂的比例没有显著性差异.出现吞咽困难的比列无明显差异,但是前胃底折叠术组患者吞咽困难的程度比Nissen组患者明显较轻.Nissen组的患者出现上腹胀气、无法有效嗝气及排气过多的比例较高.两组的总体临床效果满意度基本相同.术后5年大多数患者没有或只有轻微的反流症状.

结论:腹腔镜前180°部分胃底折叠术抗反流效果持久,术后出现并发症及不良反应的比例明显低于Nissen胃底折叠术.腹腔镜前180°部分胃底折叠术可以作为临床治疗胃食管反流性疾病的常规手术方式.

关键词:腹腔镜Nissen胃底折叠术;腹腔镜前180°部分胃底折叠术;随机对照;长期随访

蔡旺,秦鸣放,邹富胜,李大勇.腹腔镜Nissen胃底折叠术与腹腔镜前180°部分胃底折叠术后5年临床效果的比较.世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1234-1237

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1234.asp>

0 引言

腹腔镜胃底折叠术是针对胃食管反流性疾病(gastro-esophageal reflux disease, GERD)的外科治疗中最常用的手术方式. Nissen胃底折叠术后长期随访结果显示大约90%的患者能够保持良好的抗反流效果^[1-3]. 但是有部分患者术后出现一些并发症,比如长期吞咽困难、上腹胀气以及其他一些胃肠道不适症状^[4]. 而腹腔镜前180°部分胃底折叠术有可能减少这些术后并发症的发生. 因此我们进行了腹腔镜Nissen胃底折叠术与腹腔镜前180°部分胃底折叠术的随机对照研究. 在本文中我们报道这2种手术后超过5年的临床效果. 这些中长期临床随访结果可以帮助确认腹腔镜前180°部分胃底折叠术是否能够达到与Nissen胃底折叠术相同的长期抗反流效果以及能否减少术后并发症的发生.

1 材料和方法

1.1 材料 2006-03/12因反流性食管炎在天津市微创外科中心接受腹腔镜抗反流手术的107个患者入选本研究. 患者由计算机随机编号分入腹腔镜Nissen胃底折叠术组和腹腔镜前180°部分胃底折叠术组.

1.2 方法 各组均采用标准腹腔镜Nissen胃底折叠

术^[5]和腹腔镜前180°部分胃底折叠术^[6]进行手术操作,患者在术后定期接受随访. 术后第5年我们通过门诊复查或电话随访对患者进行随访问卷调查. 随访时详细记录患者术后有无烧心反酸以及吞咽困难等症状,并且对各个症状进行主观评分,0分为无症状,10分为最严重症状. 对手术疗效的满意度也通过0到10分进行评定,0分为完全不满意,10分为完全满意. 在随访时患者还被问及如果在相同的术前情况下是否仍旧选择手术治疗. 在随访时其他的调查问题还包括:上腹胀气症状,正常嗝气的能力,是否有排气过多现象.

统计学处理 所有收集的临床数据均输入计算机数据库. 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析. 使用Fisher's exact test对二联表的统计学显著性进行检验. 使用Mann-Whitney *U* test检验两组症状评分的显著性差异. 全部检验均为双侧检验,检验水准 $P < 0.05$.

2 结果

107个最初入选的患者到术后5年,有4人在随访期内由于非手术相关原因死亡(结肠癌、肺癌、肝癌、心肌梗塞). 103个患者中2人无法联系,总共101人(98.1%)可以进行术后随访调查. 腹腔镜Nissen胃底折叠术组51人,腹腔镜前180°部分胃底折叠术组50人. Nissen组男35人,女16人;部分胃底折叠组男33人,女17人; Nissen组男性平均50.3岁,女性平均57.7岁;部分胃底折叠组男性平均44.9岁,女性平均58.1岁.

2种腹腔镜抗反流术后5年的临床结果如表1. 两组之间烧心症状以及服用质子泵抑制剂的比例没有显著性差异. 前部分胃底折叠术组和Nissen组患者出现吞咽困难的比列无明显差异,但是前胃底折叠术组患者吞咽困难的程度比Nissen组患者明显较轻($P = 0.008$). Nissen组的患者出现上腹胀气、无法有效嗝气及排气过多的比例较高. 两组患者的均能自行缓解腹胀.

两组的总体临床效果满意度基本相同,平均满意度评分并没有显著性差异($P = 0.114$, 表2). 86%的Nissen胃底折叠术组患者和94%的前部分胃底折叠术组患者认为假如面临相同的术前状况下仍旧愿意选择手术治疗方案($P = 0.318$). 术后5年大多数患者没有或只有轻微的反流症状.

术后6-60 mo有6例患者需要再次手术,3例最初接受腹腔镜Nissen胃底折叠术的患者因为术后持续吞咽困难再次进行手术,其中1例将

■应用要点

腹腔镜前180°部分胃底折叠术是一种效果持久的抗反流手术,而且术后出现并发症及不良反应的比例明显低于Nissen胃底折叠术. 腹腔镜前180°部分胃底折叠术可以作为临床治疗胃食管反流性疾病的常规手术方式.

■名词解释

腹腔镜Nissen胃底折叠术: 或称腹腔镜360°完全胃底折叠术, 是采用腹腔镜手术方式将胃底组织进行360°完全包绕腹段食管并缝合固定, 以达到防止胃酸反流进入食管的一种抗反流手术。
腹腔镜前180°部分胃底折叠术: 是一种对腹腔镜Nissen胃底折叠术改良手术方式, 其将胃底组织在腹段食管的腹侧包绕180°, 以尽量减少术后吞咽困难等并发症的发生。

表 1 术后5年临床随访烧心感、吞咽困难及其他症状

	Nissen胃底 折叠(<i>n</i> = 51)	前部分胃底 折叠(<i>n</i> = 50)	<i>P</i> 值
反流症状			
烧心感例数 ¹	5(10%)	10(20%)	0.172
平均烧心感评分 ²	1.8 ± 0.4	1.9 ± 0.3	0.757
服用PPI药物 ¹	6(12%)	2(4%)	0.269
吞咽困难症状			
吞咽困难例数 ¹	14(27%)	9(18%)	0.344
平均吞咽困难评分 ²	11.4 ± 1.0	6.5 ± 0.5	0.008
其他不良反应			
上腹胀气 ¹	38(75%)	22(44%)	0.002
可自行缓解 ¹	29(57%)	37(74%)	0.095
可正常暖气 ¹	29(57%)	40(80%)	0.018
虚恭增加 ¹	41(80%)	31(62%)	0.050
腹泻 ¹	14(27%)	12(24%)	0.821

PPI: 质子泵抑制剂。 ¹Fisher's exact检验; ²Mann-Whitney *U* test。

表 2 术后3年总体临床结果

	Nissen胃底 折叠(<i>n</i> = 51)	前部分胃底 折叠(<i>n</i> = 50)	<i>P</i> 值
平均满意度评分 ¹	8.0 ± 0.2	8.7 ± 0.3	0.114
认同手术治疗 ²	44(86%)	47(94%)	0.318

¹Mann-Whitney *U* test; ²Fisher's exact检验。

Nissen完全胃底折叠术改变为前部分胃底折叠术并且将食管裂孔扩大了一些(第1次术后2年); 2例转变为前部分胃底折叠术(术后9 mo和1年); 3例最初接受腹腔镜前180°胃底折叠术的患者因为复发反流症状再次手术改变为Nissen胃底折叠术(术后6 mo、11 mo、3年)。

3 讨论

由于Nissen完全胃底折叠术后会出现一些吞咽困难、腹部胀气等并发症, 因此外科医生始终在寻求抗反流手术的各种改良手术方式^[7-9]。在这些改良方式中, 后270°部分胃底折叠术和前180°部分胃底折叠术成为了研究的重点和热点。针对Nissen胃底折叠术和后270°部分胃底折叠术的多项临床随机对照研究结果显示, 吞咽困难的发生率没有差异^[10-12]。而一些非对照研究结果显示前180°部分胃底折叠术可能是一个较佳的选择^[14-16]。本研究结果显示, 前180°部分胃底折叠术能够有效控制胃酸反流, 且吞咽困难症状等发生率较Nissen胃底折叠术明显减少。

术后随访时部分患者进行食管测压及24 h食管pH监测等客观检查也确认了这一结果。

通过本研究的患者症状评分结果来看, 前部分胃底折叠术和Nissen胃底折叠术控制胃酸反流的效果都是令人满意的。但是前部分胃底折叠术组的患者相比Nissen胃底折叠术组患者的烧心症状略微明显一些。这与我们在临床工作中的体会是相符合的。在随访调查时, 我们询问并记录患者之前1 mo内是否有烧心症状, 但这种情况有可能并不是胃食管酸性反流造成的。术后5年内有3例患者因为复发反流症状而需要再次进行手术也间接说明, 前部分胃底折叠术的手术效果持久性可能比Nissen完全胃底折叠术稍差一些。但是随访显示术后第5年前部分胃底折叠术组的患者服用抑酸药物的比例与Nissen胃底折叠术组没有显著差异。

前部分胃底折叠术后5年时吞咽困难症状、上腹胀气症状和嗝气困难症状的比例更低, 这些症状从生活质量角度来讲同控制胃酸反流一样重要。从患者角度来看术后效果的好坏并不仅仅取决于胃酸反流的控制程度, 其他并发症及不良反应发生的比例也是同样重要的。术后5年随访时两组患者对手术的满意程度都很高, 这与术后短期结果的比例基本相近。其他的一些指标说明前部分胃底折叠术更有优势。

Nissen胃底折叠术组的患者对术后效果的评价评分比前部分胃底折叠术组要低一些, 但是并没有显著性差异。虽然所占比例很少, 但是有些患者因为吞咽困难、腹部胀气等并发症而造成生活质量较差, 而这些术后并发症往往不容易处理, 很多需要再次手术才能解决。部分胃底折叠术后出现的复发反流症状往往可以通过口服药物得到良好控制。因此这种情况比Nissen术后吞咽困难等并发症更容易令人接受。

基于本研究结果, 我们认为腹腔镜前180°部分胃底折叠术是一种效果持久的抗反流手术, 而且术后出现并发症及不良反应的比例明显低于Nissen胃底折叠术。我们认为腹腔镜前180°部分胃底折叠术可以作为临床治疗胃食管反流性疾病的常规手术方式。

4 参考文献

- Toydemir T, Tekin K, Yerdel MA. Laparoscopic Nissen versus Toupet fundoplication: assessment of operative outcomes. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2011; 21: 669-676
- 秦鸣放, 赵宏志, 曹占国. 胃食管反流性疾病的腹腔镜胃底折叠术治疗. *外科理论与实践* 2007; 12: 559-561

- 3 Lafullarde T, Watson DI, Jamieson GG, Myers JC, Game PA, Devitt PG. Laparoscopic Nissen fundoplication: five-year results and beyond. *Arch Surg* 2001; 136: 180-184
- 4 Symons NR, Purkayastha S, Dillemans B, Athanasiou T, Hanna GB, Darzi A, Zacharakis E. Laparoscopic revision of failed antireflux surgery: a systematic review. *Am J Surg* 2011; 202: 336-343
- 5 Geagea T. Laparoscopic Nissen's fundoplication: preliminary report on ten cases. *Surg Endosc* 1991; 5: 170-173
- 6 Watson DI, Jamieson GG, Devitt PG, Matthew G, Britten-Jones RE, Game PA, Williams RS. Changing strategies in the performance of laparoscopic Nissen fundoplication as a result of experience with 230 operations. *Surg Endosc* 1995; 9: 961-966
- 7 秦鸣放, 赵宏志. 胃食管结合部良性疾病的腹腔镜治疗. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 180-182
- 8 Dallemagne B, Perretta S. Twenty years of laparoscopic fundoplication for GERD. *World J Surg* 2011; 35: 1428-1435
- 9 曹占国, 秦鸣放, 王庆, 赵宏志. Nissen胃底折叠术与前180度胃底折叠术的疗效比较. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2594-2598
- 10 Varban OA, McCoy TP, Westcott C. A comparison of pre-operative comorbidities and post-operative outcomes among patients undergoing laparoscopic nissen fundoplication at high- and low-volume centers. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 1121-1127
- 11 Laws HL, Clements RH, Swillie CM. A randomized, prospective comparison of the Nissen fundoplication versus the Toupet fundoplication for gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg* 1997; 225: 647-653; discussion 654
- 12 Lundell L, Abrahamsson H, Ruth M, Rydberg L, Lönroth H, Olbe L. Long-term results of a prospective randomized comparison of total fundic wrap (Nissen-Rossetti) or semifundoplication (Toupet) for gastro-oesophageal reflux. *Br J Surg* 1996; 83: 830-835
- 13 Zornig C, Strate U, Fibbe C, Emmermann A, Layer P. Nissen vs Toupet laparoscopic fundoplication. *Surg Endosc* 2002; 16: 758-766
- 14 蔡旺, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 腹腔镜胃底折叠术后复发烧心症状与食管内酸反流的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3695-3698
- 15 Hunter JG, Smith CD, Branum GD, Waring JP, Trus TL, Cornwell M, Galloway K. Laparoscopic fundoplication failures: patterns of failure and response to fundoplication revision. *Ann Surg* 1999; 230: 595-604; discussion 604-606
- 16 赵宏志, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 腹腔镜食管裂孔疝修补术143例临床分析. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 159-161

■同行评价

本文选题有一定的新颖性和学术价值, 方法合理, 条理分明, 结论可靠, 有一定的学术价值和临床指导意义。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}¹, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

TGF- β 1和Smad2在胃癌中的表达及意义

沈卫东, 刘鹏飞, 刘兵团, 项斌, 张伟

■背景资料

研究表明, TGF- β 1/Smad通路的异常激活与横纹肌肉瘤、结肠癌等发生有关, 但在胃癌中的表达情况尚未见相关报道。探讨 TGF- β 1 和 Smad2 在胃癌组织中的表达, 有助于阐明其病理生理机制, 并为临床上寻找新的治疗靶标提供坚实的理论依据。

沈卫东, 刘鹏飞, 刘兵团, 项斌, 张伟, 东南大学医学院附属江阴医院消化内科 江苏省江阴市 214400

沈卫东, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由沈卫东设计; 研究过程由刘兵团、沈卫东、项斌及张伟操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘兵团提供; 数据分析由刘鹏飞、刘兵团及沈卫东完成; 本论文写作由沈卫东完成。

通讯作者: 沈卫东, 主治医师, 214400, 江苏省江阴市寿山路163号, 东南大学医学院附属江阴医院消化内科。

shenwd2003@yahoo.com.cn

电话: 0510-86879453 传真: 0510-86871307

收稿日期: 2011-10-20 修回日期: 2012-03-19

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Expression of TGF- β 1 and Smad2 in human gastric cancer

Wei-Dong Shen, Peng-Fei Liu, Bing-Tuan Liu, Bin Xiang, Wei Zhang

Wei-Dong Shen, Peng-Fei Liu, Bing-Tuan Liu, Bin Xiang, Wei Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Jiangyin Hospital of Southeast University, Jiangyin 214400, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wei-Dong Shen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Jiangyin Hospital of Southeast University, 163 Shoushan Road, Jiangyin 214400, Jiangsu Province, China. shenwd2003@yahoo.com.cn

Received: 2011-10-20 Revised: 2012-03-19

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To investigate the correlation of the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and mothers against decapentaplegic homolog 2 (Smad2) with the carcinogenesis and tumor progression of human gastric cancer.

METHODS: Western blot and real-time PCR were used to detect the expression of TGF- β 1 and Smad2 protein and mRNA in 45 cases of gastric cancer and matched normal gastric mucosal tissues.

RESULTS: The positive rates of TGF- β 1 and Smad2 protein expression were significantly higher in gastric cancer than in normal gastric mucosa (77.8% vs 33.3%, 73.3% vs 26.7%, both $P < 0.05$). The positive rates of TGF- β 1 and Smad2 mRNA expression were also significantly higher

in gastric cancer than in normal tissue (88.9% vs 35.6%, 84.4% vs 31.1%, both $P < 0.05$). The protein expression of TGF- β 1 and Smad2 was correlated with pathological grade, lesion depth, lymph node metastasis and vessel invasion.

CONCLUSION: Overexpression of TGF- β 1 and Smad2 may play an important role in the development and progression of gastric cancer.

Key Words: Transforming growth factor- β 1; Mothers against decapentaplegic homolog 2; Gastric cancer

Shen WD, Liu PF, Liu BT, Xiang B, Zhang W. Expression of TGF- β 1 and Smad2 in human gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1238-1241

摘要

目的: 检测TGF- β 1和Smad2信号在胃癌中的表达, 探讨TGF- β 1和Smad2在胃癌发生、发展中的作用。

方法: 采用免疫蛋白印迹(Western blot)和实时定量PCR检测45例胃癌组织及相应正常组织TGF- β 1、Smad2蛋白及mRNA的表达, 比较正常对照、癌组织中上述二者表达的差异, 并进行统计学分析。

结果: TGF- β 1在胃癌组织中阳性表达率为77.8%(35/45), 在正常组织中为33.3%(15/45), 二者比较差异显著($P < 0.05$); Smad2蛋白在胃癌组织中阳性表达率为73.3%(33/45), 在正常组织中为26.7%(12/45), 二者比较有显著差异($P < 0.05$); TGF- β 1、Smad2 mRNA在胃癌组织中阳性表达率分别为88.9%(40/45)、84.4%(38/45), 均显著高于正常组织($P < 0.05$)。胃癌组织中TGF- β 1、Smad2蛋白的表达与病理分级、浸润深度、淋巴结转移、脉管侵犯相关($P < 0.05$)。

结论: TGF- β 1和Smad2可能在胃癌的发生、发展中发挥作用, 并与胃癌的侵袭、转移相关。

关键词: 转化生长因子- β 1; 细胞信号转导分子-2; 胃癌

■同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科; 高泽立, 副教授, 上海交大医学院九院周浦分院消化科

沈卫东, 刘鹏飞, 刘兵团, 项斌, 张伟. TGF- β 1和Smad2在胃癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1238-1241
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1238.asp>

0 引言

Smad蛋白家族是转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)超家族细胞内信号转导过程中极其重要的介导分子, 主要介导TGF- β 1的生物学信号通路. Smad蛋白家族分为3个不同的亚族: 受体调节型Smad蛋白(R-Smads, 包括Smad2和Smad3)、共调节型Smad蛋白(Co-Smads, 包括Smad4)和抑制性蛋白(I-Smads, 包括Smad6和Smad7). Smad2、3磷酸化与Smad4形成异聚复合体, 将信号从胞浆转移到细胞核中, 与其他转录协同因子和抑制因子共同调节下游靶基因的转录^[1]. TGF- β 1/Smad通路参与胚胎发育、间质纤维化、肿瘤发生发展和炎症修复反应等诸多生物学过程, 有研究表明, 该通路的异常激活与横纹肌肉瘤、结肠癌等发生有关, 但在胃癌中的表达情况尚未见相关报道^[2]. 因此, 探讨TGF- β 1和Smad2在胃癌组织中的表达, 有助于阐明其病理生理机制, 并为临床上寻找新的治疗靶标提供坚实的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 45例胃癌组织及相应的正常组织取自东南大学医学院附属江阴医院2011-01/06期间行手术切除的胃癌患者, 其中男31例, 女14例, 年龄32-77岁(平均62.5岁 \pm 10.3岁). 肿瘤组织取自肿块中心未发生坏死的组织, 正常组织取自距肿块5 cm以外区域, 病理检测未见癌细胞浸润, 所有患者术前均未行放、化疗, 所有癌组织标本术后均经病理学专家确诊为胃癌.

根据1997年国际抗癌联盟TNM分期标准将45例胃癌分为I/II期17例, III/IV期33例. 肿瘤浸润深度: T₁/T₂期22例, T₃/T₄期28例(T₁: 肿瘤浸润至黏膜或黏膜下层; T₂: 肿瘤浸润至肌层或浆膜层; T₃: 肿瘤已穿透浆膜层, 但未侵及邻近组织; T₄: 肿瘤侵及邻近组织或器官). 按术后病理分为高/中分化10例, 低分化35例. 34例患者手术病理证实存在淋巴结转移, 占60%, 9例有脉管侵犯.

1.2 方法

1.2.1 蛋白质印迹法检测TGF- β 1/Smad蛋白表达: 将组织匀浆后提取蛋白, BCA法测定总蛋白含量, 取各组总蛋白, 加入5 \times 上样缓冲液6 μ L/管. 加去离子水调整每组上样体积为30 μ L, 恒压80

V(浓缩胶)、120 V(分离胶). 8%分离胶行SDS-PAGE 80 min, 恒流200 mA, 冰上转膜3 h, 5%脱脂奶粉封闭1 h, 分别加入单抗(稀释度1:750)和 β -actin单抗(稀释度1:3 000), 室温混悬仪转动2-3 h, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜; TBST漂洗20 min \times 3次, 加入二抗(稀释度1:1 000), 室温混悬仪转动2 h, TBST漂洗20 min \times 3次. ECL显影, 暗室胶片曝光, 洗片. 凝胶定量软件Quantity One分析各条带灰度值, 以 β -actin为内参照计算各组蛋白相对表达量.

1.2.2 Real-time PCR检测TGF- β 1/Smad2基因表达: TRIzol法提取组织总RNA, 并逆转录为cDNA, 并配制反应体系, 将反应液加入384-Well Clear Optical Reaction Plate内, 每列16个孔均加入同一基因、不同样品的反应体系. 每个反应均设重复孔; 将加完样的384-Well Clear Optical Reaction Plate置入7900HT荧光定量PCR仪中, 按如下的反应条件进行PCR扩增和荧光定量(扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 1 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s, 40个循环; 60 $^{\circ}$ C 15 s, 最后95 $^{\circ}$ C 15 s). 荧光定量数据分析采用参照基因的 Δ Ct法计算每个样本目的基因的表达值, 其中 Δ Ct值表示基因反应产物的荧光值达到设定的域值时的反应循环数.

统计学处理 应用SPSS16.0进行统计分析, $P<0.05$ 具有统计学差异. 计量资料用mean \pm SD表示, 计数资料用整数表示.

2 结果

2.1 TGF- β 1/Smad2蛋白在胃癌组织、正常组织中的表达及比较 45例胃癌组织中检出TGF- β 1蛋白35例(阳性率77.8%), 正常组织中检出15例(阳性率33.3%); 检出Smad2蛋白33例(阳性率为73.3%), 正常组织中检出12例(阳性率为26.7%). 胃癌组织TGF- β 1、Smad2蛋白阳性率显著高于正常组织($P=0.000$), 且与正常组织相比, TGF- β 1、Smad2在胃癌组织样品中的表达强度分别提高3.9倍($P<0.01$)、3.3倍($P<0.01$, 图1, 2).

2.2 Real-time PCR测定TGF- β 1、Smad2、3基因在组织中的转录水平 TGF- β 1 mRNA在45例胃癌组织中测出40例(88.9%), 正常组织中测出16例(35.6%); 45例胃癌组织中Smad2 mRNA测出38例(84.4%), 正常组织中测出14例(31.1%). 与正常组织相比, 胃癌组织TGF- β 1、Smad2 mRNA阳性率显著高于正常组织($P=0.000$), TGF- β 1、Smad2、Smad3在胃癌组织样品中的表达强度分别提高3.5倍($P<0.01$)、2.6倍($P<0.05$).

■应用要点

TGF- β 1、Smad2与患者年龄、性别、肿瘤大小等临床病理特征之间有明显相关性. 通过对胃癌组织中TGF- β 1/Smad2的联合检测, 发现他们是浸润、转移情况的一项重要指标, 具有一定的临床应用前景.

■同行评价

通过检测TGF- β 1和Smad2信号在胃癌中的表达,探讨TGF- β 1和Smad2在胃癌的发生、发展中的作用,对胃癌发生机制的研究提供了一些线索,具有一定的研究意义。

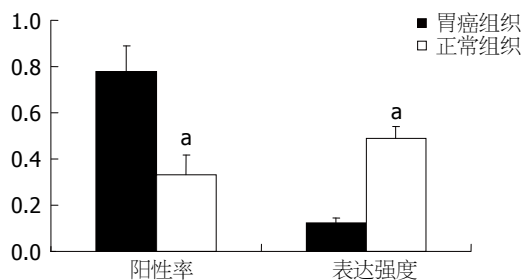


图1 TGF- β 1蛋白表达。^a $P < 0.05$ vs 正常组织。

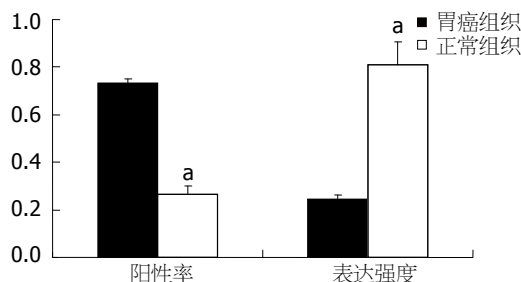


图2 Smad2蛋白表达。^a $P < 0.05$ vs 正常组织。

2.3 胃癌组织中TGF- β 1/Smad2蛋白的表达及与临床病理参数的关系 TGF- β 1、Smad2表达与肿瘤病理分级、淋巴结转移、浸润深度、脉管浸润有相关性,与其他临床病理特征性别、年龄、肿瘤大小无明显关系无明显统计学意义(表1, 2)。

3 讨论

TGF- β 超家族由一类结构、功能相关的多肽生长因子亚家族组成,其中包括TGF- β 1、生长分化因子(growth differentiation factor, GDF)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、活化素(activin)等。TGF- β 除了对细胞的增殖、分化产生影响,还在胚胎发育、胞外基质形成、骨的形成和重建等方面起着重要作用^[3,4]。TGF- β 1超家族成员通过与2种不同型(I型、II型)受体结合而发挥作用,其中I型为丝氨酸(Ser)激酶型受体,II型为苏氨酸(Thr)激酶型受体,而细胞内信号传导的特异性由I型受体决定。TGF- β 1参与多种细胞生长调控机制,在细胞的表型转化中起到极为重要的作用,并且与恶性肿瘤的生物学行为及预后密切相关。TGF- β 1在肿瘤发展过程中可以刺激血管生成、抑制免疫反应、促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)形成,为肿瘤细胞的快速生长、转移提供良好的局部环境,成为促进肿瘤发展的因子^[5-8]。

本组实验中,胃癌组织中TGF- β 1蛋白表达的阳性率为77.8%, mRNA表达的阳性率为88.9%,均明显高于正常对照组($P < 0.05$);正常组

表1 胃癌组织中TGF- β 1的蛋白表达($n = 45$)

临床特征	TGF- β 1蛋白表达		P 值
	($n = 35$) 阳性	($n = 10$) 阴性	
年龄			
<60	13	4	0.574 ¹
≥ 60	22	6	
性别			
男	25	6	0.176 ²
女	10	4	
肿瘤大小			
<4 cm	12	4	0.407 ¹
≥ 4 cm	23	6	
病理分级			
高/中分化	2	8	0.000 ²
低分化	33	2	
浸润深度			
T ₁ /T ₂	6	8	0.000 ¹
T ₃ /T ₄	29	2	
淋巴结转移			
(+)	31	2	0.043 ¹
(-)	4	8	
脉管浸润			
(+)	31	5	0.001 ¹
(-)	4	5	

¹ χ^2 检验; ²Fisher确切概率法。

织中即使有TGF- β 1蛋白表达,其表达强度亦显著低于癌组织,提示检测胃癌组织中TGF- β 1的表达对于预测肿瘤的恶性程度有一定价值,也进一步说明TGF- β 1可能在肿瘤的发生发展进程及细胞恶性表型转化过程中起重要作用。

Smad蛋白是由Smad基因编码的相对分子质量为42-60 kDa的蛋白质分子,是TGF- β 1受体复合物的下游信号调节蛋白,存在于胞质中,可将信号由胞膜传导至胞核调节转录^[9,10]。有研究表明,TGF- β 1/Smad2信号途径参与了横纹肌肉瘤、肝癌、结肠癌等的发生发展,但在胃癌中的表达情况尚未见报道。研究表明,Smad2与TGF- β 1早期诱导基因mRNA对辨别正常及肿瘤组织具有良好敏感性和特异性,说明Smad2在肿瘤增殖中起重要作用,且对鉴别正常及肿瘤组织有一定的价值^[11-13]。

本组研究结果表明,胃癌组织中Smad2蛋白阳性率为73.3%,显著高于正常组织($P < 0.05$)。Smad2 mRNA阳性表达水平为84.4%,正常组织为31.1%,正常组织中即使有Smad蛋白、mRNA表达,其表达强度亦显著低于胃癌组织。提示Smad基因表达的变化参与了胃细胞癌变,在胃

表 2 胃癌组织中Smad2的蛋白表达 ($n = 45$)

临床特征	Smad2蛋白表达		P值
	($n = 33$) 阳性	($n = 12$) 阴性	
年龄			
<60	12	3	0.698 ²
≥ 60	21	7	
性别			
男	23	8	0.439 ¹
女	10	4	
肿瘤大小			
<4 cm	11	5	0.224 ²
≥ 4 cm	22	7	
病理分级			
高/中分化	2	8	0.000 ²
低分化	31	4	
浸润深度			
T ₁ /T ₂	5	9	0.000 ²
T ₃ /T ₄	28	3	
淋巴结转移			
(+)	30	3	0.011 ²
(-)	3	9	
脉管浸润			
(+)	31	5	0.000 ²
(-)	2	7	

¹ χ^2 检验; ²Fisher确切概率法。

癌的发生、发展中起到了一定作用。

另外, 本研究还发现, 癌旁组织TGF- β 1/Smad2蛋白、mRNA均存在差异表达, 即mRNA的表达明显高于蛋白表达, 这种差异表达的真实生物学意义尚不清楚, 或许提示在胃癌形成过程中Smad2基因密码突变而不表达蛋白, 也可能存在某种物质调节或抑制了TGF- β 1及Smad2蛋白的翻译, 这些变化直接或间接地参与了胃癌形成过程。

同时我们也研究了TGF- β 1、Smad2与胃癌临床病理特征之间的关系, 发现二者的表达均与肿瘤病理分级、淋巴结转移、浸润深度、脉管浸润有相关性, 已发生淋巴结转移或浸润已达到浆膜层的组织、有脉浸润的组织TGF- β 1、Smad2表达高($P < 0.05$), 表明其表达可能与胃癌的浸润、转移有一定相关性。本研究未发现TGF- β 1、Smad2与患者年龄、性别、肿瘤大小等临床病理特征之间有明显相关性。我们通过对胃癌组织中TGF- β 1/Smad2的联合检测, 发现他们是浸润、转移情况的一项重要指标, 具有一定的临床应用前景。但目前对TGF- β 1/Smad2

信号通路作用于肿瘤的确切机制尚不完全清楚, 需要进一步深入研究^[14,15]。

4 参考文献

- 1 Todorović-Raković N, Milovanović J, Nikolić-Vukosavljević D. TGF- β and its coreceptors in cancerogenesis: an overview. *Biomark Med* 2011; 5: 855-863
- 2 Brase JC, Johannes M, Mannsperger H, Fälth M, Metzger J, Kacprzyk LA, Andrasiuk T, Gade S, Meister M, Sirma H, Sauter G, Simon R, Schlomm T, Beissbarth T, Korf U, Kuner R, Sültmann H. TMPRSS2-ERG -specific transcriptional modulation is associated with prostate cancer biomarkers and TGF- β signaling. *BMC Cancer* 2011; 11: 507
- 3 Gulubova M, Manolova I, Ananiev J, Julianov A, Yovchev Y, Peeva K. Role of TGF-beta1, its receptor TGFbetaRII, and Smad proteins in the progression of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 591-599
- 4 李晓茹, 李玉红, 许倩, 赵连志, 赵胜军, 赵丽. 转化生长因子- β 1对绒癌JEG-3细胞MMP-9 mRNA及TIMP-1 mRNA表达的影响. *山东医药* 2009; 49: 18-22
- 5 Hsu YC, Chen MJ, Yu YM, Ko SY, Chang CC. Suppression of TGF- β 1/SMAD pathway and extracellular matrix production in primary keloid fibroblasts by curcuminoids: its potential therapeutic use in the chemoprevention of keloid. *Arch Dermatol Res* 2010; 302: 717-724
- 6 黄忠诚, 杨竹林, 李永国, 钟德珩, 王群伟, 黄生福. 胰腺癌组织smad4 mRNA, TGF- β 1和TGF- β RI的表达及意义. *中国普通外科杂志* 2002; 11: 609-611
- 7 Ijichi H, Ikenoue T, Kato N, Mitsuno Y, Togo G, Kato J, Kanai F, Shiratori Y, Omata M. Systematic analysis of the TGF-beta-Smad signaling pathway in gastrointestinal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 350-357
- 8 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
- 9 陈伟, 付小兵, 盛志勇. Smads蛋白结构与功能的研究进展. *中华医学杂志(英文版)* 2002; 115: 446-450
- 10 王勇, 许建明. 转化生长因子 β -Smad信号通路与结肠癌研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 1036-1039
- 11 Yu C, Liu Y, Huang D, Dai Y, Cai G, Sun J, Xu T, Tian Y, Zhang X. TGF- β 1 mediates epithelial to mesenchymal transition via the TGF- β /Smad pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncol Rep* 2011; 25: 1581-1587
- 12 李毅, 程勇. TGF- β -Smad信号转导通路与大肠癌发生发展相关性研究的现状. *中华肿瘤防治杂志* 2008; 15: 1181-1184
- 13 Halder SK, Cho YJ, Datta A, Anumanthan G, Ham AJ, Carbone DP, Datta PK. Elucidating the mechanism of regulation of transforming growth factor β Type II receptor expression in human lung cancer cell lines. *Neoplasia* 2011; 13: 912-922
- 14 Reinholz MM, An MW, Johnsen SA, Subramaniam M, Suman VJ, Ingle JN, Roche PC, Spelsberg TC. Differential gene expression of TGF beta inducible early gene (TIEG), Smad7, Smad2 and Bard1 in normal and malignant breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 86: 75-88
- 15 Banz-Jansen C, Münchow B, Diedrich K, Finas D. Bridge-1 is expressed in human breast carcinomas: silencing of Bridge-1 decreases Smad2, Smad3 and Smad4 expression in MCF-7 cells, a human breast cancer cell line. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284: 1543-1549

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

PGC在不同胃疾病黏膜中的表达及与血清学水平的关系

王恬, 冯义朝, 王浩

■背景资料

胃癌属于上皮源性恶性肿瘤, 检测各种上皮组织特异性标志物的表达, 是诊断早期胃癌的重要手段之一。目前, 人们对肿瘤标志物胃蛋白酶原(PG)研究颇多, 认为其对胃癌的诊断价值较高。

王恬, 延安市人民医院消化内科 陕西省延安市 716000
冯义朝, 延安大学附属医院消化内科 陕西省延安市 716000
王浩, 延安市人民医院医务科 陕西省延安市 716000
王恬, 硕士, 主要从事胃癌早期诊断与治疗研究。
作者贡献分布: 研究设计、资料收集、数据计算由王恬完成; 研究设计由冯义朝完成; 王浩进行资料收集。
通讯作者: 冯义朝, 主任医师, 716000, 陕西省延安市, 延安大学附属医院消化内科, fyc.2881001@163.com
电话: 0911-2881186
收稿日期: 2012-01-11 修回日期: 2012-03-15
接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Comparison of gastric expression and serum levels of PGC in patients with various gastric diseases

Tian Wang, Yi-Chao Feng, Hao Wang

Tian Wang, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Yan'an, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China
Yi-Chao Feng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China
Hao Wang, Medical Section, People's Hospital of Yan'an, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China
Correspondence to: Yi-Chao Feng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi Province, China. fyc.2881001@163.com
Received: 2012-01-11 Revised: 2012-03-15
Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To detect the gastric expression levels of pepsinogen C (PGC) and serum levels of sPGA and sPGC in patients with various gastric diseases and to analyze their correlation.

METHODS: Gastric PGC were measured by immunohistochemistry, and serum levels of sPGA, sPGC were measured by ELISA in patients with various gastric diseases, respectively. The data were analyzed for significance using the SPSS16.0 software.

RESULTS: There were significant differences in gastric PGC expression among patients with different gastric diseases ($P = 0.000$). The positive rate of PGC expression was highest in patients with superficial gastritis (SG), followed by those

with atrophic gastritis (AG), intestinal metaplasia (IM), dysplasia (DYS) and gastric carcinoma (Ca). The positive rate of PGC was significantly higher in SG than in other lesions ($P = 0.035, 0.000, 0.000, 0.000$), in AG than in IM, DYS and Ca ($P = 0.000, 0.000, 0.031$). There were also significant differences in serum levels of sPGA and sPGC among different patient groups (both $P = 0.000$). Similar to PGC expression, serum levels of sPGA also decreased in an order of SG-AG-IM-DYS-Ca. In contrast, serum levels of sPGC in Ca were significantly higher than those in other lesions ($P = 0.000, 0.000, 0.003, 0.001$). The positive rate of PGC expression had a positive correlation with serum levels of sPGA and a negative correlation with serum levels of sPGC ($r = 0.956, P = 0.011$ vs sPGA; $r = -0.968, P = 0.007$ vs sPGC).

CONCLUSION: Tissue expression of PGC is negatively associated with the malignant degree of gastric mucosa cells and positively with the development of gastric mucosal diseases. Combined detection of sPG and PGC expression can help screen and diagnose gastric mucosal diseases.

Key Words: Gastric carcinoma; Pepsinogen C; Pepsinogen A

Wang T, Feng YC, Wang H. Comparison of gastric expression and serum levels of PGC in patients with various gastric diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1242-1245

摘要

目的: 检测不同胃疾病黏膜中胃蛋白酶原(pepsinogen C, PGC)的表达及血清sPGC、sPGA浓度, 分析二者的相关性, 给临床工作提供更有信息。

方法: 免疫组织化学染色法检测不同胃疾病黏膜组织中PGC的表达, 并结合ELISA法检测血清中sPGC、sPGA的含量。之后用SPSS16.0分析软件进行统计学处理, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

结果: PGC在不同胃疾病黏膜中的表达有差异 ($P = 0.000$)。浅表-萎缩-伴肠化-伴异型增生-

■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

腺癌, PGC阳性率呈现递减. sPGC、sPGA浓度在各组间比较差异有统计学意义($P = 0.000$, $P = 0.000$). sPGA呈现递减, 浅表组与其余各组相比差异有统计学意义($P = 0.035$, 0.000 , 0.000 , 0.000); 萎缩组与其余各组相比差异有统计学意义($P = 0.000$, 0.000 , 0.031); 肠化组/异型增生组与胃癌组比较差异有统计学意义($P = 0.047$, 0.034); sPGC表现为逐渐上升趋势, 胃癌组与其他各组相比差异显著($P = 0.000$, 0.000 , 0.003 , 0.001). 浅表-萎缩-肠化-异型增生-胃癌, PGC表达与sPGA呈负相关, 与sPGC呈正相关($r = 0.956$, $P = 0.011$ vs sPGA; $r = -0.968$, $P = 0.007$ vs sPGC).

结论: PGC的动态表达与胃疾病的发生发展有良好的相关性; 血清sPGA明显降低提示可能与胃癌的发生发展有关; 若同时进行血清PG值及组织PGC抗原表达率检测, 二者具有良好的相关性, 可作为临床筛查胃癌及癌前疾病的指标.

关键词: 胃癌; 胃蛋白酶原C; 胃蛋白酶原A

王恬, 冯义朝, 王浩. PGC在不同胃疾病黏膜中的表达及与血清学水平的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1242-1245
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1242.asp>

0 引言

胃癌是当今最常见的5种恶性肿瘤(其余4种为肺癌、肠癌、乳腺癌、肝癌)之一. 在我国, 每年新确诊胃癌患者有30万人, 死于胃癌者达16万人, 占全部恶性肿瘤死亡人数的23%, 在消化系统肿瘤死亡人数中占50%. 胃蛋白酶原(pepsinogen C, PGC)最初出现在胚胎后期, 他标志着胃黏膜细胞的分化成熟和消化功能的逐渐完善, PGC的变化可以反映胃的分泌功能及分化程度^[1]. 本研究采用免疫组织化学技术和酶联免疫吸附(ELISA)技术, 通过分析延安地区204例不同胃疾病黏膜组织中PGC表达和血清中PGC含量及2者相关性, 进一步诠释PGC作为胃癌标志物在胃癌诊治中的应用意义.

1 材料和方法

1.1 材料 利用延安大学附属医院病理科2008-2009年胃镜及手术活检标本204例, 由病理科医师对其进行组织学诊断, 包括49例浅表性胃炎、35例萎缩性胃炎、40例伴肠化、39例伴异型增生、41例腺癌. 其中男性146例, 女性58例, 男:女 = 2.52 : 1; 最小5岁, 最大84岁, 平均年龄51.27岁; 各组在性别及年龄构成上差异无统计学意

义($P > 0.05$). 浓缩型兔抗人胃蛋白酶原C多克隆抗体、(PGC)酶联免疫分析试剂盒、(PGA)酶联免疫分析试剂盒(上海活乐生物科技有限公司); 免疫组织化学SABC试剂盒(SA1020)、DAB染色剂试剂盒(武汉博士德生物科技有限公司). Walac 1470 WIZARD伽马计数器(芬兰), BioRad550酶标仪(德国).

1.2 方法

1.2.1 胃蛋白酶原C的免疫组织化学染色(SABC法): (1)切片常规脱蜡水化; (2)消除内源性过氧化物酶; (3)抗原修复; (4)滴加5%BSA封闭液; (5)滴加一抗; (6)滴加二抗; (7)滴加SABC液; (8)滴加新鲜配制DAB试剂; (9)自来水冲洗, 苏木素复染、酒精水化, 脱水干燥; (10)中性树胶固定、封片, 光镜观察. 结果判定参照文献[2]采用综合评分法.

1.2.2 PGA、PGC血清ELISA检测: (1)平衡至室温; (2)标准品的稀释与加样; (3)加样; (4)温育; (5)配液; (6)洗涤; (7)加酶; (8)温育; (9)洗涤; (10)显色; (11)终止; (12)用酶标仪测定各孔吸光度(A)值.

统计学处理 利用SPSS统计软件包进行统计学处理, 独立样本K-S检验判断变量是否服从正态分布; 计数资料采用 χ^2 检验、Fisher确切概率检验进行分析; 计量资料采用方差分析、 t 检验; $P < 0.05$ 有统计学意义; 组织表达与血清含量相关性采用Pearson相关性分析.

2 结果

2.1 PGC在不同胃疾病黏膜组织中的表达 对204例组织均进行PGC染色, 发现各组PGC阳性率总体上有差异($P = 0.000$). 从单纯浅表-单纯萎缩-伴肠化/异性增生-胃癌, PGC阳性表达率逐渐下降(95.9%-77.1%-55.0%-51.3%-7.3%). 通过两两比较发现, 即从良性疾病到胃癌前疾病, PGC表达率显著下降($P < 0.05$), 从胃癌前疾病到胃癌, PGC阳性表达率显著下降($P < 0.05$, 图1, 表1).

2.2 sPGC、sPGA在不同胃疾病患者血清中的检测 首先进行单因素方差分析, 结果显示不同胃疾病组血清PG浓度差异明显(sPGA $F = 5.555$, $P = 0.000$; sPGC $F = 6.837$, $P = 0.000$): 在单纯浅表组, 均数浓度最高为86.72 $\mu\text{g/L}$, 其次为单纯萎缩组(70.76 $\mu\text{g/L}$), 在癌前病变组(伴肠化/异性增生)则为59.87 $\mu\text{g/L}$ 、54.09 $\mu\text{g/L}$, 胃癌组浓度最低为43.79 $\mu\text{g/L}$, 总体上各组间sPGA浓度差异有统计学意义. 随着胃黏膜疾病的加重, 从单纯浅表-单纯萎缩-伴肠化/异性增生-胃癌, sPGC浓度也表现为逐渐上升趋势(依次均数浓度为7.77 $\mu\text{g/L}$ 、7.88 $\mu\text{g/L}$ 、

■研发前沿

目前国内外有学者进行了免疫组织化学染色检测, 也有学者进行血清学水平研究, 并通过基因多态性研究PG与胃癌的相关研究.

■相关报道

有研究表明PGC等位基因I型纯合型可能因为插入片段的缺失, 影响PGC的分泌或稳定性, 进而影响胃黏膜损伤的修复, 导致胃黏膜萎缩性病变的发病风险增加, 从而改变机体对胃癌的易感性.

■创新盘点

本实验通过免疫组织化学与血清ELISA相结合方法对PGC进行研究,目前此类报道不多。

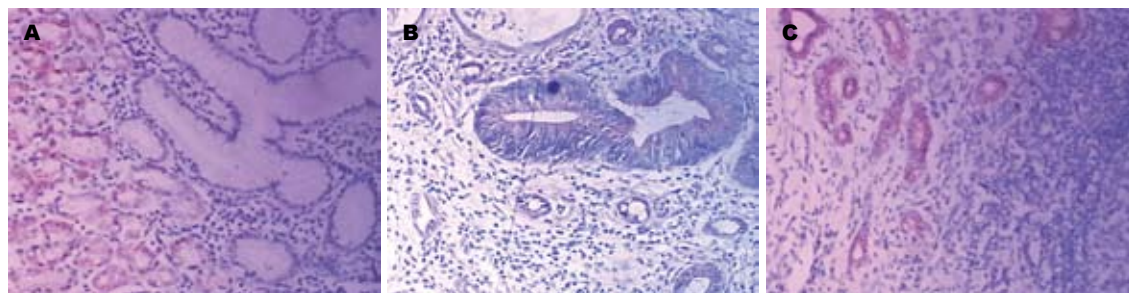


图1 PGC在不同胃疾病黏膜中的阳性表达. A: PGC在慢性萎缩性胃炎中的阳性表达(左)和伴肠化中的阴性表达(右); B: PGC在异型增生中表达减少; C: PGC在癌周正常组织中的阳性表达(左上)和在低分化腺癌中的阴性表达(右下).

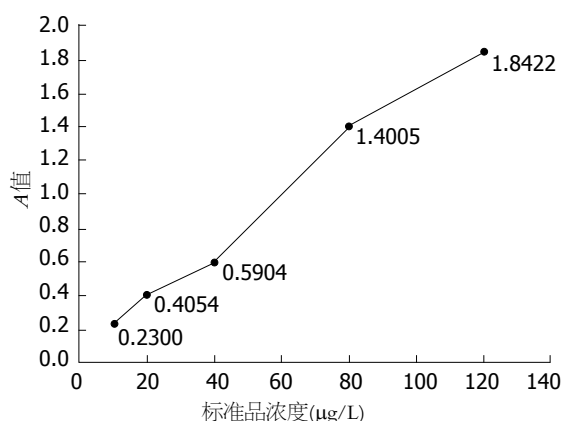


图2 sPGA ELISA标准曲线.

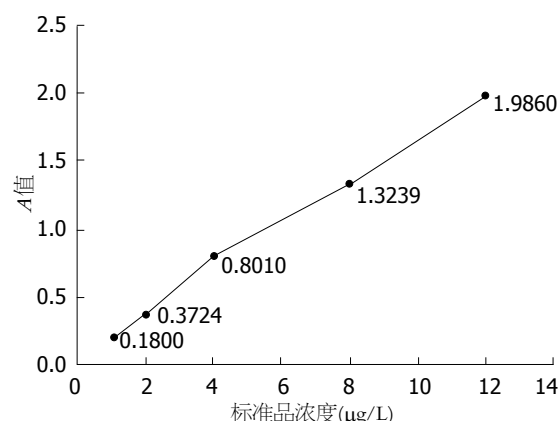


图3 sPGC ELISA标准曲线.

表1 不同胃疾病黏膜组织中的PGC表达

分组	PGC表达				n
	阳性(n)	%	阴性(n)	%	
CSG ¹	47	95.9	2	4.1	49
CAG ²	27	77.1	8	22.9	35
IM ³	22	55.0	18	45.0	40
DYS ⁴	20	51.3	19	48.7	39
GC	3	7.3	38	92.7	41

¹P = 0.009, 0.000, 0.000, 0.000 vs 单纯浅表组; ²P = 0.044, 0.021, 0.000 vs 萎缩组; ³P = 0.741, 0.000 vs 伴肠化组; ⁴P = 0.000 vs 伴异性增生组. CSG: 单纯浅表组; CAG: 单纯萎缩组; IM: 伴肠化组; DYS: 伴异性增生组; GC: 胃癌组.

8.86 μg/L、8.69 μg/L、11.02 μg/L), 总体上各组间sPGC浓度差异有统计学差异($P < 0.05$), 胃癌组与其他各组相比差异显著(均 $P < 0.05$), 但其余组间相互比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$, 图2, 3, 表2).

2.3 组织PGC的表达与其血清PG浓度的比较 Pearson等级相关分析结果发现, 从单纯浅表-单纯萎缩-伴肠化/异性增生-胃癌, 随着病变的发展, PGC表达阳性率逐渐下降, sPGA浓度呈下降趋势, sPGC呈上升趋势, 其间具有良好的相关性($r = 0.956$, $P = 0.011$ vs sPGA; $r = -0.968$, $P =$

0.007 vs sPGC).

3 讨论

PG是一种具有消化功能的内切酶, 属于天冬氨酸蛋白水解酶, 是胃蛋白酶的前体. PGC也称前胃泌素, 广泛分布于胃及近端十二指肠, 是胃黏膜细胞分化的终末产物, 可作为消化功能逐渐成熟的一种标志^[3]. 由于考虑到PGA表达部位局限, 其临床意义不如PGC, 本组实验只测定了胃黏膜组织中PGC的表达水平.

近年来, 在胃黏膜中PGC表达情况报道较少, 且目前尚无明确实验证实癌组织PGC表达与临床特征有相关性. 我们通过对延安地区204例石蜡包埋的不同胃疾病黏膜组织进行PGC免疫组织化学染色, 结果表明PGC在胃癌及癌前病变中的阳性率依次下降($P < 0.05$): 单纯浅表(95.9%)、单纯萎缩组(77.1%)、伴肠化(55.0%)和伴异性增生(51.3%), 都低于单纯浅表组和单纯萎缩组, 而在胃癌组中表达率为7.3%, 仅有3例胃癌组织中发现阳性表达. PGC表达率在胃癌组与其余各组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 这与国内学者研究结果类似^[4]. PGC作为胃分化成熟的一种功能蛋白酶, 在伴肠化和伴异型增

■应用要点

同时进行血清PG值及PGC组织表达率检测, 二者有良好的相关性, 可作为临床筛查胃癌及癌前疾病的指标.

表 2 血清PG在不同胃疾病黏膜中的浓度检测 ($\mu\text{g/L}$)

分组	<i>n</i>	sPGC ¹	sPGA ²	sPGA <i>F</i> 值	sPGC <i>F</i> 值
CSG	49	7.77 ± 2.41	86.72 ± 36.07	16.939	6.837
CAG	35	7.88 ± 2.78	70.76 ± 22.09		
IM	40	8.86 ± 3.46	59.87 ± 15.82		
DYS	39	8.69 ± 4.19	54.09 ± 13.72		
GC	41	11.02 ± 3.15	43.79 ± 14.74		

¹*P* = 0.878, 0.113, 0.183, 0.000 vs 浅表组; *P* = 0.189, 0.279, 0.000 vs 萎缩组; *P* = 0.815, 0.003 vs 伴肠化组; *P* = 0.001 vs 异型增生组; ²*P* = 0.035, 0.000, 0.000, 0.000 vs 浅表组; *P* = 0.000, 0.000, 0.031 vs 萎缩组; *P* = 0.883, 0.047 vs 伴肠化组; *P* = 0.034 vs 异型增生组。CSG: 单纯浅表组; CAG: 单纯萎缩组; IM: 伴肠化组; DYS: 伴异性增生组; GC: 胃癌组。

生组中表达显著下降($P < 0.05$), 但二者间差异无统计学意义($P > 0.05$), 说明这两类胃疾病与胃良性疾病相比, 细胞分化障碍明显, 成熟程度低, 生物学特性更接近胃癌。对于在胃癌中出现的阳性灶状, 我们复查了同一病例的HE染色发现, 皆为高分化癌(包括1例黏膜内癌), 由于PGC主要由成熟的腺细胞产生, 某些癌细胞表达PGC, 表明其个别细胞尚存在分泌正常蛋白产物的功能^[5,6]。从单纯浅表-单纯萎缩-伴肠化/异性增生-胃癌, PGC表达率显著下降($P < 0.05$), 而且在高分化胃癌中的表达率显著低于低分化胃癌, 亦表明PGC的表达具有组织学倾向性, PGC具有良好的鉴别胃良恶性疾病能力, 对于判定胃癌或胃疾病的发生发展有潜在的应用价值。

陕北地区是胃癌高发区, 高发人群又集中于延安地区。我们对延安地区不同胃疾病患者进行血清学水平研究, 结果显示: sPGA水平在单纯萎缩组、伴肠化组、伴异性增生组和胃癌组明显低于单纯浅表组(均 $P < 0.05$), 伴肠化组和伴异性增生组间无显著性差异($P > 0.05$); sPGC水平在单纯浅表组、单纯萎缩组、伴肠化组、伴异性增生组明显低于胃癌组($P < 0.05$)。上述结果提示延安地区胃病患者血清PG水平与胃黏膜病变的程度密切相关, 随着胃黏膜病变的逐级加重, 血清sPGA水平降低, 本文结果与国内学者报道类似^[7]。主细胞大量破坏, 黏膜分泌功能受损, sPGA浓度下降; 另外可能由于致癌因子使胚细胞中PGC基因受损突变, 从而失去了分泌PGA的能力或者基因突变胚细胞又更新黏膜细胞, 使PGA分泌持续降低。而分泌PGC的细胞分布较广, 且主要在成熟的腺细胞产生, 与癌细胞的分化关系不大, 故sPGC变化不明显, 各组间sPGC变化无统计学意义。另外我们发现, 胃癌组在sPGA $\geq 140 \mu\text{g/L}$ 范围内也有较高的异常检出率, 可能是由于胃癌时伴有胃黏膜破损, 刺激主

细胞分泌PG, 并使胃酸和胃泌素增加, 这2者又均可刺激PG的分泌, 而胃黏膜破损通透性增加又是可导致大量PG流入血液中的原因。

我们通过对不同胃黏膜PGC表达程度及血清PG水平变化的比较发现, 随着胃黏膜疾病组织学恶性程度的增加, 组织PGC表达率下降, 血清sPGA水平也有降低现象。当细胞损伤时血清sPGC水平变化不明显, 表明单独应用血清sPGC诊断胃癌无显著意义, 这一点验证了PGC作为胃疾病发生发展判定指标在组织学上的意义更大; 而作为血清学的检查方法作用有限, 但如与血清sPGA值结合先进行大范围人群筛选, 然后再经胃镜确诊, 即可显著提高胃癌的检出率。

4 参考文献

- Kageyama T, Ichinose M, Tsukada-Kato S, Omata M, Narita Y, Moriyama A, Yonezawa S. Molecular cloning of neonate/infant-specific pepsinogens from rat stomach mucosa and their expressional change during development. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 267: 806-812
- 樊代明, 张学庸, 陈希陶, 牟震先, 胡家露, 乔太东, 陈宝军, 王俊义, 张贞乾, 高志清. 抗低分化胃癌细胞系MKN-46-9单克隆抗体的制备及免疫组化鉴定. *解放军医学杂志* 1988; 13: 12-15
- Korstanje A, den Hartog G, Biemond I, Lamers CB. The serological gastric biopsy: a non-endoscopic diagnostic approach in management of the dyspeptic patient: significance for primary care based on a survey of the literature. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2002; 22-26
- 李红梅, 宁佩芳, 袁媛. 不同胃黏膜疾病胃蛋白酶原C组织原位表达与胃蛋白酶原血清学检测水平的比较. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2473-2476
- Fiocca R, Cornaggia M, Villani L, Capella C, Solcia E, Samloff IM. Expression of pepsinogen II in gastric cancer. Its relationship to local invasion and lymph node metastases. *Cancer* 1988; 61: 956-962
- Fernández R, Vizoso F, Rodríguez JC, Merino AM, González LO, Quintela I, Andicochea A, Truan N, Díez MC. Expression and prognostic significance of pepsinogen C in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 508-514
- 古敬丽. 血清胃蛋白酶原、幽门螺旋杆菌与萎缩性胃炎相关性探讨. *河南科技大学学报(医学版)* 2007; 25: 260-261

■同行评价

本文章有一定的创新性, 课题设计合理, 研究方法恰当, 有一定的科学意义。

预防性使用抗生素对急性坏死性胰腺炎治疗作用的Meta分析

饶春燕, 胡昌伦, 赵晓晏

■背景资料

目前认为, 急性坏死性胰腺炎(ANP)的死亡率主要与全身感染及由此导致的多器官功能衰竭有关, 因此, 临床上开始预防性使用抗生素以降低感染的发生率, 从而减少死亡及并发症。但是通过大量临床随机对照研究及Meta分析, 预防性使用抗生素的作用不尽一致, 其在临床应用的意义仍有较大的争议。

饶春燕, 赵晓晏, 中国人民解放军第三军医大学新桥医院消化内科 重庆市 400037

胡昌伦, 中国人民解放军武警重庆总队医院内分泌科 重庆市 400061

作者贡献分布: 赵晓晏指导本文选题、写作, 并进行数据审核、终稿修改; 饶春燕与胡昌伦独立检索文献, 阅读并评价文献, 统计数据; 具体软件使用及写作部分由饶春燕负责。

通讯作者: 赵晓晏, 教授, 400037, 重庆市沙坪坝区新桥正街, 中国人民解放军第三军医大学新桥医院消化内科。

zhaoxx@medmail.com.cn

电话: 023-68755604 传真: 023-68755604

收稿日期: 2011-11-14 修回日期: 2012-02-21

接受日期: 2012-03-06 在线出版日期: 2012-05-18

Role of prophylactic antibiotics in the management of acute necrotizing pancreatitis: A meta-analysis

Chun-Yan Rao, Chang-Lun Hu, Xiao-Yan Zhao

Chun-Yan Rao, Xiao-Yan Zhao, Department of Gastroenterology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University of Chinese PLA, Chongqing 400037, China

Chang-Lun Hu, Department of Endocrinology, Chongqing Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Chongqing 40061, China

Correspondence to: Xiao-Yan Zhao, Professor, Department of Gastroenterology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University of Chinese PLA, Chongqing 400037, China. zhaoxx@medmail.com.cn

Received: 2011-11-14 Revised: 2012-02-21

Accepted: 2012-03-06 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the role of prophylactic antibiotics in the management of acute necrotizing pancreatitis.

METHODS: A computerized literature search of Medline, PubMed, Spring, Ovid, Elsevier, Embase, CNKI, and VIP databases was conducted to identify relevant articles published from January 1994 to October 2011. According to the inclusion criteria, 5 studies were selected. The data were analyzed using RevMan 5.1 software.

RESULTS: Our meta-analysis suggests that prophylactic antibiotic treatment did not significantly reduce morbidity (RR = 0.75, 95%CI

0.43-1.28, $P = 0.29$) or the incidence of infected pancreatic necrosis (RR = 0.81, 95%CI 0.55-1.19, $P = 0.29$), nonpancreatic infection (RR = 0.79, 95%CI 0.59-1.06, $P = 0.12$), or surgical intervention (RR = 0.78, 95%CI 0.45-1.36, $P = 0.37$).

CONCLUSION: Prophylactic antibiotic treatment does not reduce the occurrence of infected pancreatic necrosis, nonpancreatic infection, surgical intervention or morbidity in patients with acute necrotizing pancreatitis.

Key Words: Prophylactic antibiotics; Randomized controlled trials; Acute necrotizing pancreatitis

Rao CY, Hu CL, Zhao XY. Role of prophylactic antibiotics in the management of acute necrotizing pancreatitis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1246-1251

摘要

目的: 评价预防性使用抗生素对治疗急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)的作用。

方法: 在Medline、PubMed、Springer、Ovid、Elsevier、Embase、CNKI、维普数据库中, 检索1994-01/2011-10发表的文献。按入选标准, 最终纳入5篇文献, 使用RevMan5.1进行统计分析。

结果: 预防性使用抗生素治疗急性坏死性胰腺炎与对照组相比, 并不能显著改善生存率(RR 0.75, 95%CI 0.43-1.28, $P = 0.29$), 也不能降低胰腺感染(RR 0.81, 95%CI 0.55-1.19, $P = 0.29$)、胰外感染(RR 0.79, 95%CI 0.59-1.06, $P = 0.12$)及手术干预(RR 0.78, 95%CI 0.45-1.36, $P = 0.37$)等并发症的发生几率。

结论: 对于预防性使用抗生素治疗急性坏死性胰腺炎, 根据现有的随机对照治疗尚不能说明其可以显著降低病死率和减少并发症的发生。

关键词: 预防性抗生素; 随机对照; 急性坏死性胰腺炎

■同行评议者

宋振顺, 教授, 西京医院肝胆外科; 谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

饶春燕, 胡昌伦, 赵晓曼. 预防性使用抗生素对急性坏死性胰腺炎治疗作用的Meta分析. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1246-1251
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1246.asp>

0 引言

急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)是临床较常见的危重急腹症之一, 死亡率高达10%-30%^[1,2]. 由于重症监护室的成立和发展, ANP前2 wk的死亡率已明显下降, 但是发病后的第3-5周死亡率却占总体死亡率的80%以上, 目前认为, 这与二次打击有关. 虽然二次打击的机制尚不十分明确, 但多数学者认为这与肠道菌群易位引起的胰腺及全身性感染有关. 虽然最早已有临床研究显示预防性使用抗生素不能有效降低ANP的死亡率, 但是由于研究者使用的是不能有效渗透进入胰腺组织的氨苄青霉素、喹诺酮类及头孢菌素类^[3-5], 其效果有待确证. 在过去的几十年, 不少学者通过临床研究或Meta分析探讨预防性使用抗生素对ANP的作用, 但结果不尽一致. 因此, 我们对现有的结果进行Meta分析, 以评价预防性抗生素治疗ANP的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 检索Medline、PubMed、Springer、Ovid、Elsevier、Embase数据库1994-01/2011-10公开发表的文献, 关键词为“acute pancreatitis”、“antibiotic”、“clinical trial”和“randomized”. 检索CNKI、维普数据库1994-01/2011-10公开发表的文献, 关键词为“急性胰腺炎”、“抗生素”和“随机对照”. 同时查阅其他回顾性文献引用的文献, 手工检索外文杂志的有关文献或摘要.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: 关于预防性使用抗生素与ANP的随机对照研究; 各文献研究假设及研究方法相似, 随访时间>6 wk; ANP患者均由CT证实存在胰腺坏死; 随机对照分组, 治疗组在入院后72 h内即开始预防性给予 β -内酰胺类、喹诺酮类或头孢菌素类抗生素, 对照组使用安慰剂或未治疗; 各文献中报道数据完整, 描述了感染性胰腺坏死(infected pancreatic necrosis, IPN)、胰外感染(nonpancreatic infection, NPN)或菌血症(sepsis)并发症及手术干预、病死率; 各文献需有综合的统计指标, 原始数据统计结果中, 直

接提供了相对危险度(relative risk, RR)及95%CI或可以转化, 使文献汇总的结果可以用相应的统计指标表达.

1.2.2 文献排除标准: 未进行随机或对照分组; 未详细描述预防性使用抗生素治疗ANP的并发症或死亡率的情况, 资料有残缺; 口服抗生素; 未提供充足原始数据的文献.

1.2.3 文献质量评价: 由2名评价员独立提取资料, 逐一阅读文献并评价, 意见不一致时讨论解决. 文献质量评价参照Cochrane系统评价手册关于RCT的质量评价标准进行, 同时参考Jadad评分: (1)随机方法是否正确; (2)是否采用盲法; (3)是否做到分配隐藏; (4)同时考虑文献的基线相似性和依从性; (5)是否对退出或失访进行描述. <3分为低质量研究, 3-5分为高质量研究.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的软件RevMan5.1进行分析. 采用RR值作为效应量表示结果. 各文献提取的数据间无异质性($P>0.05$, $I^2 = 0\%$)时, 将采用固定模型(Fixed effect model)进行统计量的合并; 存在异质性($P<0.05$, $I^2>50\%$)时, 则使用随机效应模型(random effect model)进行统计量的合并; I^2 越大, 异质性越大. 各研究结果均采用95%CI表示. $RR = 1$ 时实验效应无效, 此时95%CI若包含了1, 等价于 $P>0.05$, 即无统计学意义; 若95%CI上下限不包含1(均>1或均<1), 等价于 $P<0.05$, 即有统计意义. 敏感性分析包括选用不同模型、剔除质量差的文献、对纳入文献作分层Meta分析、改变纳入和剔除标准等, 异质性及可信区间是否发生变化.

2 结果

2.1 纳入文献的基本情况 检索到符合标准的文献32篇, 按排除标准进行排除和筛选, 最后纳入文献5篇^[6-10]. 纳入本研究的病例共计315例, 其中预防性使用抗生素156例, 对照组159例. 文献质量评价结果显示5篇文献中3篇为3分, 2篇为5分(表1).

2.2 胰腺感染 本研究中156例患者接受抗生素治疗, 其中35例患者出现胰腺感染; 159例患者使用安慰剂或未治疗, 其中42例患者出现胰腺感染. 预防性使用抗生素治疗的患者其感染发生的危险度与对照组患者的差异无显著性意义($RR 0.81$, 95%CI 0.55-1.19, $P = 0.29$), 异质性检查无显著差异($P = 0.52$, $I^2 = 0\%$, 图1).

2.3 胰外感染 胰外感染包括全身性感染或单独

■研究前沿

ANP病情凶险, 死亡率高, 但是由于重症监护的发展及治疗措施的进步, 早期死亡率已明显降低, 但是ANP中晚期由于并发感染导致的死亡居高不下.

■相关报道

有Meta分析认为预防性使用抗生素对控制胰腺感染有效,却不能降低胰外感染、手术干预及死亡率的发生概率,但是亚组分析却认为在单盲随机对照临床试验中预防性使用抗生素可能对降低胰腺感染及死亡率均有效。

表 1 纳入Meta分析的文献特征

纳入研究	年份	背景	盲法	抗生素	病例总数(<i>n</i>)	Jadad评分
Dellinger等 ^[6]	2007	多中心	双盲	美罗培南1 g, iv. qid	100	5
Xue等 ^[7]	2009	单中心	未知	亚胺培南西司他丁钠1.5 g, iv. 持续72 h	56	3
García-Barrasa等 ^[8]	2009	单中心	双盲	环丙沙星0.3 g, iv. bid	41	5
Nordback等 ^[9]	2001	单中心	单盲	亚胺培南西司他丁钠1 g, iv. tid	39	3
Sainio等 ^[10]	1995	单中心	单盲	头孢呋辛1.5 g, iv. qd	60	3

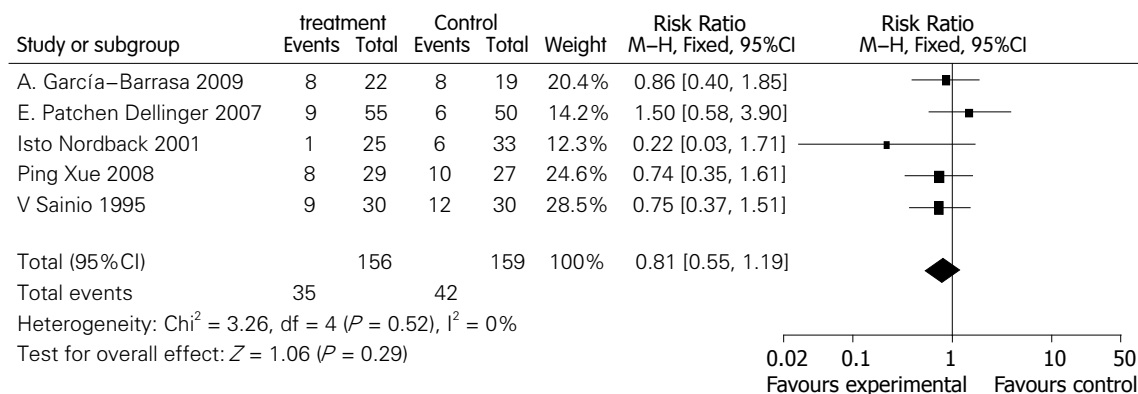


图 1 预防性使用抗生素对胰腺感染的作用的Meta分析。

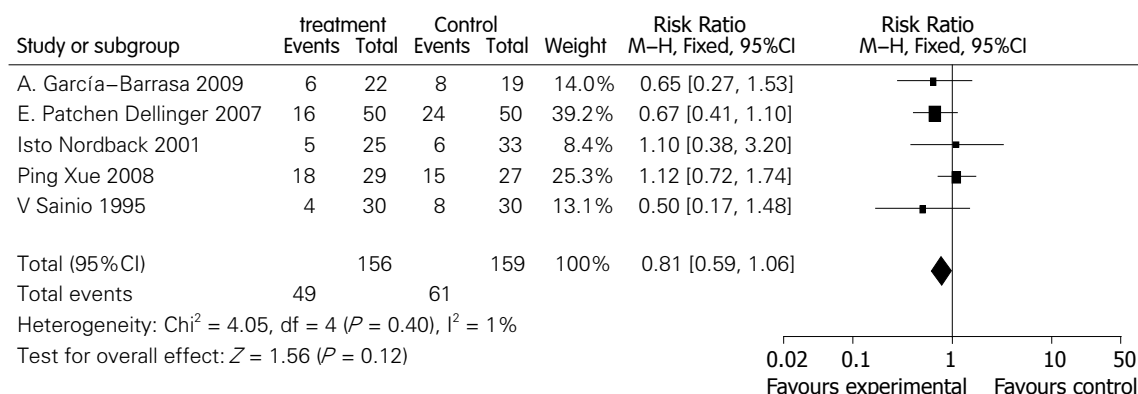


图 2 预防性使用抗生素对胰外感染的作用的Meta分析。

某个器官感染。从本研究得知,在接受抗生素治疗的156例患者中,有49例出现了胰外感染;使用安慰剂或未使用抗生素的159例患者中61例出现胰腺感染。预防性使用抗生素不能明显降低胰外感染的发生率(RR 0.79, 95%CI 0.59-1.06, $P = 0.12$),异质性检验无显著差异($P = 0.40$, $I^2 = 1\%$,图2)。

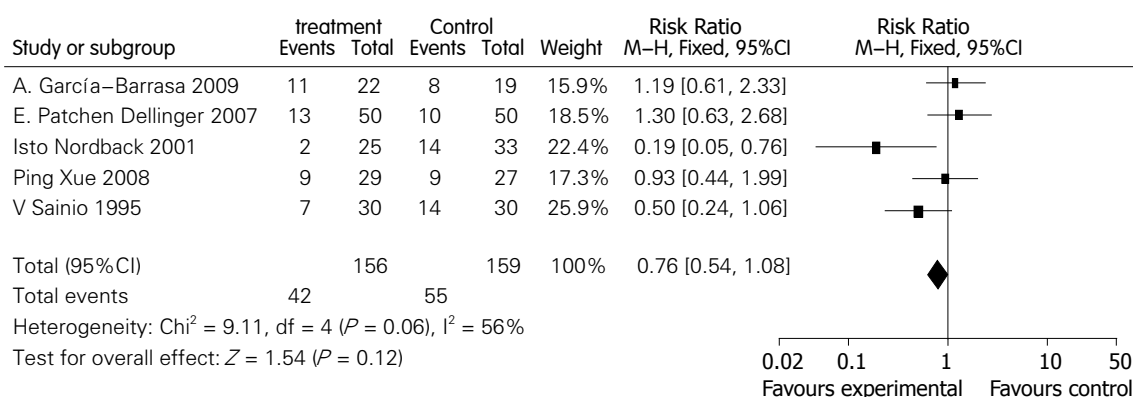
2.4 手术干预 本研究中,使用抗生素治疗的156例患者中有42例最终接受了手术治疗,使用安慰剂或未使用抗生素的159例患者中有55例接受了手术治疗。预防性使用抗生素不能显著减少手术干预的概率(RR 0.76, 95%CI 0.54-1.08, $P = 0.12$),异质性检查有显著差异($P = 0.06$, $I^2 = 56\%$,图3)。故改为随机效应模型分析,仍显示预

防性使用抗生素不能显著减少手术干预的概率(RR 0.78, 95%CI 0.45-1.36, $P = 0.37$,图4)。

2.5 病死率 纳入本研究的所有患者中,接收抗生素治疗共156例,死亡20例;使用安慰剂或未使用抗生素治疗共159例,死亡27例。预防性使用抗生素不能显著降低病死率(RR 0.75, 95%CI 0.43-1.28, $P = 0.29$),异质性检查无显著差异($P = 0.31$, $I^2 = 16\%$,图5)。

2.6 敏感性检验 本研究分别采用固定效应模型和随机效应模型得出ANP并发症胰腺感染、胰外感染及病死率的RR、95%CI分别为0.83(0.75-1.22), 0.84(0.63-1.12), 0.80(0.42-1.54)。因此,本研究的结果稳定性较好,结论可靠。

2.7 异质性检验 本研究显示,是否预防性使用抗



■ 创新盘点

本文认为预防性使用抗生素不能有效降低ANP患者发生胰腺感染、胰外感染、需手术干预及死亡的概率。

图 3 预防性使用抗生素对是否需手术干预的作用(固定效应模型)的Meta分析。

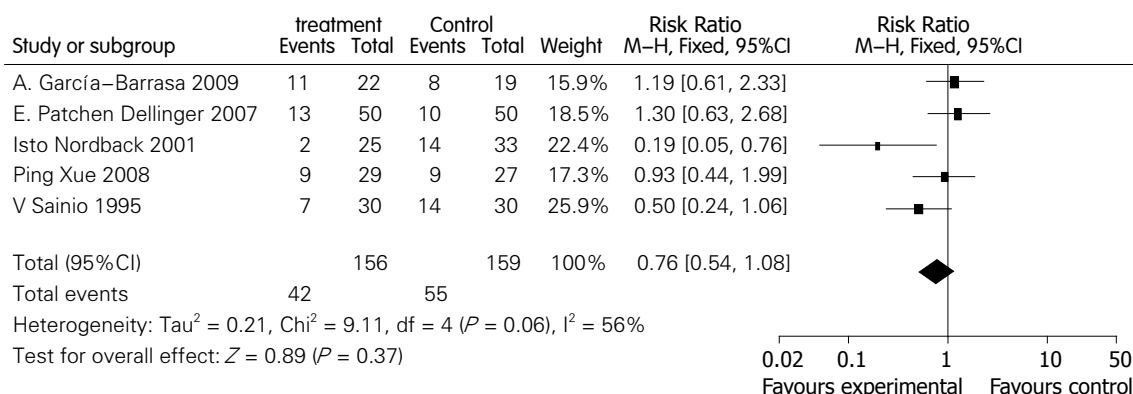


图 4 预防性使用抗生素对是否需手术干预的作用(随机效应模型)的Meta分析。

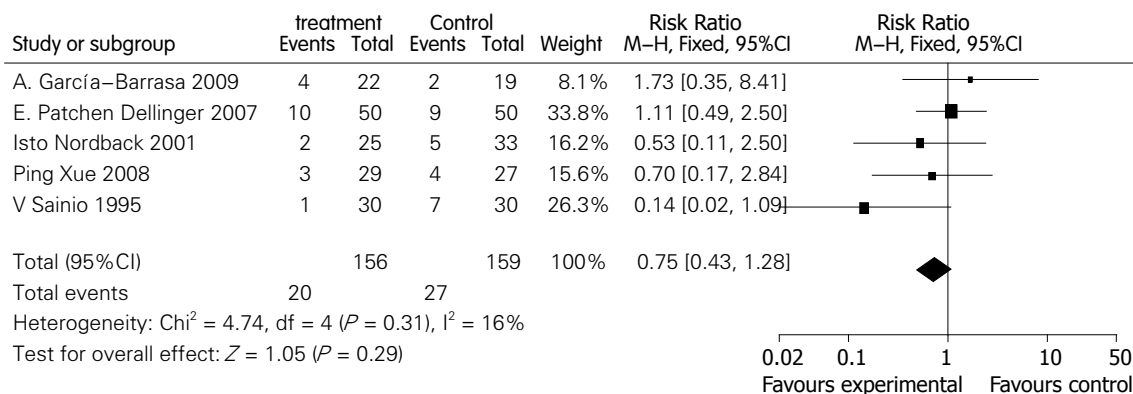


图 5 预防性使用抗生素对病死率的作用的Meta分析。

生素对ANP出现的胰腺感染、胰外感染及病死率无显著差异,且研究方法、使用抗生素种类等没有引起各文献结果间的差异。但是在需要手术干预的ANP患者中异质性明显。剔除Dellinger等得多中心研究,仅纳入单中心研究,得出RR值及95%CI分别为0.66(0.34-1.29);本研究中,除García-Barrasa使用喹诺酮类抗生素外,其余作者均使用 β -内酰胺类,剔除该研究,得出的RR值及95%CI分别为0.67(0.34-1.33)。证明多中心研究与抗生素种类不是影响ANP患者是否需手术干预的独立因素。

3 讨论

本研究收集ANP患者预防性使用抗生素的随机对照临床试验,通过Meta分析探讨预防性使用抗生素对治疗ANP的作用。其中头孢呋辛、环丙沙星、亚胺培南西司他丁钠及美罗培南均为可用于腹腔感染,能有效透过胰腺组织的抗生素,我们认为预防性使用抗生素不能有效降低ANP患者发生胰腺感染、胰外感染、需手术干预及死亡的概率。我国急性胰腺炎诊疗指南明确提出对胆源性胰腺炎及SAP应常规使用抗生素。但此指南近几年并没有更新。因而,临床上

■应用要点

尽管预防性使用抗生素在治疗ANP方面还有较大争论,但本文得出的结论是预防性使用抗生素并不能使ANP患者获益,因此应加强对抗生素的管理及规范使用。

是否预防性使用抗生素仍存在较大的争论。虽然新近的随机临床研究不支持预防性使用抗生素^[10],但是也有研究结果表明部分患者从使用抗生素中受益^[11]。

自20世纪80年代报道预防性使用抗生素治疗ANP以来,他已成为ANP治疗方案中最大的争议。Tydén等^[12]通过对60例临床研究认为预防性使用β-内酰胺类抗生素能显著降低胰外感染、手术干预及死亡率的发生率。并且Nordback等^[9]也通过临床研究认为预防性使用β-内酰胺类抗生素能有效降低胰腺感染、手术干预及死亡率的概率。但是有学者认为预防性使用β-内酰胺类或喹诺酮类抗生素不能减少ANP患者的各种并发症^[6,7]。甚至García-Barrasa等^[8]临床研究认为,预防性使用抗生素不但不能降低ANP患者并发症的发生率,反而可能增加手术干预及死亡率的几率。近年来关于预防性使用抗生素对ANP的作用所作的多项Meta分析其结果也不尽相同。Villatoro等^[13]认为预防性使用抗生素可能对降低ANP死亡率有效。Mazaki等^[14]、Dambrauskas等^[15]通过Meta分析推测预防性使用抗生素可能会降低ANP患者出现胰腺感染、胰外感染、手术干预及死亡等并发症的概率。Yao等^[16]推测预防性使用抗生素对控制胰腺感染有效,却不能降低胰外感染、手术干预及死亡率的发生概率,但是亚组分析却认为在单盲随机对照临床试验中预防性使用抗生素可能对降低胰腺感染及死亡率均有效。而De Waele^[17]则认为预防性使用抗生素不能有效减少胰腺感染的发生。

在评估预防性使用抗生素是否对治疗ANP有效的多项临床研究及Meta分析中,仍然有其他因素可能对结果产生影响,如治疗方案的选择、营养支持情况、是否需要内镜干预及干预的时间等。在这些因素中,笔者认为营养支持情况最重要。对于ANP患者尽早的给予益生菌等微生态制剂,并在患者病情趋于稳定时尽早开始肠内营养,以维持肠道菌群平衡,避免失衡导致的菌群易位对提高ANP的治疗效果是有益的。并且,已有研究报道,肠内营养与肠外营养相比,前者能降低ANP患者发生二次感染的几率^[18,19]。然而,在实际临床研究中,很少有作者具体提及营养给予方式。因此,本研究未涉及营养方式的评价。笔者希望今后关于预防性使用抗生素治疗ANP的临床研究能尽早使用肠内营养,或许这能更客观的评价抗生素

的作用。尽管预防性使用抗生素在治疗ANP方面还有较大争论,但希望本文对我国加强循证医学的研究和合理使用抗生素能产生积极的意义。

4 参考文献

- 1 Working Party of the British Society of Gastroenterology, Association of Surgeons of Great Britain and Ireland, Pancreatic Society of Great Britain and Ireland, Association of Upper GI Surgeons of Great Britain and Ireland. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54 Suppl 3: iii1-iii9
- 2 Heinrich S, Schäfer M, Rousson V, Clavien PA. Evidence-based treatment of acute pancreatitis: a look at established paradigms. *Ann Surg* 2006; 243: 154-168
- 3 Craig RM, Dordal E, Myles L. Letter: The use of ampicillin in acute pancreatitis. *Ann Intern Med* 1975; 83: 831-832
- 4 Beger HG, Bittner R, Block S, Büchler M. Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study. *Gastroenterology* 1986; 91: 433-438
- 5 Büchler M, Malfertheiner P, Friess H, Isenmann R, Vanek E, Grimm H, Schlegel P, Friess T, Beger HG. Human pancreatic tissue concentration of bactericidal antibiotics. *Gastroenterology* 1992; 103: 1902-1908
- 6 Dellinger EP, Tellado JM, Soto NE, Ashley SW, Barie PS, Dugernier T, Imrie CW, Johnson CD, Knaebel HP, Laterre PF, Maravi-Poma E, Kissler JJ, Sanchez-Garcia M, Utzolino S. Early antibiotic treatment for severe acute necrotizing pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Surg* 2007; 245: 674-683
- 7 Xue P, Deng LH, Zhang ZD, Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Effect of antibiotic prophylaxis on acute necrotizing pancreatitis: results of a randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 736-742
- 8 García-Barrasa A, Borobia FG, Pallares R, Jorba R, Poves I, Busquets J, Fabregat J. A double-blind, placebo-controlled trial of ciprofloxacin prophylaxis in patients with acute necrotizing pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 768-774
- 9 Nordback I, Sand J, Saaristo R, Pajanen H. Early treatment with antibiotics reduces the need for surgery in acute necrotizing pancreatitis--a single-center randomized study. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 113-118; discussion 118-120
- 10 Nicholson LJ. Acute pancreatitis: should we use antibiotics? *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 336-343
- 11 Jiang K, Huang W, Yang XN, Xia Q. Present and future of prophylactic antibiotics for severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 279-284
- 12 Tydén G, Brattström C, Malmberg AS. Early antibiotic treatment in acute necrotising pancreatitis. *Lancet* 1995; 346: 1375-1376
- 13 Villatoro E, Mulla M, Larvin M. Antibiotic therapy for prophylaxis against infection of pancreatic necrosis in acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 12: CD002941
- 14 Mazaki T, Ishii Y, Takayama T. Meta-analysis of prophylactic antibiotic use in acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 674-684
- 15 Dambrauskas Z, Gulbinas A, Pundzius J, Barauskas

- G. Meta-analysis of prophylactic parenteral antibiotic use in acute necrotizing pancreatitis. *Medicina* (Kaunas) 2007; 43: 291-300
- 16 Yao L, Huang X, Li Y, Shi R, Zhang G. Prophylactic antibiotics reduce pancreatic necrosis in acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized trials. *Dig Surg* 2010; 27: 442-449
- 17 De Waele JJ. Use of antibiotics in severe acute pancreatitis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 317-324
- 18 Marik PE, Zaloga GP. Meta-analysis of parenteral nutrition versus enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *BMJ* 2004; 328: 1407
- 19 Cao Y, Xu Y, Lu T, Gao F, Mo Z. Meta-analysis of enteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients with severe acute pancreatitis. *Ann Nutr Metab* 2008; 53: 268-275

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

■同行评价

虽然目前对患者是否从预防性使用抗生素中获益仍有不同的研究结果,但本研究对以后更好地认识这一问题具有积极的意义。并且作者提到将早期肠内营养加入到对预防性使用抗生素治疗ANP的评估中是有价值的。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊,每月8、18、28号按时出版。具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复。

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议。编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿。

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改。作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复。为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果。

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量。对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知。稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出。

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 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。

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校。责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色。责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对。责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑。

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷。责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件。编务配合档案管理员邮寄杂志。

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等。

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一。为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

线阵超声内镜对直肠子宫内膜异位症的诊断价值

李银鹏, 王娜, 张琳, 朱惠明, 王立生, 师瑞月

■背景资料

直肠子宫内膜异位症(RE)常需手术治疗,但术前诊断困难,部分患者术前可能被漏诊或误诊。而国内对于直肠子宫内膜异位症诊断研究的相关资料较少。

李银鹏, 王娜, 朱惠明, 王立生, 师瑞月, 暨南大学第二临床医学院 深圳市人民医院消化内科 广东省深圳市 518020
张琳, 暨南大学第二临床医学院 深圳市人民医院妇科 广东省深圳市 518020

李银鹏, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的超声内镜诊断和治疗研究。

作者贡献分布: 此研究由李银鹏、王娜及张琳设计; 病例收集由张琳完成; 研究过程由李银鹏、王娜、朱惠明、王立生及师瑞月操作完成; 数据分析及论文写作由李银鹏与张琳完成。

通讯作者: 李银鹏, 副主任医师, 518020, 广东省深圳市, 暨南大学第二临床医学院, 深圳市人民医院消化内科。szliyp72@126.com
电话: 0755-25533018

收稿日期: 2011-12-13 修回日期: 2012-03-20

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Value of linear endoscopic ultrasonography in the diagnosis of rectal endometriosis

Yin-Peng Li, Na Wang, Lin Zhang, Hui-Ming Zhu,
Li-Sheng Wang, Rui-Yue Shi

Yin-Peng Li, Na Wang, Hui-Ming Zhu, Li-Sheng Wang, Rui-Yue Shi, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shenzhen; the Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Lin Zhang, Department of Gynecology, People's Hospital of Shenzhen; the Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Correspondence to: Yin-Peng Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shenzhen; the Second Clinical Medical College of Jinan University, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China. szliyp72@126.com

Received: 2011-12-13 Revised: 2012-03-20

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To assess the value of linear endoscopic ultrasonography (EUS) in the diagnosis of rectal endometriosis (RE).

METHODS: Twenty patients with endometriosis were referred for linear EUS prior to the surgical intervention to evaluate the rectal involvement. RE was diagnosed by the presence of a hypoechoic nodule or mass with irregular margins in the rectal wall. Linear EUS findings were compared with the results of surgical exploration and histopathologic examination.

RESULTS: Linear EUS allowed to detect endometriotic lesions in the rectal wall in 12 cases, and the rectal wall was considered normal in 8 cases. In RE cases diagnosed by linear EUS, surgical exploration showed that pelvic ectopic endometrial lesions adhered closely to the rectal wall, and the histopathologic results confirmed infiltration of the rectal wall by endometriotic lesions. For the 8 patients with no linear EUS evidence of rectal infiltration, there was mild adhesion or no adhesion between pelvic ectopic endometrial lesions and the rectal wall, and histopathologic examination showed that the rectum was not involved by endometriotic lesions. The findings of linear EUS were coincident with those of surgical exploration and histopathologic examination.

CONCLUSION: Linear EUS is a reliable method for diagnosis of rectal endometriosis and can be used for accurate pre-surgical assessment of the rectal involvement in patients with endometriosis.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Rectal endometriosis; Diagnosis

Li YP, Wang N, Zhang L, Zhu HM, Wang LS, Shi RY. Value of linear endoscopic ultrasonography in the diagnosis of rectal endometriosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1252-1255

摘要

目的: 探讨线阵超声内镜对直肠子宫内膜异位症(rectal endometriosis, RE)的诊断价值。

方法: 对20例子宫内膜异位症患者于外科手术前行线阵超声内镜检查直肠, 超声扫描频率为7.5 MHz, 根据直肠壁内有无边界不规则的低回声结节或团块判断直肠是否受累, 并将超声内镜检查结果与手术中所见及术后病理进行比较。

结果: 20例患者中有12例经线阵超声内镜检查发现直肠壁内有异位子宫内膜病灶, 其余8例患者的直肠壁正常。超声内镜诊断为RE的12例患者术中均见盆腔异位子宫内膜病灶与

■同行评议者

徐辉雄, 教授, 主任医师, 同济大学附属第十人民医院暨上海市第十人民医院超声科

肠壁粘连紧密, 手术切除的直肠病灶送检均见子宫内膜组织. 超声内镜下未见直肠受累的8例患者盆腔子宫内异位病灶与肠壁无粘连或轻度粘连, 易分离, 分离缘组织送检未见子宫内膜组织. 线阵超声内镜检查结果与手术中所见及术后病理完全一致.

结论: 线阵超声内镜检查是诊断RE的可靠方法, 可对子宫内膜异位症患者是否伴有直肠受累做出准确的术前评估.

关键词: 超声内镜; 直肠子宫内膜异位症; 诊断

李银鹏, 王娜, 张琳, 朱惠明, 王立生, 师瑞月. 线阵超声内镜对直肠子宫内膜异位症的诊断价值. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1252-1255
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1252.asp>

0 引言

子宫内膜异位症是指有功能的子宫内膜组织位于子宫腔以外的部位所引起的疾病. 若异位的子宫内膜浸润至腹膜后且深度超过5 mm即为深度浸润型子宫内膜异位症(deep infiltrating endometriosis, DIE). DIE常导致不孕和/与浸润深度相关的难治性盆腔疼痛^[1], 其中约13%的病例伴有直肠受累^[2], 即发生直肠子宫内膜异位症(rectal endometriosis, RE). RE虽是良性病, 但表现出恶性病变的生长特征. 异位病灶可随每次月经周期不断增大并向周围浸润生长, 对药物治疗反应差, 多需手术治疗^[3,4], 但术前肠镜、钡剂灌肠造影、电子计算机X射线断层扫描技术(computed tomography, CT)或核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查常难以准确判断直肠是否受累^[4]. 超声内镜是一种高频腔内超声, 因可对直肠壁进行清晰的分层次观察而常用于直肠占位性病变的诊断. 我院于2010年起采用线阵超声内镜对接受手术治疗的子宫内膜异位症患者进行术前直肠检查, 以了解是否伴有直肠受累, 并将超声内镜检查结果与手术中所见及术后病理进行比较, 以评判线阵超声内镜在RE中的诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2010-10/2011-11在我院妇科诊断为子宫内膜异位症并接受手术治疗的20例患者, 术前均接受直肠线阵超声内镜检查以了解有无直肠受累. 患者均为已婚女性, 年龄25-43岁, 平均33.6岁±4.9岁, 其中16例主诉痛经, 1例主诉不

孕, 3例痛经伴肛门坠胀感. 经肠镜检查5例患者见直肠内有广基隆起, 其中2例隆起表面黏膜光滑, 另3例表面粗糙不平, 其余患者肠镜检查直肠均无异常.

1.2 方法 按肠镜检查法行肠道准备. 患者左侧卧位, 采用PENTAX EG3630U电子线阵扫描超声内镜检查, 探头频率5-7.5 MHz, 配HITACHI EUB 525超声诊断仪. 检查时进镜至直肠乙状结肠交界处. 先于内镜下仔细观察直肠壁有无溃疡或隆起病灶, 然后将探头朝向直肠前壁, 抽尽直肠腔内气体后, 再向直肠内注入脱汽水, 选用7.5 MHz频率自上而下并稍向左右旋转探头对直肠进行超声扫描. 超声下异位的子宫内膜累及直肠的判定方法参照文献[5], 若超声下观察到直肠壁内出现边界不规则的低回声结节或团块即判断为RE.

2 结果

2.1 超声内镜检查 20例子宫内膜异位症患者中, 12例经超声扫描发现直肠壁中出现低回声结节或团块影, 边界不规则, 主体部分位于固有肌层, 可侵及黏膜下层或突破浆膜层, 黏膜层均未见受累(图1), 超声内镜诊断为RE. 其余8例超声扫描直肠壁均正常. 20例患者中5例内镜下见直肠广基隆起, 其中4例经超声内镜检查发现隆起为直肠壁内低回声病灶所致, 诊断为RE, 另1例超声扫描直肠壁层次结构完整清晰, 各层均未见增厚, 肠镜所见隆起为盆腔病变外压所致.

2.2 手术及病理 20例患者中, 超声内镜诊断为RE的12例患者术中均见盆腔异位子宫内膜病灶与肠壁粘连紧密, 不能分离, 其中2例行直肠盘状切除, 10例行直肠节段切除, 直肠病灶剖开后呈灰白改变(图2), 病灶送检均见子宫内膜组织. 超声内镜下未见直肠受累的8例患者术中发现盆腔子宫内异位病灶与肠壁无粘连或轻度粘连, 粘连易分离, 分离缘组织送检未见子宫内膜组织.

3 讨论

RE是DIE的严重形式. DIE主要发生在盆腔的后半部分, 可能与直肠子宫凹是盆腔内最低部位可关. 逆流的经血在重力作用下易积聚在直肠子宫凹, 经血内的子宫内膜向周边浸润生长, 因此, 盆腔DIE易伴发RE, 且异位子宫内膜病灶多位于直肠的前壁及侧壁. RE的治疗包括药物治疗和手术治疗2种方式. 药物治疗可缓解症状,

■ 相关报道

肠镜检查、CT或钡剂灌肠检查对RE的诊断价值有限, 国外有研究用环扫型超声内镜对深度浸润型子宫内膜异位症(DIE)患者的直肠进行检查以了解肠道受累情况.

■创新盘点

本研究以线阵超声内镜为工具,通过线阵超声内镜检查评判子宫内膜异位症患者是否伴有直肠受累,证实线阵超声内镜检查是诊断RE的一种无创伤且可靠的。

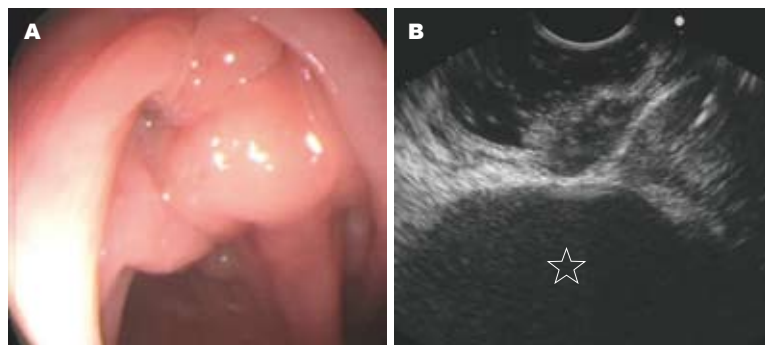


图1 直肠子宫内膜异位症在线阵超声内镜下的表现。A: 内镜下见直肠广基隆起; B: 超声扫描见直肠壁内低回声病灶。本例自黏膜肌层至固有肌层均受累, 图中星形所示为巧克力囊肿。



图2 直肠子宫内膜异位症手术切除病灶剖面。

并可使病灶缩小,但效果通常较短暂,且肠壁内的纤维病灶停药后可重新激活。手术彻底清除异位的子宫内膜病灶可避免复发并提高患者的生活质量^[3,6,7],因此,目前治疗RE仍主张手术切除为主。DIE伴有直肠受累时,手术通常需要妇科医生与胃肠外科医生的共同参与,而术前准确判断直肠是否受累有利于手术方案的确定和手术人员的安排。

子宫内膜异位症是否伴有直肠受累术前诊断比较困难。当异位的子宫内膜累及直肠黏膜时可出现经期便血症状,但临床上黏膜受累的病例很少见^[8],更多见的是异位病灶于直肠的固有肌层及黏膜下层,肠道症状多不明显。本组12例确诊RE中仅3例表现出肠道症状,其余主要以痛经为主诉,提示有肠道症状的RE只是冰山一角。此外,虽然RE的肠道症状与月经周期相关,但部分肠易激综合征患者的症状也受月经期的影响^[9,10],因此,单从症状与月经周期的关系难以诊断RE。肠镜检查仅对直肠黏膜受累型RE有意义,当黏膜未受累时,肠镜检查直肠黏膜大多光滑,有时虽可见直肠前壁或侧壁隆起性包块,但难以判断隆起是肠壁本身受累还是外压所致。本组12例RE,肠镜发现直肠隆起5例,其中1例最后证实系外压所致,表明肠镜对RE的诊断价值有限。钡剂造影和CT对判断直肠壁是否受累也不够准确^[4]。MRI对肠道子宫内膜异位症的诊断准确率也只有74.6%左右^[11]。超声内镜是内镜

与超声的完美结合,进入直肠后,可在内镜直视下观察直肠管壁的情况,同时能对直肠壁进行超声扫描。直肠壁在超声内镜下通常可分为5层,由内到外依次呈现高回声-低回声-高回声-低回声-高回声,分别对应于黏膜层-黏膜肌层-黏膜下层-固有肌层-浆膜层,当其中某一层出现局灶性增厚或出现累及多层次的病灶,超声下均可清晰分辨,并可根据病灶回声的高低不同及内部回声是否均匀对病变做出初步判断。

超声内镜在直肠疾病方面既往主要用于直肠黏膜下肿瘤的 diagnosis 和直肠癌分期,近年来有人^[5,12]运用环扫型超声内镜对子宫内膜异位症患者行直肠检查以判断直肠是否受累,结果显示环扫型超声内镜对判断子宫内膜异位症是否伴有直肠受累的敏感性和特异性均约90%。本研究采用线阵超声内镜对20例子宫内膜异位症患者术前行直肠检查,结果在12例(60%)患者直肠壁中发现低回声占位,该低回声主要位于固有肌层,可侵及黏膜下层及浆膜层。其余8例直肠壁层次清晰,未见肠壁出现增厚性改变和异常回声。随后的术中所见及术后病理均证实线阵超声内镜所见的12例直肠壁内低回声占位为异位的子宫内膜组织,表明线阵超声内镜可对子宫内膜异位症患者直肠是否受累进行准确的术前判断。环扫型超声内镜对直肠扫描时,每一扫描平面均为直肠的横断面,因此,可对直肠壁行环周检查,行直肠扫描时将超声探头从直肠乙状结肠交界处向肛侧拉动即可,不易遗漏病灶。线阵超声内镜检查则是对直肠行纵断面扫描,要观察直肠全周时,必须旋转镜身。但异位的子宫内膜侵及直肠时,病灶多位于直肠前壁和侧壁,甚至累及直肠全周,通常不单独累及后壁,因此,采用线阵超声扫描时,只需将探头朝向直肠前壁并稍左右旋转即可。本组研究结果也表明,线阵超声内镜诊断RE并不存在病灶遗漏问题,是判断子宫内膜异位症是否累及直肠的有效手段。

值得注意的是, 由于直肠异位子宫内膜病灶在超声上可表现为跨越肠壁多个层次的低回声占位, 呈现出恶性病变的特征, 需与直肠其他低回声病变相区别。直肠的平滑肌瘤或间质瘤虽在超声上也表现为低回声病变, 但此二者均局限于管壁的固有肌层或黏膜肌层内, 轮廓光滑, 边界清晰, 与RE较易区分。诊断RE最重要的是与直肠癌相鉴别。直肠癌为起源于直肠黏膜的恶性肿瘤, 其生长方式为由黏膜层向浆膜层方向浸润生长, 当RE累及黏膜层时两者在超声表现上不易鉴别, 但内镜下活检可明确诊断。此外, 异位的直肠子宫内膜病灶存在恶变的可能^[13-15], 但由于子宫内膜异位伴有直肠受累时多主张手术治疗, 因此, 术后病理有助于鉴别, 对于拒绝手术治疗者, 有必要行超声内镜引导下细针穿刺活检或追踪观察。

总之, 尽管线阵超声内镜的主要功能是用于超声引导下的细针穿刺活检和治疗, 但仍不失其基本的诊断价值。对于DIE患者而言, 线阵超声内镜检查是诊断RE的可靠方法, 对术前判断子宫内膜异位症患者是否伴有直肠受累有重要作用。

4 参考文献

- 1 Koninckx PR, Meuleman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991; 55: 759-765
- 2 Chapron C, Fauconnier A, Dubuisson JB, Barakat H, Vieira M, Bréart G. Deep infiltrating endometriosis: relation between severity of dysmenorrhoea and extent of disease. *Hum Reprod* 2003; 18: 760-766
- 3 Dousset B, Leconte M, Borghese B, Millischer AE, Roseau G, Arkwright S, Chapron C. Complete surgery for low rectal endometriosis: long-term results of a 100-case prospective study. *Ann Surg* 2010; 251: 887-895
- 4 Houtmeyers P, Ceelen W, Gillardin JM, Dhondt M, Pattyn P. Surgery for gastrointestinal endometriosis: indications and results. *Acta Chir Belg* 2006; 106: 413-416
- 5 Bazot M, Malzy P, Cortez A, Roseau G, Amouyal P, Darai E. Accuracy of transvaginal sonography and rectal endoscopic sonography in the diagnosis of deep infiltrating endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 30: 994-1001
- 6 Dubernard G, Piketty M, Rouzier R, Houry S, Bazot M, Darai E. Quality of life after laparoscopic colorectal resection for endometriosis. *Hum Reprod* 2006; 21: 1243-1247
- 7 Minelli L, Fanfani F, Fagotti A, Ruffo G, Ceccaroni M, Mereu L, Landi S, Pomini P, Scambia G. Laparoscopic colorectal resection for bowel endometriosis: feasibility, complications, and clinical outcome. *Arch Surg* 2009; 144: 234-239; discussion 239
- 8 Remorgida V, Ferrero S, Fulcheri E, Ragni N, Martin DC. Bowel endometriosis: presentation, diagnosis, and treatment. *Obstet Gynecol Surv* 2007; 62: 461-470
- 9 Adeyemo MA, Spiegel BM, Chang L. Meta-analysis: do irritable bowel syndrome symptoms vary between men and women? *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 738-755
- 10 Jane ZY, Chang CC, Lin HK, Liu YC, Chen WL. The association between the exacerbation of irritable bowel syndrome and menstrual symptoms in young Taiwanese women. *Gastroenterol Nurs* 2011; 34: 277-286
- 11 Faccioli N, Foti G, Manfredi R, Mainardi P, Spoto E, Ruffo G, Minelli L, Mucelli RP. Evaluation of colonic involvement in endometriosis: double-contrast barium enema vs. magnetic resonance imaging. *Abdom Imaging* 2010; 35: 414-421
- 12 Ribeiro HS, Ribeiro PA, Rossini L, Rodrigues FC, Donadio N, Aoki T. Double-contrast barium enema and transrectal endoscopic ultrasonography in the diagnosis of intestinal deeply infiltrating endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2008; 15: 315-320
- 13 Kobayashi S, Sasaki M, Goto T, Asakage N, Sekine M, Suzuki T, Tsukada K, Yamasaki S, Ukawa S. Endometrioid adenocarcinoma arising from endometriosis of the rectosigmoid. *Dig Endosc* 2010; 22: 59-63
- 14 Micha JP, Mendivil AA, Epstein HD, Laflamme LA, Goldstein BH. Endometrioid adenocarcinoma arising from endometriosis: a case report. *J Reprod Med* 2011; 56: 507-510
- 15 Peiretti M, Zakashansky K, Melis GB, Mais V. Unusual case of adenocarcinoma arising in endometriosis mimicking colorectal cancer in a young woman with a Müllerian anomaly. *Fertil Steril* 2008; 90: 199.e13-e15

■同行评价

文章阐述了线阵超声内镜技术在直肠子宫内位异位症中的应用, 为临床医生诊断RE提供了新的手段。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

山莨菪碱在腹部脏器出血DSA术中的应用

徐力扬, 李京雨, 刘涛, 路军良

■背景资料

腹部急诊数字减影血管造影(DSA)术主要应用于胃肠道、肝、胆、肾等脏器出血性病变的诊断和治疗。高质量DSA图像对确定出血部位、性质和指导介入治疗具有关键意义。

徐力扬, 李京雨, 刘涛, 路军良, 中国人民解放军北京军区总医院放射诊断科 北京市 100700

徐力扬, 副主任技师, 主要从事介入放射技术研究。

作者贡献分布: 徐力扬与李京雨对此文所作贡献均等; 此课题由徐力扬与李京雨设计; 研究过程由徐力扬、李京雨、刘涛及路军良操作完成; 本论文写作由徐力扬与李京雨完成。

通讯作者: 李京雨, 主任医师, 100700, 北京市东城区朝内北小街2号, 中国人民解放军北京军区总医院放射诊断科。

cjr.ljy@vip.163.com

电话: 010-66721498

收稿日期: 2011-10-25 修回日期: 2012-03-24

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Application of anisodamine to emergency digital subtraction angiography for abdominal organ hemorrhage

Li-Yang Xu, Jing-Yu Li, Tao Liu, Jun-Liang Lu

Li-Yang Xu, Jing-Yu Li, Tao Liu, Jun-Liang Lu, Department of Diagnostic Radiology, General Hospital of Beijing Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Correspondence to: Jing-Yu Li, Chief Physician, Department of Diagnostic Radiology, General Hospital of Beijing Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China. cjr.ljy@vip.163.com

Received: 2011-10-25 Revised: 2012-03-24

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To explore the value of anisodamine applied to emergency digital subtraction angiography (DSA) for abdominal organ hemorrhage.

METHODS: Thirty-three patients with gastrointestinal or kidney hemorrhage underwent emergency DSA. Arterial injection of 10 mg of anisodamine was employed before angiography. DSA images were acquired during free breathing and post-processed using re-mask function.

RESULTS: Artifacts caused by gastrointestinal peristalsis were reduced remarkably. The image quality was satisfactory in all cases. Bleeding signs were presented in 27 cases (81.82%) and endovascular embolization was performed after superselective catheterization of the lesioned vessels.

■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

CONCLUSION: The use of anisodamine before angiography can improve the quality of images acquired by emergency DSA for abdominal organ hemorrhage.

Key Words: Anisodamine; Abdomen; Hemorrhage; Angiography

Xu LY, Li JY, Liu T, Lu JL. Application of anisodamine to emergency digital subtraction angiography for abdominal organ hemorrhage. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1256-1258

摘要

目的: 探讨山莨菪碱在腹部脏器出血数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)术中的应用价值。

方法: 33例接受腹部急诊DSA的消化系出血和肾脏出血患者, 其中男20例, 女13例, 年龄19-89岁, 平均57岁。造影前于肠系膜上动脉灌注盐酸山莨菪碱10 mg。选择性腹部动脉造影后观察出血病变的显示情况和肠蠕动等伪影抑制效果, 同时结合非屏气摄影方法进行蒙片重设改善减影配对不良。发现出血部位后, 对供血动脉分支超选择栓塞治疗。

结果: 所有患者动脉内注入山莨菪碱后行血管造影, 均能有效抑制胃肠蠕动形成的移动伪影。除口干之外未见不良反应。运用重选蒙片方法进一步消除了呼吸运动对图像质量的影响, 获得了满足临床诊断的清晰图像。27例(81.82%)发现出血征象并成功栓塞了病变供血动脉。

结论: 在腹部脏器出血的DSA术中, 动脉灌注山莨菪碱并结合非屏气摄影技术, 能很好抑制和排除胃肠蠕动及呼吸运动造成的伪影, 安全、简便, 是提高图像质量的有效方法。

关键词: 山莨菪碱; 腹部; 出血; 血管造影

徐力扬, 李京雨, 刘涛, 路军良. 山莨菪碱在腹部脏器出血DSA术中的应用. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1256-1258
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1256.asp>

0 引言

腹部急诊数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)术主要应用于胃肠道、肝、胆、肾等脏器出血性病变的诊断和治疗. 高质量DSA图像对确定出血部位、性质和指导介入治疗具有关键意义. 腹部脏器出血时胃肠蠕动增加和大量肠气会使DSA图像产生明显的非限制性伪影, 病情危重患者不能耐受长时间屏气, 也因呼吸运动而致限制性伪影的发生. 这些伪影严重影响腹部脏器末梢小血管出血病变的观察. 为抑制胃肠蠕动, 我们在血管造影前常规使用山莨菪碱动脉内灌注, 造影时结合非屏气摄影技术消除呼吸运动影响, 获得了良好的DSA图像效果.

1 材料和方法

1.1 材料 2010-03/2011-03因各类腹部脏器出血急诊行DSA术患者33例, 其中男20例, 女13例, 年龄19-89岁, 平均57岁. 临床表现呕血7例, 便血22例, 尿血4例, 出血时间1 h-6 d不等, 术前确认无急性脑出血或青光眼病史.

1.2 方法 全部病例均由股动脉入路, 使用Seldinger技术穿刺股动脉, 根据出血症状的不同, 进行相应部位DSA检查. 造影使用美国GE公司Advantx LCV+数字减影血管造影机及Mark V PorVis高压注射器. 选择性造影部位包括腹腔动脉、肝动脉、胃十二指肠动脉、胃左动脉、肠系膜上、下动脉以及肾动脉. 首先将盐酸山莨菪碱10 mg稀释于0.9%氯化钠10 mL液体中, 于造影前注入肠系膜上动脉内. 造影时嘱患者自主均匀呼吸, 使用碘海醇350(350 g/L)对比剂, 每个造影序列以4-5 mL/s的速率, 总量15-25 mL进行DSA. 图像采集后, 选取血管信息丰富、画面较稳定的一幅图像为造影像, 依靠蒙片重设功能, 改善减影配对不良, 使图像清晰显示. 发现病变后, 选择性插管至病变动脉分支, 选用聚乙烯醇颗粒、弹簧圈和明胶海绵等栓塞材料对病变血管行栓塞治疗. 再次造影证实病变血管栓塞完全后拔管结束手术.

2 结果

所有患者经动脉注入山莨菪碱10 mg后即刻行血管造影, 均有效抑制了肠蠕动造成的运动伪影. 血管造影过程中, 嘱患者自然放松, 按一定的运动幅度均匀呼吸. 造影后, 采用再选蒙片方法找出与所需观察的造影像精确重合的蒙片, 可有效去除呼吸运动的移动性伪影, 得到满足临



图1 Meckel憩室出血. 对比剂自血管破裂处进入憩室内(箭).

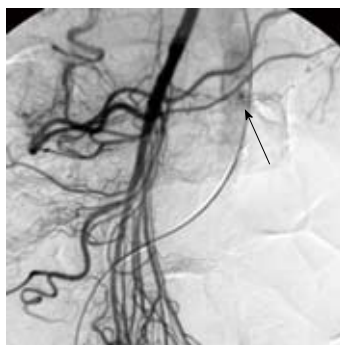


图2 横结肠溃疡出血. 中结肠动脉分支破裂, 可见局部对比剂溢出(箭).

床诊断的清晰图像(图1, 2). 27例(81.82%)发现出血病变并成功进行栓塞治疗. 其中诊断胃、肠动脉分支破裂出血12例, 胃肠黏膜炎性病变4例, 肿瘤出血6例, 梅克尔憩室1例, 肾脏血管畸形3例, 肾动脉破裂出血1例. DSA表现为病变部位对比剂溢出($n = 24$)和局部假性动脉瘤形成($n = 3$)等直接出血征象, 一部分炎症、肿瘤和血管畸形病变还表现有局部实质期浓染($n = 4$)、肿瘤染色($n = 5$)或畸形血管($n = 4$)等间接出血征象. 6例(18.18%)未明确显示出血病变.

3 讨论

各种原因导致的消化系出血和肾脏出血为临床常见急症, 特别是对不明原因的消化系出血, 各种检查方法均有一定的局限性, 明确诊断治疗是临床一大难题^[1,2]. 随着介入放射技术的发展, 选择性DSA成为腹部出血性病变定位、定性的重要手段, 并可在明确出血部位后立即实施介入血管栓塞治疗^[3,4]. 由于临床存在多种复杂因素, 腹部DSA术对出血诊断阳性率的差异较大. 近期一组对消化系出血行血管造影检查的大样本($n = 143$)回顾性总结研究中, 其出血诊断阳性率为48%. 在阴性诊断患者中, 有4%因持续出血而行外科探查手术, 16%发生再次出血^[5], 说明总体假阴性率较高.

综合分析, 影响腹部DSA诊断治疗的常见原因有: (1)血液在消化系细菌作用下, 蛋白分解

■创新盘点

本文应用山莨菪碱, 有效提高图像质量, 出血阳性诊断率达81.82%, 与国内外同类报道相比, 诊断阳性率较高.

■应用要点

该设计方法简单, 于血管造影前动脉给药, 即可排除胃肠蠕动亢进造成的移动伪影, 效果确切, 对临床应用具有明确指导意义.

■同行评价

该研究设计合理, 结果可信, 可读性好, 科学性较强, 有一定的创新性, 且研究结合临床实际, 解决了困扰临床多年的部分难题, 具有很好的实用意义。

产生大量气体, 并刺激胃肠蠕动, 形成移动性伪影; (2)年老体弱等重症患者不能有效配合屏气摄影技术, 使减影图像配对不良, 严重影响图像质量和病变观察; (3)微小血管病变出血量低于0.5 mL/min, 直接出血征象(造影剂外溢)不易被检出; (4)出血处于间歇期或临床进行过相关止血药物处理, 责任血管有不同程度痉挛或暂时性血栓形成^[6]; (5)操作者的选择性插管技术和阅片经验水平受限等。为提高病变阳性检出率, 国内外一些学者提出, 造影时动脉内应用抗凝剂、血管扩张剂、纤维蛋白溶解剂等药物^[7-9], 但均存在诱发再次大出血的风险。应用重选蒙片等图像后处理功能, 可以改善呼吸运动对图像的影响, 而胃肠道蠕动造成的伪影为随机无规律的非限制性伪影, 目前设备缺乏克服这种图像缺陷的技术手段。因此, 在上述影响因素中, 消除DSA图像中的胃肠移动伪影是保证图像质量、提高病变检出率不可缺少的主要环节。本组33例均获取良好的图像质量, 造影出血阳性诊断率达81.82%, 与国内外同类报道相比, 诊断阳性率较高^[10,11]。

山莨菪碱属胆碱能受体拮抗剂, 主要用于治疗胃肠道、胆道、胰管、输尿管痉挛引起的绞痛, 解除血管痉挛和栓塞引起的循环障碍, 治疗感染中毒性休克等。由于山莨菪碱的半衰期短, 对中枢神经抑制作用弱, 提高心率和抑制唾液作用也明显低于阿托品, 使其成为解除平滑肌痉挛, 改善微循环障碍的首选药物之一。近年来随着对该药物药理作用研究的不断深入, 已有许多作者凭借其解除小血管痉挛, 改善微循环, 防止微血栓形成的作用机制成功地将该药应用于心脏和外周动脉闭塞性疾病的治疗^[12,13]。我们利用山莨菪碱抑制肠道平滑肌收缩蠕动的特性, 将其应用于腹部脏器出血行急诊DSA术的患者, 有效克服因腹部胀气和胃肠蠕动亢进造成的影像缺陷。术中结合非屏气摄影技术^[14]进行血管造影, 可同时消除呼吸性运动伪影, 达到了提高病变检出阳性率的目的。

本组有2例患者在首次造影过程中出现暂时屏气, 使蒙片采集停留在同一位置, 而造影像的采集是在呼吸运动中进行, 从而无法用蒙片重设手段使造影像与蒙片精准配对, 影响了减影图像质量。经再次告诫患者在造影全程保持自然均匀呼吸, 下一个序列的造影即取得了良好质量的图像。总之, 在腹部脏器出血急诊DSA造影中应用山莨菪碱具有以下优势: (1)有效抑制肠蠕动, 迅速控制非限制性移动伪影, 提高了

DSA图像质量, 利于出血病灶的观察; (2)解除平滑肌痉挛, 有助于胃肠道微血管扩张, 对微小血管病变检测时, 可使小动脉显示增多, 实质期对比剂染色更浓密^[15]; (3)扩张微血管, 避免超选择插管时血管痉挛的发生; (4)对于危重、年老体弱不能配合屏气摄影术的患者, 应用山莨菪碱并结合使用非屏气摄影技术, 能排除了因不能很好屏气或屏气后膈肌不自主持持续小幅移动造成的呼吸运动伪影, 节省训练患者屏气的时间, 进一步保证DSA图像的质量。

4 参考文献

- 1 李洪翠, 李肖, 杨丽, 唐承薇. 数字减影血管造影对小肠出血的诊断价值. 世界华人消化杂志 2009; 17: 906-909
- 2 王立国, 庄丽维, 汪丽燕, 李滨, 杨淑敏. 不明原因消化道出血的DSA和介入治疗. 胃肠病学 2011; 16: 167-169
- 3 Mellinger JD, Bittner JG, Edwards MA, Bates W, Williams HT. Imaging of gastrointestinal bleeding. *Surg Clin North Am* 2011; 91: 93-108
- 4 Lundgren JA, Matsushima K, Lynch FC, Frankel H, Cooney RN. Angiographic embolization of nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: predictors of clinical failure. *J Trauma* 2011; 70: 1208-1212
- 5 Kim JH, Shin JH, Yoon HK, Chae EY, Myung SJ, Ko GY, Gwon DI, Sung KB. Angiographically negative acute arterial upper and lower gastrointestinal bleeding: incidence, predictive factors, and clinical outcomes. *Korean J Radiol* 2009; 10: 384-390
- 6 王永利, 崔世涛, 张家兴, 汝复明, 徐家华, 徐霁充. 动脉性上消化道出血的急症介入诊疗价值和影响因素. 介入放射学杂志 2009; 18: 409-413
- 7 彭志康, 刘亚洪, 卢蔚芳, 俞志坚. 消化道出血的血管造影诊断与介入治疗的相关问题探讨. 中国介入影像与治疗学 2012; 9: 110-113
- 8 Loffroy R, Abualsaud B, Cercueil JP, Krausé D. How to increase the probability of visualizing angiographic extravasation in patients with acute hemorrhage from the gastrointestinal tract? *Korean J Radiol* 2009; 10: 649-650
- 9 Johnston C, Tuite D, Pritchard R, Reynolds J, McEniff N, Ryan JM. Use of provocative angiography to localize site in recurrent gastrointestinal bleeding. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 1042-1046
- 10 詹文华. 上消化道出血多学科诊治新亮点. 中国实用外科杂志 2010; 30: 413-415
- 11 Barnacle AM, Aylwin AC, Jackson JE. Angiographic diagnosis of inflammatory bowel disease in patients presenting with gastrointestinal bleeding. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 976-985
- 12 黎成金, 闫金雨, 陈少全, 王烈. 山莨菪碱对膝下动脉阻塞病PTA术后的治疗作用. 中国普通外科杂志 2010; 19: 693-696
- 13 蔚永运, 傅向华, 刘君, 谷新顺, 吴伟力, 李世强, 范卫泽, 姜云发. 冠状动脉内注射山莨菪碱对急性心肌梗死介入治疗后缓再血流现象的作用. 临床心血管病杂志 2006; 22: 21-24
- 14 徐力扬, 李京雨, 路军良, 张强. 血管造影术中非屏气摄影技术的应用. 医疗卫生装备 2009; 30: 87-88
- 15 章士正, 蒋定尧, 任志达. 山莨菪碱药物血管造影在消化道出血诊断中的应用. 临床放射学杂志 1994; 13: 47-50

间苯三酚在混合痔术后的临床疗效观察66例

伍洲颂, 刘丽兵, 汤国辉, 邓秋林

伍洲颂, 刘丽兵, 汤国辉, 邓秋林, 南华大学附属南华医院肛肠外科 湖南省衡阳市 421002

伍洲颂, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肛肠疾病的临床研究。

作者贡献分布: 此课题由伍洲颂与刘丽兵设计; 研究过程及统计分析由伍洲颂与刘丽兵完成; 论文书写伍洲颂、刘丽兵、汤国辉及邓秋林共同完成。

通讯作者: 刘丽兵, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院肛肠科. 258416935@qq.com
电话: 0734-8358043

收稿日期: 2011-12-05 修回日期: 2012-01-19

接受日期: 2012-04-19 在线出版日期: 2012-05-18

Efficacy of phloroglucinol in the treatment of patients after surgery for mixed hemorrhoid

Zhou-Song Wu, Li-Bing Liu, Guo-Hui Tang, Qiu-Lin Deng

Zhou-Song Wu, Li-Bing Liu, Guo-Hui Tang, Qiu-Lin Deng, Department of Colorectal Surgery, the Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Correspondence to: Li-Bing Liu, Department of Colorectal Surgery, the Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, 336 Dongfengnan Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hunan Province, China. 258416935@qq.com

Received: 2011-12-05 Revised: 2012-01-19

Accepted: 2012-04-19 Published online: 2012-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of phloroglucinol in the treatment of patients after surgery for mixed hemorrhoid.

METHODS: One hundred and thirty-two patients after surgery for mixed hemorrhoid were randomly divided into two groups and were intravenously infused with 40 mg phloroglucinol in 5% glucose solution (study group) and 5% glucose solution (control group), respectively. The analgesic effect and side effects were analyzed. Post-operative complications were also observed.

RESULTS: The pain degree at 12, 24, and 24 h after operation was significantly lower in the study group than in the control group (1.15 ± 0.43 vs 3.85 ± 2.59 , 4.67 ± 2.47 vs 6.68 ± 1.88 , 4.99 ± 0.26 vs 3.15 ± 2.65 , all $P < 0.05$). There is a significant difference in the consumption of anal-

gesics between the study group and the control group within 48 h after operation ($P < 0.01$). The incidences of post-operative complications, such as urinary retention and edema of the anal edge, and adverse reactions were lower in the study group than in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Phloroglucinol has a remarkable analgesic effect and is associated with few adverse effects in the management of patients after surgery for mixed hemorrhoid.

Key Words: Phloroglucinol; Mixed Hemorrhoid; Surgery

Wu ZS, Liu LB, Tang GH, Deng QL. Efficacy of phloroglucinol in the treatment of patients after surgery for mixed hemorrhoid. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1259-1262

摘要

目的: 观察间苯三酚在混合痔术后的临床疗效及安全性。

方法: 将132例混合痔患者按就诊先后顺序随机分为2组, 治疗组术后予间苯三酚40 mg, 加入5%葡萄糖溶液静脉滴注, 安慰剂对照组予5%葡萄糖溶液静脉滴注。分别观察2组用药后的止痛效果, 术后并发症以及不良反应。

结果: 治疗组在术后12 h、24 h、48 h 3个观察时点止痛效果评分分别为 1.15 ± 0.43 、 4.67 ± 2.47 、 3.15 ± 2.65 ; 对照组在术后12 h、24 h、48 h 3个观察时点止痛效果评分分别为 3.85 ± 2.59 、 6.68 ± 1.88 、 4.99 ± 0.26 , 治疗组术后48 h内3个观察时点止痛效果与对照组比较有显著性差异($P < 0.05$); 治疗组术后72 h内索要镇痛剂情况与对照组比较有非常显著性差异($P < 0.01$), 治疗组术后尿潴留、肛缘水肿等并发症以及不良反应发生率均优于对照组($P < 0.05$)。

结论: 间苯三酚用于混合痔术后镇痛, 疗效确切, 不良反应小, 而且能减少术后尿潴留、肛缘水肿等并发症, 值得临床进一步推广。

■背景资料

由于肛周末神经末梢分布极其丰富, 对各种疼痛极其敏感, 而肛肠术后疼痛与多种因素相关, 因此肛肠术后镇痛一直是治疗中的一个难题, 近年来已引起越来越多国内外学者的重视和研究。

■同行评议者

李永翔, 主任医师, 教授, 安徽医科大学第一附属医院普外科

■相关报道

目前有文献报道间苯三酚用于胆绞痛、痉挛性腹痛以及肠镜检查、胰胆管造影术,显示出良好的止痛效果,且不良反应少。

关键词: 间苯三酚; 混合痔术后; 术后

伍洲颂, 刘丽兵, 汤国辉, 邓秋林. 间苯三酚在混合痔术后的临床疗效观察66例. 世界华人消化杂志 2012; 20(14): 1259-1262
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1259.asp>

0 引言

由于肛周神经末梢分布极其丰富,对各种疼痛极其敏感,而肛肠术后疼痛与多种因素相关,因此肛肠术后镇痛一直是治疗中的一个难题,近年来已引起越来越多的国内外学者的重视和研究.很多学者将肛门直肠手术比喻为“痛苦的选择”,甚至描述术后排便就像“排出碎玻璃”一样疼痛^[1,2].为了观察间苯三酚在混合痔术后的临床疗效,2011-03/09我们将南华大学附属南华医院收治的符合纳入标准的132混合痔患者开展了临床观察,现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 所有病例均为2010-03/09住院的混合痔患者,符合纳入标准者签署知情同意书.诊断标准:将纳入标准的病例,按照2006年中华医学会外科分会结直肠肛门外科学组所制定的《痔临床诊治指南》^[3]混合痔的诊断依据执行.

1.2 方法

1.2.1 分组:按随机兼顾均衡的原则分为治疗组(间苯三酚)和对照组(5%葡萄糖溶液+250 mL安慰剂).共纳入132例,各组均66例.2组治疗前及总体统计比较显示,在性别、年龄、病程和病情等方面差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性.

1.2.2 治疗:(1)常规治疗:二组患者均于术前30 min肌注苯巴比妥钠0.1 g,手术方式均为外剥内扎术,麻醉方式均为骶麻,手术和麻醉皆为同一人实施,术后常规予一组抗炎、止血药,同病种治疗方案相同,小便排不出者,经下腹部热敷、用流水声刺激或肌注新斯的明1 mg,仍不能排出且自觉小腹憋胀疼痛,给予导尿.术后第2天起,每位患者常规复方角菜酸酯栓1粒纳入肛内专科换药,每日1次;(2)治疗组治疗:患者手术后当天至术后第3天给予间苯三酚40 mg(湖北午时药业股份有限公司生产,批号: H20060385),加入5%葡萄糖溶液250 mL静脉滴注.原则上禁止同时服用可影响试验治疗作用的药物,如其他镇痛药、镇静剂等;(3)对照组治疗:患者手术后当天至术后第2天予安慰剂5%葡萄糖溶液250 mL静脉滴注.

1.2.3 观察指标和方法:(1)术后疼痛程度分级^[4]:参照1993年中华人民共和国卫生部药政管理局颁布的癌症患者三阶梯止痛疗法指导原则:0级:无痛;1级:轻度疼痛,虽有痛感但可忍受,能正常生活,睡眠未受干扰;2级:中度疼痛,疼痛明显,要求服用其他止痛剂,睡眠受干扰;3级:重度疼痛,疼痛剧烈(伴有植物神经系统功能紊乱),睡眠严重干扰,需要辅用其他止痛剂,在此基础上分别计0、2、4、6分;选择术后48 h内3个观察时点止痛效果及72 h索要镇痛药情况进行观察;(2)不良反应:如实记录观察期间是否有过敏反应、口干、面红、散瞳、头晕、心悸、视物模糊、血压改变等不良反应.禁止同时服用可影响试验治疗作用的药物,如其他镇痛药、镇静剂等.原则上不应用任何其他药物.如因病情需要应随时记录.若试验开始后又服用了其他类型的镇痛药,则以后的疼痛强度及不良反应按服用其他药物前的数值计算;(3)急性尿潴留:参照《外科学》^[5],导尿量达800 mL以上;(4)肛缘水肿:参照《大肠肛门病治疗学》^[6]执行;(5)疗效评定标准:参照《中医肛肠科病证诊断疗效标准》^[7]拟定.

统计学处理 计量资料以mean±SD表示,采用方差分析和 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验.

2 结果

2.1 3组患者术后48 h内3个观察时点止痛效果比较 治疗组术后12 h内止痛效果评分为 1.15 ± 0.43 ,对照组为 3.85 ± 2.59 ,治疗组明显优于对照组($P<0.01$,表1);治疗组术后24 h内止痛效果评分 4.67 ± 2.47 ,对照组为 6.68 ± 1.88 ,治疗组优于对照组($P<0.05$);治疗组术后48 h止痛效果评分为 3.15 ± 2.65 ,对照组为 4.99 ± 0.26 ,治疗组优于对照组($P<0.05$);3个观察时点止痛效果治疗组均明显优于对照组.

2.2 2组患者术后72 h内索要镇痛剂情况比较 治疗组术后72 h内索要镇痛剂情况明显少于对照组(表2).

2.3 2组不良反应比较 间苯三酚在用药过程中出现1例皮疹及瘙痒,停药后自行消失,但无成瘾性、恶心呕吐、多汗嗜睡、感觉性失禁等不良反应.而对照组使用镇痛剂有8例出现恶心呕吐不良反应,2例出现头痛反应,1例出现血压下降现象,治疗组用药后不良反应明显少于对照组.

2.4 2组术后并发症比较 治疗组用药后术后并发

表 1 2组患者术前一般情况比较

分组	性别(n)		平均年龄(岁)	平均病程(年)	内痔分期(n)			外痔分类(n)		
	男	女			Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	静脉曲张	结缔组织	血栓
治疗组	36	30	47.11±14.31	7.26±3.42	18	27	21	28	30	8
对照组	38	28	46.17±13.76	8.19±4.14	17	29	20	29	31	6

表 2 2组患者术后72 h内索要镇痛剂情况比较 (n = 66)

分组	去痛片(90 mg)	强痛啉(75 mg)	哌替啶(50 mg)	哌替啶(100 mg)
治疗组	5	3	2	1 ^b
对照组	15	8	7	3

^bP<0.01 vs 对照组.

表 3 2组患者术后并发症比较 (n = 66)

分组	尿潴留	肛缘水肿	排便困难
治疗组	7	4	5 ^b
对照组	21	20	17

^bP<0.01 vs 对照组.

症明显少于对照组(表3).

3 讨论

由于肛周神经末梢分布极其丰富,对各种疼痛极其敏感.而肛肠术后疼痛与肛门直肠的解剖、手术及麻醉方式以及排尿困难、排便的刺激、创面水肿、换药刺激等多种因素有关^[8],肛肠术后镇痛一直是治疗中的一个难题,近年来已引起越来越多的国内外学者的重视和研究.且疼痛可反射性引起尿道和膀胱括约肌痉挛而导致排尿不畅或尿潴留^[9].术后疼痛的主要机制:首先是手术切割切口时组织和神经的损伤,继而是组织损伤后产生的损伤细胞即炎性细胞,释放的炎性介质即致痛因子,而致痛因子引起的疼痛是术后疼痛的主要病理基础^[10].

目前肛肠科术后镇痛较多采用镇痛泵,通过静脉注射阿片类药物如曲马多,来达到患者自我控制疼痛的目的.其优点是给药符合药代动力学原理,能根据个体化要求维持有效镇痛浓度,有利于患者在不同时刻,不同疼痛程度下,及时迅速止痛,但术后尿潴留、失眠、头晕、乏力、恶心呕吐等不良反应明显.还有较多采用复方亚甲蓝长效止痛创缘封闭镇痛疗法,他能使末梢神经传入受阻,有效抑制局部组织的

伤害性传入刺激,起效快,镇痛作用持久,能避免手术刺激所导致的肛门括约肌痉挛所引起的疼痛;但亚甲蓝发挥药效平均潜伏期为4 h^[11],这个期间的疼痛大多数患者难以忍受,且亚甲蓝具有很强的神经毒性,而且浓度越高,毒性作用越大,高浓度的亚甲蓝可造成运动神经的损伤.据报道,增加亚甲蓝的浓度可以延长其镇痛时间,但是过高的浓度有可能会引起局部组织坏死等不良反应^[12].还有报道音乐疗法用于肛肠术后镇痛,但个体差异大,缺乏循证学依据.潘琼^[13]将60例肛肠科术后患者随机分为观察组和对照组各30例,对照组接受常规护理,观察组在接受常规护理的同时给予音乐放松疗法,结果表明对照组在术后6 h和24 h疼痛程度与观察组比较差异有统计学意义(P<0.01).

50年前在欧洲,间苯三酚已广泛应用于泌尿科、消化科、产科等因平滑肌引起的疼痛.我国自2002年开始引进该药物并应用于临床,相关领域应用逐渐增多,尤其在产科的应用目前已显示良好的疗效.大量报道表明他可缓解宫颈痉挛、缩短产程,并协调宫缩.目前有文献报道间苯三酚用于胆绞痛、痉挛性腹痛以及肠镜检查、胰胆管造影术,显示出良好的止痛效果,且不良反应少.但在临床上未见有关间苯三酚在肛肠科术后镇痛中应用的报道.间苯三酚能直接作用于胃肠道和泌尿生殖平滑肌,是一种亲肌性非阿托品、非罂粟碱类的纯平滑肌肉解痉药.与其他平滑肌解痉药相比,间苯三酚的特点是不具有抗胆碱作用,在解除平滑肌痉挛同时,不会产生一系列抗胆碱不良反应,不会引起低血压、心率加快、心律失常等症状,对心血

■创新盘点

本研究结果显示,间苯三酚用于混合痔术后镇痛,疗效确切,不良反应小,而且能减少术后尿潴留、肛缘水肿等并发症.

■同行评价

文章条理分明,且科学性、创新性和可读性尚可,具有一定的临床参考价值。

管功能没有影响^[14,15]。间苯三酚只作用于痉挛平滑肌,对正常平滑肌只有极小的影响^[16]。

本研究结果显示,间苯三酚用于混合痔术后镇痛,疗效确切,不良反应小,而且能减少术后尿潴留、肛缘水肿等并发症。其机制可能是直接作用于痉挛肛门内括约肌,缓解痉挛而止痛,作用于痉挛尿道和膀胱括约肌,减少术后尿潴留。同时止痛可明显减少机体的应激反应,减少组织的分解代谢,可减轻伤口的水肿而促进伤口的愈合。

4 参考文献

- 1 Wexner SD. The quest for painless surgical treatment of hemorrhoids continues. *J Am Coll Surg* 2001; 193: 174-178
- 2 傅传刚, 张卫, 王汉涛, 司徒光伟. 吻合器环形痔切除术. *中国实用外科杂志* 2001; 21: 653-655
- 3 中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组, 中华中医药学会肛肠病专业委员会, 中国中西医结合学会结直肠肛门病专业委员会. 痔临床诊治指南(2006版). *中华胃肠外科杂志* 2006; 9: 461-463
- 4 中华人民共和国卫生部药政管理局. 癌症病人三阶梯止痛疗法的指导原则. *中国疼痛医学杂志* 1995; 1:

49-51

- 5 吴在德, 吴肇汉. 外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 677-678
- 6 胡伯虎. 大肠肛门病治疗学. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 470-471
- 7 国家中医药管理局中医药标准管理部. 中华人民共和国中医药行业标准. 南京: 南京大学出版社, 1995: 131
- 8 杨建芳, 王彦君, 常淑娴. 肛肠病患者术后疼痛的原因分析及处理. *中国交通医学杂志* 2006; 20: 95-97
- 9 何雯玉. 肛肠病术后并发尿潴留的原因和防治体会. *长春中医药大学学报* 2007; 23: 74-75
- 10 Woolf CJ, Chong MS. Preemptive analgesia--treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993; 77: 362-379
- 11 夏二荣. 不同浓度美蓝对术后镇痛的比较观察. *安徽中医临床杂志* 2002; 14: 121
- 12 苏本兵, 苏道广. 减轻肛肠术后疼痛机制探讨. *中医药临床杂志* 2005; 17: 196
- 13 潘琼. 音乐放松疗法缓解肛肠术后疼痛的效果观察. *中西医结合研究* 2011; 3: 86-88
- 14 吴霞, 翟桂荣, 黄醒华. 潜伏期应用间苯三酚对第一产程的影响. *中华围产医学杂志* 2005; 8: 150-153
- 15 叶萍, 李兆申, 邹多武, 许国铭, 李珍, 黄伟灿. 间苯三酚注射液治疗痉挛性腹痛的临床观察. *第二军医大学学报* 2002; 23: 390, 426
- 16 汤光, 李大魁. 现代临床药理学. 北京: 化学工业出版社, 2003: 635-636

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.694

本刊讯 2011-12-02, 一年一度的中国科技论文统计结果由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3458次, 影响因子0.694, 综合评价总分60.6分, 分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位, 分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位; 其他指标: 他引率0.83, 被引半衰期4.9, 来源文献量712, 文献选出率0.90, 参考文献量17963, 平均引文数25.23, 平均作者数4.35, 地区分布数29, 机构分布数349, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。(编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

嗜酸性粒细胞性胃肠炎1例

赵亮, 赵子夜, 柏愚, 邹多武, 李兆申

赵亮, 赵子夜, 柏愚, 邹多武, 李兆申, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院消化内科 上海市 200433

赵亮, 硕士, 主要研究方向是胃肠病学.

作者贡献分布: 本文的撰写、文献查询、收集临床资料由赵亮完成; 赵子夜负责文献查询、配图; 柏愚提供临床资料及数据; 邹多武负责文章修改; 文章审校由李兆申完成.

通讯作者: 李兆申, 教授, 200433, 上海市杨浦区长海路168号, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院消化内科.

rauliliang008@163.com

收稿日期: 2012-02-01 修回日期: 2012-03-15

接受日期: 2012-03-28 在线出版日期: 2012-05-18

Eosinophilic gastroenteritis: A case report

Liang Zhao, Zi-Ye Zhao, Yu Bai, Duo-Wu Zou, Zhao-Shen Li

Liang Zhao, Zi-Ye Zhao, Yu Bai, Duo-Wu Zou, Zhao-Shen Li, Department of Gastroenterology, Affiliated Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Zhao-Shen Li, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Changhai Hospital of the Second Military Medical University, 168 Changhai Road, Yangpu District, Shanghai 200433, China. rauliliang008@163.com

Received: 2012-02-01 Revised: 2012-03-15

Accepted: 2012-03-28 Published online: 2012-05-18

Abstract

Eosinophilic gastroenteritis (EG) is a very rare clinical entity and is often misdiagnosed as acute gastroenteritis or ulcerative colitis. Here we report the clinical, endoscopic and pathological features of a case of EG, aiming to raise awareness of this rare disease.

Key Words: Gastroenteritis; Eosinophilic; Misdiagnosis

Zhao L, Zhao ZY, Bai Y, Zou DW, Li ZS. Eosinophilic gastroenteritis: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1263-1265

摘要

嗜酸性粒细胞性胃肠炎是一种临床上较为罕见的疾病, 以嗜酸性粒细胞在胃肠壁某一层或全层浸润, 释放细胞毒性球蛋白损伤组织为特征. 此病非常罕见, 国内外文献报道较少, 临床上易误诊为急性胃肠炎、溃疡性结肠炎等. 本文报道嗜酸性粒细胞性胃肠炎1例, 通过病史

及内镜检查、病理结果并结合文献进行分析讨论, 提高对嗜酸性粒细胞性胃肠炎的认识.

关键词: 胃肠炎; 嗜酸性粒细胞性; 误诊

赵亮, 赵子夜, 柏愚, 邹多武, 李兆申. 嗜酸性粒细胞性胃肠炎1例. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1263-1265

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1263.asp>

0 引言

嗜酸性粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是胃肠炎症之一, 此病较为罕见, 2011年于我院接诊1例, 现报道如下.

1 病例报告

男, 16岁, 因“间断性腹痛1 mo余”以“腹痛待查”于2011-03-11收入我院. 患者缘于1 mo前无明显诱因感上腹疼痛, 以隐痛、胀痛为主, 呈阵发性发作, 疼痛难忍, 偶有剧烈腹痛伴恶心、呕吐, 大便次数增多, 每日3-5次, 不成形, 自述呕吐物及粪便多为“墨绿色”. 无畏寒、发热、盗汗, 无咳嗽、咳痰. 曾就诊于当地医院, 诊断不明, 经治疗无好转, 遂就诊于我院. 2011-03-04患者发病以来食欲食量、精神状态、体力情况均较差, 体质量下降10 kg, 小便无异常. 患者既往体健, 无肠道寄生虫病史, 否认有特殊食物、药物过敏史.

查体: T 36.8℃, P 80 b/min, R 20次/分, BP 120/90 mmHg. 一般状况良好, 全身皮肤无黄染, 未见皮疹及出血点, 无肝掌、蜘蛛痣. 巩膜无黄染, 心肺无异常. 腹平坦, 无腹壁静脉曲张, 腹部柔软, 剑突下压之不适, 无明显压痛、反跳痛, 腹部无包块. 肝脾肋下未触及, Murphy氏征阴性, 肾区无叩击痛, 移动性浊音可疑. 肠鸣音未见异常, 4次/分.

实验室检查: 入院后血常规: 白细胞 $22.79 \times 10^9/L$, 中性粒细胞9.9%, 嗜酸性粒细胞72.5%, 绝对值 $16.52 \times 10^9/L$; 血小板 $303 \times 10^9/L$, 血红蛋白170 g/L. 肝肾功能: 总胆红素17.7 $\mu\text{mol/L}$, 直接胆红素8.6 $\mu\text{mol/L}$, 白蛋白45 g/L, 丙氨酸氨基转

■背景资料

嗜酸性粒细胞性胃肠炎(EG)是一种临床上较为罕见的疾病, 发病率低, 无任何特异性症状, 临床上易误诊为急性胃肠炎、溃疡性结肠炎等. 对该病的具体病因及发病机制的探索是当前研究热点.

■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■应用要点

对于腹痛伴嗜酸性粒细胞增多的患者,应高度怀疑嗜酸性粒细胞胃肠炎的可能,同时结合临床资料、内镜检查以及病理检查,明确诊断并予以及时有效的治疗,在一定程度上减少误诊误治。

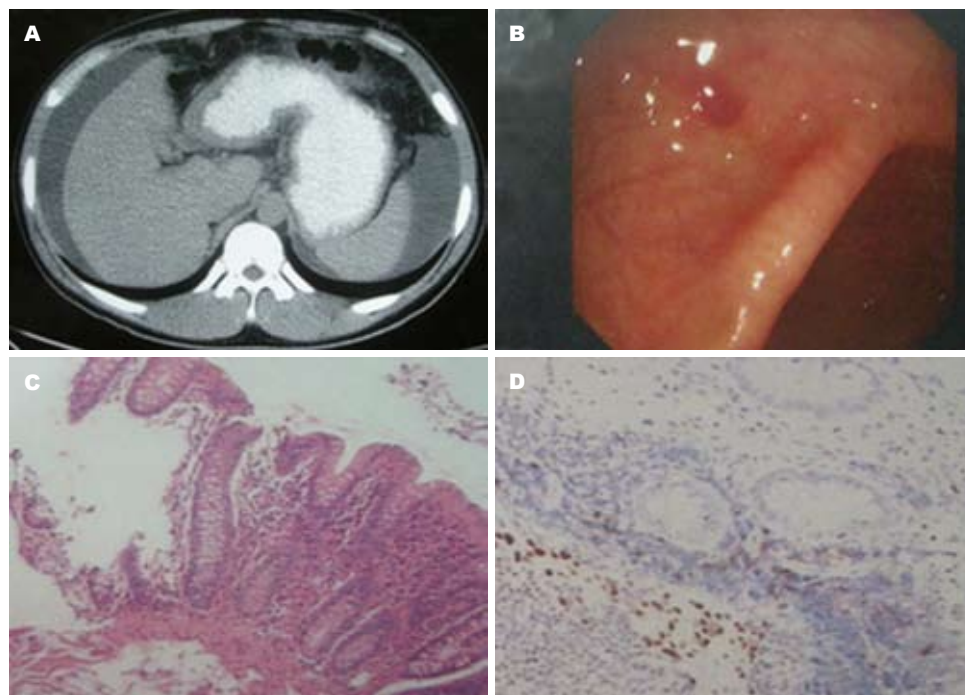


图1 患者辅助检查。A: CT示胃窦部改变; B: 肠镜示回肠末端炎症、溃疡; C: 病理示回盲部、回肠末端、升结肠、降结肠有少量嗜酸性粒细胞浸润; D: 免疫组织化学示回肠黏膜淋巴组织反应性增生。

移酶29 U/L, 碱性磷酸酶60 U/L, 门冬氨酸氨基转移酶26 U/L, 肌酐100 $\mu\text{mol/L}$, 尿素4.8 mmol/L。粪常规: 潜血阴性, 虫卵阴性, 红细胞、白细胞阴性。糖类抗原CA199 7.08 U/mL, 癌胚抗原0.83 $\mu\text{g/L}$ 。红细胞沉降率、C反应蛋白、肝炎标志物、抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗中性粒细胞胞质抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)、抗线粒体抗体、抗核糖体抗体、抗肾小球基底膜抗体、抗ds-DNA、抗Scl-70抗体、抗Jo-1抗体、抗Sm抗体、抗SS-A抗体、抗SS-B抗体均为阴性。

辅助检查: 腹部B超提示少量腹水, 肝胆胰脾肾均未见异常; 上腹部CT提示胃窦部改变(图1A), 建议胃镜检查排除胃癌, 腹水。骨髓穿刺细胞学检查: 骨髓有核细胞增生明显活跃, 粒系占70.5%, 其中嗜酸性粒细胞比值明显偏高, 约24.5%, 杆状核嗜酸性粒细胞6.5%, 分叶核嗜酸粒细胞11%。胃镜提示: 糜烂性胃炎, 十二指肠降部多发溃疡。病理: (胃窦)中度慢性浅表性炎, (十二指肠)溃疡。肠镜提示: 回肠末端炎症、溃疡, 升结肠息肉(图1B)。病理: (回盲部、回肠末端、升结肠、降结肠)黏膜慢性炎症伴糜烂, 少量嗜酸性粒细胞浸润(图1C)。免疫组织化学: (回肠黏膜)慢性炎症伴糜烂及淋巴组织反应性增生(图1D)。

诊断及治疗: 结合病史及辅助检查, 临床诊

断为EG。予以每天口服泼尼松片30 mg, 并予保护胃黏膜等对症治疗, 患者腹痛症状明显减轻, 服药3 d后复查血常规示白细胞 $11.17 \times 10^9/\text{L}$, 中性粒细胞42.9%, 嗜酸性粒细胞18.8%、绝对值 $2.1 \times 10^9/\text{L}$; 血小板 $313 \times 10^9/\text{L}$, 血红蛋白139 g/L。患者于2011-03-21出院, 随诊至今无复发。

2 讨论

EG是一种临床上较为罕见的疾病, 以嗜酸性粒细胞在胃肠壁某一层或全层浸润, 释放细胞毒性球蛋白损伤组织为特征, 可发生于各年龄段。其病因及发病机制尚不明确, 可能与过敏反应、免疫功能障碍有关。嗜酸性粒细胞可浸润食管至直肠各段, 但以胃和小肠受累最常见。该病临床表现多样, 可表现为恶心、呕吐、腹痛、腹泻、肠梗阻等, 缺乏特异性, 易误诊为急性胃肠炎、溃疡性结肠炎等。

Klein等^[1]将本病分为3型: (1)黏膜病变型。此型最常见, 主要为胃肠黏膜充血水肿、糜烂、嗜酸性粒细胞浸润, 以腹痛、恶心、呕吐、腹泻、体质量减轻为特点, 可伴有贫血及蛋白丢失性肠病、湿疹、鼻炎等; (2)肌层病变型。较少见, 常累及胃窦, 致幽门梗阻, 偶可致胆道、胰管梗阻; (3)浆膜病变型。最少见, 发生率低于10%, 浆膜增厚并可累及肠系膜淋巴结, 引起腹膜炎、腹水, 腹水中嗜酸性粒细胞可高达

■名词解释

嗜酸性粒细胞性胃肠炎: 以嗜酸性粒细胞在胃肠壁某一层或全层浸润, 释放细胞毒性球蛋白损伤组织为特征, 可发生于各年龄段, 常表现为恶心、呕吐、腹痛、腹泻、肠梗阻等, 缺乏特异性, 易误诊为急性胃肠炎、溃疡性结肠炎等。

95%。此外, 还可有黏膜浆膜混合型、全层型等混合类型。

本例患者以间断性上腹痛, 伴恶心、呕吐、大便次数增多、体质量减轻为主要临床表现, 血常规及骨髓象均提示嗜酸性粒细胞明显增多, 回盲部、回肠末端、升结肠、降结肠等多处活检均可见少量嗜酸性粒细胞浸润, 免疫组织化学也提示回肠黏膜淋巴组织反应性增生。综合来看, 本例患者诊断符合上述标准, 提示为黏膜型嗜酸性粒细胞肠炎。患者服用泼尼松片后腹痛症状明显好转, 复查血常规也提示嗜酸性粒细胞明显降低, 出院后继续激素治疗, 随访至今无复发。激素是治疗本病最有效的药物, 但停药后复发率较高, 且有一定的不良反应。当激

素治疗效果不佳时, 可加用免疫抑制剂。色甘酸钠和酮替芬能改善症状、降低嗜酸性粒细胞, 可作为激素治疗的替代药物。部分患者伴有肠穿孔或肠梗阻时, 若内科保守治疗无效, 需采取手术治疗, 术后仍需激素维持治疗一段时间。本病多数预后良好, 可有反复发作, 但极少恶变, 偶有死亡。总之, 对于腹痛伴嗜酸性粒细胞增多的患者, 应高度怀疑嗜酸性粒细胞胃肠炎的可能, 同时结合临床资料、内镜检查以及病理检查, 明确诊断并予以及时有效的治疗。

3 参考文献

- 1 Klein NC, Hargrove RL, Sleisenger MH, Jeffries GH. Eosinophilic gastroenteritis. *Medicine* (Baltimore) 1970; 49: 299-319

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

■同行评价

本研究病例选择较好, 资料比较全面, 讨论条理分明, 结果可信, 是近年来较难得的资料较全的论文, 对临床医生有一定的指导意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012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)

原发性肝癌合并胆道出血致急性胰腺炎1例

庞慧芳, 覃华, 黎培员, 朱亮, 卢晓云, 徐胜南, 赵慧贞, 赵秋

■背景资料

原发性肝癌合并胆管癌栓临床上少见, 易继发梗阻性黄疸、胆道出血、胆道感染等并发症, 很少引起急性胰腺炎的发生。由于胆道癌栓比原发癌灶较早引起黄疸和胆道感染等多种临床表现, 临床上易误诊为胆管癌、胆石症、胆管炎, 从而延误诊治时机。

庞慧芳, 覃华, 黎培员, 朱亮, 卢晓云, 徐胜南, 赵慧贞, 赵秋, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

庞慧芳, 硕士, 主要从事胰腺肿瘤的研究。

作者贡献分布: 覃华与庞慧芳对此文所作贡献均等; 此课题由覃华与庞慧芳设计并撰写; 朱亮、黎培员、卢晓云、徐胜南及赵慧贞共同参与临床监测及护理; 赵秋负责对论文进行指导与修改。

通讯作者: 赵秋, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。

zhaoqiu@medmail.com.cn

电话: 027-83663334

收稿日期: 2012-02-21 修回日期: 2012-03-25

接受日期: 2012-04-17 在线出版日期: 2012-05-18

Acute pancreatitis secondary to primary liver cancer with hemobilia: A case report and literature review

Hui-Fang Pang, Hua Qin, Pei-Yuan Li, Liang Zhu, Xiao-Yun Lu, Sheng-Nan Xu, Hui-Zhen Zhao, Qiu Zhao

Hui-Fang Pang, Hua Qin, Pei-Yuan Li, Liang Zhu, Xiao-Yun Lu, Sheng-Nan Xu, Hui-Zhen Zhao, Qiu Zhao, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Qiu Zhao, Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhaoqiu@medmail.com.cn

Received: 2012-02-21 Revised: 2012-03-25

Accepted: 2012-04-17 Published online: 2012-05-18

Abstract

Primary liver cancer (PLC) may lead to many complications. The formation of bile tumor thrombi in the bile duct of patients with PLC is not a rare clinical condition; however, hemobilia and acute pancreatitis caused by bile duct thrombus formation in PLC patients are very rare. Here we report such a case in a 48-year-old female and perform a review of the literature on the diagnosis and treatment of this rare disorder. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and transcatheter hepatic arterial chemoembolization (TACE) are very important for the early diagnosis and treatment of this condition.

Key Words: Primary liver cancer; Hemobilia; Acute

pancreatitis; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Transcatheter hepatic arterial chemoembolization

Pang HF, Qin H, Li PY, Zhu L, Lu XY, Xu SN, Zhao HZ, Zhao Q. Acute pancreatitis secondary to primary liver cancer with hemobilia: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(14): 1266-1269

摘要

原发性肝癌可继发多种并发症, 其中胆管癌栓临床上较少见, 胆道出血及急性胰腺炎比较罕见。因此, 通过报道该例患者的诊治经过, 阐述原发性肝癌并胆管癌栓及其相关并发症的诊治进展。本研究认为内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)技术对于原发性肝癌合并胆管癌栓致胆道出血、急性胰腺炎患者的早期诊治具有重要价值, 对于无法耐受手术的患者可结合肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)治疗有效控制癌栓出血, 从而有助于延长患者生存期以及改善生活质量。

关键词: 原发性肝癌; 胆道出血; 急性胰腺炎; 内镜逆行胰胆管造影术; 肝动脉化疗栓塞

庞慧芳, 覃华, 黎培员, 朱亮, 卢晓云, 徐胜南, 赵慧贞, 赵秋. 原发性肝癌合并胆道出血致急性胰腺炎1例. *世界华人消化杂志* 2012; 20(14): 1266-1269

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1266.asp>

0 引言

原发性肝癌合并胆道出血为急性胰腺炎非常罕见的病因之一, 2011-05我院收治1例原发性肝癌合并胆道出血致急性胰腺炎患者, 现将本例患者相关资料报道如下。

1 病例报告

女, 48岁, 因“上腹痛伴腹胀、黄疸1 wk, 加重1 d”入院。起病前无明显诱因, 上腹痛为持续性隐痛, 伴左侧腰背部胀痛, 进食后加重; 伴皮肤

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

黏膜及巩膜黄染、尿黄, 无皮肤瘙痒及恶心、呕吐、呕血、黑便等不适, 亦无畏寒、发热、咳嗽、咳痰及心慌、胸闷等不适, 为求进一步诊治来我科。患者自起病以来精神、饮食及睡眠差, 体力下降, 体质量稍减轻。既往于2年前因“肝硬化合并脾功能亢进”而行脾切除治疗; 半年前于我院因“原发性肝癌并肝门部胆管癌栓形成”行内镜下胆管塑料支架引流术后行“肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)”治疗3次, 复查肝门部肿瘤明显缩小。入院体格检查: 生命体征平稳, 全身皮肤黏膜及巩膜中度黄染, 心肺无阳性体征, 腹平软, 上腹部及左上腹部压痛(+), 无反跳痛, 肝右肋下未触及, 剑突下4横指, 质硬, 表面结节不平, 触痛(+), 移动性浊音阴性。入院后血生化: 谷丙转氨酶(ALT)213 U/L, 谷草转氨酶(AST)323 U/L, 总胆红素(T-BIL)130 $\mu\text{mol/L}$, 直接胆红素(D-BIL)92.6 $\mu\text{mol/L}$, 碱性磷酸酶(ALP)312 U/L, γ -谷氨酰转肽酶(GGT)373 U/L, C-反应蛋白(CRP)11.5 mg/L, 血淀粉酶1 920 U/L, 血糖6.72 mmol/L; 血常规未见明显异常; 肿瘤标志物: 糖类抗原CA199 1 025.47 U/mL, 甲胎蛋白(AFP)40.77 $\mu\text{g/L}$, CA125 52.5 U/mL。上腹部彩超提示: 肝硬化; 肝内实质性肿块, 肝内胆管扩张; 急性胰腺炎; 胰管扩张; 少量腹水。入院后诊断为: (1)原发性肝癌并胆管癌栓形成、阻塞性黄疸; (2)急性胰腺炎。予以禁食、抑酸、抑制胰液分泌、护肝、抗感染及补液等治疗后急诊行内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)检查及治疗, 术中十二指肠内见大量血性液体, 主乳头开口处见血凝块嵌顿及活动性出血(图1), 肝外胆管及左肝管内多发性充盈缺损影, 右肝管未显影, 诊断为原发性肝癌侵犯胆管致胆管癌栓形成并出血, 内镜下以取石网篮将血凝块取出后于左肝管内留置鼻胆管, 术后鼻胆管引流出大量血性液体。术后患者腹痛、腹胀明显减轻至完全消失, 12 h后复查血淀粉酶为135 U/L。术后24 h鼻胆管引流出血性液体约400 mL, 考虑仍有胆道活动性出血遂急诊行肝动脉栓塞治疗, 术中以超液化碘油8 mL栓塞肝左、右动脉, 术后鼻胆管引流液颜色渐由暗红色血液转为黄色胆汁伴少许血性液体, 栓塞术后第3天鼻胆管引出液为正常胆汁, 胆道内出血完全停止, 复查血生化示: ALT 60 U/L, AST 39 U/L, T-BIL 47.9 $\mu\text{mol/L}$, D-BIL 37.1 $\mu\text{mol/L}$, ALP 186 U/L, GGT 192 U/L, 血淀



图1 ERCP观察术中十二指肠病变。内镜下见血凝块嵌顿于十二指肠主乳头开口处, 并可见活动性出血。

粉酶76 U/L。术后1 wk复查肝功能、胰腺功能完全恢复正常出院。

2 讨论

原发性肝癌发病率逐年升高, 我国每年死于肝癌约11万人, 占全世界肝癌死亡人数的45%, 严重威胁着国人健康。原发性肝癌伴胆管癌栓临床上较少见, 在尸检和手术切除标本中胆管癌栓约占2%-9%^[1,2], 其诊断与胆管癌、壶腹部癌及胆道结石难以鉴别。胆管癌栓可继发多种并发症, 如梗阻性黄疸、胆道出血、胆道感染等。肝癌侵犯胆管主要有以下途径: 肿瘤直接浸润肝内胆管; 癌细胞侵入静脉或淋巴管, 逆行侵入胆管; 肿瘤细胞沿神经末梢的间隙侵入胆管等。本患者曾因黄疸来我院就诊, 确诊为原发性肝癌侵犯胆管后癌栓形成并发阻塞性黄疸, 结合本病例我们认为肝癌伴胆管癌栓的共同特点如下: (1)具有原发性肝癌的高危因素, 有肝炎病史(乙肝为主)伴不同程度肝硬化, 年龄>40岁; (2)肿瘤标志物升高; (3)影像学提示肝内占位性病变, 胆道扩张及胆管内异常回声; (4)血生化示肝功能及胆红素异常, 此外还有梗阻性黄疸及腹痛、发热、黑便等临床表现。上述共同特点与Luo等^[3]研究分析结果一致。原发性肝癌伴胆管癌栓可根据上述临床特点, 并结合B超、CT、MRI/MRCP以及ERCP检查结果进行诊断。ERCP检查在肝癌伴胆管癌栓合并阻塞性黄疸的诊断中具有重要价值^[4-7], 可同时置入胆管支架解除胆道梗阻。

胆道出血为上消化道出血的少见病因之一, 而肝癌伴胆管内癌栓出血在临床上更为罕见, 其临床表现有腹痛、黄疸、黑便等, 可结合B超及CT进一步明确诊断。胆管癌栓继发胆道出血及急性胰腺炎在临床上较少见, 国外文献报道胆道出血为急性胰腺炎的罕见病因之一^[8-10]。近年来随着ERCP在肝胆疾病中的广泛应用及治疗性ERCP技术的不断成熟^[11], ERCP在胆道出血的诊断及治疗中越来越占主导地位。本例患者

■研发前沿

原发性肝癌侵犯胆管形成癌栓致胆道出血及进一步引起急性胰腺炎在临床上非常罕见, 对其诊断及治疗手段的掌握非常重要。ERCP技术联合TACE术对此病的诊治, 尤其对于进展期肝细胞癌, 是临床研究的热点问题。

■相关报道

Tseng、陈君武等均报道过对肝癌合并胆管癌栓致胆道出血及急性胰腺炎的患者, 行内镜下取血凝块+鼻胆管引流+选择性肝动脉栓塞等综合治疗后症状取得显著改善, 预后较好。

■名词解释

胆管癌栓: 肝内肿瘤侵犯胆管壁形成癌栓后阻塞胆管, 发生梗阻性黄疸、胆道感染等表现, 癌栓质软, 易坏死、出血、脱落, 往往与胆管壁无紧密粘连, 较易清除干净。

出现胆道出血及急性胰腺炎主要与肝癌侵犯胆管壁形成癌栓, 进而坏死、出血, 胆道内血凝块形成及脱落坏死组织嵌顿于乳头部从而导致胆管梗阻有关。

肝癌切除加胆管癌栓取出术被认为是肝癌合并胆管癌栓的最有效的治疗手段^[3,12], 但对于肝门部肿瘤较大, 肝功能及全身情况较差难以耐受手术者主张微创的综合治疗, 如内镜介入治疗、TACE术、射频消融术、放疗及经皮肝穿刺注射无水酒精, 胆道经内镜内外引流及经皮肝穿刺途径(PTCD)胆道引流等。国外有文献报道, 对于不可切除的肝细胞癌的非手术治疗方法中TACE术为首选, 与放化疗及射频消融术相比应用更为广泛^[13], TACE术不仅使原发癌组织血管阻塞, 提高局部化疗药物浓度, 而且能够阻断胆管癌栓血供, 使癌栓坏死脱落从而达到治疗目的^[14]。Luo等^[3]回顾性分析184例采用不同方式治疗的肝癌合并胆管癌栓患者的中位生存期, 根治性肝癌切除+胆管癌栓切除组为37 mo; 肝癌姑息性切除+癌栓切除+肝动脉结扎或TACE术组为16 mo; 单纯TACE术组为11 mo。Fukuda等^[15]报道肝癌合并胆管癌栓患者接受根治性肝癌切除+TACE治疗后最长生存期为17年余。针对不能耐受根治性切除的患者胆道引流结合阻断癌栓血供是延长患者生存期的关键, 也可为二期手术创造条件。临床上肝癌合并胆管癌栓较门静脉癌栓少见, 但胆管癌栓与胆管壁无紧密粘连, 癌栓质软, 易坏死、出血、脱落, 不向胆管壁浸润, 较易清除干净^[16,17]。Tseng等^[18]报道1例肝癌合并胆管癌栓致胆道出血引起急性胰腺炎的患者, 行内镜下取血凝块+鼻胆管引流+选择性肝动脉栓塞等综合治疗后症状显著改善出院, 其疗效与本例患者一致。陈君武等^[19]也有类似报道, 曾对2例原发性肝癌经TACE术后出现胆道出血的患者, 内镜下取出血块及癌栓后鼻胆管冲洗注药引流, 并再次超选择性肝动脉插管至出血部位进行栓塞成功止血。据文献报道肝动脉栓塞治疗胆道出血有效率达85.7%^[20], 此类方法简便安全、创伤小、疗效确切。

原发性肝癌合并胆管癌栓的病程发展迅速, 其预后尚有争议^[21], 但因并发症较多而严重影响患者生活质量以及远期预后。针对合并胆道出血及急性胰腺炎又难以耐受手术者, 早期行ERCP检查可尽早明确诊断并采取有效的治疗手段是控制临床症状, 延长生存期及改善患者生活质量的关键。

3 参考文献

- 1 Ueda M, Takeuchi T, Takayasu T, Takahashi K, Okamoto S, Tanaka A, Morimoto T, Mori K, Yamaoka Y. Classification and surgical treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) with bile duct thrombi. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 349-354
- 2 Satoh S, Ikai I, Honda G, Okabe H, Takeyama O, Yamamoto Y, Yamamoto N, Iimuro Y, Shimahara Y, Yamaoka Y. Clinicopathologic evaluation of hepatocellular carcinoma with bile duct thrombi. *Surgery* 2000; 128: 779-783
- 3 Luo XJ, Tan WF, Yi B, Liu c, Jiang XQ, Zhang BH, Sheng F, Wu MC. Surgery of hepatocellular carcinoma complicated with cancer thrombi in bile duct: efficacy for criteria for different therapy modalities. *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 1033-1039
- 4 于凤海, 叶萍, 孙媛媛, 张薇. 肝门部胆管癌与胆管癌栓的影像学特点分析. *中华腔镜外科杂志* 2008; 1: 97-99
- 5 毕永林, 朱彤, 范峻, 龚彪. 胆管癌栓的内镜介入治疗. *中国内镜杂志* 2004; 10: 18-20
- 6 王爱东, 方哲平, 龚彪. 48例原发性肝癌伴梗阻性黄疸的ERCP处理. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 458-460
- 7 薛平, 胡以则, 卢海武, 杨学伟. ERCP在肝细胞癌并胆管癌栓时的应用. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 107-109
- 8 Alis H, Bozkurt MA, Oner OZ, Dolay K, Turhan AN, Uçar A, İnci E, Aygun E. Case report: acute pancreatitis caused by postcholecystectomy hemobilia. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 75
- 9 Jornod P, Wiesel PH, Pescatore P, Gonvers JJ. Hemobilia, a rare cause of acute pancreatitis after percutaneous liver biopsy: diagnosis and treatment by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3051-3054
- 10 Paikos D, Katsinelos P, Kontodimou K, Chatzimavroudis G, Pilpilidis I, Moschos I, Soufleris K, Papaziogas B. Acute recurrent pancreatitis complicating hemobilia in a patient with hepatocellular cancer and recipient of anticoagulants successful treatment with metal stent placement (pancreatitis complicating hemobilia). *Pancreas* 2007; 34: 168-169
- 11 Qin LX, Ma ZC, Wu ZQ, Fan J, Zhou XD, Sun HC, Ye QH, Wang L, Tang ZY. Diagnosis and surgical treatments of hepatocellular carcinoma with tumor thrombosis in bile duct: experience of 34 patients. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1397-1401
- 12 王庆新, 严以群, 吴孟超. 肝细胞性肝癌伴胆管癌栓的手术治疗. *中华肝胆外科杂志* 2009; 15: 385-386
- 13 Lau WY, Yu SC, Lai EC, Leung TW. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 155-168
- 14 李臻, 张文广, 韩新巍. 原发性肝细胞癌介入治疗的现状与进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 221-226
- 15 Fukuda S, Okuda K, Imamura M, Imamura I, Eri-guchi N, Aoyagi S. Surgical resection combined with chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombus: report of 19 cases. *Surgery* 2002; 131: 300-310
- 16 利仕文, 徐旭, 方富义. 肝细胞肝癌伴胆管癌栓的外科处理10例分析. *中国临床新医学* 2010; 9: 665-667
- 17 Peng BG, Liang LJ, Li SQ, Zhou F, Hua YP, Luo SM. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma with bile duct tumor thrombi. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3966-3969
- 18 Tseng LJ, Jao YT, Mo LR. Acute pancreatitis caused

- by hemobilia secondary to hepatoma with bile duct invasion. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 240-241
- 19 陈君武, 郑汉军, 尤天庚, 晏建军, 严以群. 肝动脉化疗栓塞术后并发上消化道出血23例临床分析. *西南军区杂志* 2004; 6: 16-17
- 20 徐爱民, 程红岩, 陈栋, 贾雨辰, 吴孟超. 选择性肝动

- 脉栓塞对胆道出血的急症处理. *中华急诊医学杂志* 2002; 11: 119-120
- 21 Peng SY, Wang JW, Liu YB, Cai XJ, Xu B, Deng GL, Li HJ. Hepatocellular carcinoma with bile duct thrombi: analysis of surgical treatment. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 801-804

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

■同行评价

本文报道采用ERCP结合TACE诊断与治疗原发性肝癌合并胆管癌栓、出血致胰腺炎, 取得良好的近期疗效, 对临床应用有一定借鉴意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价68.00元, 全年2448.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2011年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》

和中国知识资源总库收录。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3 458次, 影响因子0.694, 综合评价总分60.6分, 分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位, 分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位; 其他指标: 他引率0.83, 被引半衰期4.9, 来源文献量712, 文献选出率0.90, 参考文献量17 963, 平均引文数25.23, 平均作者数4.35, 地区分布数29, 机构分布数349, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学术名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP,

PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或 $T_{1/2}^1$, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max} , C_{max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$, WBC数用 $1 \times 10^9/L$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2010年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2011年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

文大写 F ; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第三套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿

号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾

病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象、应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一

律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来

稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 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, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2012年国内国际会议预告

2012-05-26/31

2012年世界医学物理与生物医学工程大会

会议地点: 北京市

联系方式: info@wc2012.org

2012-06-01/03

2012中国北京超声医师学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: zhumin301@163.com

2012-06-15/17

第一届糖尿病大会、第二届内分泌与代谢大会

会议地点: 北京市

联系方式: medical585@163.com

2012-06-15/17

第九届全国抗菌药物临床药理学术会议

会议地点: 北京市

联系方式: doctorzhengbo@163.com; liyun1907@sina.com

2012-06-29/07-01

第二十四次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 宁波市

联系方式: qgzxyjhxh@163.com

2012-06-30/07-01

中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 哈尔滨市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-07-01/31

第一届全国普通外科青年医师学术论坛

会议地点: 北京市

联系方式: cmacjs@cma.org.cn

2012-07-01/31

第二届全国普通外科手术技术学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lining@126.com

2012-07-27/29

第十届全国胃病学术大会

会议地点: 哈尔滨市

联系方式: xiaohuahuiyi2012@163.com

2012-08-08/10

第五届全国生物信息学与系统生物学学术大会暨国际生物信息学前沿研讨会

会议地点: 哈尔滨市

联系方式: bioinfo@hrbmu.edu.cn

2012-08-25/29

第八届世界华人药物化学研讨会暨第九届IUPAC化学生物学国际研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: liangren@bjmu.edu.cn

2012-08-29/09-01

中华医学会第十一次全国内分泌学学术会议

会议地点: 广州市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-09-01/30

中华医学会第三次全国肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 郑州市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2012-09-01/30

第十五届全国中西医结合大肠肛门病学术交流大会

会议地点: 济南市

联系方式: doclf@163.com

2012-09-14/16

中华医学会第十二次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-09-21/30

2012中华影像技术第20次全国学术大会暨国际影像技术论坛

会议地点: 长春市

联系方式: ting@dxyer.com

2012-09-23/27

第九届海峡两岸细胞生物学研讨会

会议地点: 丽江市

联系方式: cscb@sibs.ac.cn

2012-10-21/11-10

第十四次全国中医肛肠学术交流大会

会议地点: 长沙市

联系方式: gcfh2012@163.com

2012-10-25/28

第13届亚太临床微生物暨感染病会议(APCCMI)

会议地点: 北京市

联系方式: bianxiaoxue@mpco.cn

2012-12-21/23

2012生物医学工程生物信息学国际会议

会议地点: 昆明市

联系方式: beb2012@126.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈卫昌 教授

苏州大学附属第一医院消化内科

程树群 副教授

中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

范学工 教授

中南大学湘雅医院

高国全 教授

中山大学中山医学院生物化学教研室

高英堂 研究员

天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

巩鹏 副教授

大连医科大学附属第一医院普外二科

郝建宇 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

黄晓东 主任医师

武汉市中心医院消化内科

黄缘 教授

南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

季菊玲 副教授

南通大学医学院病理教研室

姜卫东 教授

安徽省立院肝脏外科

李永翔 教授

安徽医科大学第一附属医院

刘平 教授

南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤科

刘正稳 副教授

西安交通大学医学院第一附属医院

孟庆华 教授

首都医科大学附属北京佑安医院肝病四科

朴云峰 教授

吉林大学第一临床医院消化科

孙诚谊 教授

贵阳医学院附属医院

王江滨 教授

吉林大学中日联谊医院

王悦华 副主任医师

首都医科大学附属宣武医院外科

夏时海 副教授

武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

向德兵 教授

中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心

许剑民 教授

上海市复旦大学附属中山医院普外科

于颖彦 副教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心病理室

张俊 副研究员

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

张军 教授

西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

张小晋 主任医师

北京积水潭医院

张力为 副教授

新疆医科大学第一附属医院胸外科

周国雄 主任医师

南通大学附属医院消化内科

周南进 研究员

江西省医学科学研究所生物化学研究室

周素芳 教授

广西医科大学生物化学与分子生物学教研室