

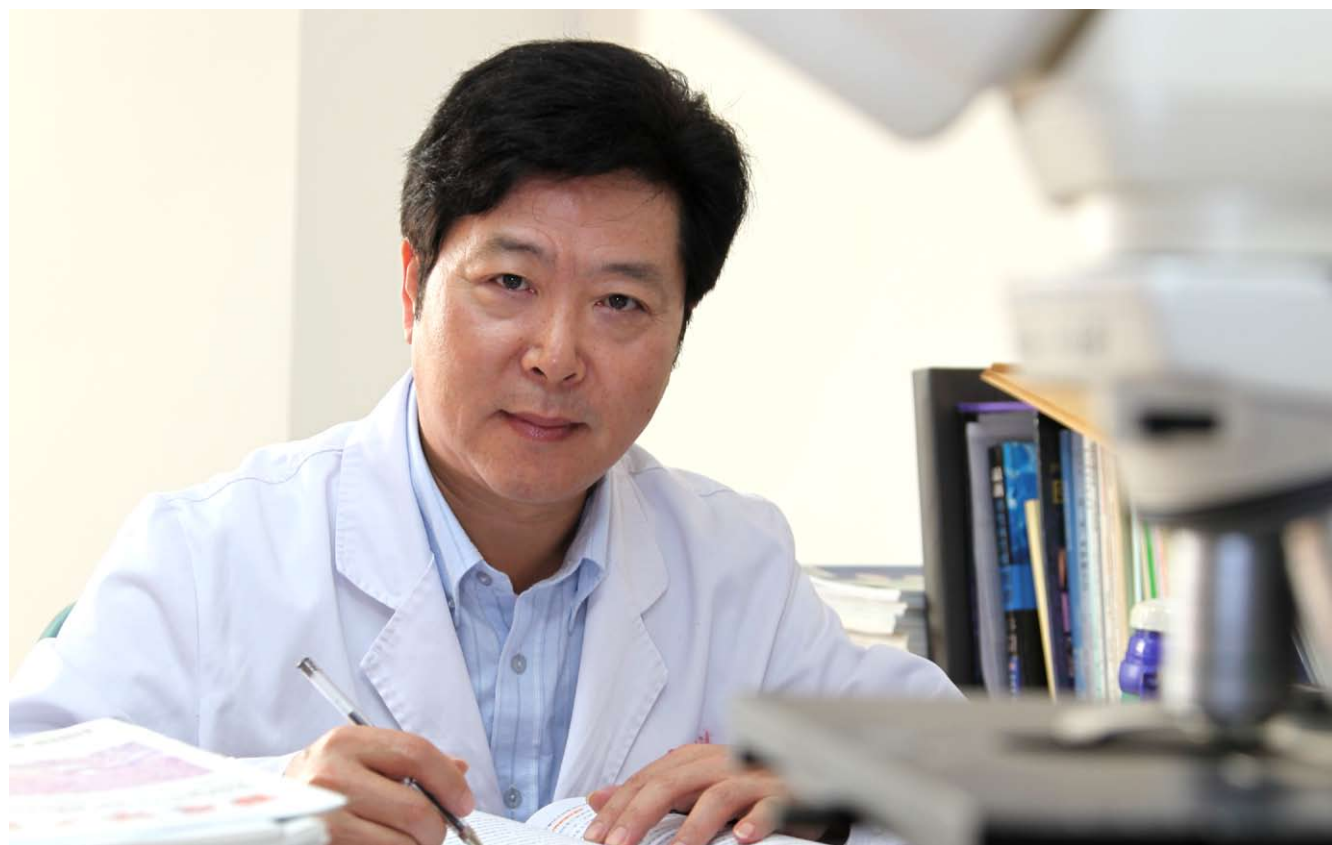
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2012 年 6 月 28 日 第 20 卷 第 18 期 (Volume 20 Number 18)



## 18/2012

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  
姚登福教授  
张宗明教授

### 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  
陈胎胜教授  
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  
郝丽萍副教授

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  
王蔚虹教授  
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  
张庆瑜教授  
张小晋主任医师  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永副教授  
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  
崔亚甫教授  
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  
麻勇副研究员  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民主任医师  
邱伟华主任医师  
仇毓东教授  
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  
孙星副教授  
孙学英教授  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
田晓峰教授  
汪波主任医师

汪根树副教授  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰璜教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泱副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
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  
方今女教授

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

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  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周霞秋教授  
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  
江建新副主任医师  
李璦教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢晓梅教授  
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  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
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  
洪艳教授  
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  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
杜祥教授  
邓昊副教授  
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 6 月 28 日 第 20 卷 第 18 期 (总第386期)

述 评	1595 胃肠道间质瘤的分子学机制及靶向治疗 邱岑, 马大烈
基础 研究	1602 荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax表达的影响 罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐 1609 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠肝组织TLR4, TLR9表达的影响 李宏, 杨勤, 程明亮, 陆爽, 吴君 1616 Urotensin II在急性肝衰竭小鼠肝组织中的表达及损伤作用 刘亮明, 梁冬雨, 张芳芳, 于芳革, 赵亮, 叶长根
临 床 研 究	1623 功能性消化不良症状和近端胃功能的关系 郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 尹立杰, 颜珏, 李红磊 1630 Fibroscan对自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效评估 张在祺, 姚鹏, 杨大伟, 张成平 1638 BISAP联合凝血指标对急性胰腺炎严重程度评估的意义 周慧慧, 林连捷, 郑长青, 林艳, 张静洁, 张立伟
文 献 综 述	1644 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义 张磊, 张淑云
研 究 快 报	1653 SB431542对HSC T6细胞Smad4蛋白细胞内转位及表达的影响 刘芳, 刘浩, 宋丽秀, 陈卫刚, 黎永军, 郑勇 1657 藤梨根提取物对大肠癌LoVo细胞增殖的抑制作用及诱导凋亡的影响 陈永杰, 史仁杰
临 床 经 验	1662 $\beta$ -连环素与原发肝癌术后复发和转移的相关性 张志强, 李东良, 陈少华, 江艺, 程变巧, 范敬静, 马明 1667 超声内镜引导下细针穿刺活检对胰腺实性占位定性诊断价值的Meta分析 朱成林, 黄强, 刘臣海, 谢放, 姚谦 1677 胆管腺瘤临床分析11例 张晓峰, 邱法波, 何俊闯, 曹景玉, 王祖森, 韩冰 1681 上消化道异物内镜急诊处理162例 席银雪, 马东升, 于林芳 1685 功能性便秘动力学改变与情志因素的相关性 迟玉花, 赵刚 1690 结直肠癌肝转移的危险因素分析138例 王健, 余强



附 录	1694 《世界华人消化杂志》投稿须知 1699 2012年国内国际会议预告
志 谢	1700 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1601 《世界华人消化杂志》栏目设置 1608 《世界华人消化杂志》正文要求 1629 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1637 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1643 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1661 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1666 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1676 《世界华人消化杂志》出版流程 1680 《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》 1684 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和IPMC收录 1689 《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) 1693 2011年度《世界华人消化杂志》发文情况
封面故事	《世界华人消化杂志》主编, 马大烈, 教授, 000173, 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
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><b>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</b></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 2012-06-28 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><b>主编</b> 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胃肠内科 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, 福建医科大学附属医院协和医院消化内科 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><b>编辑部主任</b> 李军亮</p>	<p><b>印刷</b> 北京科信印刷厂 <b>发行</b> 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) <b>订购</b> 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(<a href="http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx">http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx</a>), 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><b>特别声明</b> 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

## June 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 28

<b>EDITORIAL</b>	1595 Gastrointestinal stromal tumors: Molecular pathogenesis and targeted therapy <i>Qiu C, Ma DL</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>1602 Effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn on the expression of Bcl-2 and Bax in hepatic fibrosis in rats <i>Luo WS, Jin YL, Ou SY, Qin H, Sun XR</i></p> <p>1609 Intragastric administration of blueberry juice decreases the expression of Toll-like receptors 4 and 9 in rats with immune hepatic fibrosis <i>Li H, Yang Q, Cheng ML, Lu S, Wu J</i></p> <p>1616 Expression and role of Urotensin II in lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver failure in mice <i>Liu LM, Liang DY, Zhang FF, Yu FP, Zhao L, Ye CG</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>1623 Relationship between symptoms and proximal stomach function in patients with functional dyspepsia <i>Guo WJ, Zhang YL, Yao SK, Yin LJ, Yan J, Li HL</i></p> <p>1630 Evaluation of curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis by Fibroscan <i>Zhang ZQ, Yao P, Yang DW, Zhang CP</i></p> <p>1638 Significance of BISAP combined with coagulation parameters in predicting the severity of acute pancreatitis <i>Zhou HH, Lin LJ, Zheng CQ, Lin Y, Zhang JJ, Zhang LW</i></p>
<b>REVIEW</b>	1644 Variations in the hepatitis B virus genome and their clinical significance <i>Zhang L, Zhang SY</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>1653 SB431542 alters the expression and intracellular translocation of Smad4 protein in HSC-T6 cells <i>Liu F, Liu H, Song LX, Chen WG, Li YJ, Zheng Y</i></p> <p>1657 Ethanol extract from radix of Actinidia chinensis inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colon carcinoma cell line LoVo <i>Chen YJ, Shi RJ</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>1662 Correlation between <math>\beta</math>-catenin expression and recurrence and metastasis of primary hepatocellular carcinoma in patients after surgery <i>Zhang ZQ, Li DL, Chen SH, Jiang Y, Cheng BQ, Fan JJ, Ma M</i></p> <p>1667 Diagnostic value of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for solid pancreatic masses: A meta-analysis <i>Zhu CL, Huang Q, Liu CH, Xie F, Yao Q</i></p> <p>1677 A clinical analysis of 11 cases of bile duct adenoma <i>Zhang XF, Qiu FB, He JC, Cao JY, Wang ZS, Han B</i></p> <p>1681 Emergency endoscopic management of upper gastrointestinal foreign bodies: An analysis of 162 cases <i>Xi YX, Ma DS, Yu LF</i></p> <p>1685 Correlation of anorectal motility with anxiety and depression in patients with functional constipation <i>Chi YH, Zhao G</i></p>

	1690 Analysis of prognostic factors in patients with colorectal cancer with liver metastases <i>Wang J, Yu Q</i>
<b>APPENDIX</b>	1694 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 1699 Meeting events calendar in 2012
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	1700 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editor-in-Chief <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 000173, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Shan-Shan Zhang</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Shan-Shan Zhang</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** June 28, 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](http://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***

# 胃肠道间质瘤的分子学机制及靶向治疗

邱岑, 马大烈

邱岑, 马大烈, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院  
病理科 上海市 200443

马大烈, 教授, 主要从事肿瘤病理和肿瘤免疫病理方面的研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 30070743, No. 30471702,  
No. 30700809, No. 30972876

作者贡献分布: 本文综述由邱岑完成; 马大烈负责审校。

通讯作者: 马大烈, 教授, 主任医师, 200443, 上海市长海路174  
号, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科。  
madalie@126.com

电话: 021-25074853 传真: 021-25074604

收稿日期: 2012-03-15 修回日期: 2012-05-08

接受日期: 2012-06-02 在线出版日期: 2012-06-28

## Gastrointestinal stromal tumors: Molecular pathogenesis and targeted therapy

Cen Qiu, Da-Lie Ma

Cen Qiu, Da-Lie Ma, Department of Pathology, Changhai  
Hospital, the Second Military Medical University of Chi-  
nese PLA, Shanghai 200443, China

Supported by: National Natural Science Foundation of  
China, Nos. 30070743, 30471702, 30700809, 30972876

Correspondence to: Da-Lie Ma, Professor, Chief Physician,  
Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second  
Military Medical University of Chinese PLA, 174 Changhai  
Road, Shanghai 200443, China. madalie@126.com

Received: 2012-03-15 Revised: 2012-05-08

Accepted: 2012-06-02 Published online: 2012-06-28

## Abstract

The autophosphorylation of KIT protein, resulting from gain-of-function mutations of the *c-kit* or PDGFR gene, is the most important molecular mechanism involved in the pathogenesis of gastrointestinal stromal tumors (GISTs). Imatinib is a small molecule tyrosine kinase inhibitor and is effective in the treatment of GISTs. KIT is a convenient target in GISTs, and inhibition of this receptor with imatinib (Gleevec, STI571) in GISTs has shown dramatic efficacy. Unfortunately, resistance to imatinib is a significant clinical problem. Further understanding of the molecular pathogenesis of GISTs is therefore important and may lead to the identification of novel drug targets. This review will focus on recent advances in the understanding of molecular mechanisms involved in the pathogenesis of all types of GISTs. The molecular biological characteristics of each

type of GISTs will also be discussed.

**Key Words:** Gastrointestinal stromal tumors; Molecular pathogenesis; Targeted therapy

Qiu C, Ma DL. Gastrointestinal stromal tumors: Molecular pathogenesis and targeted therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1595-1601

## 摘要

C-kit/PDGFR基因发生功能获得性突变和因此引发的KIT蛋白自主磷酸化是胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)发生过程中最具特征性的分子机制。这一发现使得imatinib靶向治疗GISTs成为可能并取得重大疗效, 但研究发现不同类型的GISTs对imatinib治疗的反应也不尽相同, 并且随着其临床应用的增加, 耐药性及不良反应也随之出现, 迫使imatinib临床停药或改为二线用药。因此, GISTs是由不同生物学机制引发的一组疾病, 本文就GISTs的分子生物学机制及靶向治疗药物作一综述。

**关键词:** 胃肠道间质瘤; 分子机制; 靶向治疗

邱岑, 马大烈. 胃肠道间质瘤的分子学机制及靶向治疗. *世界华人消化杂志* 2012; 20(18): 1595-1601

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1595.asp>

## 0 引言

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是一组由未分化、梭形或上皮样细胞组成的最常见的消化道间叶源性肿瘤(gastrointestinal mesenchymal tumor, GIMT)<sup>[1-3]</sup>, 年发病率为10-15/1 000 000<sup>[4,5]</sup>, 无明显区域及性别差异<sup>[5]</sup>。诊断主要依赖免疫组织化学检测特异性表达的*c-kit*(CD117)、Dog-1和CD34。早期、局限的GISTs主要依赖手术治疗, 但术后复发率高且对放疗、化疗不敏感。近年来, 针对GISTs发病机制的靶向治疗药物imatinib问世, 成为了GISTs治疗的一把利剑, 但随着越来越多的GISTs患者接受imatinib治疗, 人们发现imatinib的疗效与GISTs的临床及生物学特征有关, 并且其耐药性

## ■背景资料

随着越来越多的胃肠道间质瘤(GISTs)患者接受imatinib治疗, 人们发现imatinib的疗效与GISTs的临床及生物学特征有关, 并且其耐药性的出现大大降低了其疗效。基于近年其发病率有逐年增高的趋势, 明确肿瘤生物学特性与靶向药物治疗间的关系对药物耐药机制的寻找和新的靶向药物的开发具有重要意义。

## ■同行评议者

王鲁平, 主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院病理科



## ■研发前沿

尽管与传统的放化疗相比,全新的靶向治疗模式能避免损伤正常组织而更高效、更具选择性地杀伤肿瘤细胞,且口服给药更便捷;但是,在长期的临床应用过程中,TKI也出现一些问题。

的出现大大降低了其疗效。基于近年其发病率有逐年增高的趋势,明确肿瘤生物学特性与靶向药物治疗间的关系对药物耐药机制的寻找和新的靶向药物的开发具有重要意义。本文就近年来研究发现的GISTs分子学特征及靶向治疗的研究进展作一综述。

## 1 胃肠道间质瘤的分子学特征

### 1.1 配体非依赖的受体信号通路的激活

1.1.1 *c-kit*基因的突变:人们对GISTs分子生物学特征的认识是由Hirota等<sup>[6]</sup>发现GISTs中存在*c-kit*基因突变开始的。*c-kit*基因是HZ4猫科肉瘤病毒*kit*癌基因的同源物,位于人染色体4q11-12,共有21个外显子组成<sup>[7]</sup>。其编码的KIT受体蛋白属于III型酪氨酸激酶受体家族,由976个氨基酸组成,包括3个基本结构区:由5个免疫球蛋白样结构域构成的胞外配体结合区、胞内酪氨酸蛋白激酶活性区以及连接这2个区域的跨膜区。正常情况下KIT受体胞外区的第1、2、3结构域与其配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)结合,使胞外区第4、5结构域结构发生改变<sup>[8,9]</sup>,受体从细胞膜上解离、迁移、聚集,形成二聚体,进而促发酪氨酸激酶及其效应分子磷酸化,调控KIT的下游底物包括MARK、JAK/STAT等多条信号转导通道,产生一系列的级联反应<sup>[10]</sup>,最终活化胞质内的转录因子,调控基因表达、控制细胞生长、增殖和分化。当*c-kit*基因发生突变时则无需SCF配体参与,自主形成二聚体,活化酪氨酸激酶即激活配体非依赖的信号通路,致使肿瘤细胞的持续增殖和抗凋亡信号的失控,引发恶性肿瘤。在CD117阳性的GISTs中,*c-kit*基因总突变率为76.1%,突变形式主要表现为点突变、缺失,偶见插入突变,范围可涉及一个或多个密码子。其中约67.1%的突变发生在编码近膜区的exon11,绝大多数位于外显子近端的密码子Gln550-Glu561之间<sup>[11-13]</sup>,最常见的是密码子Trp557和Lys558的缺失。此外,还有约20%-30%为错义突变,几乎都独立发生在近端的Trp557、Val559、Val560和远端的Leu576。其次是编码胞外区的exon9的突变,突变率为7.1%,突变类型主要是编码Ala502-Tyr503的6个核苷酸的复制<sup>[14]</sup>。此外也有编码酪氨酸激酶区I的exon13、14及酪氨酸激酶区II的exon16、17突变的报道,所占比例分别为1.3%和0.6%<sup>[11]</sup>。影响GISTs预后的因素很多,目前主要将肿瘤的大小及有丝分裂计数作为主要的危险度分级指标<sup>[15]</sup>,

但许多研究发现*c-kit*基因突变主要发生于恶性倾向较大的GISTs,恶性倾向较小GISTs罕有突变,且突变位点与预后有关<sup>[16-19]</sup>。一般认为发生于exon11的Trp557和Lys558的缺失多预后不良,发生于胃部的错义突变的病例预后好于发生缺失突变的病例,而在小肠却无此差异<sup>[20-22]</sup>,因此提示*c-kit*基因的突变与GISTs预后存在密切关系<sup>[23]</sup>。对此,我们也做过类似研究,结果显示发生在exon11的总突变为41.5%,低于恶性组(54.8%)<sup>[24,25]</sup>。此外,*c-kit*基因突变与GISTs的组织学分型及发生部位也存在一定的联系,即发生*c-kit*基因突变的GISTs多表现为梭形细胞型<sup>[19,26]</sup>,且exon11的突变多导致胃部GISTs,而exon9的突变多见于小肠<sup>[11]</sup>。

1.1.2 PDGFRA基因的突变:随着GISTs分子生物学特征研究的深入,2003年Heinrich等<sup>[27]</sup>又在40例*c-kit*突变阴性的GISTs中检测到了15例PDGFRA基因的活化突变(35%),提示PDGFRA突变可能是GISTs发生的另一分子机制。血小板源性生长因子受体(platelet derived growth factor receptor, PDGFR)包括 $\alpha$ 和 $\beta$ 两种,编码基因分别为PDGFRA和PDGFRB,各自与其配体血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)的 $\alpha$ 和 $\beta$ 两个链结合,从而发挥调节细胞生长、分化的作用。PDGFRA基因位于*c-kit*基因的下游(4q12)<sup>[28]</sup>,其蛋白产物PDGFRA也属于III型酪氨酸蛋白激酶家族。与*c-kit*基因突变相同,PDGFRA基因突变也是功能获得性突变,在缺乏配体结合的情况下,自主二聚化激活配体非依赖信号通路,引起ICC的转化亦或是通过激活野生型KIT蛋白在细胞中的共表达<sup>[29]</sup>。PDGFRA基因突变主要发生在编码酪氨酸激酶区II的exon18和编码跨膜区的exon12,发生率分别为5.6%和1.5%<sup>[30-32]</sup>。点突变是exon18最常见的突变形式,突变集中在841-847位点,主要为D842V突变,其次为缺失突变。本实验组对上海长海医院2006-2007年间25例GISTs病例进行检测,亦发现5例存在PDGFRA突变的病例中有4例均位于上述热点位置。

与*c-kit*基因突变一样,PDGFRA突变的GISTs也有其独特的临床特征。相较于*c-kit*突变的GISTs,大多数PDGFRA突变的肿瘤生物学行为呈良性,预后良好,且PDGFRA缺失或缺失加点突变比单纯点突变更多地显示出恶性生物学行为。在发生部位上,超过95%的PDGFRA突变的GISTs发生于胃、肠系膜或者网膜,在病理形

态上, 大多数PDGFRA突变的GISTs表现为上皮细胞, 少数为混合型<sup>[32]</sup>. 但也有学者认为PDGFRA突变的GISTs多发生于后腹膜且具有高度侵袭性<sup>[33]</sup>. 因此PDGFRA基因突变与GISTs预后的关系仍需大样本的长期观察.

1.2 配体依赖的SCF/KIT受体信号通路的激活大约仍有14%的GISTs未检测到*c-kit*和PDGFRA基因突变, 称为野生型GISTs(wild-type GISTs). 但在这些野生型GISTs中却存在着KIT酪氨酸激酶被激活的情况, 因此有专家认为可能是与IGF1R、BRAF或KRAS等其他基因的突变导致KIT配体SCF的自分泌或旁分泌<sup>[34]</sup>, 引起“配体依赖的受体信号通路激活”有关, 包括下游PI3K信号通路, 激活最终效应蛋白Akt调节细胞抗凋亡作用<sup>[35]</sup>, 而并非*c-kit*或PDGFRA突变所致. 关于这部分野生型GISTs中KIT酪氨酸激酶的激活, 国外基础研究证实为野生型KIT受体的激活, 特别是Tabone-Eglinger等<sup>[36]</sup>在共聚焦显微镜下观察到GISTs中突变型KIT受体蛋白主要积聚在内质网或高尔基体(突变型KIT), 而野生型KIT受体蛋白多定位于细胞膜表面(野生型KIT), 这为野生型GISTs中配体依赖的SCF/KIT受体信号途径的激活提供了良好的佐证. 更重要的是, 国外学者发现绝大多数GISTs是*c-kit*杂合性突变, 而这些病例中仍然有野生型KIT蛋白的表达<sup>[37]</sup>, 并且*c-kit*基因的突变状态与KIT下游磷酸化程度并不相关, 他们将此现象归因于配体依赖的SCF/KIT信号通路也是GISTs的发病机制<sup>[38]</sup>. 对此, 我们的研究也发现, 无论是否存在*c-kit*/PDGFRA基因突变, 几乎所有的GISTs组织中都存在KIT受体的激活及其配体SCF的高表达, 其中KIT突变阴性的GISTs主要表现为野生型KIT受体(145 kDa), KIT突变阳性的GISTs同时存在野生型KIT受体(145 kDa)和突变型受体(125 kDa).

在靶向药物imatinib(glivec、gleevec、STI-571)治疗GISTs取得重大疗效的同时, 临床研究却表明, 相较于突变型GISTs, 大部分imatinib对野生型GISTs无抑制作用<sup>[39]</sup>, 仅12%的野生型GISTs能够获得部分缓解. 更重要的是, 我们的研究发现长时间的imatinib作用会引起配体SCF的表达增强从而促进GISTs中野生型KIT的活化, 从而导致imatinib治疗无效. 类似研究也证实GISTs中存在SCF的自分泌途径<sup>[40]</sup>, 且imatinib无法抑制配体依赖SCF/KIT通路的KIT受体磷酸化<sup>[41]</sup>, 这也是imatinib治疗GISTs后产生耐药的主要原因<sup>[39,42-44]</sup>.

## 2 胃肠道间质瘤的靶向治疗及耐药

GISTs是一种对传统放疗高度抗拒的肿瘤, 手术是首选治疗方案, 但手术只是局限性治疗GISTs的手段, 即使完整切除肿瘤原发灶, 仍有50%的患者在2年内复发或转移, 且复发率呈逐年上升趋势. 对于这些已复发、转移和不能手术的GISTs患者, 人们发现以imatinib为代表的小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)可以特异性阻断酪氨酸激酶的激活, 从而有效诱导GISTs肿瘤消退<sup>[45]</sup>. 目前对GISTs患者采用外科手术联合靶向药物治疗的治疗模式已达成共识.

### 2.1 典型的治疗GISTs酪氨酸激酶抑制剂类药物

2.1.1 含嘧啶结构的酪氨酸激酶抑制剂: imatinib为苯氨基嘧啶的衍生物<sup>[46,47]</sup>, 最初主要用于慢性粒细胞性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)的治疗, 后将其应用于GISTs, 发现80%患者的病情得到控制<sup>[48-50]</sup>. 其抗肿瘤的机制是因其分子结构类似于ATP, 能够竞争性地结合KIT蛋白的ATP结合位点, 阻滞酪氨酸激酶的磷酸化, 抑制下游信号通路的传导, 从而阻止细胞的增殖和肿瘤的形成. 有研究证实imatinib能够有效抑制KIT蛋白的活化及抑制存在*c-kit*突变的GISTs细胞系增殖<sup>[22,51]</sup>, I期和II期临床药物试验也发现每日给予400 mg imatinib治疗的有效率可达70%以上<sup>[52,53]</sup>, 随后进行的III期临床试验也肯定了每日400 mg的给药剂量的安全性和有效性<sup>[54,55]</sup>. 更重要的是, 几乎所有的大型临床试验均发现, imatinib能够使70%-85%的晚期GISTs患者的中位无进展生存时间延长到20-24 mo, 并使晚期GISTs患者的中位总生存期延长至36 mo<sup>[54,55]</sup>. 但imatinib只能与活化状态的ATP结合位点结合, 有其局限性, 故仅为高效而非特效的抗肿瘤药<sup>[56]</sup>. 且不同的基因突变位点对imatinib治疗敏感性不同, 发生*c-kit*的exon11突变型GISTs一般对imatinib敏感, 而exon9突变以及PDGFRA突变型GISTs对imatinib不敏感, 特别是在野生型GISTs病例中, 有限剂量的imatinib无法完全抑制除KIT或PDGFRA之外的其他酪氨酸激酶通路的开放, 使细胞增殖信号绕过imatinib的抑制而下传, 造成细胞增殖. 我们的研究也发现imatinib会促进GISTs中SCF的表达, 而导致配体依赖的SCF/KIT途径的信号通路的开放, 使其发生耐药成为必然. imatinib的不良反应除贫血、白细胞减少、疲劳、水肿、皮肤潮红及胃肠道反应外<sup>[54]</sup>, 还有心力衰竭等心血管毒性反应<sup>[57-59]</sup>.

2.1.2 含吡咯结构的酪氨酸激酶抑制剂: sunitinib

### ■相关报道

有报道表明, GISTs的imatinib敏感性与分子伴侣热休克蛋白90(HSP90)、IGF1R及其配体IGF1和IGF2、胰岛素样生长因子相关蛋白3(IGFBP-3)、组蛋白H2AX有关, 与相关抑制剂合用, 下调HSP、IGF1R、IGF1、IGF2及IGFBP-3, 亦或使H2AX上调, 都能使imatinib介导的细胞凋亡反应性增强, 但与临床的相关性还需进一步阐明.

## ■同行评价

本文对GISTs的分子学特征及其类型、靶向治疗药物的原理机制及耐药情况进行综述,从基础到临床应用较全面,有一定指导意义。

是一种新型含咪唑结构的口服多靶点酪氨酸激酶受体抑制剂,临床所用的是L-苹果酸盐。与imatinib相比,能阻断更多个酪氨酸激酶受体,更强效抑制PDGFRA、KIT和血管内皮生长因子受体<sup>[60]</sup>。这提示他不仅能在分子水平上抑制KIT酪氨酸激酶的活性,还能干扰肿瘤细胞发展形成新生血管的能力,阻止新生血管的生长。同时,与imatinib相似,sunitinib的临床疗效与基因突变位点有关。但不同的是,他对KIT的exon9突变者效果最好,对exon13和14突变者也有疗效,对exon11突变者的效果欠理想<sup>[61]</sup>。因此适用于imatinib治疗失败或不能耐受的GISTs患者<sup>[20,50,62]</sup>。高血压、出血及血栓栓塞是其主要不良反应。

**2.1.3 含噻唑结构的酪氨酸激酶抑制剂: masitinib (AB1010)**是苯基-氨基噻唑型TKIs。相较于imatinib有更强的阻断KIT激酶活性和选择性,他能阻断表达野生型及近膜区*c-kit*突变的GISTs肿瘤细胞的增殖。I期临床实验表明每天12 mg/kg的剂量为有效<sup>[63]</sup>。除此之外,masitinib对其他的酪氨酸、丝氨酸和苏氨酸激酶阻断活性较差。这种高选择性预示着masitinib比其他TKIs具有更加安全的效用<sup>[64]</sup>。事实上,在动物体内实验,几乎检测不到masitinib诱导产生的心脏或遗传性毒性。所以,masitinib是一种强效且高选择性的酪氨酸激酶阻滞剂,并且呈低毒性<sup>[65,66]</sup>。

**2.1.4 增加酪氨酸激酶抑制剂敏感性研究:**有报道表明GISTs的imatinib敏感性与分子伴侣热休克蛋白90(hot shocking protein-90, HSP90)<sup>[67]</sup>、IGF1R及其配体IGF1和IGF2<sup>[67,68]</sup>、胰岛素样生长因子相关蛋白3(IGFBP-3)<sup>[69]</sup>、组蛋白H2AX<sup>[70]</sup>有关,与相关抑制剂合用,下调HSP、IGF1R、IGF1、IGF2及IGFBP-3,亦或使H2AX上调,都能使imatinib介导的细胞凋亡反应性增强,但与临床的相关性还需进一步阐明。

**2.2 靶向治疗的优缺点** 尽管与传统的放化疗相比,这种全新的靶向治疗模式能避免损伤正常组织而更高效、更具选择性地杀伤肿瘤细胞,且口服给药更显便捷。但是,在长期的临床应用过程中,TKI也出现一些问题。

首先是耐药性的出现。在治疗的最初6 mo内肿瘤进展称为原发性耐药,治疗6 mo后出现耐药为继发性,发生耐药的机制主要为基因的二次突变。但Janeway、Théou-Anton和Negri等<sup>[38,40,71]</sup>学者研究证实肿瘤细胞还可通过SCF/KIT自-旁分泌所引起的“配体依赖的受体信号通路的激活”来逃离药物的靶向治疗。我们也做过类似

研究,发现几乎所有的GISTs组织中都存在野生型KIT受体(145 kDa)的激活,且imatinib能刺激SCF表达,激活大量野生型KIT受体引发肿瘤。

其次,不能长期、有效控制GISTs的发展达到根治。尽管TKI治疗GISTs取得巨大成功,但是罕有TKI治疗GISTs达到完全缓解(CR:是指肿瘤完全消失,在4 wk后得到确证)病例的报道,这主要是肿瘤通常不止一处突变,而不同的TKI只能针对其中的一种或者几种突变起作用,无法抑制所有类型突变所导致的受体活化<sup>[72]</sup>。同时,在应用TKI控制病变的患者中应持续用药,如一旦停止治疗,大部分患者病情会在短期内迅速进展<sup>[73]</sup>。对此,有专家认为是TKI的应用大大增加*c-kit*二次突变的概率<sup>[74]</sup>。

最后是安全性的提高。因目前用于治疗GISTs的TKI为多靶点抑制剂,能抑制细胞内多条信号传递途径,其分子机制可能导致潜在的不良反应<sup>[75]</sup>。KIT同时还存在于造血细胞、黑素细胞等正常细胞中,故在应用过程中不可避免出现正常细胞出现的骨髓抑制、胃肠道反应等。

## 3 结论

随着分子生物学技术不断、快速地推动生命科学的发展,人类对于肿瘤的研究也随之进入了后基因组时代,尤其是新型生物及靶基因治疗等无创治疗逐渐取代既往有创的手术及放化疗在肿瘤治疗中的应用,更是现代肿瘤研究中的重大突破。但是TKIs治疗GISTs过程中的缺陷是其本质所决定的,并且改变剂型或增加药物剂量都不能解决,尤其是对SCF/KIT自-旁分泌所导致的肿瘤,很难获得有效、理想、安全的酪氨酸靶向抑制药物,这使得GISTs的靶向治疗再一次面临难以逾越的鸿沟,直至应用二聚化受体阻断抗体戴默赛特(Dimercept, Herstatin)在小鼠实验中成功拦截HER同源及异源二聚体的形成并抑制所有HER受体(HER1/EGFR、HER2/ErbB2、HER3/ErbB3和ErbB4)引发的信号连锁反应,有望弥补赫赛汀(Herceptin)耐药的不足,为肿瘤分子靶向治疗开拓了一片全新的前景<sup>[76]</sup>。应用这一研究思路,阻断KIT-dimer的形成可以同时阻断配体依赖和配体非依赖的两条信号通路,从而解决imatinib耐药性使GISTs的分子靶向治疗达到根治。

## 4 参考文献

- 1 Miettinen M, El-Rifai W, H L Sobin L, Lasota J. Evaluation of malignancy and prognosis of gas-

- trointestinal stromal tumors: a review. *Hum Pathol* 2002; 33: 478-483
- 2 Duensing A, Heinrich MC, Fletcher CD, Fletcher JA. Biology of gastrointestinal stromal tumors: KIT mutations and beyond. *Cancer Invest* 2004; 22: 106-116
- 3 Rubin BP. Gastrointestinal stromal tumours: an update. *Histopathology* 2006; 48: 83-96
- 4 郭瑞平, 韩铭均, 李坤伟, 李颖勤, 贾丙鑫, 孙洁. 胃肠道间质瘤的影像学诊断与鉴别诊断. *中国新医药* 2004; 5: 36-38
- 5 Nilsson B, Bümming P, Meis-Kindblom JM, Odén A, Dortok A, Gustavsson B, Sablinska K, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era—a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005; 103: 821-829
- 6 Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Muhammad Tunio G, Matsuzawa Y, Kanakura Y, Shinomura Y, Kitamura Y. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279: 577-580
- 7 d'Auriol L, Mattei MG, Andre C, Galibert F. Localization of the human c-kit protooncogene on the q11-q12 region of chromosome 4. *Hum Genet* 1988; 78: 374-376
- 8 Blehman JM, Lev S, Brizzi MF, Leitner O, Pegoraro L, Givol D, Yarden Y. Soluble c-kit proteins and anti-receptor monoclonal antibodies confine the binding site of the stem cell factor. *J Biol Chem* 1993; 268: 4399-4406
- 9 Lev S, Blehman J, Nishikawa S, Givol D, Yarden Y. Interspecies molecular chimeras of kit help define the binding site of the stem cell factor. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 2224-2234
- 10 Tornillo L, Terracciano LM. An update on molecular genetics of gastrointestinal stromal tumours. *J Clin Pathol* 2006; 59: 557-563
- 11 贺慧颖, 方伟岗, 钟锦锦, 李燕, 郑杰, 杜鹃, 衡万杰, 吴秉铨. 165例胃肠道间质瘤中c-kit和PDGFRA基因突变的检测和临床诊断意义. *中华病理学杂志* 2006; 35: 262-266
- 12 侯英勇, 孙孟红, 谭云山, 魏永昆, 陆孝禹, 张太明, 杜祥, 王坚, 朱雄增. 胃肠道间质瘤c-kit基因突变的研究. *中华肿瘤杂志* 2004; 26: 89-92
- 13 Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 52-68
- 14 Lux ML, Rubin BP, Biase TL, Chen CJ, Maclure T, Demetri G, Xiao S, Singer S, Fletcher CD, Fletcher JA. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Am J Pathol* 2000; 156: 791-795
- 15 Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, Miettinen M, O'Leary TJ, Remotti H, Rubin BP, Shmookler B, Sobin LH, Weiss SW. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33: 459-465
- 16 Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in exon 11 of c-Kit occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas or leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999; 154: 53-60
- 17 Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, Isozaki K, Ito T, Nomura T, Matsuda H, Kitamura Y. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 1999; 59: 4297-4300
- 18 Rubin BP, Singer S, Tsao C, Duensing A, Lux ML, Ruiz R, Hibbard MK, Chen CJ, Xiao S, Tuveson DA, Demetri GD, Fletcher CD, Fletcher JA. KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2001; 61: 8118-8121
- 19 Antonescu CR, Sommer G, Sarrao L, Tschernyavsky SJ, Riedel E, Woodruff JM, Robson M, Maki R, Brennan MF, Ladanyi M, DeMatteo RP, Besmer P. Association of KIT exon 9 mutations with non-gastric primary site and aggressive behavior: KIT mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3329-3337
- 20 Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, Blackstein ME, Shah MH, Verweij J, McArthur G, Judson IR, Heinrich MC, Morgan JA, Desai J, Fletcher CD, George S, Bello CL, Huang X, Baum CM, Casali PG. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368: 1329-1338
- 21 Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, Stover D, Ohno-Jones S, Druker BJ, Lydon NB. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 139-145
- 22 Heinrich MC, Blanke CD, Druker BJ, Corless CL. Inhibition of KIT tyrosine kinase activity: a novel molecular approach to the treatment of KIT-positive malignancies. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1692-1703
- 23 Pelz AF, Agaimy A, Daniels M, Evert M, Schulz HU, Lüders P, Müller G, Lasota J, Röpke A, Wieacker P, Miettinen M, Schneider-Stock R. Gastrointestinal stromal tumor presenting as a rectovaginal mass. Clinicopathologic and molecular-genetic characterization of a rare tumor with a literature review. *Hum Pathol* 2011; 42: 586-593
- 24 马大烈, 刘晓红, 蔡在龙, 谢强. 胃肠道间质瘤中原癌基因c-kit突变及其蛋白表达. *中华肿瘤学杂志* 2002; 24: 461-464
- 25 Bai CG, Liu XH, Xie Q, Feng F, Ma DL. A novel gain of function mutant in C-kit gene and its tumorigenesis in nude mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7104-7108
- 26 Wardelmann E, Neidt I, Bierhoff E, Speidel N, Manegold C, Fischer HP, Pfeifer U, Pietsch T. c-kit mutations in gastrointestinal stromal tumors occur preferentially in the spindle rather than in the epithelioid cell variant. *Mod Pathol* 2002; 15: 125-136
- 27 Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen CJ, Joseph N, Singer S, Griffith DJ, Haley A, Town A, Demetri GD, Fletcher CD, Fletcher JA. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003; 299: 708-710
- 28 Gronwald RG, Adler DA, Kelly JD, Distech CM, Bowen-Pope DF. The human PDGF receptor alpha-subunit gene maps to chromosome 4 in close proximity to c-kit. *Hum Genet* 1990; 85: 383-385
- 29 Hirota S, Ohashi A, Nishida T, Isozaki K, Kinoshita K, Shinomura Y, Kitamura Y. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2003; 125: 660-667
- 30 Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3813-3825

- 31 Lasota J, Stachura J, Miettinen M. GISTs with PDGFRA exon 14 mutations represent subset of clinically favorable gastric tumors with epithelioid morphology. *Lab Invest* 2006; 86: 94-100
- 32 杨蕾, 白辰光, 马大烈. 胃肠道间质瘤中PDGFR- $\alpha$ 突变亚型的生物学及临床特点. *国际病理科学与临床杂志* 2008; 28: 310-314
- 33 Medeiros F, Corless CL, Duensing A, Hornick JL, Oliveira AM, Heinrich MC, Fletcher JA, Fletcher CD. KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 889-894
- 34 Gounder MM, Maki RG. Molecular basis for primary and secondary tyrosine kinase inhibitor resistance in gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67 Suppl 1: S25-S43
- 35 Rössle M, Hirschmann A, Diebold J. Mutational spectrum and therapy response of metastasized GIST in Central Switzerland - a population-based study. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1305-1311
- 36 Tabone-Eglinger S, Subra F, El Sayadi H, Alberti L, Tabone E, Michot JP, Théou-Anton N, Lemoine A, Blay JY, Emile JF. KIT mutations induce intracellular retention and activation of an immature form of the KIT protein in gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2285-2294
- 37 Emile JF, Théou N, Tabone S, Cortez A, Terrier P, Chaumette MT, Julié C, Bertheau P, Lavergne-Slove A, Donadieu J, Barrier A, Le Cesne A, Debuire B, Lemoine A. Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic characteristics of gastrointestinal mesenchymal tumors. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 597-605
- 38 Théou-Anton N, Tabone S, Brouty-Boyé D, Saffroy R, Ronnstrand L, Lemoine A, Emile JF. Co expression of SCF and KIT in gastrointestinal stromal tumours (GISTs) suggests an autocrine/paracrine mechanism. *Br J Cancer* 2006; 94: 1180-1185
- 39 Heinrich MC, Owzar K, Corless CL, Hollis D, Borden EC, Fletcher CD, Ryan CW, von Mehren M, Blanke CD, Rankin C, Benjamin RS, Bramwell VH, Demetri GD, Bertagnolli MM, Fletcher JA. Correlation of kinase genotype and clinical outcome in the North American Intergroup Phase III Trial of imatinib mesylate for treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor: CALGB 150105 Study by Cancer and Leukemia Group B and Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5360-5367
- 40 Janeway KA, Liegl B, Harlow A, Le C, Perez-Atayde A, Kozakewich H, Corless CL, Heinrich MC, Fletcher JA. Pediatric KIT wild-type and platelet-derived growth factor receptor alpha-wild-type gastrointestinal stromal tumors share KIT activation but not mechanisms of genetic progression with adult gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2007; 67: 9084-9088
- 41 Molderings GJ, Meis K, Kolck UW, Homann J, Frieling T. Comparative analysis of mutation of tyrosine kinase kit in mast cells from patients with systemic mast cell activation syndrome and healthy subjects. *Immunogenetics* 2010; 62: 721-727
- 42 Gajiwala KS, Wu JC, Christensen J, Deshmukh GD, Diehl W, DiNitto JP, English JM, Greig MJ, He YA, Jacques SL, Lunney EA, McTigue M, Molina D, Quenzer T, Wells PA, Yu X, Zhang Y, Zou A, Emmett MR, Marshall AG, Zhang HM, Demetri GD. KIT kinase mutants show unique mechanisms of drug resistance to imatinib and sunitinib in gastrointestinal stromal tumor patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 1542-1547
- 43 Zheng S, Pan YL, Tao DY, Wang JL, Huang KE. Secondary C-kit mutation is a cause of acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 760-763
- 44 Rubin BP, Heinrich MC, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2007; 369: 1731-1741
- 45 Kluger HM, Dudek AZ, McCann C, Ritacco J, Southard N, Jilaveanu LB, Molinaro A, Szol M. A phase 2 trial of dasatinib in advanced melanoma. *Cancer* 2011; 117: 2202-2208
- 46 Sleijfer S, Wiemer E, Verweij J. Drug Insight: gastrointestinal stromal tumors (GIST)--the solid tumor model for cancer-specific treatment. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5: 102-111
- 47 Nishida T, Shirao K, Sawaki A, Koseki M, Okamura T, Ohtsu A, Sugiyama T, Miyakawa K, Hirota S. Efficacy and safety profile of imatinib mesylate (STI571) in Japanese patients with advanced gastrointestinal stromal tumors: a phase II study (STI571B1202). *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 244-251
- 48 Rutkowski P, Symonides M, Zdzienicki M, Siedlecki JA. Developments in targeted therapy of advanced gastrointestinal stromal tumors. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2008; 3: 88-99
- 49 Braconi C, Bracci R, Cellerino R. Molecular targets in Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 359-366
- 50 Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, Demetri GD, Joensuu H, Roberts PJ, Eisenberg BL, von Mehren M, Fletcher CD, Sandau K, McDougall K, Ou WB, Chen CJ, Fletcher JA. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4764-4774
- 51 Tuveson DA, Willis NA, Jacks T, Griffin JD, Singer S, Fletcher CD, Fletcher JA, Demetri GD. STI571 inactivation of the gastrointestinal stromal tumor c-KIT oncoprotein: biological and clinical implications. *Oncogene* 2001; 20: 5054-5058
- 52 van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, Stroobants S, Donato di Paola E, Dimitrijevic S, Martens M, Webb A, Sciot R, Van Glabbeke M, Silberman S, Nielsen OS. Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. *Lancet* 2001; 358: 1421-1423
- 53 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
- 54 Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, LeCesne A, Reichardt P, Blay JY, Issels R, van Oosterom A, Hogendoorn PC, Van Glabbeke M, Bertulli R, Judson I. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004; 364: 1127-1134
- 55 Blanke CD, Rankin C, Demetri GD, Ryan CW, von Mehren M, Benjamin RS, Raymond AK, Bramwell VH, Baker LH, Maki RG, Tanaka M, Hecht JR, Heinrich MC, Fletcher CD, Crowley JJ, Borden EC. Phase III randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase: S0033. *J Clin Oncol* 2008; 26: 626-632



- 56 孙忠实, 朱珠, 韩凤英. 酪氨酸激酶抑制剂-伊马替尼. 中国药学杂志 2003; 38: 69-71
- 57 伊马替尼致充血性心力衰竭和左心室功能障碍. 药物不良反应杂志 2006; 8: 394
- 58 诺华公司警告伊马替尼致充血性心力衰竭. 药物警戒 2007; 4: 48
- 59 Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, Walters B, Shevtsov S, Pesant S, Clubb FJ, Rosenzweig A, Salomon RN, Van Etten RA, Alroy J, Durand JB, Force T. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med* 2006; 12: 908-916
- 60 Blay JY. Pharmacological management of gastrointestinal stromal tumours: an update on the role of sunitinib. *Ann Oncol* 2010; 21: 208-215
- 61 McLean SR, Gana-Weisz M, Hartzoulakis B, Frow R, Whelan J, Selwood D, Boshoff C. Imatinib binding and cKIT inhibition is abrogated by the cKIT kinase domain I missense mutation Val654Ala. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 2008-2015
- 62 Reichardt P, Kang Y, Ruka W, Seddon B, Guerriero A, Breazna A, Lowry S, Demetri GD. Detailed analysis of survival and safety with sunitinib(SU)in a worldwide treatment use trial of patients with advanced GIST. *J Clin Oncol* 2008; 26(May 20 Suppl): Abstr 10548
- 63 Soria JC, Massard C, Magné N, Bader T, Mansfield CD, Blay JY, Bui BN, Moussy A, Hermine O, Armand JP. Phase 1 dose-escalation study of oral tyrosine kinase inhibitor masitinib in advanced and/or metastatic solid cancers. *Eur J Cancer* 2009; 45: 2333-2341
- 64 Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Castéran N, Borge L, Hajem B, Lermet A, Sippl W, Voisset E, Arock M, Auclair C, Leventhal PS, Mansfield CD, Moussy A, Hermine O. Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS One* 2009; 4: e7258
- 65 Reichardt P. Optimal use of targeted agents for advanced gastrointestinal stromal tumours. *Oncology* 2010; 78: 130-140
- 66 Le Cesne A, Blay JY, Bui BN, Bouché O, Adenis A, Domont J, Cioffi A, Ray-Coquard I, Lassau N, Bonvalot S, Moussy A, Kinet JP, Hermine O. Phase II study of oral masitinib mesilate in imatinib-naïve patients with locally advanced or metastatic gastrointestinal stromal tumour (GIST). *Eur J Cancer* 2010; 46: 1344-1351
- 67 Bauer S, Yu LK, Demetri GD, Fletcher JA. Heat shock protein 90 inhibition in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Res* 2006; 66: 9153-9161
- 68 Braconi C, Bracci R, Bearzi I, Bianchi F, Sabato S, Mandolesi A, Belvederesi L, Cascinu S, Valeri N, Cellerino R. Insulin-like growth factor (IGF) 1 and 2 help to predict disease outcome in GIST patients. *Ann Oncol* 2008; 19: 1293-1298
- 69 Trent JC, Ramdas L, Dupart J, Hunt K, Macapinlac H, Taylor E, Hu L, Salvado A, Abbruzzese JL, Pollock R, Benjamin RS, Zhang W. Early effects of imatinib mesylate on the expression of insulin-like growth factor binding protein-3 and positron emission tomography in patients with gastrointestinal stromal tumor. *Cancer* 2006; 107: 1898-1908
- 70 Liu Y, Tseng M, Perdreau SA, Rossi F, Antonescu C, Besmer P, Fletcher JA, Duensing S, Duensing A. Histone H2AX is a mediator of gastrointestinal stromal tumor cell apoptosis following treatment with imatinib mesylate. *Cancer Res* 2007; 67: 2685-2692
- 71 Negri T, Bozzi F, Conca E, Brich S, Gronchi A, Bertulli R, Fumagalli E, Pierotti MA, Tamborini E, Pilotti S. Oncogenic and ligand-dependent activation of KIT/PDGFRα in surgical samples of imatinib-treated gastrointestinal stromal tumours (GISTs). *J Pathol* 2009; 217: 103-112
- 72 Zheng S, Huang KE, Tao DY, Pan YL. Gene mutations and prognostic factors analysis in extragastrointestinal stromal tumor of a Chinese three-center study. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 675-681
- 73 Blay JY, Le Cesne A, Ray-Coquard I, Bui B, Duffaud F, Delbaldo C, Adenis A, Viens P, Rios M, Bompas E, Cupissol D, Guillemet C, Kerbrat P, Fayette J, Chabaud S, Berthaud P, Perol D. Prospective multicentric randomized phase III study of imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors comparing interruption versus continuation of treatment beyond 1 year: the French Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1107-1113
- 74 Le Pennec S, Savagner F. [MiRNAs in follicular thyroid tumors]. *Presse Med* 2011; 40: 683-689
- 75 Xu D, Wang S, Yu WM, Chan G, Araki T, Bunting KD, Neel BG, Qu CK. A germline gain-of-function mutation in Ptpn11 (Shp-2) phosphatase induces myeloproliferative disease by aberrant activation of hematopoietic stem cells. *Blood* 2010; 116: 3611-3621
- 76 Koletsis T, Kostopoulos I, Charalambous E, Christoforidou B, Nenopoulou E, Kotoula V. A splice variant of HER2 corresponding to Herstatin is expressed in the noncancerous breast and in breast carcinomas. *Neoplasia* 2008; 10: 687-696

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》栏目设置

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

# 荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax表达的影响

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐

## ■背景资料

中国是一个肝病高发国家, 防治肝纤维化是阻滞慢性肝病向肝硬化发展的重要途径。肝细胞发生凋亡是肝纤维化的始动因素。如何抑制肝细胞凋亡对肝纤维化的防治具有重要意义, 其成为目前肝病研究的热点。

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐, 桂林医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区桂林市 541004

罗伟生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事中西医结合对消化性疾病的基础与临床研究。

广西卫生厅重点课题基金资助项目, No. 重2010052

作者贡献分布: 此课题由罗伟生、靳雅玲及欧士钰设计; 研究过程由罗伟生、靳雅玲、欧士钰、覃浩及孙旭锐操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由罗伟生、覃浩及孙旭锐提供; 数据分析由靳雅玲与欧士钰完成; 本论文写作由罗伟生与靳雅玲完成。

通讯作者: 罗伟生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 541004, 广西壮族自治区桂林市环城北二路109号, 桂林医学院附属医院消化内科。wsluo58@yahoo.com.cn

电话: 0773-5898018

收稿日期: 2012-03-06 修回日期: 2012-05-07

接受日期: 2012-05-18 在线出版日期: 2012-06-28

## Effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn on the expression of Bcl-2 and Bax in hepatic fibrosis in rats

Wei-Sheng Luo, Ya-Ling Jin, Shi-Yu Ou, Hao Qin, Xu-Rui Sun

Wei-Sheng Luo, Ya-Ling Jin, Shi-Yu Ou, Hao Qin, Xu-Rui Sun, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Science Research Foundation of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. zhong2010052

Correspondence to: Wei-Sheng Luo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, 109 Beier Road, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wsluo58@yahoo.com.cn

Received: 2012-03-06 Revised: 2012-05-07

Accepted: 2012-05-18 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To study the effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn (TFL) on liver cell apoptosis in rats with hepatic fibrosis and to explore possible mechanisms involved.

**METHODS:** Fifty rats were randomly divided into five groups: blank control group, colchicine group, model group, low- and high-dose TFL groups. Hepatic fibrosis was induced in rats by intraperitoneal injection of dimethylnitrosamine. The TFL groups were intragastrically administered with different doses of TFL for 6 wk, while the blank control group and colchicine group

were given normal saline and colchicine, respectively. After treatment, liver samples were taken to examine the degree of liver fibrosis by HE and Masson staining and to detect Bcl-2 and Bax expression by immunohistochemistry. Serum ALT and AST levels were also measured.

**RESULTS:** The expression of Bcl-2 and Bax in the model group was significantly higher than that in the normal group (both  $P = 0.000$ ). The expression of Bcl-2 was higher and that of Bax was lower in the TFL groups and colchicine group than in the model group (Bcl-2:  $P = 0.000, 0.047, 0.021$ ; Bax:  $P = 0.000, 0.014, 0.007$ ), and in the high-dose TFL group than in the low-dose TFL group ( $P = 0.018, 0.002$ ). Bcl-2 and Bax expression showed no significant difference between the low-dose TFL group and colchicine group ( $P = 0.726, 0.767$ ). The severity of liver fibrosis was positively correlated with Bax expression ( $P = 0.000$ ) but negatively with Bcl-2 expression ( $P = 0.000$ ). Serum levels of ALT and AST were significantly lower in the blank control group, TFL groups and colchicine group than in the model group (all  $P = 0.000$ ), but showed no significant difference between the low-dose TFL group and colchicine group ( $P = 0.597, 0.669$ ).

**CONCLUSION:** TFL can resist hepatic fibrosis and improve liver function possibly by up-regulating Bcl-2 expression and down-regulating Bax expression to inhibit liver cell apoptosis.

**Key Words:** Total flavone of Litchi chinensis Sonn; Hepatic fibrosis; Cell apoptosis; Bcl-2; Bax

Luo WS, Jin YL, Ou SY, Qin H, Sun XR. Effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn on the expression of Bcl-2 and Bax in hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1602-1608

## 摘要

**目的:** 研究荔枝核总黄酮(total flavone from Litchi Chinensis Sonn, TFL)对二甲亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)肝纤维化大鼠肝细胞凋亡的影响及作用机制。

**方法:** 50只SD大鼠随机分为5组, 以DMN腹

## ■同行评议者

陈治水, 主任医师, 中国人民解放军第211医院中医科

腔注射制备大鼠肝纤维化模型, 造模的同时, TFL干预组分别以高、低剂量的TFL灌胃6 wk进行干预治疗, 空白对照组、秋水仙碱组分别以生理盐水、秋水仙碱灌胃作为阴阳性对照。HE及Masson染色观察肝纤维化程度; 免疫组织化学二步法检测Bcl-2、Bax的表达; 测定血清ALT、AST的水平。

**结果:** 模型组大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达较正常组显著升高( $P = 0.000$ ), TFL高、低剂量给药组及秋水仙碱组Bcl-2的表达较模型组升高( $P = 0.000, 0.047, 0.021$ ), Bax的表达较模型组降低( $P = 0.000, 0.014, 0.007$ ), TFL高剂量组与低剂量组比较Bcl-2的表达升高( $P = 0.018$ ), Bax的表达显著降低( $P = 0.002$ )。Bcl-2、Bax在秋水仙碱组与TFL低剂量组中的表达无显著性差异( $P = 0.726, 0.767$ )。肝纤维化严重程度与Bax的表达显著正相关( $P = 0.000$ ); 与Bcl-2的表达负相关( $P = 0.000$ )。空白对照组、TFL高低剂量给药组及秋水仙碱组血清ALT、AST均明显低于模型组, 具有显著性差异( $P = 0.000$ )。低剂量组与秋水仙碱组无显著性差异( $P = 0.597, 0.669$ )。

**结论:** TFL具有较好的抗肝纤维化和改善肝功能的作用, 并推测这种作用可能与上调Bcl-2、下调Bax的表达, 抑制肝细胞的凋亡有关。

**关键词:** 荔枝核总黄酮; 肝纤维化; 细胞凋亡; Bcl-2; Bax

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐. 荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1602-1608  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1602.asp>

## 0 引言

我国是一个肝病高发国家, 大多数慢性乙型肝炎患者都会经历由乙型肝炎、肝硬化到肝癌的三部曲阶段, 如何延缓甚至阻断这条途径对肝病治疗具有重要意义。肝纤维化是慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段<sup>[1,2]</sup>, 研究发现肝纤维化甚至肝硬化早期均是可逆的<sup>[3]</sup>。因而, 肝纤维化早期治疗是可以使这条肝病进展途径停止发展甚至逆转的。在前期的研究中荔枝核总黄酮(total flavone from Litchi Chinensis Sonn, TFL)已被证实具有抗大鼠肝纤维化的作用, 并且可以促进肝星状细胞的凋亡<sup>[4]</sup>、抑制肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体<sup>[5]</sup>。本实验通过建立二甲基亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)大鼠肝纤维化模型, 观察TFL对肝纤

维化大鼠肝细胞内Bcl-2、Bax表达的变化及肝功能的影响, 初步探讨TFL抗肝纤维化的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级SD大鼠50只, ♂, 体质量 $200 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$ , 购自桂林医学院实验动物中心。所有大鼠按常规饲养条件(温度 $25^\circ\text{C}$ ; 湿度50%-60%; 光照随昼夜变化), 普通大鼠饲料喂养, 自由进水。二甲基亚硝胺(Sigma公司); 荔枝核总黄酮<sup>[4]</sup>由桂林医学院药理教研室提取分离, 将荔枝核干粉通过乙醇微波辅助提取, 大孔吸附树脂分离纯化后对提取物进行定性、定量检测, 得到的黄酮类化合物, 用蒸馏水稀释为 $40 \text{ g/L}$ 和 $20 \text{ g/L}$ 两种溶液。秋水仙碱(colchicine, Col); Bcl-2、Bax抗体(北京中衫金桥生物技术有限公司); 免疫组织化学抗体稀释液、二抗试剂、DAB显色剂(福建迈新生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模与分组:** 参照文献[4]制备DMN肝纤维化大鼠模型, 50只大鼠随机分为5组, 每组10只。肝纤维化模型组: 大鼠以 $2 \text{ mL/kg}$ 剂量(第1周为此剂量的 $2/3$ )于每周前3 d连续腹腔注射 $0.5\%$  DMN溶液(以生理盐水稀释), 共4 wk; 造模同时用生理盐水灌胃, 每日1次, 每次 $5 \text{ mL/kg}$ , 共6 wk。TFL高、低剂量治疗组: 造模同时分别给予TFL 200、 $100 \text{ mL/(kg}\cdot\text{d)}$ 灌胃, 每日1次, 共6 wk。秋水仙碱组: 秋水仙碱粉剂溶于生理盐水后以 $0.1 \text{ mg/(kg}\cdot\text{d)}$ 的浓度灌胃, 每日1次, 共6 wk。空白对照组: 以等体积的生理盐水灌胃, 不做其他处理。

**1.2.2 取材及处理:** 末次给药后次日, 苯巴比妥钠腹腔注射, 麻醉抽取下腔静脉血后处死大鼠, 分离肝脏, 观察肝组织的大体变化。并取同一部位新鲜肝脏组织制作石蜡切片用于病理形态学和免疫组织化学的检测。下腔静脉血离心后用全自动生化分析仪检测肝功能的变化。

**1.2.3 检测指标及方法:** (1)肝组织病理学检查, 肝组织HE及Masson染色, 参照曾民德等<sup>[6]</sup>的纤维化评分标准对肝纤维化严重程度进行半定量分析; (2)肝功能检测, 下腔静脉血离心后用全自动生化分析仪测定各组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)的水平; (3)免疫组织化学(二步法)检测Bcl-2、Bax的表达, 严格按照说明书进行操作。结果判断: 在细胞浆或/和细胞膜有黄色颗粒沉着视为阳性表达。高倍视野( $\times 400$ )下, 根据染色细胞多少及染色深浅对阳性表达情况进行半定量分析<sup>[7]</sup>。不着色者

## ■ 研发前沿

文献报道荔枝核总黄酮(TFL)具有防治大鼠肝纤维化并且促进肝星状细胞凋亡, 抑制肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体的作用。但是对于TFL在抗肝纤维化基础上对凋亡调控蛋白表达的影响未见报道。

## ■创新亮点

本实验通过建立肝纤维化大鼠模型,观察TFL对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax的表达变化。结果表明,TFL可能通过上调Bcl-2,下调Bax的表达抑制肝细胞的凋亡从而达到抗肝纤维化的作用。

表 1 各组大鼠肝功能变化、肝纤维化程度及Bcl-2、Bax的表达情况

分组	n	ALT	AST	肝纤维化程度	Bcl-2	Bax
空白对照组	10	45.46 ± 11.045 <sup>dfhj</sup>	84.95 ± 14.495 <sup>dfhj</sup>	0.80 ± 0.422 <sup>dfhj</sup>	2.30 ± 0.483 <sup>dfhj</sup>	2.80 ± 0.789 <sup>dehj</sup>
纤维化模型组	8	194.63 ± 22.857 <sup>bghj</sup>	293.99 ± 23.779 <sup>bghj</sup>	21.13 ± 5.463 <sup>bghi</sup>	4.00 ± 0.756 <sup>bfgi</sup>	5.88 ± 0.991 <sup>bfgi</sup>
TFL高剂量组	9	109.78 ± 18.688 <sup>bghj</sup>	156.50 ± 26.292 <sup>bghj</sup>	6.78 ± 3.930 <sup>bghj</sup>	5.44 ± 0.726 <sup>bdgi</sup>	3.67 ± 0.707 <sup>adhi</sup>
TFL低剂量组	9	141.92 ± 21.045 <sup>bdf</sup>	219.11 ± 30.902 <sup>bdf</sup>	14.56 ± 4.667 <sup>bdf</sup>	4.67 ± 0.707 <sup>bce</sup>	4.89 ± 0.782 <sup>bcd</sup>
秋水仙碱组	9	147.11 ± 27.287 <sup>bdf</sup>	213.83 ± 31.530 <sup>bdf</sup>	15.67 ± 5.745 <sup>bcd</sup>	4.78 ± 0.667 <sup>bce</sup>	4.78 ± 0.667 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组; <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs TFL高剂量组; <sup>g</sup> $P < 0.05$ , <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs TFL低剂量组; <sup>i</sup> $P < 0.05$ , <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs 秋水仙碱组。

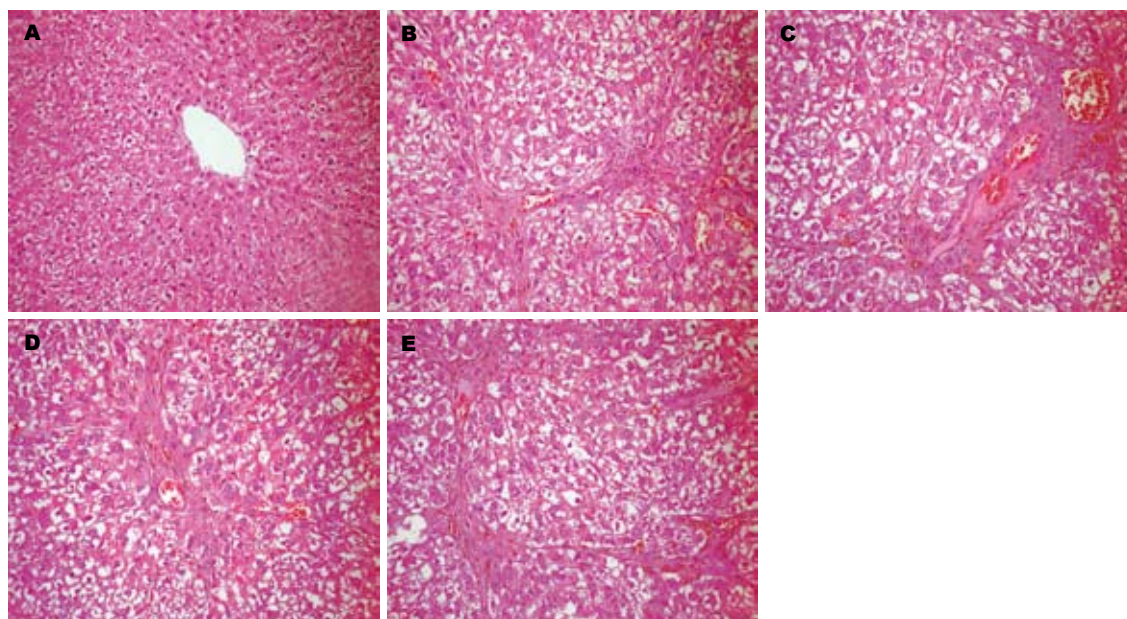


图 1 各组大鼠HE染色图片(×200). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组。

为0分,着色淡(浅黄)者为1分,中等着色(棕黄)为2分,着色深(棕褐)者为3分;着色范围<5%为0分,6%-25%为1分,26%-50%为2分,51%-75%为3分,>76%为4分;将每张切片的着色程度与着色范围的得分各自相加为其最后计分。

**统计学处理** 所有数据均以mean±SD表示,SPSS17.0软件进行统计分析,先对数据做正态性检验及方差齐性检验,符合上述条件的,行单因素方差分析。组间比较应用LSD检验。相关性分析采用Pearson检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠一般情况** 实验期间共死亡5只大鼠,HE染色显示急性肝衰竭,死亡大鼠均不计入统计学处理。

**2.2 各组大鼠血清AST、ALT的水平** 空白对照组、TFL高低剂量给药组及秋水仙碱组血清ALT、AST均明显低于模型组,具有显著性差异( $P = 0.000$ )。低剂量组与秋水仙碱组无显著性差

异( $P = 0.597, 0.669$ , 表1)。

**2.3 HE及Masson染色** HE染色:与空白对照组相比,模型组大鼠肝小叶结构破坏,肝细胞索排列紊乱,肝组织内出现广泛的空泡变性,大范围坏死、炎细胞浸润,部分可见假小叶形成;TFL高剂量给药组小叶结构部分紊乱,肝组织变性、细胞坏死,炎细胞浸润较轻。Masson染色:空白对照组仅见汇管区和中央静脉周围有少量细小的胶原纤维,未见纤维增生;模型组可见小叶间及汇管区有明显的胶原纤维增生,形成粗大的纤维间隔并向肝小叶内伸展;TFL高剂量给药组胶原纤维增生较轻,形成的纤维间隔较纤细;TFL低剂量给药组及秋水仙碱组肝组织的改变介于模型组和TFL高剂量给药组之间。肝纤维化半定量计分:模型组21.130分±5.463分,TFL高剂量给药组6.780分±3.930分,TFL低剂量给药组14.560分±4.667分,秋水仙碱对照组15.670分±5.745分,空白对照组0.800分±0.422分(表1,图1,图2)。



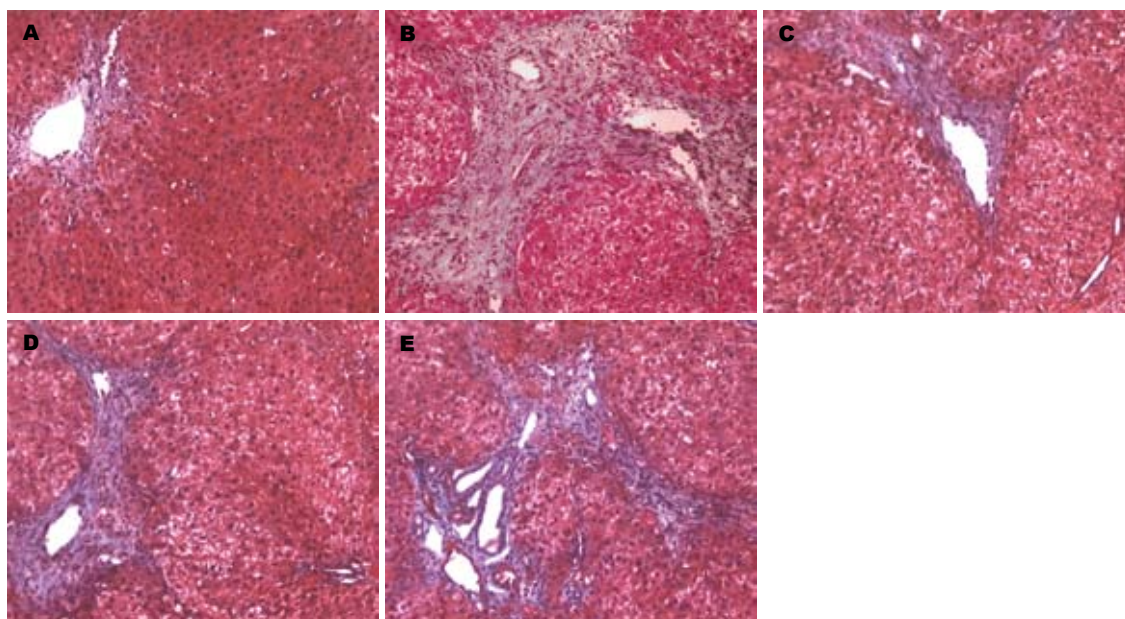


图 2 各组大鼠Masson染色图片( $\times 200$ ). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

#### ■应用要点

本实验旨在探讨TFL抗纤维化的作用机制, 初步证明TFL可改善肝功能, 并为开发抗肝纤维化中药提供了较好的理论依据. 但是TFL抗肝纤维化的其他作用机制, 与其他抗肝纤维化药物的疗效比较还需进一步研究.

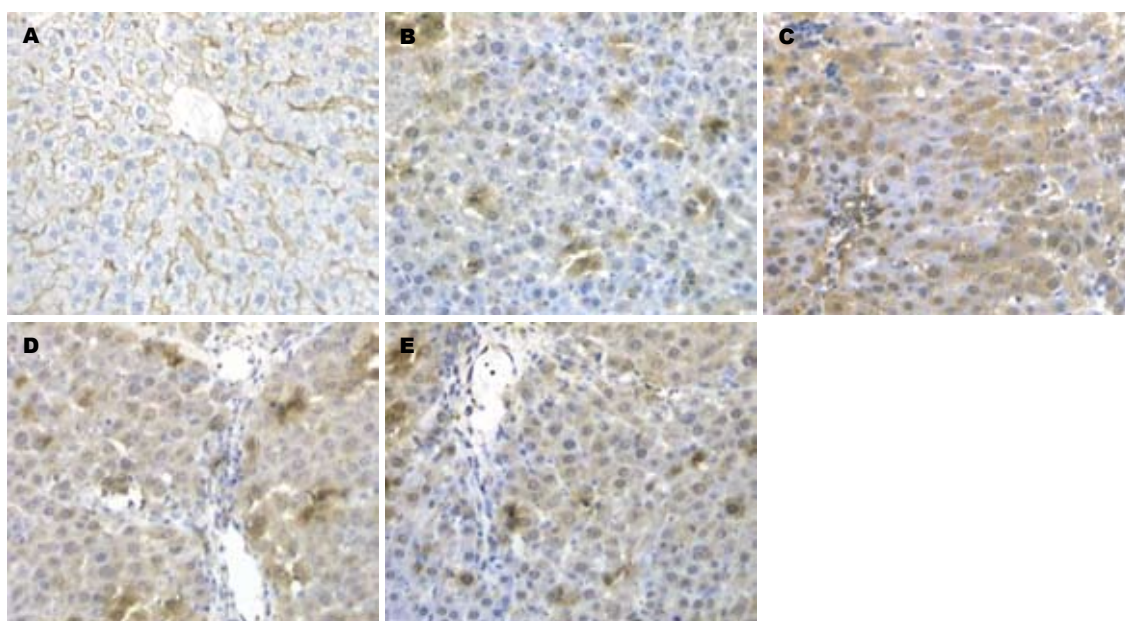


图 3 免疫组织化学检测Bcl-2的表达( $\times 200$ ). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

**2.4 大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达** 光镜下高倍视野(二步法,  $\times 400$ )观察, Bcl-2在正常肝组织肝窦、肝细胞浆、中央静脉有少量表达; 肝纤维化组织中广泛分布, 主要表达在汇管区、纤维间隔、肝细胞浆、肝窦、中央静脉. Bax在正常肝组织中央静脉及周围的肝窦有少量表达; 肝纤维化组织中主要表达在肝细胞浆, 多为变性的肝细胞浆, 严重时呈弥漫性表达. 模型组大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达较正常组显著升高( $P = 0.000$ ), TFL高、低剂量给药组及秋水仙碱组Bcl-2的表达较模型组升高( $P = 0.000, 0.047,$

$0.021$ ), Bax的表达较模型组降低( $P = 0.000, 0.014, 0.007$ ), TFL药物干预组中高剂量组与低剂量组比较Bcl-2的表达升高( $P = 0.018$ ), Bax的表达显著降低( $P = 0.002$ ). Bcl-2、Bax在秋水仙碱组与TFL低剂量组中的表达无显著性差异( $P = 0.726, 0.767$ , 表1, 图3, 图4).

**2.5 肝纤维化程度与Bcl-2、Bax的相关性** 肝纤维化严重程度与Bax的表达显著正相关( $r = 0.874, P = 0.000$ ); 除正常组外的肝纤维化程度与Bcl-2的表达显著负相关( $r = -0.763, P = 0.000$ , 图5).



### ■同行评价

本研究为开发新的抗肝纤维化中药提供了较好的理论依据, 有较高的学术水平和实际应用的价值。

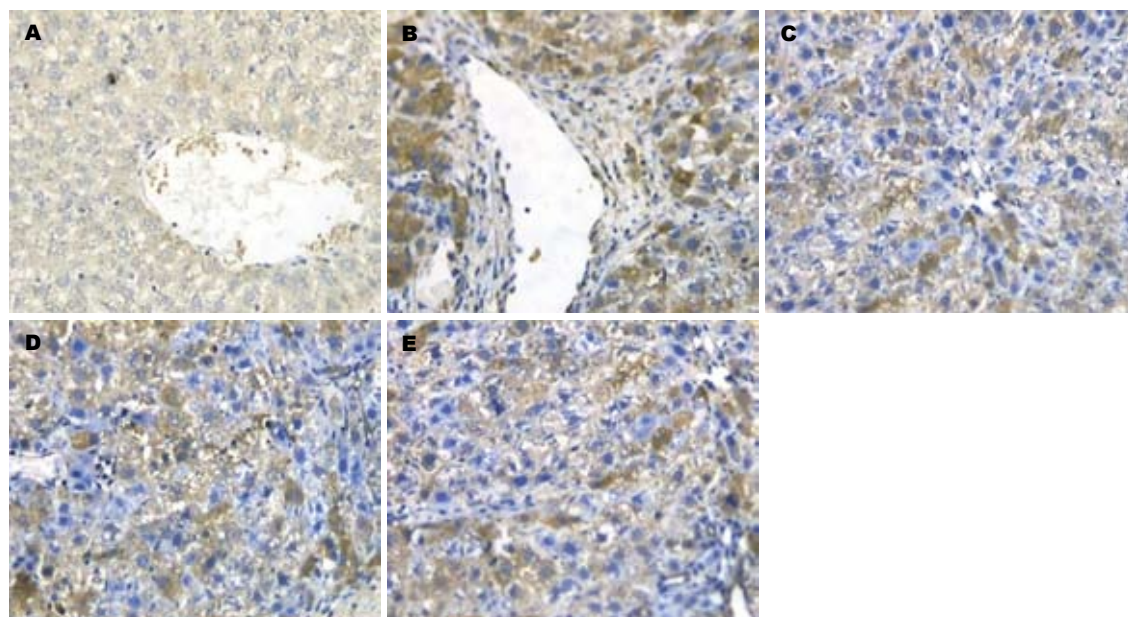


图 4 免疫组织化学检测Bax的表达(×200). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

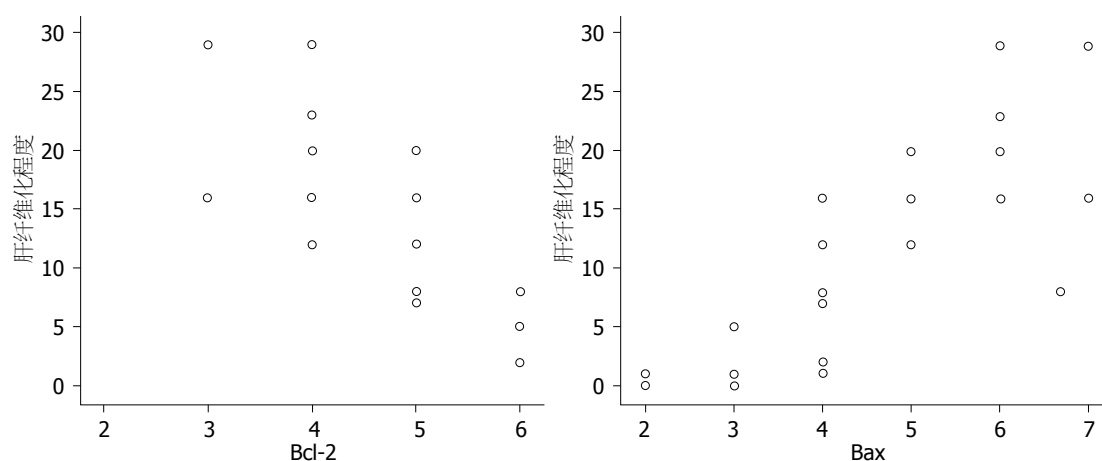


图 5 肝纤维化程度与Bcl-2、Bax表达的相关分析散点图.

### 3 讨论

研究表明荔枝核及其活性成分具有降糖、调脂<sup>[8]</sup>、护肝<sup>[9]</sup>、抗病毒<sup>[10]</sup>等多种药理作用. 荔枝核颗粒对于S180、EAC肉瘤的抑瘤作用是通过促进Bax的表达, 减少Bcl-2的表达, 诱导肿瘤细胞的凋亡, 进而表现抗肿瘤作用<sup>[11,12]</sup>. 由此本实验通过Bcl-2、Bax的表达变化来观察荔枝核总黄酮抗肝纤维的作用机制.

肝纤维化是肝硬化的前期病变阶段, 研究发现其可能是由于长期的肝损伤启动肝内细胞死亡而引起的. 肝纤维化的起始阶段与肝组织受到外界损伤刺激后发生脂质过氧化产生凋亡有关<sup>[13]</sup>. 肝细胞凋亡后形成的凋亡小体和其他细胞碎片被星状细胞吞噬, 引起星状细胞的活化、增殖, 转化成肌成纤维样细胞后最终导致

细胞外基质的沉积形成纤维化<sup>[14]</sup>. 目前肝细胞的凋亡主要有内源性途径和外源性途径, 这2种途径都伴随着线粒体结构和功能的改变<sup>[15]</sup>. 在细胞凋亡的进程中线粒体外膜的通透性起了非常重要的作用, 而调节线粒体外膜通透性的就是Bcl-2家族<sup>[16]</sup>. Bcl-2家族可以分为2类: 一类是促细胞凋亡蛋白, 代表蛋白是Bax蛋白; 另一类是抗细胞凋亡蛋白, 代表蛋白是Bcl-2蛋白, 他们通过激活一系列下游基因发挥调节凋亡的作用<sup>[17]</sup>. Bax是Bcl-2家族的一种前凋亡蛋白, Bax诱导细胞凋亡与在亚细胞器的定位改变相关; 一般情况下Bax位于细胞浆内, 机体受到损伤、刺激后, 激活的Bax将重新定位于线粒体表面释放细胞色素C, 从而诱导细胞凋亡<sup>[18,19]</sup>. 模型组大鼠肝组织中Bax的表达较正常组显著升高, 提示在

肝组织受到外界损伤刺激后, 引起促凋亡蛋白Bax的表达增加来诱导肝细胞的凋亡. TFL干预组、秋水仙碱组较模型组比较肝纤维化程度明显减轻, Bax的表达降低, TFL高剂量组Bax的表达较低剂量组和秋水仙碱组降低, 而低剂量组和秋水仙碱组比较无显著性差异. Bcl-2抑制肝细胞凋亡的机制可能与减轻线粒体功能障碍和脂质过氧化的作用有关<sup>[20,21]</sup>, 从而起到对抗Fas介导的肝损伤的作用<sup>[22]</sup>. Guicciardi等<sup>[23]</sup>发现肝细胞是否发生凋亡主要取决于Bcl-x1和Mcl-1这2种蛋白的表达情况; 肝细胞特异减少任意1种蛋白的表达都会导致细胞凋亡, ALT升高, 肝纤维化的加重. 模型组大鼠肝组织中Bcl-2的表达较正常组显著升高, 在肝细胞发生凋亡后, 机体并不是被动地接受凋亡而是通过代偿机制加强抗凋亡蛋白Bcl-2的表达来对抗凋亡<sup>[24]</sup>. TFL干预组、秋水仙碱组较模型组比较Bcl-2的表达升高, TFL高剂量组Bcl-2的表达较低剂量组和秋水仙碱组升高, 而低剂量组和秋水仙碱组比较无显著性差异.

Mitselou等<sup>[25]</sup>在肝病不同阶段的临床研究中显示, 轻型肝病(脂肪肝)中Bcl-2的表达较多, 而重型肝病(肝硬化、肝癌)中Bax的表达较多. Hanafy等<sup>[26]</sup>在对不同组别的丙肝研究中显示, 丙肝的严重程度与Bcl-2表达负相关, Bax表达正相关有关联. 本实验结果显示肝纤维化的严重程度与肝细胞内Bax的表达显著正相关、Bcl-2的表达显著负相关, 这与临床研究中关于Bcl-2、Bax与肝病进程的相关报道符合. 表明随着肝纤维化程度的加重, 促凋亡蛋白Bax的表达显著增强, 抑制凋亡蛋白Bcl-2的表达降低, 增加肝细胞的凋亡, 也进一步验证了肝细胞凋亡与肝纤维化程度之间的关系.

ALT、AST是反应肝细胞坏死及炎症活动的指标<sup>[27]</sup>, 其中ALT与肝损伤程度密切相关<sup>[28]</sup>. 本研究结果显示, TFL给药组血清中ALT、AST的水平明显低于模型组, 提示TFL具有改善肝功能, 防治肝细胞损伤的作用.

总之, TFL具有较好的抗肝纤维化和改善肝功能的作用, 并推测这种作用可能与上调Bcl-2、下调Bax的表达, 抑制肝细胞的凋亡有关. 同时疗效显示, TFL高剂量组的抗肝纤维化的作用优于秋水仙碱组, 但是本次实验中未能与临床一线新药进行疗效比对, 例如复方鳖甲软肝片<sup>[29,30]</sup>, 因此对TFL抗肝纤维的疗效还有待于进一步的深入研究.

## 4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60
- 2 Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1670-1681
- 3 Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000; 46: 443-446
- 4 覃浩, 孙旭锐, 欧仕玉, 靳雅玲, 罗伟生. 荔枝核总黄酮预防大鼠肝纤维化的初步研究. *第三军医大学学报* 2011; 33: 2353-2356
- 5 赵永忠, 漆志平, 徐庆, 肖绪华, 郭芳, 侯巧燕, 韦京辰. 荔枝核总黄酮抗胆管结扎大鼠肝纤维化的作用及机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2084-2089
- 6 曾民德, 王泰龄, 王宝恩. 肝纤维化诊断和疗效评估共识. *诊断学理论与实践* 2002; 1: 191-192
- 7 孟爱红, 陈芝芸, 严茂祥. 银杏叶提取物对肝纤维化大鼠肝细胞凋亡的影响. *中华中医药学刊* 2009; 27: 2095-2097
- 8 张永明, 袁红, 田菊霞, 沈礼, 余海泳, 尹洪萍, 范超明. 荔枝核皂甙提取物对小鼠糖异生作用和血脂代谢的影响. *杭州师范学院学报(自然科学版)* 2005; 4: 435-436
- 9 肖柳英, 潘竞锵, 饶卫农, 韩超, 谭海荣, 萧丽珊, 梁立帆, 江燕梅. 荔枝核颗粒对小鼠肝损伤保护作用的实验研究. *中华中医药杂志* 2005; 20: 42-43, 7
- 10 王辉, 陶小红, 王洋, 黄雪松, 郭国庆, 沈伟哉. 荔枝核提取物体外抗病毒活性及其机制研究. *中国药科大学学报* 2008; 39: 437-441
- 11 吕俊华, 沈文娟, 韦笑梅, 肖柳英. 荔枝核提取物对荷瘤小鼠肿瘤细胞Bax和Bcl-2蛋白表达的影响. *中成药* 2008; 30: 1381-1383
- 12 林妮, 肖柳英, 潘竞锵, 吕俊华. 荔枝核对小鼠S180、EAC肿瘤细胞Bax和Bcl-2蛋白表达的影响研究. *中国药房* 2008; 19: 1138-1141
- 13 邵祥强, 肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 268-274
- 14 Mehal W, Imaeda A. Cell death and fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 226-231
- 15 张雪娇, 郑仕中, 陆茵, 倪春艳, 马进, 王爱云. 线粒体在肝细胞凋亡中的作用及中药对其保护作用. *中草药* 2011; 42: 1141-1145
- 16 Vick B, Weber A, Urbanik T, Maass T, Teufel A, Krammer PH, Opferman JT, Schuchmann M, Galle PR, Schulze-Bergkamen H. Knockout of myeloid cell leukemia-1 induces liver damage and increases apoptosis susceptibility of murine hepatocytes. *Hepatology* 2009; 49: 627-636
- 17 郭晨, 李丹, 林纳, 黄月红, 陈治新, 王小众. 表达HBVX基因的小鼠模型的建立及对肝细胞凋亡因子的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1225-1230
- 18 Kotsafti A, Farinati F, Cardin R, Burra P, Bortolami M. Bax inhibitor-1 down-regulation in the progression of chronic liver diseases. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 35
- 19 赵和平, 解燕茹. Bcl-2、Bax蛋白表达在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2409-2412
- 20 Mitchell C, Robin MA, Mayeuf A, Mahrouf-Yorgov M, Mansouri A, Hamard M, Couton D, Fromenty B, Gilgenkrantz H. Protection against hepatocyte mitochondrial dysfunction delays fibrosis progression in mice. *Am J Pathol* 2009; 175: 1929-1937
- 21 Mitchell C, Mahrouf-Yorgov M, Mayeuf A, Robin MA, Mansouri A, Fromenty B, Gilgenkrantz H. Overexpression of Bcl-2 in hepatocytes protects against injury but does not attenuate fibrosis in a mouse model of chronic cholestatic liver disease.

- Lab Invest* 2011; 91: 273-282
- 22 Kahraman A, Mott JL, Bronk SF, Werneburg NW, Barreyro FJ, Guicciardi ME, Akazawa Y, Braley K, Craig RW, Gores GJ. Overexpression of mcl-1 attenuates liver injury and fibrosis in the bile duct-ligated mouse. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1908-1917
- 23 Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 402-410
- 24 魏屏, 罗端德, 熊莉娟, 曾令兰. 吡嗪酮对血吸虫病肝纤维化小鼠肝组织Bcl-2和Bax表达的影响. *中国寄生虫病防治杂志* 2005; 18: 419-421
- 25 Mitselou A, Karapiperides D, Nesseris I, Vougiouklakis T, Agnantis NJ. Altered expression of cell cycle and apoptotic proteins in human liver pathologies. *Anticancer Res* 2010; 30: 4493-4501
- 26 Hanafy SM, Shehata OH, Farahat NM. Expression of apoptotic markers BCL-2 and Bax in chronic hepatitis C virus patients. *Clin Biochem* 2010; 43: 1112-1117
- 27 王付, 尚立芝, 苗小玲, 甘陈菲, 张慧娜. 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝功能、肝纤维化指标及病理变化的影响. *中国实验方剂学杂志* 2012; 18: 177-180
- 28 黄婉姣, 李涛, 周罗晶, 吴子安, 徐宁, 黄宪章, 庄俊华. 丙型肝炎患者血清肝功能与肝纤维化的相关性. *广东医学* 2010; 31: 3218-3219
- 29 艾志波, 张荣华, 闫国和. 鳖甲煎改良方对大鼠肝纤维化的防治作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 13-18
- 30 于珊, 徐雪钰, 李建宇, 李昆峰, 梁光义, 刘昌孝, 黄正明. 苯丙氨酸二肽类化合物Y101对CCl<sub>4</sub>诱导大鼠慢性肝损伤的保护作用. *中国新药杂志* 2011; 20: 1750-1754

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》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: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则 <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为 <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ .  $P$  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  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

# 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠肝组织TLR4, TLR9表达的影响

李宏, 杨勤, 程明亮, 陆爽, 吴君

李宏, 程明亮, 陆爽, 吴君, 贵阳医学院附属医院感染科 贵州省贵阳市 550004

杨勤, 贵阳医学院病理与病理生理学教研室 贵州省贵阳市 550004

李宏, 讲师, 主治医师, 主要从事肝纤维化与感染性疾病的研究。贵州省科技厅社会攻关基金资助项目, No. 黔科合SY(2010)3017

作者贡献分布: 此课题由李宏、杨勤、程明亮及吴君共同设计; 研究过程由李宏与陆爽操作完成; 数据分析由李宏与陆爽完成; 本论文写作由李宏、杨勤、陆爽及吴君完成。

通讯作者: 程明亮, 教授, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院感染科, chengml@21cn.com

电话: 0851-6752795 传真: 0851-6741623

收稿日期: 2012-03-09 修回日期: 2012-05-03

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-06-28

## Intragastric administration of blueberry juice decreases the expression of Toll-like receptors 4 and 9 in rats with immune hepatic fibrosis

Hong Li, Qin Yang, Ming-Liang Cheng, Shuang Lu, Jun Wu

Hong Li, Ming-Liang Cheng, Shuang Lu, Jun Wu, Institute of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China  
Qin Yang, Department of Pathophysiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China  
Supported by: the Social Research Project of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. SY(2010)3017

Correspondence to: Ming-Liang Cheng, Professor, Institute of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. chengml@21cn.com

Received: 2012-03-09 Revised: 2012-05-03

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of blueberry on the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and toll-like receptor 9 (TLR9) in rats with immune hepatic fibrosis.

**METHODS:** Sixty healthy Wistar rats were randomly divided into six groups: normal control group (group A), hepatic fibrosis model group (group B), low-, medium-, and high-concentration blueberry groups (groups C, D and E), and Fufang Biejia Ruanganpian group (group F). Hepatic fibrosis was induced in rats of groups B-F by intraperitoneally injecting porcine serum

once daily for 12 wk. Simultaneously, rats of groups C-F were intragastrically given blueberry juice or Fufang Biejia Ruanganpian for 12 wk. All rats were sacrificed at the end of the experiment. Liver index was calculated. Pathological changes in the hepatic tissue were evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured. The activity of superoxide dismutase (SOD), the contents of malondialdehyde (MDA), hydroxyproline (Hyp) and reduced glutathione (GSH) in liver homogenates were determined. The expression of TLR4 and TLR9 in the liver was detected by Western blot.

**RESULTS:** There were no significant differences in serum levels of ALT and AST among various groups ( $F = 4.274, 0.917$ , both  $P > 0.05$ ). Compared to group B, the activities of SOD and contents of GSH in liver homogenates were significantly higher ( $F = 6.662, 61.472$ , both  $P < 0.05$ ); liver index and the contents of Hyp and MDA in liver homogenates were significantly lower ( $F = 3.972, 42.755, 41.265$ , all  $P < 0.05$ ); and the degree of hepatic fibrosis was significantly reduced ( $F = 63.339, P < 0.05$ ) in groups D and E. The expression of hepatic TLR4 and TLR9 in group E was significantly lower than that in group B ( $F = 6.932, 7.534$ , both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Higher expression of TLR4 and TLR9 protein may be associated with the occurrence and development of immune hepatic fibrosis. Blueberry has a preventive effect on immune hepatic fibrosis in rats.

**Key Words:** Blueberry; Porcine serum; Immune hepatic fibrosis; Toll-like receptor 4; Toll-like receptor 9

Li H, Yang Q, Cheng ML, Lu S, Wu J. Intragastric administration of blueberry juice decreases the expression of Toll-like receptors 4 and 9 in rats with immune hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1609-1615

## 摘要

**目的:** 探讨蓝莓抗氧化作用对猪血清免疫性

## ■背景资料

肝脏是人体内最大和最重要的免疫器官, 几乎所有导致肝细胞损伤的因素最终均与免疫因素相关, 而Toll样受体(TLRs)在机体的非特异性免疫和特异性免疫中发挥着重要的作用。本课题组前期实验表明, 蓝莓可预防CCl<sub>4</sub>所致的大鼠急性肝损伤和大鼠肝纤维化。

## ■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系

## ■研究前沿

深入研究发现HSC胞膜也表达TLRs,这意味着TLRs很可能参与了肝细胞损伤及肝纤维化的发生和发展,但详细机制还不明确.蓝莓对免疫性肝纤维化可否有一定的干预作用及其对TLRs表达的影响未曾见相关报道.

肝纤维化大鼠肝组织Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)和Toll样受体9(TLR9)蛋白表达的影响.

**方法:** 60只♂Wistar大鼠随机分为正常对照组(A组)、模型组(B组)、蓝莓低、中、高剂量防治组(C、D、E组)、复方鳖甲软肝片防治组(F组).除A组外,其余各组均腹腔注射猪血清制备大鼠肝纤维化模型. C、D、E、F组在造模同时分别给予蓝莓原浆或复方鳖甲软肝片灌胃, 1次/d, 共12 wk. 第12周末处死大鼠, 计算大鼠肝脏指数, 行肝脏病理组织学检查, 测定各组大鼠血清ALT和AST水平、肝组织匀浆超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)含量, 免疫印迹法(western blot, WB)和免疫组织化学法检测TLR4和TLR9蛋白质在肝脏组织中的表达.

**结果:** 各组大鼠血清ALT、AST水平无明显差异( $F = 4.274, 0.917, P > 0.05$ ); 与B组比较, D、E组肝组织匀浆SOD活性、GSH含量明显升高( $F = 6.662, 61.472, P < 0.05$ ); 肝脏指数、MDA及Hyp含量明显降低( $F = 3.972, 42.755$ 和 $41.265, P < 0.05$ ); 肝纤维化程度明显减轻( $F = 63.339, P < 0.05$ ), 胶原表达减少; E组大鼠肝组织TLR4和TLR9蛋白质表达明显减少( $F = 6.932$ 和 $7.534, P < 0.05$ ).

**结论:** TLR4和TLR9蛋白质表达增加可能与免疫性肝纤维化的发生发展有关. 蓝莓对大鼠免疫性肝纤维化有一定的预防作用.

**关键词:** 蓝莓; 猪血清; 肝纤维化; Toll样受体4; Toll样受体9

李宏, 杨勤, 程明亮, 陆爽, 吴君. 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠肝组织TLR4, TLR9表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1609-1615  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1609.asp>

## 0 引言

肝脏是人体内最大和最重要的免疫器官, 几乎所有导致肝细胞损伤的因素最终均与免疫因素相关<sup>[1]</sup>, 而Toll样受体(toll-like receptor, TLRs)又是连接人体固有免疫和适应性免疫的一个桥梁, 在机体的非特异性免疫和特异性免疫中发挥着重要的作用<sup>[2]</sup>. 我国传统的中医中药在肝纤维化的临床治疗方面取得了值得肯定的效果, 但长期服药伴发的一系列问题如消化系反应、肝肾功能损害、药物过敏等不良反应, 以及高昂医

疗费用等. 蓝莓属杜鹃花科越桔属, 近年的研究表明, 蓝莓有高含量的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、花青苷色素、鞣花酸和视紫质, 具有调节免疫、延缓衰老及抗癌等多种生理活性功能, 为世界粮农组织推荐的世界5大健康食品之一, 被誉为“果蔬中的第1号抗氧化剂”<sup>[3]</sup>. 本课题组前期试验表明, 蓝莓可预防CCl<sub>4</sub>所致的大鼠急性肝损伤和大鼠肝纤维化<sup>[4,5]</sup>. 本研究以猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型为研究对象, 进一步探讨蓝莓对大鼠免疫性肝纤维化Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)和TLR9蛋白表达的影响.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 蓝莓, 兔眼品种, 贵州省麻江县蓝莓生产基地提供, -20℃保存, 临用时解冻榨汁; 复方鳖甲软肝片由内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司生产, 批号20100708; 实验动物: ♂Wistar大鼠60只, 清洁级, 体质量180 g±20 g, 由重庆医科大学实验动物中心提供; 无菌猪血清购自北京燕生政博生物科技有限公司; SOD检测试剂盒、MDA检测试剂盒(批号20101228)、Hyp检测试剂盒(批号20110215)、GSH检测试剂盒(批号20101228)均购自南京建成生物工程研究所; 电化学发光(ECL)试剂盒(美国Millipore公司, 批号1035601); 全蛋白提取试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司, 批号100913); BCA蛋白定量试剂盒(美国Thermo SCIENTIFIC公司, 批号138546); TLR4一抗(批号SC-2021)、TLR9一抗(批号SC-30002)、β-actin一抗(批号SC130656), 均购自美国Santa Cruz Biotechnology公司; 752紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司); Siemens Advia1650全自动生化分析仪(德国西门子公司); Gel Doc EQ凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司); Biomias图像分析仪(四川大学图像图形研究所); 垂直电泳槽及电转移仪(DYCZ-24DN).

## 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及处理:** 大鼠随机分为6组, 即正常对照组(A组), 肝纤维化模型组(B组), 蓝莓原浆低、中、高剂量组(C、D、E组)及复方鳖甲软肝片组(F组), 每组10只. 模型组大鼠采用猪血清腹腔注射制备大鼠肝纤维化模型(于每周二、五给予无菌猪血清ip, 0.5 mL/只, 共12 wk)<sup>[6]</sup>. 造模的同时, C-F组分别给予蓝莓原浆0.25 mL/100 g, 0.5 mL/100 g, 1.0 mL/100 g<sup>[7]</sup>, 复方鳖甲软肝片(0.054 g/100 g)灌胃<sup>[8]</sup>, 1次/d, 共12 wk. 正常组给



予正常饮食, 每天给予等容量0.9%NaCl注射液灌胃, 每周二、五给予0.9%NaCl注射液腹腔注射(0.5 mL/只), 共12 wk. 第12周末股动脉放血处死大鼠, 处死前称量大鼠体质量, 常规留取血清, 采用Siemens Advia 1650全自动生物化学分析仪测定ALT、AST活性. 留取全部肝脏, 称量肝脏湿重, 计算各组大鼠肝脏指数[肝脏重量(g)/体质量(g)×100%]. 制备肝组织匀浆, 严格按试剂盒操作测定各组大鼠肝组织匀浆SOD活性, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)及羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)含量.

1.2.2 肝脏组织形态学检查: 取相同部位肝脏用4%甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 行HE染色, 光镜下观察肝脏病理变化并按Ishak方法分期<sup>[8]</sup>.

1.2.3 Western blot检测TLR4, 9蛋白的表达: 提取蛋白并测定蛋白含量. 取蛋白质样品40 μg, 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 封闭, TLR4, 9抗体(均为1:1 000) 4℃孵育过夜, 二抗(1:5 000)室温1 h, ECL曝光显影, Gel Doc EQ凝胶成像仪扫描, Quantity One软件分析结果. 以β-actin表达水平作为内参照.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件. 计量资料以mean±SD表示, 多组间比较用单因素方差分析, 分析前行方差齐性检验, 方差齐时用LSD法, 方差不齐时用Tamhane's(*q*'检验); 等级资料用秩和检验;  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 大鼠一般情况 整个实验过程中各组大鼠一般状态良好, 毛发光泽. C组死亡1只大鼠, 解剖后见右侧胸腔积液, 肺部散在白色脓点; F组大鼠死亡2只, 解剖后发现其中1只膀胱肿大, 质地硬. 另1只见肺部瘀血, 有点状出血灶; 其余各组实验过程中无大鼠死亡.

2.2 各组大鼠血清ALT、AST活性比较 与A组相比, 各组大鼠血清ALT、AST活性有增高; 与B组相比, C、D、E、F组大鼠血清ALT、AST活性有下降, 但差异均无统计学意义( $F=4.274$ ,  $0.917$ , 均 $P>0.05$ , 图1).

2.3 各组大鼠肝脏指数的比较 与A组相比, B组大鼠肝脏指数明显增加( $F=3.972$ ,  $P<0.05$ ). 与B组比较, C-F组大鼠肝脏指数明显降低( $F=3.972$ ,  $P<0.05$ ). C、D、E、F组间差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表1).

2.4 各组大鼠肝组织匀浆Hyp含量比较 与A组比, 各组大鼠肝组织匀浆Hyp明显增高, 差异有统计

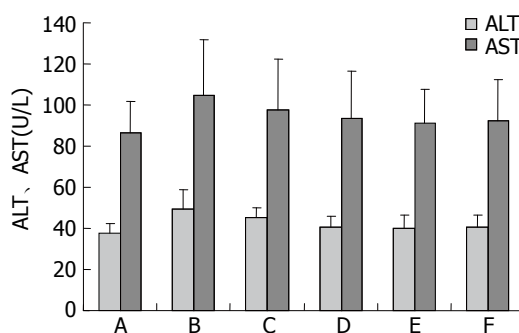


图1 各组大鼠血清ALT、AST水平比较. A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组.

表1 各组大鼠肝脏指数、Hyp含量比较 (mean±SD)

分组	n	肝脏指数(g/g)	Hyp(μg/g)
A	10	2.77 ± 0.31	326.88 ± 37.74
B	10	3.32 ± 0.28 <sup>a</sup>	603.16 ± 68.92 <sup>a</sup>
C	9	3.04 ± 0.10 <sup>ac</sup>	559.45 ± 43.38 <sup>a</sup>
D	10	2.98 ± 0.37 <sup>c</sup>	495.27 ± 46.25 <sup>ac<sup>b</sup></sup>
E	10	3.00 ± 0.25 <sup>c</sup>	472.68 ± 44.14 <sup>ac<sup>b</sup></sup>
F	8	2.92 ± 0.35 <sup>c</sup>	416.12 ± 39.38 <sup>ac<sup>b</sup></sup>

A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs A组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs B组; <sup>b</sup> $P<0.05$  vs C组; <sup>a</sup> $P<0.05$  vs D组; <sup>i</sup> $P<0.05$  vs E组.

学意义( $F=41.265$ ,  $P<0.05$ ). 与B组比较, C-F组大鼠肝组织匀浆Hyp含量降低, 除C组差异无统计学意义外, 其余均有统计学意义( $P<0.05$ ). D、E、F组Hyp较C组明显降低( $P<0.05$ ), F组Hyp较D、E两组明显降低( $P<0.05$ ), 但D、E两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表1).

2.5 各组大鼠肝组织匀浆SOD活性, MDA含量比较 与A组相比, 各组大鼠SOD活性下降, MDA含量增高, 差异均有统计学意义( $F=23.376$ ,  $42.755$ , 均 $P<0.05$ ). 与B组比较, C-F组大鼠肝组织匀浆SOD活性升高, MDA含量下降, 除C组无统计学意义外, 其余均有统计学意义(均 $P<0.05$ ). D、E组SOD活性较C组升高, MDA含量下降(均 $P<0.05$ ), D、E两组间差异无统计学意义(均 $P>0.05$ ). F组SOD活性较E组降低, MDA含量升高(均 $P<0.05$ ), 与C、D组差异无统计学意义(均 $P>0.05$ , 表2).

2.6 各组大鼠肝组织匀浆GSH含量比较 与A组比, 各组大鼠肝组织匀浆GSH明显下降, 差异有统计学意义( $F=61.472$ ,  $P<0.05$ ). 与B组比较, 除C组无统计学意义外, D、E、F组大鼠肝组织匀

## ■ 相关报道

Droemann等发现TLR9主要参与病原体CpG基序(包括病毒、细菌及坏死的细胞碎片等)激活免疫细胞的信号转导, 最终激活NF-κB导致大量炎症因子的产生. 提示TLR4, 9可能参与肝纤维化的发生发展.

## ■创新盘点

本研究应用Western blot法观察了蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠肝组织TLR4、9表达的影响,为肝纤维化发病机制的研究及防治提供了新思路。

表 2 各组大鼠SOD活性、MDA、GSH含量比较 (mean ± SD)

分组	n	SOD(U/mg)	MDA(nmol/mg)	GSH(mg/g)
A	10	3.14 ± 0.35	0.70 ± 0.08	2.30 ± 0.30
B	10	1.56 ± 0.41 <sup>a</sup>	1.24 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.09 <sup>a</sup>
C	9	1.81 ± 0.34 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.10 <sup>a</sup>
D	10	2.20 ± 0.27 <sup>ace</sup>	0.89 ± 0.07 <sup>ace</sup>	1.36 ± 0.25 <sup>ace</sup>
E	10	2.47 ± 0.38 <sup>ace</sup>	0.83 ± 0.06 <sup>ace</sup>	1.77 ± 0.33 <sup>ace</sup>
F	8	1.95 ± 0.45 <sup>aci</sup>	0.96 ± 0.08 <sup>aci</sup>	1.69 ± 0.23 <sup>aci</sup>

A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组。 <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs B组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs C组; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs D组; <sup>i</sup> $P < 0.05$  vs E组。

表 3 各组大鼠肝纤维化程度分级

分组	n	肝纤维化分级							秩均值
		0	I	II	III	IV	V	VI	
A	10	10	0	0	0	0	0	0	5.50
B	10	0	0	0	0	2	5	3	47.50 <sup>a</sup>
C	9	0	0	0	0	2	5	2	46.67 <sup>a</sup>
D	10	0	0	3	5	1	1	0	28.95 <sup>ace</sup>
E	10	0	0	4	3	3	0	0	27.95 <sup>ace</sup>
F	8	0	2	3	3	0	0	0	16.75 <sup>acegi</sup>

A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组。 <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs B组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs C组; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs D组; <sup>i</sup> $P < 0.05$  vs E组。

浆GSH明显升高( $F = 61.472$ ,  $P < 0.05$ )。D、E、F组大鼠肝组织匀浆GSH含量较C组增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。D、E、F组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表2)。

**2.7 各组大鼠肝组织病理学比较** HE染色见正常对照组大鼠肝小叶结构正常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝细胞互相连接成条索状,形成肝细胞索,汇管区及肝组织内均无胶原纤维增生。模型组大鼠肝实质广泛破坏,小叶内肝细胞结构紊乱;汇管区弥漫性纤维增生,胶原纤维呈条索状向肝实质延伸形成纤维间隔,分割并破坏肝小叶,少部分病例甚至形成假小叶。蓝莓原浆低剂量组纤维化程度较模型组无明显改变;蓝莓原浆高剂量组肝小叶结构大部分保留,有桥接纤维化形成。复方鳖甲软肝片组无明显纤维化或仅在汇管区周围见少量纤维化( $F = 63.339$ ,  $P < 0.05$ , 表3, 图2)。

**2.8 各组大鼠肝组织TLR4蛋白质表达** 与A组比较, B、C、F组TLR4表达均明显增高( $F = 6.932$ ,  $P < 0.05$ );与B组比较, D、E组TLR4表达均减少( $F =$

$6.932$ ,  $P < 0.05$ , 表4, 图3)。

**2.9 各组大鼠肝组织TLR9蛋白质表达** 与A组比较, B、C、D、F组TLR9表达均明显增高( $F = 7.534$ ,  $P < 0.05$ );与B组比较, E组TLR9蛋白表达明显减少( $F = 7.534$ ,  $P < 0.05$ )。B、C、D、F组间TLR9表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表4, 图4)。

### 3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝脏疾病常见的一种病理过程,是发展至肝硬化、原发性肝癌的必经阶段。多年的医学研究发现肝纤维化是可以逆转的<sup>[9]</sup>,因此,防止和逆转肝纤维化已成为防治肝硬化、原发性肝癌的重要环节。肝脏是机体天然免疫系统中一个重要的器官,是机体进行物质交换和代谢的中心,易与外来异物抗原接触,从而激活细胞免疫系统而发生免疫反应。越来越多的研究表明,在慢性肝损伤过程中,免疫介导的间接损伤起主导作用<sup>[1]</sup>。

TLRs是近年来发现的机体在天然免疫和获得性免疫中都发挥重要作用的模式识别受体。

■应用要点  
TLR4, 9蛋白表达增加可能与免疫性肝纤维化的发生发展有一定关系. 蓝莓可能通过其高含量的抗氧化剂发挥了强大的抗氧化作用, 并调节了大鼠肝组织中TLR4, 9蛋白的信号传导通路, 减轻肝细胞炎症, 起到一定的抗肝纤维化作用.

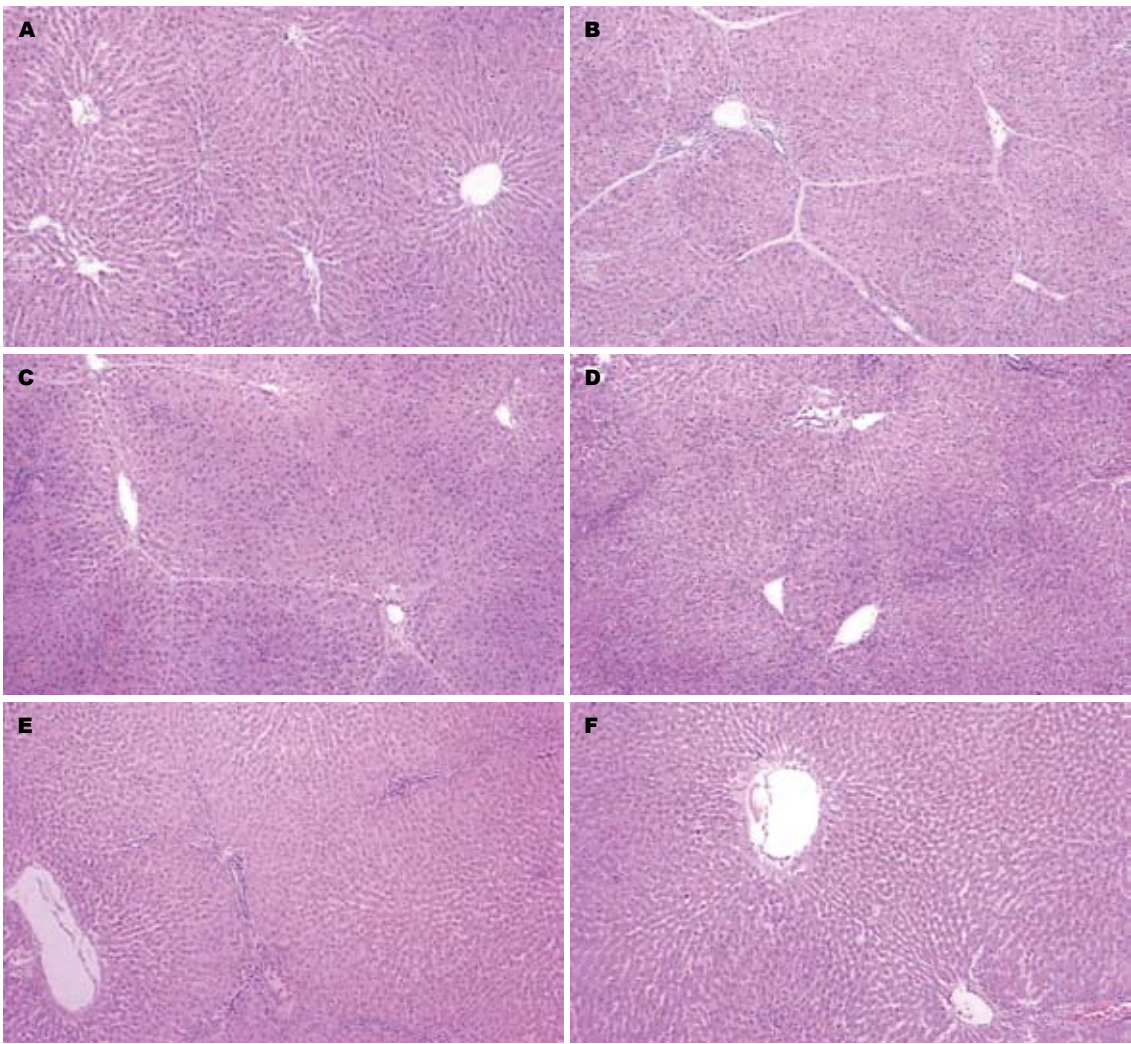


图 2 各组大鼠肝组织HE染色结果(HE × 400). A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组.

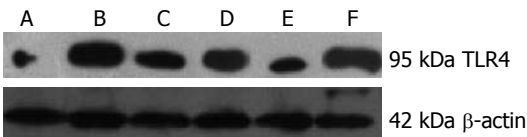


图 3 Western blot检测各组TLR4蛋白质表达. A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组.

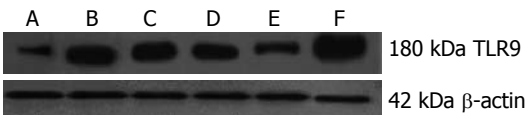


图 4 Western blot检测各组TLR9蛋白质表达. A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组.

广泛分布于动物的肝、脾、肺、心、肾、脑及胸腺等多种组织内, 在大约20余种细胞表面均

表 4 各组大鼠肝组织TLR4, 9蛋白质表达 (mean ± SD)			
分组	n	TLR4	TLR9
A	10	0.21 ± 0.10	0.17 ± 0.05
B	10	1.28 ± 0.40 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.42 <sup>a</sup>
C	9	1.07 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.08 <sup>a</sup>
D	10	0.45 ± 0.48 <sup>ce</sup>	0.43 ± 0.10 <sup>a</sup>
E	10	0.36 ± 0.18 <sup>ce</sup>	0.20 ± 0.11 <sup>ce</sup>
F	8	1.15 ± 0.57 <sup>agi</sup>	0.43 ± 0.06 <sup>ai</sup>

A: 正常对照组; B: 免疫性肝纤维化模型组; C: 蓝莓原浆低剂量组; D: 蓝莓原浆中剂量组; E: 蓝莓原浆高剂量组; F: 复方鳖甲软肝片组. <sup>a</sup>*P* < 0.05 vs A组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs B组; <sup>e</sup>*P* < 0.05 vs C组; <sup>g</sup>*P* < 0.05 vs D组; <sup>i</sup>*P* < 0.05 vs E组.

有表达<sup>[10]</sup>, 他如同天然免疫的“眼睛”, 是机体抵抗感染性疾病的第1道屏障<sup>[11]</sup>. 肝脏中的TLRs通过门静脉能够接触到大量病原体成分, 通过信号转导广泛参与肝脏的生理病理过程<sup>[12]</sup>. 近



### ■同行评价

该研究以猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型为研究对象,进一步探讨蓝莓对大鼠免疫性肝纤维化及TLR4、TLR9蛋白表达的影响,内容有新意,也有一定的临床研究价值。

年来,TLRs在某些肝脏疾病如病毒性肝炎、肝硬化、肝移植、自身免疫性肝炎中的作用获得了初步的认识<sup>[13]</sup>。随着对TLRs的进一步深入研究,有学者发现肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)胞膜也表达TLRs,这意味着TLRs很可能参与了肝细胞损伤及肝纤维化的发生和发展<sup>[14]</sup>。TLR4是最早发现的哺乳动物TLRs蛋白,已证实革兰氏阴性菌细胞外膜内毒素主要成分脂多糖(LPS)是TLR4的主要配体<sup>[15]</sup>,而内毒素与肝纤维化的关系早已达成共识,因此TLR4被认为与革兰氏阴性细菌及其内毒素的识别和激活有关<sup>[16]</sup>,但TLR4在肝纤维化中的作用和地位还未完全被人们所了解。TLR9主要参与病原体CpG基序(包括病毒、细菌及坏死的细胞碎片等),激活免疫细胞的信号转导,最终激活NF- $\kappa$ B导致大量炎症因子的产生<sup>[17]</sup>。

蓝莓植物中的小浆果类蓝色水果,因含有丰富的营养及药用保健成分,被誉为“黄金浆果”。在英国权威营养学家列出的全球15种健康食品中蓝莓食品居首位,联合国粮农组织(FAO)将其列为5大健康食品之一。美国人类营养研究中心发现蓝莓含有大量生理活性物质,富含花青素、多酚类和黄酮类化合物等其他果品中少有的特殊成分<sup>[18,19]</sup>。可提高机体抵抗氧化应激的能力<sup>[20]</sup>。国外学者研究发现:健康成人连续每天喝一杯蓝莓/苹果汁,可以增加血液抗氧化能力和降低淋巴细胞的DNA氧化损伤<sup>[21]</sup>。有研究发现:蓝莓对d-半乳糖胺和脂质多糖诱导的急性肝损伤有保护作用<sup>[22]</sup>。从蓝莓叶子中提取的原花青素,具有抑制丙型肝炎病毒的作用<sup>[23]</sup>。近年更进一步的研究还发现:蓝莓叶子的原花青素体外可通过抑制血小板衍生生长因子受体(platelet derived growth factor, PDGF)信号途径抑制人HSC的活化<sup>[24]</sup>。本课题组前期的研究表明:蓝莓可激活小鼠肝脏的核转录相关因子(NF-E2-related factor 2, Nrf2), I 型血红素氧化酶(heme Oxygenase-1, HO-1)和醌氧化还原酶的表达,提高T细胞的免疫功能<sup>[25,26]</sup>,可通过抑制转化生长因子- $\beta$ 1,下调Smad4及上调Smad7的表达对CCl<sub>4</sub>所致的大鼠肝纤维化有一定的预防作用<sup>[27]</sup>;可激活HSC Nrf2,增加HO-1的表达,抑制体外大鼠原代HSC的增殖和活化<sup>[25,26,28]</sup>。

猪血清是免疫性肝纤维化模型常用的异种血清,猪血清进入机体后引起机体的免疫应答,所形成的免疫复合物在肝脏沉积,进而引起局部炎症反应,形成广泛的进行性慢性炎症病变,

如此反复,导致肝细胞变性、坏死、再生及纤维增生等变化,进一步刺激胶原的增生而造成肝纤维化。该方法简便、周期短、经济、出现率高、对动物整体损伤轻微、纤维化形成稳定<sup>[29]</sup>,并且在发病机制上与人类慢性病毒性肝炎所致的肝纤维化更加接近。为此本研究采用猪血清复制免疫性肝纤维化模型,进一步探讨蓝莓对大鼠免疫性肝纤维化的作用。

复方鳖甲软肝片是由鳖甲、莪术、赤芍、当归、三七等组成的复方制剂,是目前临床常用的治疗肝纤维化的药物之一,动物实验及临床研究均提示该药具有较好的防治肝纤维化的作用,其机制与抑制HSC增殖,减少胶原蛋白合成及在Diss间隙过量沉积等有关<sup>[30,31]</sup>,故本研究用复方鳖甲软肝片作为阳性对照。

本研究结果表明,模型组大鼠一般状态良好,毛发光泽,实验过程中无大鼠死亡,血清ALT、AST活性与其余各组无明显差异( $P>0.05$ ),符合免疫性肝纤维化模型动物损伤轻微的特点。复方组在改善肝组织病理学变化,降低Hyp含量上明显优于蓝莓原浆各组(均 $P<0.05$ ),提示该药具有良好的预防大鼠免疫性肝纤维化的作用。蓝莓原浆低剂量组肝脏指数与模型组差异有统计学意义( $P<0.05$ ),但在肝组织病理学改变、肝组织匀浆SOD活性、MDA、Hyp、GSH含量上与模型组无明显差异(均 $P>0.05$ ),提示蓝莓原浆低剂量组无明显预防肝纤维化作用。而蓝莓原浆中、高剂量组能有效减轻大鼠肝纤维化程度(均 $P<0.05$ ),减少肝组织胶原纤维沉积,且肝脏指数下降、肝组织匀浆Hyp、MDA含量降低,SOD活性升高,GSH含量增加(均 $P<0.05$ )。提示蓝莓中、高剂量组对大鼠免疫性肝纤维化具有一定的预防作用,此作用可能与其增加肝脏SOD活性及GSH含量,降低MDA含量,提高机体抗氧化应激的能力有关。另外,与蓝莓原浆低剂量组比较,虽然中、高剂量组肝纤维化程度减轻,肝组织匀浆SOD活性、GSH含量升高,Hyp及MDA含量下降(均 $P<0.05$ ),但中、高剂量组间差异无统计学意义,提示蓝莓低、中、高剂量组间无明显量效关系。

与正常组比较,模型组、蓝莓低剂量组及复方组大鼠肝组织TLR4蛋白质表达明显增高( $P<0.05$ ),模型组、蓝莓低、中剂量组及复方组大鼠肝组织TLR9蛋白质表达明显增高( $P<0.05$ );与模型组比较,蓝莓中、高剂量组TLR4蛋白表达减少( $P<0.05$ ),蓝莓高剂量组TLR9蛋白表达

减少( $P<0.05$ ). 蓝莓各剂量组间无明显量效关系, 提示TLR4和TLR9蛋白质表达增加可能与免疫性肝纤维化的发生发展有一定关系. 蓝莓可能通过其高含量的抗氧化剂发挥了强大的抗氧化作用, 抑制了脂质过氧化反应的发生, 并调节了大鼠肝组织中TLR4, 9蛋白的信号传导通路, 避免其过度激活, 进而抑制了NF- $\kappa$ B的激活, 最终减少了炎性因子的释放, 减轻了肝细胞炎症, 起到一定的抗肝纤维化作用.

#### 4 参考文献

- 1 严伟明, 宁琴. 肝脏免疫学研究进展: 第59届美国肝脏疾病研究学会年会报道. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 235-237
- 2 汤艳丽, 马雄. 肝脏天然免疫研究进展. 胃肠病学 2009; 14: 178-180
- 3 唐阳. 蓝莓小档案. 饮食科学 2005; 1: 29
- 4 王豫萍, 张宝方, 周明玉, 易平, 吴君, 程明亮. 蓝莓预防大鼠肝损伤实验研究. 肝脏 2009; 14: 33-35
- 5 Wang YP, Cheng ML, Zhang BF, Mu M, Zhou MY, Wu J, Li CX. Effect of blueberry on hepatic and immunological functions in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 164-168
- 6 高春芳. 纤维化疾病的基础和临床. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 359-367
- 7 李丰衣, 孙劲晖, 田德禄, 祝世功, 潘慧, 刘霞, 王庆宝. 调肝理脾方抗酒精性肝纤维化作用机制研究. 山东中医药大学学报 2009; 33: 250-252
- 8 Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696-699
- 9 Fallowfield JA, Iredale JP. Reversal of liver fibrosis and cirrhosis—an emerging reality. *Scott Med J* 2004; 49: 3-6
- 10 李婉玉, 姜艳芳, 牛俊奇. Toll样受体与肝脏疾病. 中国免疫学杂志 2009; 10: 957-960
- 11 苟艳子, 连建奇, 聂青和, 庄严, 刘清泉, 邵兵. 肝硬化患者外周血单核细胞表面TLR2和TLR4表达的床意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3278-3283
- 12 陈煜, 时红波, 张帆, 丁美, 赵军, 刘旭华, 段钟平. TLR2、TLR4和TLR9在慢性重型肝炎患者及肝衰竭大鼠中的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1320-1325
- 13 杨俊涛. Toll样受体在肝脏疾病中的功能. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 632-633
- 14 金生. Toll样受体与肝脏疾病. 中华内科杂志 2005; 14: 68-69
- 15 王坤宁, 徐敏. TLR4, NF- $\kappa$ B与急性胰腺炎. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2684-2689
- 16 Fitzgerald KA, Palsson-McDermott EM, Bowie AG, Jefferies KA, Mansell AS, Brady G, Brint E, Dunne A, Gray P, Harte MT, McMurray D, Smith DE, Sims JE, Bird TA, O'Neill LA. Mal (MyD88-adaptor-like) is required for Toll-like receptor-4 signal transduction. *Nature* 2001; 413: 78-83
- 17 Droemann D, Albrecht D, Gerdes J, Ulmer AJ, Branscheid D, Vollmer E, Dalhoff K, Zabel P, Goldmann T. Human lung cancer cells express functionally active Toll-like receptor 9. *Respir Res* 2005; 6: 1
- 18 Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 4026-4037
- 19 Prior RL, Cao G, Prior RL, Cao G. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *J AOAC Int* 2000; 83: 950-956
- 20 Duffy KB, Spangler EL, Devan BD, Guo Z, Bowker JL, Janas AM, Hagepanos A, Minor RK, DeCabo R, Mouton PR, Shukitt-Hale B, Joseph JA, Ingram DK. A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 1680-1689
- 21 Wilms LC, Boots AW, de Boer VC, Maas LM, Pachén DM, Gottschalk RW, Ketelslegers HB, Gottschalk RW, Haenen GR, van Schooten FJ, Kleinjans JC. Impact of multiple genetic polymorphisms on effects of a 4-week blueberry juice intervention on ex vivo induced lymphocytic DNA damage in human volunteers. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1800-1806
- 22 Osman N, Adawi D, Ahrné S, Jeppsson B, Molin G. Endotoxin- and D-galactosamine-induced liver injury improved by the administration of Lactobacillus, Bifidobacterium and blueberry. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 849-856
- 23 Takeshita M, Ishida Y, Akamatsu E, Ohmori Y, Sudoh M, Uto H, Tsubouchi H, Kataoka H. Proanthocyanidin from blueberry leaves suppresses expression of subgenomic hepatitis C virus RNA. *J Biol Chem* 2009; 284: 21165-21176
- 24 Takami Y, Uto H, Takeshita M, Kai H, Akamatsu E, Moriuchi A, Hasegawa S, Oketani M, Ido A, Kataoka H, Tsubouchi H. Proanthocyanidin derived from the leaves of Vaccinium virgatum suppresses platelet-derived growth factor-induced proliferation of the human hepatic stellate cell line LI90. *Hepatol Res* 2010; 40: 337-345
- 25 Wang YP, Cheng ML, Zhang BF, Mu M, Wu J. Effects of blueberry on hepatic fibrosis and transcription factor Nrf2 in rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2657-2663
- 26 王豫萍, 程明亮, 张宝方, 吴君. 蓝莓对肝纤维化大鼠血红素加氧酶-1表达的影响. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 656-660
- 27 张宝芳, 程明亮, 王豫萍, 穆茂. 蓝莓对大鼠肝纤维化TGF- $\beta$ 1/Smads信号通路的影响. 传染病信息 2010; 23: 148-153
- 28 王豫萍, 程明亮, 吴亚云, 张宝芳, 吴君. 蓝莓对大鼠肝星状细胞增殖、活化的影响及机制探讨. 中华医学杂志 2010; 90: 2504-2508
- 29 刘秀英, 胡怡秀, 胡余明, 丘丰, 周月婵, 臧雪冰, 聂焱. 大鼠四氯化碳和猪血清肝纤维化模型比较. 世界华人消化杂志 2002; 10: 975-977
- 30 蔺武, 刘心娟, 魏南, 高炳霞, 姜国俊, 常岩芳. 复方鳖甲软肝片抗肝纤维化疗效的系统评价. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 69-72
- 31 李丰衣, 孙劲晖, 田德禄, 祝世功, 潘慧, 刘霞, 王庆宝. 复方鳖甲软肝片抑制大鼠酒精性肝纤维化作用机制研究. 中国中医药信息杂志 2009; 16: 26-28

编辑 张姗姗 电编 闫晋利



# Urotensin II在急性肝衰竭小鼠肝组织中的表达及损伤作用

刘亮明, 梁冬雨, 张芳芳, 于芳苹, 赵亮, 叶长根

## ■背景资料

急性肝衰竭(ALF)是肝组织的免疫炎症损伤性疾病,病理机制尚不清楚。近年发现Urotensin II(U II)存在显著的免疫炎症活性,在许多脏器的炎症损伤过程中表达升高。

刘亮明, 梁冬雨, 张芳芳, 于芳苹, 赵亮, 叶长根, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院 上海市 201600

刘亮明, 副主任医师, 副教授, 主要从事肝病基础和临床研究。国家自然科学基金资助项目, No. 81070357, No. 30660066

作者贡献分布: 研究经费、实验设计和论文撰写由刘亮明负责; 刘亮明、梁冬雨、张芳芳、于芳苹、赵亮及叶长根参与实验研究。

通讯作者: 刘亮明, 副主任医师, 副教授, 201600, 上海市松江区中山中路748号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院。liuliangming@hotmail.com

电话: 021-67720053

收稿日期: 2012-04-08 修回日期: 2012-04-19

接受日期: 2012-05-20 在线出版日期: 2012-06-28

## Expression and role of Urotensin II in lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver failure in mice

Liang-Ming Liu, Dong-Yu Liang, Fang-Fang Zhang, Fang-Ping Yu, Liang Zhao, Chang-Gen Ye

Liang-Ming Liu, Dong-Yu Liang, Fang-Fang Zhang, Fang-Ping Yu, Liang Zhao, Chang-Gen Ye, Songjiang Hospital, the Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070357 and 30660066

Correspondence to: Liang-Ming Liu, Associate Professor, Songjiang Hospital, the Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, 748 Zhongshan Middle Road, Songjiang District, Shanghai 201600, China. liuliangming@hotmail.com

Received: 2012-04-08 Revised: 2012-04-19

Accepted: 2012-05-20 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression and role of Urotensin II (U II) in lipopolysaccharide (LPS)/D-galactosamine (D-GalN)-induced acute liver failure (ALF) in mice.

**METHODS:** Male Balb/c mice were randomly and equally divided into four groups: normal control group (group A), pre-treatment control group (group B), ALF model group (group C), and pre-treatment model group (group D). ALF were induced in mice by intraperitoneal injection of LPS (50 µg/kg body weight)/D-GalN

(800 mg/kg body weight). The pre-treatment mice were intravenously injected with Urantide (0.6 mg/kg body weight) 30 min before model induction. Serum and liver tissues were sampled 12 h after LPS/D-GalN injection. Mortality was calculated 24 h after attack. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected using the Reitman-Frankel method. Histopathological changes were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Serum U II levels were assessed by ELISA, and the expression of U II and UT was detected by RT-PCR and immunohistochemistry.

**RESULTS:** A mortality of 66.7% was observed in group C, while all mice of groups A, B and D survived. Serum ALT and AST levels had a dramatic increase in groups C and D, but were significantly lower in group D than in group C ( $2\,271.09\text{ U/L} \pm 102.24\text{ U/L}$  vs  $1\,160.67\text{ U/L} \pm 258.32\text{ U/L}$ ,  $1\,569.42\text{ U/L} \pm 204.04\text{ U/L}$  vs  $1\,030.31\text{ U/L} \pm 108.09\text{ U/L}$ , both  $P < 0.01$ ). Widespread destruction of liver architecture, hemorrhagic necrosis, and neutrophil infiltration were noted in group C, whereas liver architecture was completely preserved, and focal necrosis and fewer neutrophil infiltrates were observed in group D. After LPS/D-GalN challenge, serum U II levels increased sharply in groups C and D, but were lower in group D than in group C ( $3.73\text{ µg/L} \pm 0.52\text{ µg/L}$  vs  $1.90\text{ µg/L} \pm 0.27\text{ µg/L}$ , both  $P < 0.01$ ). Overexpression of liver U II and UT mRNAs and proteins was induced by the injection of LPS/D-GalN in groups C and D. Compared to group C, group D had lower levels of U II and UT in the liver.

**CONCLUSION:** U II expression and secretion can be induced by LPS/D-GalN challenge in the liver tissue of ALF mice via a positive feedback mechanism associated with promoting the expression of its receptor UT. U II/UT receptor may be a vital mediator of LPS/D-GalN-induced ALF.

**Key Words:** Acute liver failure; Urotensin II; UT re-

## ■同行评议者

郑素军, 副教授, 副主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

ceptor; Urantide

Liu LM, Liang DY, Zhang FF, Yu FP, Zhao L, Ye CG. Expression and role of Urotensin II in lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver failure in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1616-1622

## 摘要

**目的:** 探讨Urotensin II (U II)在急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)小鼠肝组织中的表达及损伤作用。

**方法:**  $\delta$  Balb/c小鼠随机分成4组(每组6只): 正常对照组(A组)、预处理对照组(B组)、模型组(C组)和预处理模型组(D组)。模型动物以脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/D-半乳糖胺(D-galactosamine, D-GalN)腹腔注射, 预处理动物在造模前30 min, 用U II受体拮抗剂Urantide 0.6 mg/kg尾静脉注射。LPS/D-GalN攻击12 h后, 采集血清和肝组织标本, 并观察24 h小鼠存活情况; 采用Reitman-Frankel法检测血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino-transferase, AST)活性水平; 采用HE染色显微镜观察肝组织损伤程度; RT-PCR法检测U II及其受体UT mRNA的表达; ELISA法检测血清U II多肽分泌水平; 免疫组织化学方法检测肝组织U II多肽及其UT受体蛋白质表达。

**结果:** C组小鼠死亡率为66.7%, A、B和D组所有动物均存活; LPS/D-GalN攻击引起C和D组小鼠血清ALT和AST水平显著升高( $P<0.01$ ), 而D组较C组显著降低( $2\,271.09\text{ U/L} \pm 102.24\text{ U/L}$  vs  $1\,160.67\text{ U/L} \pm 258.32\text{ U/L}$ ,  $1\,569.42\text{ U/L} \pm 204.04\text{ U/L}$  vs  $1\,030.31\text{ U/L} \pm 108.09\text{ U/L}$ ,  $P<0.01$ ); C组小鼠肝组织结构破坏明显, 见大片出血性坏死及炎症表现, D组肝组织结构保持完整, 仅有局灶性出血坏死, 炎症明显减轻; C和D组小鼠血清U II多肽水平较A和B组高( $P<0.01$ ), 但D组较C组明显降低( $3.73\text{ }\mu\text{g/L} \pm 0.52\text{ }\mu\text{g/L}$  vs  $1.90\text{ }\mu\text{g/L} \pm 0.27\text{ }\mu\text{g/L}$ ,  $P<0.01$ ); LPS/D-GalN诱导了C和D组小鼠肝组织U II和UT的mRNA及蛋白质高水平表达, 而D组的表达水平较C组显著降低( $P<0.01$ )。

**结论:** LPS/D-GalN可诱导ALF小鼠肝组织表达和分泌U II, 并促进肝组织UT受体的表达; U II的表达与分泌可能存在正反馈调控机制; U II/UT受体介导了LPS/D-GalN诱导的ALF的发生。

**关键词:** 急性肝衰竭; Urotensin II; UT受体; Urantide

刘亮明, 梁冬雨, 张芳芳, 于芳苹, 赵亮, 叶长根. Urotensin II在急性肝衰竭小鼠肝组织中的表达及损伤作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20(18): 1616-1622

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1616.asp>

## 0 引言

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是以免疫炎症反应为主要特征的肝组织损伤性疾病<sup>[1]</sup>。炎症细胞因子特别是肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等在ALF的发生发展过程中起了关键作用<sup>[2]</sup>。然而, 对于ALF疾病的病理生理学机制的认识仍有待深入。最近, 一种血管活性多肽类物质Urotensin II (U II)被发现具有显著的免疫炎症活性<sup>[3]</sup>。研究显示, U II可通过作用于其G-蛋白耦联受体UT, 促进单核细胞和巨噬细胞向炎症损伤部位聚集, 并促进黏附分子和趋化因子表达以及炎症细胞因子的释放等<sup>[4-6]</sup>。已证实, 血管炎症损伤性疾病如动脉粥样硬化症、心脏慢性炎症损伤性疾病、肾脏免疫炎症性损伤疾病和肝脏慢性炎症损伤性疾病等患者血中均有高水平U II分泌<sup>[7-10]</sup>。这提示U II在组织炎症损伤性疾病中有重要作用。本研究拟进一步检测小鼠ALF模型血清、肝组织内U II及其受体UT的表达情况, 并采用U II受体拮抗剂Urantide进行干预, 以探讨U II/UT受体在ALF发病中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), D-半乳糖胺(D-galactosamine, D-GalN)购自美国Sigma公司; Urantide购自日本PEPTIDE公司; 血清ALT和AST检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供; 小鼠U II ELISA试剂盒购自美国Phoenix Pharmaceutical公司; 逆转录试剂盒购自加拿大Fermentas公司; DNA Marker和PCR反应试剂盒由北京天根公司提供; 健康 $\delta$  Balb/c小鼠由上海交通大学附属第一人民医院动物中心提供, 鼠龄6 wk, 体质量20-22 g。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及处置:** 24只小鼠按随机排列表随机分为4组(6只/组): 正常对照组(A组)、预处理对照组(B组)、模型组(C组)和预处理模型组(D组)。造模前30 min, B组和D组尾静脉注射U II受体拮抗剂Urantide 0.6 mg/kg预处理(药物剂量参考文献[11]), A组和C组给予相应体积无菌NS尾静脉注射。C组和D组以LPS/D-GalN腹腔注射构建小鼠ALF模型, A组和B组则给予相应体积的NS腹腔注射。LPS/D-GalN攻击12 h后, 采集血

## ■ 研发前沿

ALF的免疫炎症损伤机制是近年研究的热点。在该研究领域中, 肝内非实质细胞(包括库普弗细胞和内皮细胞)的激活机制、细胞内信号传递, 以及与肝实质细胞之间的信息交换和分子网络是当前亟待研究的问题。

## ■相关报道

研究表明, U II 可促进炎症损伤性疾病的发生和发展. 在炎症损伤部位, 高水平U II 可募集炎性细胞、促进内皮细胞表达和分泌组织因子、细胞黏附分子, 刺激前炎细胞因子如IL-6、IFN-1 $\beta$ 的表达与分泌.

表 1 不同基因检测引物序列和产物长度

基因	引物序列5'→3'	产物长度
U II	F: GAGCATTCCCTTCATCGTAG	385 bp
	R: CATAGCGTTCACTGCTCATT	
UT	F: CTTTCACTCAGCACCTCAT	211 bp
	R: CTTAGTTTTCTCCACACTGTT	
$\beta$ -actin	F: TGCCGCATCCTCTTCCTC	249 bp
	R: CCACAGGATTCCATACCCAAG	

表 2 不同时间点各组小鼠存活情况

时间点	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h
A组(n)	6	6	6	6	6	6	6
B组(n)	6	6	6	6	6	6	6
C组(n)	6	6	6	6	5	2	2
D组(n)	6	6	6	6	6	6	6

清和肝组织标本, 并观察24 h小鼠死亡情况.

1.2.2 ALF模型制备: 参考文献[12], 以LPS 50  $\mu$ g/kg联合D-GalN 800 mg/kg, 用0.2 mL无菌NS溶解后腹腔注射.

1.2.3 RT-PCR检测: 肝组织(50-100 mg)总RNA提取采用TRIzol试剂按说明书进行. 2 mg总RNA作为模板用于第一链cDNA的合成, 采用逆转录试剂盒(Fermentas公司)进行. 引物设计借助Primer Premier 6.0软件设计, 基因检测引物序列和产物长度如表1. 基因的反应条件均为: 94  $^{\circ}$ C预变性5 min; 94  $^{\circ}$ C 1 min, 58  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 45 s, 共32个循环; 72  $^{\circ}$ C延伸10 min. PCR产物经2%琼脂糖电泳后, 经Bio-Rad凝胶成像分析系统分析条带灰度值, 计算目的基因的相对表达量.

1.2.4 免疫组织化学检测: 肝组织获取后用10%甲醛液固定、常规石蜡包埋、切片, 用于检测U II及UT受体的表达. 标本首先用内源性过氧化物酶阻断剂消除内源性过氧化物酶, 然后用动物非免疫血清进行封闭, 接着用1:300稀释的一抗37  $^{\circ}$ C孵育1 h后(阴性对照以PBS代替一抗), 加生物素化二抗继续37  $^{\circ}$ C孵育10 min, 最后加入DAB底物显色, 苏木精复染. 每步结束均用PBS冲洗3遍, 每次3 min. 以细胞质或细胞核内出现黄色颗粒为阳性表达. 在光学显微镜下计算每高倍视野(high power field, HPF)下的阳性细胞数.

1.2.5 ELISA检测: 依试剂盒说明书进行, 通过竞争酶联免疫反应法, 在酶标仪上测定吸光度 $A_{450}$ , 查标准曲线, 得蛋白浓度.

1.2.6 血清转氨酶检测: 血清ALT和AST活性采

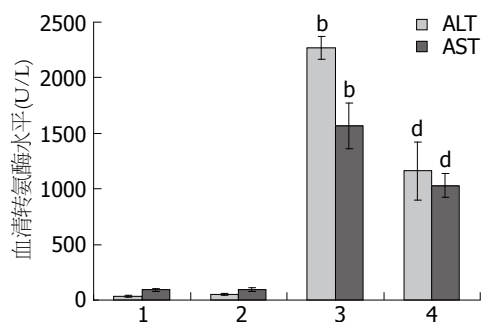


图 1 各组小鼠血清ALT、AST活性水平统计学直方图. 1: A组; 2: B组; 3: C组; 4: D组. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs C组.

用Reitman-Frankel法检测, 依据试剂盒说明书步骤进行. 血清样本通过与2,4-二甲基苯肼反应后, 在紫外分光光度仪上测定 $A_{505}$ , 查标准曲线, 得活力单位.

1.2.7 肝组织病理学检测: 肝组织标本用10%甲醛液固定后, 常规石蜡包埋、切片, 苏墨-伊红染色, 显微镜观察.

**统计学处理** 数据用mean  $\pm$  SD表示, 组间比较用方差分析. 采用SPSS17.0统计软件进行统计学处理,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 各组小鼠死亡情况 以LPS/D-GalN攻击后24 h为监测终点, 计算各组小鼠的死亡率. C组小鼠24 h内死亡率为66.7%(4/6), 而A、B和D组小鼠均存活(表2). 这提示U II受体UT的拮抗剂Urantide可有效保护小鼠免于LPS/D-GalN攻击引起的死亡.

2.2 各组小鼠血清转氨酶活性水平 对腹腔注射LPS/D-GalN 12 h后小鼠血清ALT、AST活性水平进行检测. 其中, A、B、C和D组ALT水平分别为36.34 U/L  $\pm$  7.10 U/L, 50.67 U/L  $\pm$  8.02 U/L, 2271.09 U/L  $\pm$  102.24 U/L和1160.67 U/L  $\pm$  258.32 U/L. 经统计学处理, C组和D组显著高于A组和B组( $P < 0.01$ ), 而D组明显低于C组( $P < 0.01$ ); A、B、C和D组AST水平分别为90.72 U/L  $\pm$  15.77 U/L, 94.08 U/L  $\pm$  17.60 U/L, 1569.42 U/L  $\pm$  204.04 U/L和1030.31 U/L  $\pm$  108.09 U/L. 统计学上, C组和D组比A组和B组显著升高( $P < 0.01$ ), 而D组与C组相比显著降低( $P < 0.01$ ). 各组小鼠血清ALT、AST活性统计学直方图见图1. 这表明, LPS/D-GalN可显著诱导小鼠肝损伤, 而U II受体抑制剂Urantide明显减轻了小鼠肝损伤程度.

2.3 各组小鼠肝组织病理学表现 光学显微镜下观察, A组和B组小鼠肝组织结构正常, 无明显出



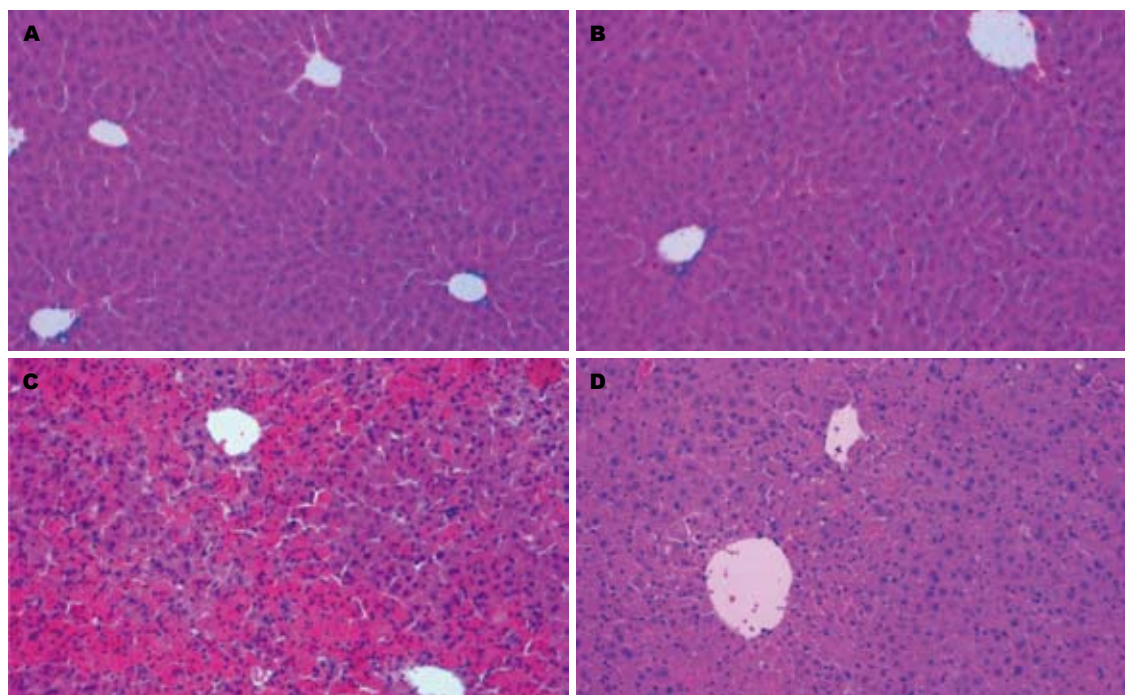


图2 各组小鼠肝组织光学显微镜下表现(H&E染色,  $\times 200$ )。A: A组正常肝组织; B: B组正常肝组织; C: C组肝组织大片出血性坏死; D: D组肝组织局灶性出血坏死。

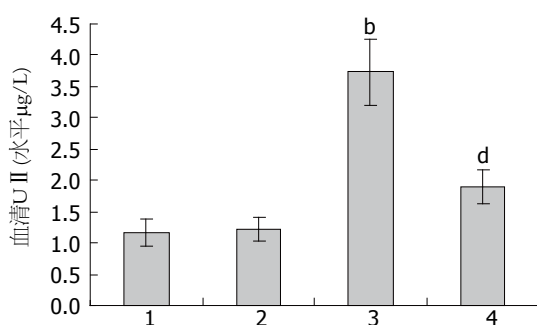


图3 各组小鼠血清U II分泌水平直方图。1: A组; 2: B组; 3: C组; 4: D组。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs C组。

血、坏死和炎症表现; C组小鼠肝组织结构破坏明显, 可见大片出血性坏死, 炎性细胞浸润显著; D组肝内肝小叶结构破坏较轻, 仅见局灶性出血坏死, 炎性浸润明显减轻(图2)。这表明, 通过抑制U II信号传导有助于减轻肝组织炎症损伤的程度。

**2.4 各组小鼠血清U II分泌水平** A、B、C和D组小鼠血清中U II的分泌水平分别为 $1.16 \mu\text{g/L} \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ ,  $1.22 \mu\text{g/L} \pm 0.19 \mu\text{g/L}$ ,  $3.73 \mu\text{g/L} \pm 0.52 \mu\text{g/L}$ 和 $1.90 \mu\text{g/L} \pm 0.27 \mu\text{g/L}$ 。经统计学处理, C组和D组显著高于A组和B组( $P < 0.01$ ), 而D组明显低于C组( $P < 0.01$ , 图3)。这提示, LPS/GalN攻击可诱导小鼠大量分泌U II, 而U II受体拮抗剂Urantide的应用显著抑制了血清U II的分泌水平。

**2.5 各组小鼠肝组织U II、UT受体mRNA的表**

达情况 A、B、C和D组小鼠肝组织U II mRNA的相对表达水平分别为 $0.15 \pm 0.02$ ,  $0.14 \pm 0.05$ ,  $0.60 \pm 0.11$ 和 $0.31 \pm 0.07$ 。统计学上, C组和D组较A组和B组明显升高( $P < 0.01$ ), 而D组较C组显著下降( $P < 0.01$ ); A、B、C和D组小鼠肝组织UT受体mRNA的相对表达水平分别为 $0.20 \pm 0.01$ ,  $0.21 \pm 0.03$ ,  $0.51 \pm 0.10$ 和 $0.39 \pm 0.05$ 。经统计学处理, C组和D组显著高于A组和B组( $P < 0.01$ ), 而D组明显低于C组( $P < 0.01$ , 图4)。这提示, LPS/GalN攻击可诱导小鼠肝组织U II、UT受体mRNA表达升高, 而U II受体拮抗剂Urantide的应用显著抑制了肝组织U II、UT受体mRNA的表达水平。

**2.6 各组小鼠肝组织U II、UT蛋白的表达情况** 免疫组织化学染色可见, 在LPS/D-GalN攻击小鼠肝组织内U II、UT蛋白的表达显著升高。在肝内, U II/UT表达细胞均为血管内皮细胞、胆管上皮细胞和肝窦内衬细胞(sinusoidal lining cells)。其中, 血管内皮细胞和库普弗细胞表达最为丰富, 而肝细胞无明显表达(图5, 6)。A、B、C和D组小鼠肝组织U II表达阳性细胞数分别为 $9.1 \pm 1.8$ ,  $10.7 \pm 2.3$ ,  $202.6 \pm 19.4$ 和 $47.9 \pm 10.2$ 。经统计学处理, C组和D组表达显著高于A组和B组( $P < 0.01$ ), 而D组明显低于C组( $P < 0.01$ ); A、B、C和D组小鼠肝组织UT表达阳性细胞数分别为 $15.2 \pm 4.1$ ,  $14.8 \pm 3.6$ ,  $170.7 \pm 11.5$ 和 $38.4 \pm 9.0$ 。统计学上, C组和D组较A组和B组明显升高

#### ■创新盘点

本研究发现LPS/D-GalN可诱导小鼠肝组织U II及其受体UT表达上调, 并首次证实了ALF的发生主要由U II/UT受体系统所介导。

### ■应用要点

本研究成果为U II/UT系统的肝损伤效应研究奠定了基础,并可在ALF的免疫炎症损伤机制的研究中体现其应用价值,将来有望为ALF治疗提供新的药物作用靶点。

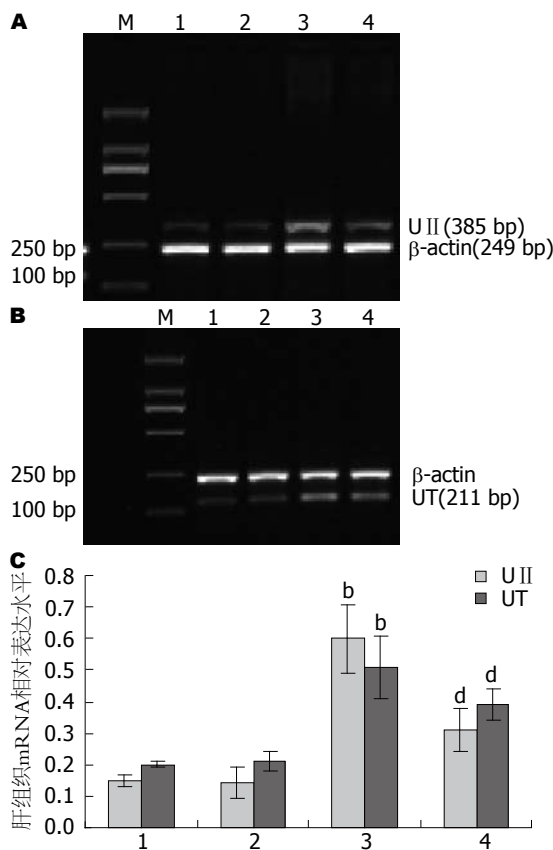


图4 各组小鼠肝组织U II、UT mRNA的表达. A: 肝组织U II mRNA凝胶电泳图; B: 肝组织UT mRNA凝胶电泳图; C: 各组小鼠肝组织U II/UT mRNA相对表达水平直方图. M: DL2000 Marker; 1: A组; 2: B组; 3: C组; 4: D组. <sup>b</sup> $P<0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs C组.

( $P<0.01$ ), 而D组较C组显著下降( $P<0.01$ ). 这说明, 在LPS/GaIN诱导的小鼠肝组织中U II、UT蛋白质表达升高, Urantide预处理显著抑制了肝组织U II、UT蛋白表达水平.

### 3 讨论

U II是一种在硬骨鱼尾垂体中发现的具有生长抑素活性的多肽类物质<sup>[13]</sup>. 1998年首次克隆到了人U II, 从而证实人和动物体内均存在U II<sup>[14]</sup>. 在机体内, U II存在于多种组织中如中枢运动神经元、脑垂体、心脏、脾脏、胸腺、胰腺、肾脏和前列腺等<sup>[14,15]</sup>. U II存在多种生物学活性, 可引起血管收缩和舒张反应, 促进纤维形成和细胞增殖, 并对物质代谢有重要影响等<sup>[16,17]</sup>. 许多疾病如高血压病<sup>[18]</sup>、冠心病<sup>[19]</sup>、充血性心力衰竭<sup>[20]</sup>、2型糖尿病<sup>[21]</sup>和肝硬化<sup>[22]</sup>等患者体内U II的水平均明显升高. 目前U II在这些疾病中表达分泌增高的临床意义尚不清楚. Watanabe等<sup>[23]</sup>认为U II血浆水平升高与脏器损伤的发生机制相关. 近年的研究表明, U II可促进炎症损伤性疾

病的发生和发展<sup>[24]</sup>. 在炎症损伤部位, 高水平U II可募集炎症细胞<sup>[4]</sup>, 促进内皮细胞表达和分泌组织因子和细胞黏附分子<sup>[5]</sup>, 刺激前炎细胞因子如IL-6、IFN-1 $\beta$ 的表达与分泌<sup>[6]</sup>.

作为一个炎症免疫损伤性疾病, ALF与U II之间的相互关系未见文献报道. 在本实验中, 我们首先研究了ALF期间U II多肽分子的表达情况. 我们发现, LPS/D-GaIN攻击诱导的ALF小鼠肝组织U II的表达显著升高. 同时, 在此期间, 肝组织U II分子的特异性G-蛋白耦联受体UT的表达也明显增强. 这提示U II/UT受体系统可能在LPS/D-GaIN诱导的ALF发病中有重要作用.

对肝组织的免疫组织化学分析显示, U II和UT受体的表达细胞主要是肝脏非实质细胞, 而肝实质细胞并不表达U II和UT受体. 在肝非实质细胞中, 以库普弗细胞和血管内皮细胞表达最为显著. 已知, 肝库普弗细胞和内皮细胞在免疫介导肝损伤(immune-mediated liver injury)的发病机制中起关键作用<sup>[25-27]</sup>. 库普弗细胞和肝内皮细胞均为机体固有免疫系统的重要组成部分<sup>[28,29]</sup>. 各种损伤因子的作用, 可通过刺激库普弗细胞对TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-6等前炎细胞因子的级联式或瀑布式释放, 诱导肝细胞凋亡和坏死<sup>[30-33]</sup>. 库普弗细胞活化后, 可引起内皮细胞激活和功能失调, 从而进一步诱导微循环介质(microcirculation mediators)和前炎细胞因子的分泌、促进黏附分子表达上调<sup>[34]</sup>, 并最终导致肝损伤及ALF发生. U II/UT受体系统在ALF肝内免疫炎症相关细胞的表达, 可能提示其在ALF免疫炎症损伤机制中的重要作用.

为进一步验证U II多肽分子在ALF肝损伤中的作用, 我们利用了UT受体的特异性拮抗剂Urantide以阻断U II分子信号的传导. 结果发现, Urantide的应用显著减轻了ALF小鼠肝组织的炎症损伤表现, 使肝内大片出血坏死病变得到明显逆转. 更为重要的是, Urantide有效地保护了小鼠免于LPS/D-GaIN攻击诱导的ALF和死亡. 这表明U II在ALF小鼠肝组织的免疫炎症损伤发生发展中有关键性的影响. 此外, 我们在实验中还发现, Urantide对U II信号的阻断作用进一步造成了肝内U II和UT受体表达的下调. 这至少可以得到两方面的提示: (1)U II和UT受体在免疫炎症细胞内的表达和分泌存在自分泌现象, 同时可能还存在着旁分泌, 即U II的表达和分泌可对表达UT受体的自身细胞产生作用, 并可能对其他UT受体表达细胞产生影响; (2)U II/UT受



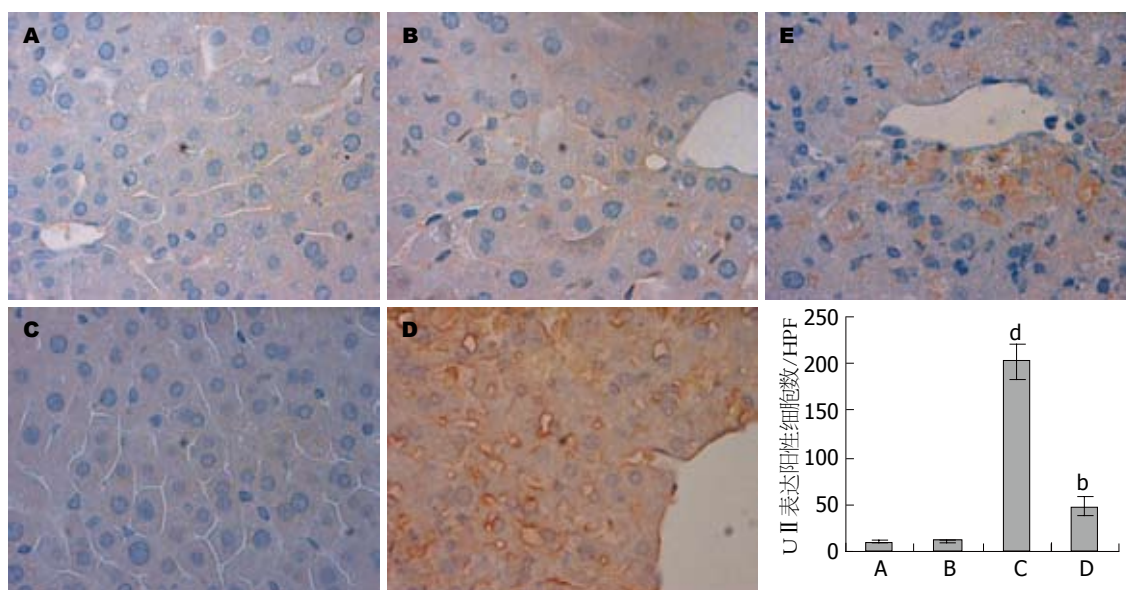


图 5 各组小鼠肝组织U II 蛋白表达镜下表现. A: A组; B: B组; C: C组; D: D组; E: 阴性对照. <sup>b</sup> $P<0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs C组.

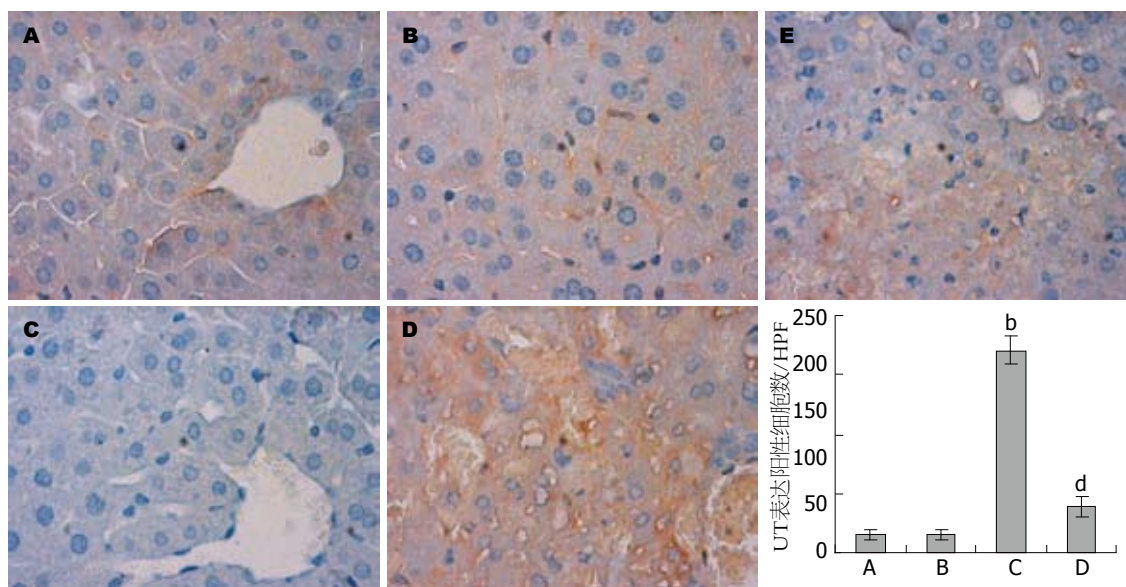


图 6 各组小鼠肝组织UT蛋白表达镜下表现. A: A组; B: B组; C: C组; D: D组; E: 阴性对照. <sup>b</sup> $P<0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs C组.

体系存在正反馈调控机制. 免疫炎症细胞U II 的表达与分泌可进一步促进其自身的活化和对U II/UT受体的表达, 从而可能产生级联式或瀑布式表达与分泌, 诱导或促进ALF的发生. 在肝内U II表达上调的同时, 我们也发现血循环中U II的水平也显著升高, 这提示U II有可能对肝外器官产生影响. 但我们并不清楚这种影响有多大以及存在何种影响, 或者ALF的肝外表现是否也与血浆U II升高有关等等, 都值得将来进一步研究. 从现有研究来看, U II存在致炎激素样作用, 并存在前炎细胞因子的多种特性, 但U II在免疫炎症中的作用研究才刚刚开始, 目前对其下结论还为时尚早.

#### 4 参考文献

- 1 Wu Z, Han M, Chen T, Yan W, Ning Q. Acute liver failure: mechanisms of immune-mediated liver injury. *Liver Int* 2010; 30: 782-794
- 2 Williams R. Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 1996; 16: 343-348
- 3 于芳苹, 赵亮, 刘亮明, 梁冬雨, 杨道华, 张芳芳, 叶长根. Urotensin II对小鼠急性肝细胞凋亡的影响及其机制. *中华医学杂志* 2011; 91: 3358-3362
- 4 Segain JP, Rolli-Derkinderen M, Gervois N, Raingeard de la Bl  ti  re D, Loirand G, Pacaud P. Urotensin II is a new chemotactic factor for UT receptor-expressing monocytes. *J Immunol* 2007; 179: 901-909
- 5 Cirillo P, De Rosa S, Pacileo M, Gargiulo A, Angri V, Fiorentino I, Prevete N, Petrillo G, De Palma R, Leonardi A, De Paulis A, Chiariello M. Human urotensin II induces tissue factor and cellular adhesion

#### ■同行评价

本研究探讨了Urotensin II在ALF小鼠肝组织中的表达情况, 并初步探讨U II受体拮抗剂Urantide对肝损伤的保护作用. 该文创新性较好, 且写作思路清楚, 为从多个角度探讨ALF的发病机制, 并寻找其治疗靶标提供了新的探索.

- molecules expression in human coronary endothelial cells: an emerging role for urotensin II in cardiovascular disease. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 726-736
- 6 Johns DG, Ao Z, Naselsky D, Herold CL, Maniscalco K, Sarov-Blat L, Steplewski K, Aiyar N, Douglas SA. Urotensin-II-mediated cardiomyocyte hypertrophy: effect of receptor antagonism and role of inflammatory mediators. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 370: 238-250
  - 7 Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Kleinz MJ, Davenport AP. Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increased expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. *Peptides* 2004; 25: 1767-1774
  - 8 Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. *Lancet* 2002; 359: 1990-1997
  - 9 Balat A, Karakök M, Yilmaz K, Kibar Y. Urotensin-II immunoreactivity in children with chronic glomerulonephritis. *Ren Fail* 2007; 29: 573-578
  - 10 Liu D, Chen J, Wang J, Zhang Z, Ma X, Jia J, Wang Y. Increased expression of urotensin II and GPR14 in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Int J Mol Med* 2010; 25: 845-851
  - 11 Trebicka J, Leifeld L, Hennenberg M, Biecker E, Eckhardt A, Fischer N, Pröbsting AS, Clemens C, Lammert F, Sauerbruch T, Heller J. Hemodynamic effects of urotensin II and its specific receptor antagonist palosuran in cirrhotic rats. *Hepatology* 2008; 47: 1264-1276
  - 12 Gong X, Luo FL, Zhang L, Li HZ, Wu MJ, Li XH, Wang B, Hu N, Wang CD, Yang JQ, Wan JY. Tetrandrine attenuates lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in D-galactosamine-sensitized mice. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 357-363
  - 13 Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A, Tonon MC, Pelletier G, Conlon JM, Leprince J. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1200: 53-66
  - 14 Coulouarn Y, Lihmann I, Jegou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC, Conlon JM, Bern HA, Vaudry H. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 15803-15808
  - 15 Coulouarn Y, Jegou S, Tostivint H, Vaudry H, Lihmann I. Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors. *FEBS Lett* 1999; 457: 28-32
  - 16 Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: R1156-R1172
  - 17 Kiss RS, You Z, Genest J, Behm DJ, Giaid A. Urotensin II differentially regulates macrophage and hepatic cholesterol homeostasis. *Peptides* 2011; 32: 956-963
  - 18 Rodrigo R, González J, Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res* 2011; 34: 431-440
  - 19 Chai SB, Li XM, Pang YZ, Qi YF, Tang CS. Increased plasma levels of endothelin-1 and urotensin-II in patients with coronary heart disease. *Heart Vessels* 2010; 25: 138-143
  - 20 Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE. Plasma urotensin in human systolic heart failure. *Circulation* 2002; 106: 2877-2880
  - 21 Gruson D, Rousseau MF, Ketelslegers JM, Hermans MP. Raised plasma urotensin II in type 2 diabetes patients is associated with the metabolic syndrome phenotype. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2010; 12: 653-660
  - 22 Romanelli RG, Laffi G, Vizzutti F, Del Bene R, Marra F, Caini P, Guerra CT, La Villa G, Barletta G. Elevated plasma levels of urotensin II do not correlate with systemic haemodynamics in patients with cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 314-318
  - 23 Watanabe T, Arita S, Shiraishi Y, Suguro T, Sakai T, Hongo S, Miyazaki A. Human urotensin II promotes hypertension and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Curr Med Chem* 2009; 16: 550-563
  - 24 姚华, 陈志武. Urantide对心肌缺血性损伤的保护作用. *药学报* 2008; 43: 150-156
  - 25 Stuart WD, Kulkarni RM, Gray JK, Vasiliauskas J, Leonis MA, Waltz SE. Ren receptor regulates Kupffer cell-dependent cytokine production and hepatocyte survival following endotoxin exposure in mice. *Hepatology* 2011; 53: 1618-1628
  - 26 Smedsrød B, De Bleser PJ, Braet F, Lovisetti P, Vanderkerken K, Wisse E, Geerts A. Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut* 1994; 35: 1509-1516
  - 27 Pate M, Damarla V, Chi DS, Negi S, Krishnaswamy G. Endothelial cell biology: role in the inflammatory response. *Adv Clin Chem* 2010; 52: 109-130
  - 28 Ramadori G, Moriconi F, Malik I, Dudas J. Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage and repair. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 Suppl 1: 107-117
  - 29 Wu J, Meng Z, Jiang M, Zhang E, Trippler M, Broering R, Bucchi A, Krux F, Dittmer U, Yang D, Roggendorf M, Gerken G, Lu M, Schlaak JF. Toll-like receptor-induced innate immune responses in non-parenchymal liver cells are cell type-specific. *Immunology* 2010; 129: 363-374
  - 30 dos Santos DC, Neves PC, Azeredo EL, Pelajo-Machado M, Martinho JM, Pacheco-Moreira LF, Araújo CC, Cruz OG, de Oliveira JM, Pinto MA. Activated lymphocytes and high liver expression of IFN- $\gamma$  are associated with fulminant hepatic failure in patients. *Liver Int* 2012; 32: 147-157
  - 31 Liu LM, Zhang JX, Wang XP, Guo HX, Deng H, Luo J. Pim-3 protects against hepatic failure in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized rats. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 127-138
  - 32 Liu LM, Zhang JX, Luo J, Guo HX, Deng H, Chen JY, Sun SL. A role of cell apoptosis in lipopolysaccharide (LPS)-induced nonlethal liver injury in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized rats. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1316-1324
  - 33 刘亮明, 邓欢, 张吉翔, 罗杰. 内毒素性急性肝损伤实验动物模型的建立. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 12-18
  - 34 Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol Rev* 2009; 89: 1269-1339

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

# 功能性消化不良症状和近端胃功能的关系

郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 尹立杰, 颜珏, 李红磊

郭文娟, 中国医学科学院 北京协和医学院 北京市 100730  
郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 卫生部中日友好医院消化内科 北京市 100029

尹立杰, 颜珏, 李红磊, 卫生部中日友好医院核医学科 北京市 100029

郭文娟, 在读博士研究生, 主要从事功能性胃肠病方面的研究。  
“十一五”国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BA120B0901

作者贡献分布: 此课题由姚树坤与张艳丽共同设计; 研究过程由郭文娟、尹立杰、颜珏及李红磊完成; 数据分析及论文书写由郭文娟完成; 文章的指导及审阅由张艳丽与姚树坤完成。

通讯作者: 张艳丽, 主治医师, 100029, 北京市朝阳区樱花园东街, 卫生部中日友好医院消化内科。janetzhyl@gmail.com

电话: 010-84206160 传真: 010-64222978

收稿日期: 2012-05-25 修回日期: 2012-06-12

接受日期: 2012-06-20 在线出版日期: 2012-06-28

## Relationship between symptoms and proximal stomach function in patients with functional dyspepsia

Wen-Juan Guo, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao, Li-Jie Yin, Jue Yan, Hong-Lei Li

Wen-Juan Guo, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Wen-Juan Guo, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Ministry of Health, Beijing 100029, China

Li-Jie Yin, Jue Yan, Hong-Lei Li, Department of Nuclear Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Ministry of Health, Beijing 100029, China

Supported by: the National Science & Technology Pillar Program During the Eleventh-Five Year Plan Period, No. 2007BA120B0901

Correspondence to: Yan-Li Zhang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Ministry of Health, Yinghuayuan East Street, Beijing 100029, China. janetzhyl@gmail.com

Received: 2012-05-25 Revised: 2012-06-12

Accepted: 2012-06-20 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the prevalence of impaired proximal stomach function and its relationship to symptoms in patients with functional dyspepsia (FD).

**METHODS:** Fifty-nine patients with FD and 32 healthy subjects (HS) were enrolled in this study. After an overnight fast of at least 12 h, a double-lumen polyvinyl tube with an adherent plastic bag that was finely folded was introduced

through the patient's mouth. A gastric barostat was used to evaluate proximal stomach function (sensitivity, accommodation and compliance). After an overnight fast, gastric emptying was measured by single photon emission computerized tomography (SPECT). The gastric emptying curve was plotted to calculate the gastric emptying half-time. Individual dyspepsia symptom scores were obtained for all patients and their relationship with proximal stomach function was assessed. Logistic regression analysis and  $\chi^2$  statistics were used to identify the association between proximal stomach function and symptoms.

**RESULTS:** Visceral hypersensitivity to gastric distention was found in 44.07% of the patients, and their gastric emptying half-time did not significantly differ from that of patients with normal sensitivity. Epigastric pain was significantly more prevalent in patients with visceral hypersensitivity than in those with normal sensitivity ( $P < 0.01$ ). Epigastric pain was independently and significantly associated with hypersensitivity to gastric distention (OR = 4.430,  $P < 0.05$ ). Impaired gastric accommodation was found in 37.29% of the patients, and their gastric emptying half-time did not differ from that of other patients. Impaired gastric accommodation to gastric distention was associated with a higher prevalence of early satiety ( $P < 0.05$ ). The presence of early satiety was the only symptom that was independently associated with impaired accommodation to gastric distention (OR = 3.231,  $P < 0.05$ ). Reduced compliance was found in 54.24% of the patients; however, no relationship was found between reduced compliance and dyspeptic symptoms.

**CONCLUSION:** Symptoms are associated with impaired proximal stomach function in patients with FD. Epigastric pain and early satiety can be used to predict the presence of hypersensitivity and impaired accommodation, respectively.

**Key Words:** Functional dyspepsia; Visceral hypersensitivity; Accommodation; Compliance; Barostat

Guo WJ, Zhang YL, Yao SK, Yin LJ, Yan J, Li HL. Relationship between symptoms and proximal stomach

## ■背景资料

功能性消化不良 (FD) 是一种异质性疾病, 其病理生理机制与多种因素有关, 但目前研究仍不清楚。阐明消化不良症状与机制的关系, 通过症状预测其潜在发病机制, 可以使该病的治疗更有针对性。

## ■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

## ■研究前沿

研究发现,FD患者近端胃内食物滞留,表明FD患者存在近端胃功能异常,然而国内鲜有相关报道.

function in patients with functional dyspepsia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(18): 1623-1629

## 摘要

**目的:** 探讨功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)症状与近端胃敏感性、容受性及顺应性的关系.

**方法:** 记录32例健康志愿者和59例FD患者的基本人口学特征和消化不良症状,患者空腹行电子恒压器检查,将前端带有气囊的双腔聚乙烯导管经口插入受试者胃内,给予等压扩张,检测指标包括近端胃敏感性、容受性及顺应性;同样,所有受试者第二天空腹行胃排空功能检查,利用核素闪烁法测定胃的固体排空功能,得出全胃排空标准曲线并计算全胃半排时间.利用 $\chi^2$ 和Logistic回归分析消化不良症状与近端胃功能关系.

**结果:** 44.07%的FD患者存在内脏敏感性增加,内脏敏感性正常组和增加组之间胃半排时间无差异.内脏敏感性增加的患者上腹痛症状发生率高于内脏敏感性正常的患者( $P<0.01$ );上腹痛症状是内脏敏感性增加的相关因素( $OR = 4.430, P<0.05$ ).37.29%的FD患者存在近端胃容受性减低,容受性正常组和减低组胃半排时间无差异.近端胃容受性减低的患者早饱症状的发生率高于近端胃容受性正常的患者( $P<0.05$ );早饱症状是近端胃容受性减低的独立相关因素( $OR = 3.231, P<0.05$ ).54.24%的FD患者存在顺应性减低,顺应性正常组和减低组之间胃半排时间及消化不良症状发生率均无显著差异( $P>0.05$ ).

**结论:** FD患者的症状与近端胃功能障碍有关,上腹痛症状提示内脏敏感性增加,早饱症状提示近端胃容受性减低.

**关键词:** 功能性消化不良; 内脏敏感性; 容受性; 顺应性; 恒压器

郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 尹立杰, 颜珏, 李红磊. 功能性消化不良症状和近端胃功能的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1623-1629  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1623.asp>

## 0 前言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指存在一种或多种起源于胃或十二指肠区域的消化不良症状,包括餐后饱胀不适、早饱、上腹痛或上腹部烧灼感等症状,并且缺乏能够解释这

些症状的任何器质性、系统性和代谢性疾病<sup>[1]</sup>. 研究显示该病患病率为16%,约占消化科门诊量的40%<sup>[2,3]</sup>,尽管不影响患者的寿命,但严重影响患者生活质量并消耗大量医疗资源<sup>[4]</sup>.目前,该病发病机制尚不清楚.研究发现,FD患者近端胃内食物滞留<sup>[5]</sup>,表明FD患者存在近端胃功能异常,然而国内鲜有相关报道,因此本研究采用恒压器技术分别对FD患者与健康志愿者的近端胃功能(敏感性、容受性及顺应性)进行检测<sup>[6]</sup>,并进一步探讨消化不良症状与近端胃功能的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以消化不良症状为主诉于2010-09/2012-01就诊于我院消化内科的FD患者59例纳入研究,其中男20例,平均年龄 $38.57 \pm 12.13$ 岁.入组患者均符合功能性消化不良罗马III诊断标准<sup>[1]</sup>.健康志愿者32名,其中男15例,平均年龄 $27.34 \pm 7.47$ 岁,均接受胃镜和生化检查以排除可能存在的消化系疾病.研究方案经卫生部中日友好医院医学伦理委员会批准,并取得研究对象的知情同意.

### 1.2 方法

**1.2.1 FD症状问卷:** 记录入组FD患者的人口统计学特征和消化不良症状.该问卷包括8个消化不良症状,分别为餐后饱胀不适、早饱、上腹痛、上腹部烧灼感、上腹胀气、恶心、呕吐、嗝气,并分别将每个症状的强度分为4个等级,分别为:无症状;轻度,症状轻微,只有关注时才能感觉到;中度,症状尚能忍受,部分影响日常生活工作;重度,症状难以忍受,明显影响日常生活工作<sup>[7]</sup>.FD患者根据最近3个月的情况填写该问卷.

**1.2.2 近端胃功能研究:** 利用电子恒压器检测胃的敏感性、容受性及顺应性.所有受试者(FD患者59例及健康志愿者32例)禁食水12 h后于清晨接受电子恒压器检查,检测近端胃功能.前端带有气囊的双腔聚乙烯导管(Davol, Cranston, Rhode Island)经口插入受试者胃内,通过X线透视检查确定气囊的位置.人工向气囊内缓慢充入300 mL气体使前端气囊扩张,此时缓慢往回牵拉导管使得气囊位于食管下括约肌以下,然后再将导管往前插入2 cm.用医用胶布将导管固定于受试者下颌.将气囊放气,并将双腔聚乙烯导管与电子恒压器装置连接.受试者取舒适座位,双膝关节弯曲呈80度,上身保持直立微微后仰10度,该姿势可以减少外来的腹部



压力<sup>[8,9]</sup>. 受试者适应15 min后开始检查, 以每2 min增加1 mmHg压力使前端气囊扩张, 当气囊内容积达到30 mL时, 记录此时相应压力为MDP(minimal distending pressure), 该压力可平衡腹内压. 然后, 在MDP压力基础上, 按照每次升高1 mmHg压力并持续2 min的模式行等压扩张, 电脑记录相应压力时的气囊内容积. 在检查者的指导下, 受试者在每次扩张结束时记录其腹内感觉. 检查的终点为气囊内容积达到1 200 mL或受试者难以耐受进一步的扩张<sup>[10]</sup>. 本实验记录3种感觉阈值: 初始感觉, 不适感觉及最大耐受感觉. 初始感觉是指气囊内压力或相应的容积引起受试者初次感觉到胃部扩张; 另外两种感觉分别指受试者感觉到不适或难以耐受进一步扩张时气囊内的压力或相应的容积. 对于上述感觉阈值的理解均在检查前由检查者向受试者解释清楚<sup>[11]</sup>.

1.2.3 胃固体排空试验: 所有受试者禁食水12 h后于清晨行核素胃固态排空试验, 受试者摄入99mTc-DTPA标记的标准试餐(非油炸面饼95 g, 2 mCi 99mTc-DTPA标记油煎鸡蛋65 g, 植物油10 g, 加水500 mL冲泡), 总热量2 092 kJ, 10 min内服完. 进食结束后使用SPECT装置(Millennium VG Hawkeye; GE, USA)采集图像, 2 h内每隔15 min采集1帧, 共9帧图像. 采集条件为140 keV, 窗宽50%, 放大倍数1.5, 低能通用型准直器. 两次图像采集间期, 允许受试者座位休息. 女性受试者应避开月经期, 以免激素水平对胃排空速度的干扰<sup>[12-14]</sup>.

由一位核医学科医师和一位消化科医师协同分析、处理所采集的数据, 勾画出每帧图像的全胃部感兴趣区(region of interest, ROI)轮廓, 计算ROI放射性计数, 经放射性衰变和前后位校正后, 得到全胃排空标准曲线. 观察指标为全胃半排空时间(min)<sup>[15]</sup>.

**统计学处理** 感觉阈值均以球囊内的压力值减去MDP表示. 以HS不适阈值压力的mean-2SD为界, 将FD患者分为内脏高敏感性组和正常组. 同样, 将FD患者分为容受性正常组和减低组. 利用线性回归计算出压力-容积曲线斜率为顺应性<sup>[16]</sup>. 根据HS顺应性95%CI的下限, 将FD患者分为顺应性正常组和顺应性减低组<sup>[8]</sup>. 应用SPSS13.0统计软件, 根据数据分布特征和分析需要分别采用 $\chi^2$ 检验、*t*检验、非参数检验和Logistic回归分析. 所有结果以mean±SD表示, 显著性水平设定为0.05(双侧).

## 2 结果

正常核素胃排空的动态图像如图1所示.

2.1 基线资料 59例FD患者的平均年龄大于32例健康志愿者(38.58岁±12.12岁 vs 27.34岁±7.47岁,  $P<0.01$ ), 但性别分布在两者之间无差异. FD患者各消化不良症状的发生率见图2. 餐后饱胀不适发生率最高(98.31%), 其次为嗝气(86.44%)与腹胀(81.36%), 恶心和呕吐症状的发生率最低, 分别为27.12%和11.86%.

2.2 内脏敏感性与消化不良症状的关系

2.2.1 FD患者及健康志愿者内脏胃敏感性的比较: FD患者与健康志愿者的MDP无差异(6.84 mmHg±1.77 mmHg vs 6.63 mmHg±2.52 mmHg,  $P>0.05$ ). HS的初始感觉阈值和不适阈值分别为5.28 mmHg±1.91 mmHg和8.09 mmHg±2.31 mmHg. FD患者的初始感觉阈值和不适阈值分别为2.09 mmHg±1.40 mmHg和4.17 mmHg±1.54 mmHg. 统计学分析显示: FD患者的初始感觉阈值和不适阈值均低于健康志愿者( $P<0.01$ ). 以健康志愿者不适阈值的mean-2SD(3.47 mmHg)为正常值下限, 则FD患者中有26人(44.07%)存在内脏敏感性增高.

2.2.2 消化不良症状及人口学特征与内脏敏感性的关系: FD患者内脏敏感性增高组和正常组之间, 性别分布、BMI及胃半排时间无统计学差异. 但是内脏敏感性增高的FD患者年龄较正常组低(表1). 内脏敏感性增高组上腹痛症状的发生率高于正常组(16/26 vs 9/33,  $P<0.01$ ), 其他消化不良症状在两组之间无统计学差异(图3). 以内脏敏感性为结局变量, 以年龄、性别、BMI、胃半排时间及是否存在8个消化不良症状为协变量, 利用Logistic分析发现: 上腹痛(OR = 4.430; 95%CI: 1.345-14.590,  $P<0.05$ )和年龄(OR = 0.940; 95%CI: 0.891-0.992,  $P<0.05$ )是内脏敏感性增高的相关因素, 其他消化不良症状及人口学特征均未进入最终的回归模型.

2.3 近端胃容受性与消化不良症状的关系

2.3.1 FD患者及健康志愿者近端胃容受性的比较: 健康志愿者的初始感觉容积和不适容积分别为295.57 mL±94.60 mL和514.07 mL±133.9 mL. FD患者的初始感觉容积和不适容积分别为140.70 mL±76.42 mL和265.45 mL±124.16 mL. 统计学分析显示: FD患者的初始感觉容积和不适容积均低于健康志愿者( $P<0.01$ ). 以健康志愿者不适容积的mean-2SD(246.16 mL)为正常值下限, 则FD患者中有22人(37.29%)存

## ■ 相关报道

Tack等利用恒压器技术研究160例功能性消化不良患者和80例健康志愿者的近端胃功能. 结果发现内脏敏感性增高的FD, 其腹痛、嗝气、体质量减轻的发生率高于内脏敏感性正常组.



### ■创新盘点

本研究采用恒压器技术分别对FD患者与健康志愿者的近端胃功能(敏感性、容受性及顺应性)进行检测,并进一步探讨消化不良症状与近端胃功能的关系。

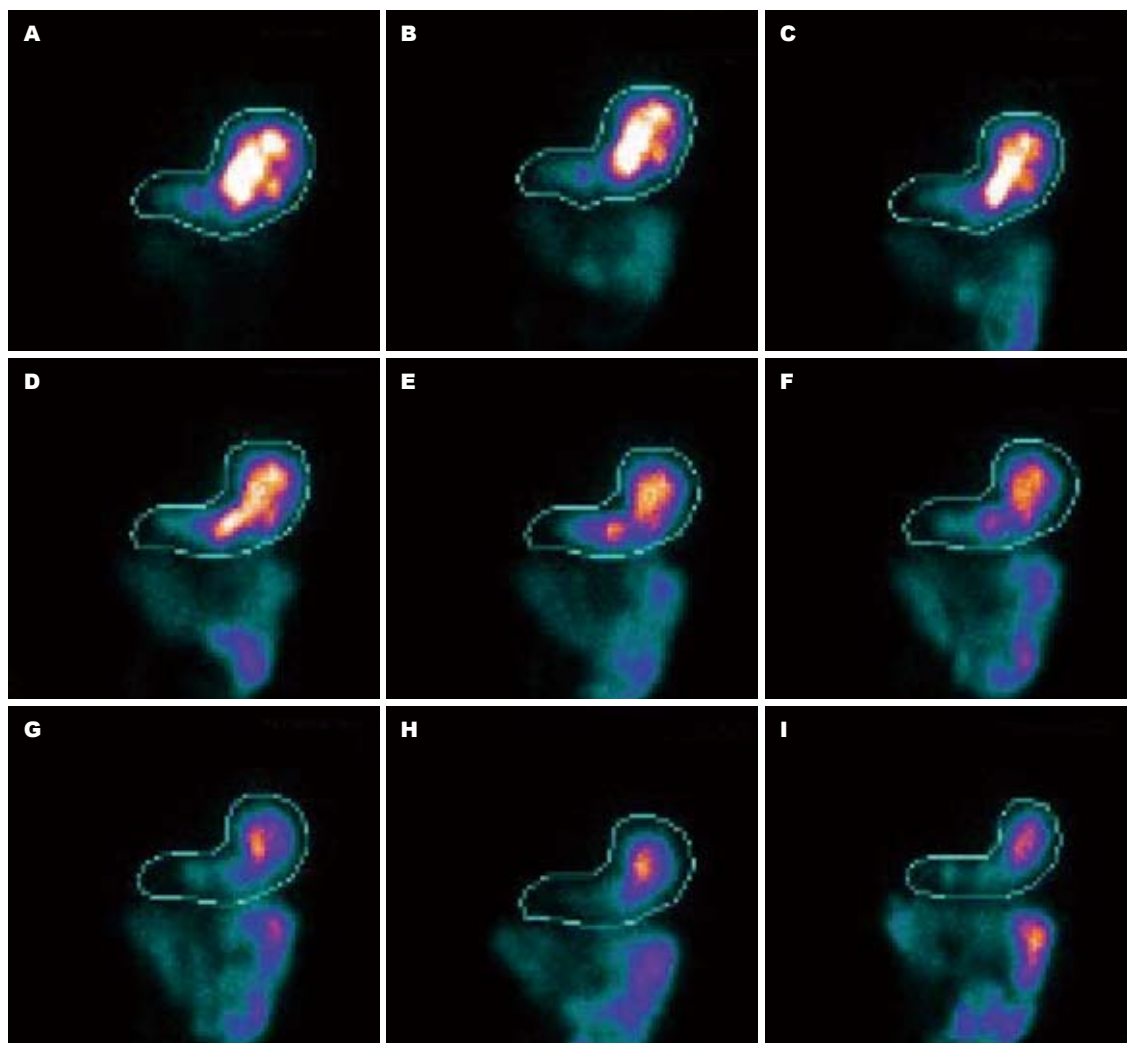


图1 正常核素胃排空图像. A: ANT0; B: ANT15; C: ANT30; D: ANT45; E: ANT60; F: ANT75; G: ANT90; H: ANT105; I: ANT120.

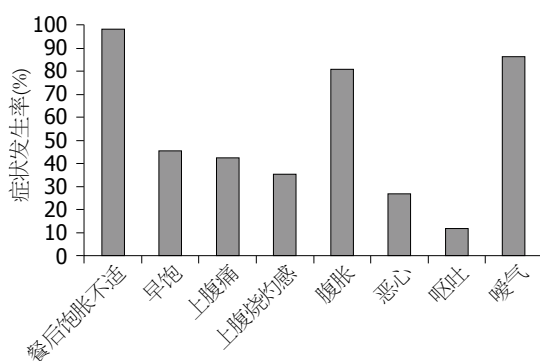


图2 FD患者各功能性消化不良症状发生率。

在容受性减低。

**2.3.2 消化不良症状及人口学特征与近端胃容受性的关系:**在近端胃容受性正常组和减低组之间,年龄、性别分布、BMI及胃半排时间均无统计学差异(表2)。近端胃容受性减低组早饱症状发生率高于正常组(14/22 vs 13/37,  $P<0.05$ ),而其他消化不良症状的发生率在两组之间无统计学

差异(图4)。以胃容受性为结局变量,以年龄、性别、BMI、胃半排时及是否存在8个消化不良症状为协变量,利用Logistic分析证实只有早饱症状( $OR = 3.231$ ; 95%CI: 1.075-9.706,  $P<0.05$ )是近端胃容受性减低的独立相关因素。

#### 2.4 近端胃顺应性与消化不良症状的关系

**2.4.1 FD患者及健康志愿者近端胃顺应性的比较:**健康志愿者和FD患者的顺应性分别为  $59.01 \text{ mL/mmHg} \pm 18.78 \text{ mL/mmHg}$  和  $49.95 \text{ mL/mmHg} \pm 20.58 \text{ mL/mmHg}$ , 两者之间存在统计学差异( $P<0.05$ )。以健康志愿者胃顺应性95%CI的下限( $52.24 \text{ mL/mmHg}$ )为正常值下限,则32例FD患者(54.24%)存在顺应性减低。

**2.4.2 消化不良症状及人口学特征与近端胃顺应性的关系:**消化不良症状与近端胃顺应性关系的研究显示:消化不良症状的发生率在顺应性正常组和减低组之间均无统计学差异(图5)。人口学特征及胃半排时间在两组之间未见显著统

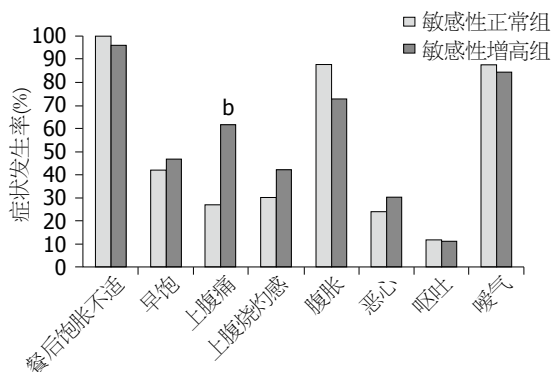


图 3 内脏敏感性正常组和增高组之间消化不良症状发生率的比较。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 敏感性正常组。

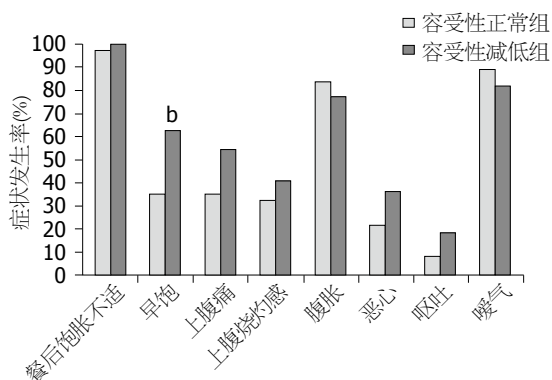


图 4 容受性正常组和减低组之间消化不良症状发生率的比较。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 容受性正常组。

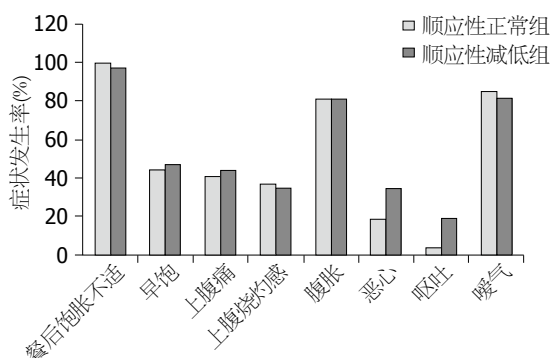


图 5 顺应性正常组和减低组之间消化不良症状发生率的比较。

计学差异(表3)。

### 3 讨论

FD是最常见的功能性胃肠病, 由于其病因复杂, 发病机制尚未明确。目前FD的治疗多为经验性治疗, 如促进胃动力、抑制胃酸分泌及消化酶促进消化等<sup>[17]</sup>, 导致该病的疗效差及停药后易复发, 严重影响患者生活质量, 并造成医疗资源的严重浪费<sup>[18,19]</sup>。深入研究FD症状与病理生理机制之间的相关性, 有望通过症状预测其发病机制,

表 1 内脏敏感性正常组和增高组之间基线资料的比较

	敏感性正常组 ( $n = 33$ )	敏感性增高组 ( $n = 26$ )
年龄(岁)	$42.06 \pm 12.73$	$34.15 \pm 9.88^a$
性别(男, $n$ )	10	10
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	21.73	21.26
胃半排时间 $T_{1/2}(\text{min})$	$117.54 \pm 40.79$	$123.63 \pm 40.08$

BMI: 体质质量指数。 <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 敏感性正常组。

表 2 容受性正常组和减低组之间基线资料的比较

	容受性正常组 ( $n = 37$ )	容受性减低组 ( $n = 22$ )
年龄(岁)	$40.22 \pm 12.92$	$35.82 \pm 10.36$
性别(男, $n$ )	13	7
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$21.81 \pm 2.51$	$21.04 \pm 3.27$
胃半排时间 $T_{1/2}(\text{min})$	$114.82 \pm 37.87$	$129.31 \pm 43.32$

BMI: 体质质量指数。

表 3 顺应性正常组和减低组之间基线资料的比较

	顺应性正常组 ( $n = 27$ )	顺应性减低组 ( $n = 32$ )
年龄(岁)	$40.11 \pm 12.33$	$37.28 \pm 11.99$
性别(男, $n$ )	10	10
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$22.06 \pm 2.93$	$21.07 \pm 2.68$
胃半排时间 $T_{1/2}(\text{min})$	$115.49 \pm 37.89$	$124.21 \pm 42.31$

BMI: 体质质量指数。

具有重要的临床意义。他使得针对病理生理机制的治疗措施简化为针对相关症状的治疗, 从而提高FD的临床疗效。

电子恒压器检查出现于20世纪80年代中期, 其通过研究敏感性、容受性及顺应性来探讨消化系的生理及病理生理机制, 目前已经广泛应用于临床研究<sup>[20]</sup>。由于需要插入前端带有气囊的导管及检查过程的耗时, 有研究认为恒压器检查改变了胃的正常生理功能, 因此, 质疑该检查的可重复性<sup>[19]</sup>。Sarnelli等<sup>[6]</sup>利用恒压器检查健康志愿者和功能性消化不良患者的初始感觉阈、不适阈值及胃容受性, 发现同日及不同日的检查结果具有高度的可重复性。同样, Jiande等的动物实验不仅证实恒压器检测胃的容受性具有可重复性, 同时也证实恒压器在检测胃的张力及顺应性方面也有可重复性。同时, 该实验提示两次检查的差异可能是由于检查时胃处于移行

### ■名词解释

容受性: 近端胃在一定时间内所能容纳食物的能力, 近端胃内压力没有明显变化而体积增大以容纳摄入的食物。

### ■同行评价

本文分析和探讨了功能性消化不良症状与近端胃敏感性、容受性及顺应性的关系,为该病的临床治疗提供了理论基础和指导作用。

性运动复合波的不同时期<sup>[21]</sup>。Talley等<sup>[22]</sup>对414例患者进行恒压器检查近端胃功能,发现98%患者耐受良好,在技术上94%满足条件(6%是由于气囊漏气或容积过低)。因此,恒压器仍不失为评价胃敏感性、容受性及顺应性的“金标准”检测方法。

内脏敏感性与不同的消化不良症状是否存在相关性,国内鲜有研究报道。国外有研究显示进餐相关的FD患者存在不适阈值减低和近端胃敏感性增高<sup>[23,24]</sup>。近端胃敏感性增高与上腹痛、嗝气、体质量减轻等相关<sup>[16]</sup>。也有研究则未发现消化不良症状与内脏敏感性相关<sup>[25]</sup>。我们的研究发现:FD患者不适阈值较健康志愿者低,约44.07%的FD患者存在内脏敏感性增高;并且上腹痛症状与内脏敏感性增高有关。同时,我们发现年龄与内脏敏感性增加呈负相关。Van Oudenhove等<sup>[26]</sup>报道过相似的研究结果,其研究认为年龄、性虐待史和躯体化障碍均与内脏敏感性增加有关,但对于年龄与内脏敏感性相关的机制有待于进一步的研究。在我们的研究中未发现内脏敏感性与胃排空相关,这与韩国的研究结果一致<sup>[27]</sup>。内脏高敏感性与胃壁机械受体敏感性升高有关,Tack等<sup>[28,29]</sup>的研究中,15名恒压器检查证实内脏敏感性增高的FD患者,给予胃底松弛药舒马曲坦和可乐定治疗后,恒压器复查胃对球囊扩张的敏感性,结果显示近端胃的敏感性显著下降。因此,胃肠道机械受体在消化不良症状的产生中可能有重要意义。

容受性是指胃在一定时间内所能容纳食物的能力,近端胃内压力没有明显变化而体积增大以容纳摄入的食物<sup>[20,30-32]</sup>。有研究显示FD患者容受性减低与早饱、餐后饱胀不适有关<sup>[33]</sup>。但Boeckxstaens等<sup>[34]</sup>研究未发现餐后消化不良症状与胃容受性减低有关。我们的研究结果显示37.29%的FD患者存在容受性减低,并且容受性减低与早饱有关,这与Tack的研究结果一致。但是我们的研究未发现容受性减低与餐后饱胀不适相关,这可能是与本研究FD患者样本量较小和餐后饱胀不适的发生率较高有关。因此,FD患者早饱症状提示近端胃容受性的减低。本研究进一步比较容受性与胃排空的关系,结果未发现两者之间存在相关性。容受性发生改变的原因尚不清楚,可能与感觉神经元、迷走-迷走反射及近端胃的内在抑制神经元、平滑肌功能异常有关。有研究发现在急性发病或感染后的功能性消化不良患者中,容受性异常的比例显

著增多<sup>[35]</sup>。另外,心理社会因素,尤其是焦虑也影响胃的容受性<sup>[36]</sup>。

与Rhee等<sup>[25]</sup>的研究结果一致,胃的顺应性与消化不良症状之间未发现相关性。但我们的研究发现,FD患者胃顺应性较健康志愿者减低,这提示FD患者近端胃壁弹力发生变化,对于胃壁顺应性改变的潜在机制需要进一步的研究。

总之,FD患者存在内脏敏感性增加,容受性及顺应性减低;并且,上腹痛与近端胃敏感性增加有关,早饱与近端胃容受性减低有关。我们的结果进一步证实FD是一种异质性疾病,不同的症状与不同的病理生理机制相关。上腹痛和早饱症状分别提示内脏敏感性增加和容受性减低。因此,通过降低上腹痛患者内脏敏感性和增加早饱患者的容受性,有望提高FD的临床疗效。

### 4 参考文献

- 1 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479
- 2 Aro P, Talley NJ, Agréus L, Johansson SE, Bolling-Sternevald E, Storskrubb T, Ronkainen J. Functional dyspepsia impairs quality of life in the adult population. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1215-1224
- 3 Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 187-194
- 4 Brook RA, Kleinman NL, Choung RS, Melkonian AK, Smeeding JE, Talley NJ. Functional dyspepsia impacts absenteeism and direct and indirect costs. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 498-503
- 5 Gonlachanvit S, Maurer AH, Fisher RS, Parkman HP. Regional gastric emptying abnormalities in functional dyspepsia and gastro-oesophageal reflux disease. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 894-904
- 6 Sarnelli G, Vos R, Cuomo R, Janssens J, Tack J. Reproducibility of gastric barostat studies in healthy controls and in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1047-1053
- 7 Sarnelli G, Caenepeel P, Geypens B, Janssens J, Tack J. Symptoms associated with impaired gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 783-788
- 8 Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1998; 115: 1346-1352
- 9 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Geeraerts B, Vos R, Persoons P, Demyttenaere K, Fischler B, Tack J. Relationship between anxiety and gastric sensorimotor function in functional dyspepsia. *Psychosom Med* 2007; 69: 455-463
- 10 Tack J, Janssen P, Bisschops R, Vos R, Phillips T, Tougas G. Influence of tegaserod on proximal gastric tone and on the perception of gastric distention in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: e32-e39
- 11 Hou XH, Li Q, Zhu L, Xie X, Chen JD. Correlation of gastric liquid emptying with various thresholds

- of sensation in healthy controls and patients with functional dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 188-195
- 12 Zhang H, Xu X, Wang Z, Li C, Ke M. Correlation between gastric myoelectrical activity recorded by multi-channel electrogastrography and gastric emptying in patients with functional dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 797-804
  - 13 Yang M, Fang DC, Li QW, Sun NX, Long QL, Sui JF, Gan L. Effects of gastric pacing on gastric emptying and plasma motilin. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 419-423
  - 14 Foxx-Orenstein A, Camilleri M, Stephens D, Burton D. Effect of a somatostatin analogue on gastric motor and sensory functions in healthy humans. *Gut* 2003; 52: 1555-1561
  - 15 Sachdeva P, Malhotra N, Pathikonda M, Khayyam U, Fisher RS, Maurer AH, Parkman HP. Gastric emptying of solids and liquids for evaluation for gastroparesis. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1138-1146
  - 16 Tack J, Caenepeel P, Fischler B, Piessevaux H, Janssens J. Symptoms associated with hypersensitivity to gastric distention in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2001; 121: 526-535
  - 17 Mimidis K, Tack J. Pathogenesis of dyspepsia. *Dig Dis* 2008; 26: 194-202
  - 18 Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 127: 1239-1255
  - 19 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60
  - 20 Kindt S, Tack J. Impaired gastric accommodation and its role in dyspepsia. *Gut* 2006; 55: 1685-1691
  - 21 Xing JH, Chen JD. Reproducibility of gastric tone, compliance and gastric accommodation assessed with barostat in conscious dogs. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 83-88
  - 22 Talley NJ, Locke GR, Lahr BD, Zinsmeister AR, Tougas G, Ligozio G, Rojavin MA, Tack J. Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. *Gut* 2006; 55: 933-939
  - 23 Coffin B, Azpiroz F, Guarner F, Malagelada JR. Selective gastric hypersensitivity and reflex hyporeactivity in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1994; 107: 1345-1351
  - 24 Bisschops R, Karamanolis G, Arts J, Caenepeel P, Verbeke K, Janssens J, Tack J. Relationship between symptoms and ingestion of a meal in functional dyspepsia. *Gut* 2008; 57: 1495-1503
  - 25 Rhee PL, Kim YH, Son HJ, Kim JJ, Koh KC, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. Evaluation of individual symptoms cannot predict presence of gastric hypersensitivity in functional dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1680-1684
  - 26 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Vos R, Fischler B, Demyttenaere K, Tack J. Abuse history, depression, and somatization are associated with gastric sensitivity and gastric emptying in functional dyspepsia. *Psychosom Med* 2011; 73: 648-655
  - 27 Rhee PL, Kim YH, Son HJ, Kim JJ, Koh KC, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. The etiologic role of gastric hypersensitivity in functional dyspepsia in Korea. *J Clin Gastroenterol* 1999; 29: 332-335
  - 28 Tack J, Caenepeel P, Corsetti M, Janssens J. Role of tension receptors in dyspeptic patients with hypersensitivity to gastric distention. *Gastroenterology* 2004; 127: 1058-1066
  - 29 Piessevaux H, Tack J, Wilmer A, Coulie B, Geubel A, Janssens J. Perception of changes in wall tension of the proximal stomach in humans. *Gut* 2001; 49: 203-208
  - 30 Gilja OH, Lunding J, Hausken T, Gregersen H. Gastric accommodation assessed by ultrasonography. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2825-2829
  - 31 Choung RS, Talley NJ. Novel mechanisms in functional dyspepsia. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 673-677
  - 32 Fukudo S, Kuwano H, Miwa H. Management and pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *Digestion* 2012; 85: 85-89
  - 33 Kindt S, Dubois D, Van Oudenhove L, Caenepeel P, Arts J, Bisschops R, Tack J. Relationship between symptom pattern, assessed by the PAGI-SYM questionnaire, and gastric sensorimotor dysfunction in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1183-e105
  - 34 Boeckxstaens GE, Hirsch DP, Kuiken SD, Heisterkamp SH, Tytgat GN. The proximal stomach and postprandial symptoms in functional dyspeptics. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 40-48
  - 35 Tack J, Demedts I, Dehondt G, Caenepeel P, Fischler B, Zandeck M, Janssens J. Clinical and pathophysiological characteristics of acute-onset functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2002; 122: 1738-1747
  - 36 Geeraerts B, Vandenberghe J, Van Oudenhove L, Gregory LJ, Aziz Q, Dupont P, Demyttenaere K, Janssens J, Tack J. Influence of experimentally induced anxiety on gastric sensorimotor function in humans. *Gastroenterology* 2005; 129: 1437-1444

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》2011年开始不再收取审稿费

**本刊讯** 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)

# Fibroscan对自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效评估

张在祺, 姚鹏, 杨大伟, 张成平

## ■背景资料

肝硬化是各种慢性肝病的终末期表现, 其最理想的治疗方法是原位肝移植, 但供体缺乏等多种因素限制了其应用。而干细胞在大量实验后广泛应用于晚期肝硬化的临床探索性治疗, 取得较好的效果, 目前尚缺乏较好的疗效评价体系。

张在祺, 姚鹏, 安徽医科大学北京军区总医院临床学院 北京市 100700

杨大伟, 张成平, 中国人民解放军北京军区总医院肝病治疗中心 北京市 100700

张在祺, 主治医师, 主要从事肝损伤和干细胞移植研究。

中国肝炎防治基金会王宝恩肝纤维化研究基金资助项目, No. CFHTC20090004

作者贡献分布: 此课题由姚鹏与张在祺设计; 病例选择和样本取材由张在祺与姚鹏完成; 自体骨髓干细胞移植由姚鹏完成; 病例随访和临床资料收集由张在祺、杨大伟及张成平完成; 数据分析和论文写作由张在祺完成; 文章审阅由姚鹏完成。

通讯作者: 姚鹏, 教授, 主任医师, 100700, 北京市东城区东四十条南门仓5号, 安徽医科大学北京军区总医院临床学院肝病治疗中心。pyao1@sohu.com

电话: 010-66721394

收稿日期: 2012-03-20 修回日期: 2012-05-08

接受日期: 2012-05-10 在线出版日期: 2012-06-28

## Evaluation of curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis by Fibroscan

Zai-Qi Zhang, Peng Yao, Da-Wei Yang, Cheng-Ping Zhang

Zai-Qi Zhang, Peng Yao, Clinical College of General Hospital of Beijing Military Region, Anhui Medical University, Beijing 100700, China

Da-Wei Yang, Cheng-Ping Zhang, Institute of Liver Diseases, General Hospital of Beijing Military Region of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Supported by: the Wang Bao-En Liver Fibrosis Foundation, Chinese Foundation For Hepatitis Prevention and Control, No. CFHTC20090004

Correspondence to: Peng Yao, Professor, Chief Physician, Institute of Liver Diseases, Clinical College of General Hospital of Beijing Military Region, Anhui Medical University, Beijing 100700, China. pyao1@sohu.com

Received: 2012-03-20 Revised: 2012-05-08

Accepted: 2012-05-10 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment of decompensated cirrhosis by Fibroscan combined with multiple parameters.

**METHODS:** A total of 58 patients with decompensated cirrhosis were divided into transplanta-

tion group ( $n = 27$ ) and control group ( $n = 31$ ). Baseline examinations, including liver biopsy and Fibroscan, were performed before therapy. Both groups underwent routine medical treatment, and the transplantation group additionally underwent autologous bone marrow stem cell transplantation. At 2, 4, 8, 12, 24 and 48 wk after therapy, liver function and coagulation function were measured. Fibroscan and FIB-4 tests were performed at 12, 24 and 48 wk. At 48 wk after therapy, some patients underwent a liver biopsy. Then the efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment of cirrhosis and the role of Fibroscan in evaluation of the curative effect were analyzed comprehensively.

**RESULTS:** Successful transplantation was achieved in all the 27 patients. Seven patients from each group underwent a liver biopsy, and they were clearly diagnosed with cirrhosis by histopathology. At 8 wk after therapy, the improvement in symptoms and physical signs in the transplantation group was better than that in the control group. The liver function and coagulation function improved in both groups, and the improvement was more significant in the transplantation group than in the control group. The liver stiffness values in the transplantation group did not differ significantly between before treatment and 12 and 24 wk after transplantation ( $31.66 \text{ kPa} \pm 6.97 \text{ kPa}$  vs  $31.98 \text{ kPa} \pm 7.36 \text{ kPa}$ ,  $31.35 \text{ kPa} \pm 6.73 \text{ kPa}$ , both  $P > 0.05$ ), but were significantly higher at 48 wk than at other time points ( $31.78 \text{ kPa} \pm 7.35 \text{ kPa}$ ,  $P < 0.05$ ). The liver stiffness values in the control group increased gradually from  $32.05 \text{ kPa} \pm 9.09 \text{ kPa}$  at pretreatment to  $36.39 \text{ kPa} \pm 9.39 \text{ kPa}$  at 48 wk after therapy ( $P < 0.05$ ), and there was a statistical difference in the liver stiffness values between the two groups at 48 wk. The level of HA in the transplantation group decreased more significantly than that in the control group ( $P < 0.05$  at 24 wk).

**CONCLUSION:** Autologous bone marrow stem cell transplantation can significantly improve symptoms and liver function in patients with

## ■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科



decompensated cirrhosis. Fibroscan is an important means of evaluating the curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis.

**Key Words:** Liver stiffness; Bone marrow stem cells; Cirrhosis; Transplantation

Zhang ZQ, Yao P, Yang DW, Zhang CP. Evaluation of curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis by Fibroscan. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1630-1637

## 摘要

**目的:** 评价自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效。

**方法:** 选择58例住院治疗的失代偿期肝硬化患者, 分移植组27人和对照组31人。患者治疗前行肝穿刺活检与Fibroscan测肝脏弹性值等基线检查, 两组患者均行常规内科治疗, 移植组同时行自体骨髓干细胞移植治疗。于2、4、8 wk复查肝功能、凝血功能, 12、24、48 wk增加Fibroscan及肝纤维化指标检查, 48 wk时部分患者再行肝活检, 多角度分析自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效以及Fibroscan在疗效评价中的作用。

**结果:** 27例手术成功率100%。两组各7例患者肝活检均符合肝硬化病理诊断。移植组第8周临床症状、体征改善优于对照组。两组患者肝功能及凝血功能均有所改善, 移植组效果优于对照组。移植组肝脏弹性测量值(liver stiffness measurement, LSM)在移植前、治疗后12、24、48 wk分别为 $31.66 \text{ kPa} \pm 6.97 \text{ kPa}$ 、 $31.98 \text{ kPa} \pm 7.36 \text{ kPa}$ 、 $31.35 \text{ kPa} \pm 6.73 \text{ kPa}$ 、 $31.78 \text{ kPa} \pm 7.35 \text{ kPa}$ , 48 wk时升高有统计学意义( $P < 0.05$ ); 对照组患者LSM值逐步升高, 由治疗前 $32.05 \text{ kPa} \pm 9.09 \text{ kPa}$ 升至48 wk时 $36.39 \text{ kPa} \pm 9.39 \text{ kPa}$ ( $P < 0.05$ ), 治疗后48 wk两组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。移植组HA较对照组下降明显, 24 wk时两组有显著差异( $P < 0.05$ )。

**结论:** 自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化有明显的改善作用, 近期效果安全可靠; Fibroscan可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段, 还可长期监测患者病情变化。

**关键词:** 肝脏硬度测量; 骨髓干细胞; 肝硬化; 移植

张在祺, 姚鹏, 杨大伟, 张成平. Fibroscan对自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效评估. *世界华人消化杂志* 2012; 20(18): 1630-1637

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1630.asp>

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

## 0 引言

肝硬化目前尚无特别有效的治愈措施, 对于终末期肝病最理想的治疗方法是原位肝移植, 而肝供体缺乏、治疗费用昂贵等问题限制了其应用, 且肝移植3年生存率约为79%, 21%患者需再次行移植手术<sup>[1]</sup>。干细胞特别是骨髓干细胞具有高度增殖、自我更新和定向分化为肝细胞的特性<sup>[2]</sup>, 自2004年起广泛应用于晚期肝硬化的临床探索性治疗, 取得较好的效果, 但缺乏较好的疗效评价体系<sup>[3,4]</sup>。经皮肝脏穿刺活组织检查术是评价肝纤维化、肝硬化的“金标准”, 这项检查存在一定危险性和并发症, 对患者造成一定程度的损害<sup>[5]</sup>。近年开展的Fibroscan肝脏弹性/硬度测量相比肝脏穿刺活组织检查具有快速、无创、组内及组间重复性好等优点, 肝脏弹性测量值(liver stiffness measurement, LSM)与肝组织的硬度成正比, 肝脏硬化程度越高, LSM也越高<sup>[6-8]</sup>。本研究拟通过Fibroscan测量肝硬化患者在自体骨髓干细胞移植及常规治疗前后LSM值, 与治疗前后肝脏穿刺活检、生化指标及肝纤谱进行比较, 探讨LSM测量在自体骨髓干细胞移植疗效评价中的价值, 进一步评估自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效, 为干细胞移植治疗肝病的临床应用提供更为科学直观的依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-01/2011-03我科住院治疗的失代偿期肝硬化患者共计58人, 诊断均符合2000年西安第10次全国病毒性肝炎防治及肝病学术会议讨论修订的肝硬化诊断标准<sup>[9]</sup>。分为自体骨髓干细胞移植治疗组(移植组)和常规治疗对照组(对照组), 其中: 移植组27人, 26-65岁, 平均年龄( $47.38 \pm 10.48$ )岁, 男22例, 女5例, 肝功能Child-Pugh分级B级16人, C级11人, 肝炎后肝硬化患者20例, 酒精性肝硬化4例, 隐源性肝硬化2例, 原发性胆汁性肝硬化1例; 对照组31人, 20-69岁, 平均年龄( $49.74 \pm 11.32$ )岁, 男24例、女7例, 肝功能Child-Pugh分级B级17人, C级14人, 肝炎后肝硬化患者23例, 原发性胆汁性肝硬化1例, 血吸虫肝硬化1例, 酒精性肝硬化6例。患者间性别、年龄、病程等差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有入组患者均无心脑血管等重要脏器功能不全, 未合并腹腔或其他系统感染及其他严重并发症(上消化道大出血、肝肾综合征), 凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA) $> 25\%$ 、白细胞 $> 1.5 \times 10^9/\text{L}$ , 无严重出血倾向、过敏体质等其

## ■ 研发前沿

Fibroscan肝脏硬度测量因具有快速、无创、组内及组间重复性好等优点成为研究热点, 而肝脏弹性测量值(LSM)随肝脏硬度增加而增大, 逐渐用于肝纤维化/肝硬化的无创诊断。

## ■相关报道

近年对Fibroscan的研究逐渐从肝纤维化的分期诊断逐渐转向肝硬化及其并发症的预测及诊断方面,取得较好的临床效果。

他严重情况影响治疗,入组前半个月内未行抗病毒治疗。两组患者均行腹部超声及CT检查排除肝癌,了解肝脏影像学变化。实验室检验包括血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、血清白蛋白(serum albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、PTA、血浆纤维蛋白原(plasma fibrinogen, FIB)、LSM、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)。入院后两组患者均予护肝、利尿、限制钠水摄入等常规内科治疗,所有处理措施征得患者本人同意,并签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 肝脏穿刺活检: 先行肝脏超声定位,在肝脏右叶远离大血管的部位做标记;常规皮肤消毒,局部麻醉,嘱患者呼气后屏住呼吸,使用16 G活检针,于超声引导下经皮肝穿刺活组织检查术;采集的肝组织标本长约2 cm,使用10%中性甲醛溶液固定,送病理科行病理组织学检查。

1.2.2 瞬时弹性成像测定肝脏硬度: 使用法国Echosens公司Fibroscan仪测定肝右叶的硬度(弹性)。患者平卧位,右手置于头上部,将集中了一个单阵元的超声转换器和一个低频振动器的Fibroscan仪探头放在患者右腋前线与腋中线之间的第7、8、9肋骨间隙,此部位厚度至少在6 cm以上且没有大的血管结构,探头与肝右叶表面垂直,振动器带动探头释放低频率、低振动的振动波,连续检测,要求成功捕获10次回波,取其中位数为最终测定结果代表肝组织硬度,以弹性值kPa表示。结果有效标准: 四分位间距小于中位数的1/3,成功率(成功捕获回波次数/总发射频数) $\geq 60\%$ 。

1.2.3 自体骨髓干细胞移植: (1)移植患者均于术前1 d行碘过敏实验,双侧腹股沟区备皮,备血、血浆,骨髓穿刺术前5-10 h对房间进行消毒,移植当日患者进隔离病房,术前4 h禁食水; (2)骨髓干细胞制备: 患者皮肤消毒后局部麻醉,在无菌条件下以18号骨髓穿刺针从髂后上嵴进行骨髓穿刺,抽取骨髓50-100 mL入无菌离心管,4 000 U肝素抗凝;患者骨髓离心去除脂肪层;用等量DMEM培养液稀释骨髓制成细胞悬液,将骨髓轻柔加到密度为1.073 g/mL的Percoll分离液上,室温下1 200 r/min离心25 min,吸取中间界面细胞层,用生理盐水洗脱,1 500 r/min离心5 min,反复离心3次后生理盐水重悬细胞,制成体积为10 mL、镜下细胞计数为 $1.0 \times 10^9$ /mL的细胞悬

液<sup>[10]</sup>,置于37 ℃ CO<sub>2</sub>孵箱备用;全程谨防污染; (3)肝动脉导管干细胞移植: 在数字血管减影造影术(DSA)下经股动脉穿刺插管至肝固有动脉,行肝固有动脉造影,观察肝内血管情况和是否存在肝脏占位性病变,确定无占位病变后将分离好的骨髓干细胞悬液经导管缓慢注入肝固有动脉的左右分支各5 mL,注意避开胆囊动脉,再用10 mL生理盐水冲管,术毕拔管后穿刺点加压包扎,穿刺侧髋关节呈伸直位并制动24 h。行肝动脉导管治疗后常规护理,预防性应用抗生素3 d。1.2.4 疗效观察及随访: 两组患者治疗前均接受Fibroscan肝脏硬度检查,部分患者行肝穿刺活组织检查,治疗2、4、8、12、24、48 wk进行观察随访,注意患者症状和体征变化,2、4、8 wk时复查肝功能、凝血4项等常规生化检查,12、24、48 wk时增加Fibroscan肝脏硬度检查及肝纤维化指标检查,48 wk时同时行肝脏CT检查及行肝穿刺活组织检查;移植组需同时注意患者术后不良反应发生情况。

**统计学处理** 各组实验数据以mean $\pm$ SD表示,采用SPSS13.0统计软件进行分析,统计方法采用方差分析和t检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 手术成功率及不良反应 27例患者自体骨髓干细胞移植手术全部成功,手术成功率100%。移植患者中未出现严重并发症,术后有轻度恶心4例,发热3例,诉骨髓穿刺处疼痛6例,未见明显肝区疼痛,未并发出血、感染等情况。

2.2 随访 27例移植组患者中12 wk后死亡1例;31例对照组患者中1例12 wk后死亡,1例24 wk后死亡,3例患者均因并发上消化道大出血死亡。移植组7例、对照组7例患者治疗前及48 wk肝穿刺活组织检查均符合肝硬化病理诊断。

2.3 两组患者症状的改善 自体骨髓干细胞移植后大多数患者第8 wk有明显的临床症状、体征改善,其中乏力好转13例,腹胀减轻18例,食欲改善19例,胸水减少3例,腹水减少13例,下肢浮肿减轻15例。对照组乏力好转11例,腹胀减轻12例,食欲改善15例,胸水减少3例,腹水减少11例,下肢浮肿减轻15例(表1)。

2.4 两组患者肝功能的改变 两组患者ALT、TBIL均有所下降: 移植组患者2、4、8、12 wk时ALT、TBIL明显下降,ALT由移植前150.93 U/L $\pm$ 25.21 U/L降至12 wk 72.11 U/L $\pm$ 20.87 U/L,24、48 wk逐渐回升至86.23 U/L $\pm$ 19.48 U/L,

表 1 两组患者治疗第8周前后临床症状及体征变化 (n)

分组	n	乏力	腹胀	纳差	胸水	腹水	下肢浮肿
移植组							
术前	27	21	25	23	5	18	19
术后	27	8	7	4	2	5	4
对照组							
治疗前	31	25	27	26	7	21	23
治疗后	31	14	15	11	4	10	8

表 2 移植组与对照组肝功能变化

时间	移植组			对照组		
	ALT(U/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	ALB(g/L)	ALT(U/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	ALB(g/L)
治疗前	150.93 $\pm$ 25.21	60.32 $\pm$ 25.62	26.57 $\pm$ 4.96	140.22 $\pm$ 22.82	50.75 $\pm$ 19.94	27.59 $\pm$ 4.56
2 wk	133.26 $\pm$ 24.40	56.00 $\pm$ 24.23	27.13 $\pm$ 4.43	128.06 $\pm$ 20.88	51.93 $\pm$ 17.84	28.26 $\pm$ 4.00
4 wk	116.37 $\pm$ 16.23	45.46 $\pm$ 18.04	30.00 $\pm$ 3.90	108.26 $\pm$ 22.47	49.06 $\pm$ 18.37	28.11 $\pm$ 3.89
8 wk	89.22 $\pm$ 16.55	40.22 $\pm$ 12.42	31.49 $\pm$ 2.82	101.84 $\pm$ 24.03 <sup>a</sup>	47.51 $\pm$ 14.73 <sup>a</sup>	29.49 $\pm$ 3.58 <sup>a</sup>
12 wk	72.11 $\pm$ 20.87	38.83 $\pm$ 10.27	32.57 $\pm$ 3.69	80.81 $\pm$ 16.37 <sup>a</sup>	45.50 $\pm$ 13.55 <sup>a</sup>	28.79 $\pm$ 3.61 <sup>a</sup>
24 wk	80.81 $\pm$ 16.37 <sup>c</sup>	41.13 $\pm$ 13.44 <sup>c</sup>	31.41 $\pm$ 2.91 <sup>c</sup>	97.10 $\pm$ 19.54 <sup>bc</sup>	41.71 $\pm$ 11.66 <sup>c</sup>	29.88 $\pm$ 3.29
48 wk	86.23 $\pm$ 19.48 <sup>c</sup>	37.47 $\pm$ 10.42 <sup>c</sup>	30.66 $\pm$ 2.90 <sup>c</sup>	93.10 $\pm$ 18.93 <sup>c</sup>	42.49 $\pm$ 10.29	28.17 $\pm$ 3.66 <sup>be</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 移植组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 治疗前; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 治疗后24 wk.

对照组患者治疗前ALT 140.22 U/L  $\pm$  22.82 U/L降至48 wk 93.10 U/L  $\pm$  18.93 U/L, 两组间比较8、12、24 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ); 移植组TBIL由术前60.32  $\mu$ mol/L  $\pm$  25.62  $\mu$ mol/L降至37.47  $\mu$ mol/L  $\pm$  10.42  $\mu$ mol/L, 常规组TBIL由治疗前50.75  $\mu$ mol/L  $\pm$  19.94  $\mu$ mol/L降至42.49  $\mu$ mol/L  $\pm$  10.29  $\mu$ mol/L, 两组间比较8、12 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ); 移植组ALB 12 wk时由移植前26.57 g/L  $\pm$  4.96 g/L升至32.57 g/L  $\pm$  3.69 g/L, 后有所降低, 48 wk为30.66 g/L  $\pm$  2.90 g/L, 对照组小范围波动, 两组间比较8、12、48 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ). 治疗前与24 wk比较: 移植组3项 $P$ 值均 $< 0.05$ , 对照组ALT、TBIL值 $P < 0.05$ ; 治疗前与48 wk比较: 移植组3项 $P$ 值均 $< 0.05$ , 对照组仅ALT值 $P < 0.05$ ; 治疗24 wk与48 wk比较: 对照组ALB  $P < 0.05$ , 其余均 $P > 0.05$ (表2).

2.5 两组患者凝血功能的改变 移植组患者PT自第4周开始下降, 24 wk时由移植前21.62 s  $\pm$  4.15 s降至16.66 s  $\pm$  2.32 s( $P < 0.05$ ), 48 wk为16.85 s  $\pm$  2.42 s(24 wk与48 wk比较 $P > 0.05$ ); PTA由移植前46.26%  $\pm$  11.34%上升至24 wk 68.04%  $\pm$  11.61%( $P < 0.05$ ), 48 wk为67.54%  $\pm$  12.09%(24 wk与48 wk比较 $P > 0.05$ ); FIB自移植前1.83 g/L  $\pm$  0.96 g/L逐渐升至48 wk 2.57 g/L  $\pm$  0.49 g/L( $P < 0.05$ ), 24 wk

与48 wk比较 $P > 0.05$ . 对照组亦有一定程度好转趋势, 两组之间比较8、12、24、48 wk均具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 移植组凝血功能改善明显优于对照组(表3).

2.6 两组患者肝穿刺时LSM及纤维化指标变化 肝穿刺组中移植组患者: LSM移植前、48 wk为29.80 kPa  $\pm$  4.46 kPa、30.34 kPa  $\pm$  4.55 kPa; HA移植前、48 wk为482.86  $\mu$ g/L  $\pm$  77.50  $\mu$ g/L、462.71  $\mu$ g/L  $\pm$  65.70  $\mu$ g/L; LN移植前、48 wk为181.00  $\mu$ g/L  $\pm$  28.38  $\mu$ g/L、173.43  $\mu$ g/L  $\pm$  14.64  $\mu$ g/L. 对照组LSM治疗前、48 wk为27.94 kPa  $\pm$  6.26 kPa、31.23 kPa  $\pm$  6.78 kPa; HA治疗前、48 wk为420.86  $\mu$ g/L  $\pm$  97.73  $\mu$ g/L、404.14  $\mu$ g/L  $\pm$  82.91  $\mu$ g/L; LN治疗前与48 wk为164.57  $\mu$ g/L  $\pm$  32.54  $\mu$ g/L、171.29  $\mu$ g/L  $\pm$  18.31  $\mu$ g/L. 移植组与对照组间变化比较无统计学意义( $P > 0.05$ ), 两组内比较, 仅对照组LSM变化具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表4).

2.7 两组患者LSM及肝纤维化指标的改变 移植组LSM值在移植前、移植后12、24、48 wk分别为31.66 kPa  $\pm$  6.97 kPa、31.98 kPa  $\pm$  7.36 kPa、31.35 kPa  $\pm$  6.73 kPa、31.78 kPa  $\pm$  7.35 kPa, 基本无明显改变, 但24 wk与48 wk比较有统计学意义( $P < 0.05$ ); 对照组患者LSM值呈明显逐步升

## ■创新盘点

本课题创新性地应用Fibroscan测量肝硬化患者在自体骨髓干细胞移植前后的变化, 探讨肝脏弹性/硬度测量在自体骨髓干细胞移植疗效评价中的价值, 进一步评估自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效.

## ■应用要点

Fibroscan检查可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段之一,可对肝硬化有关并发症作出有效预测,长期监测患者病情变化。

表 3 移植组与对照组凝血功能变化

时间	移植组			对照组		
	PT(s)	PTA(%)	FIB(g/L)	PT(s)	PTA(%)	FIB(g/L)
治疗前	21.62 ± 4.15	46.26 ± 11.34	1.83 ± 0.96	21.35 ± 4.69	48.03 ± 12.07	1.91 ± 0.88
2 wk	21.81 ± 4.04	48.48 ± 11.88	1.99 ± 0.80	21.01 ± 3.91	51.42 ± 12.46	2.01 ± 0.81
4 wk	21.13 ± 3.95	56.93 ± 11.16	2.15 ± 0.62	21.14 ± 4.35	51.06 ± 11.59	2.05 ± 0.72
8 wk	18.86 ± 2.71	61.04 ± 13.19	2.35 ± 0.64	20.53 ± 3.45 <sup>a</sup>	52.97 ± 10.17 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.59 <sup>a</sup>
12 wk	17.57 ± 2.56	65.44 ± 12.81	2.51 ± 0.55	20.01 ± 3.05 <sup>a</sup>	54.74 ± 11.95 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.70 <sup>a</sup>
24 wk	16.66 ± 2.32 <sup>c</sup>	68.04 ± 11.61 <sup>c</sup>	2.49 ± 0.58 <sup>c</sup>	19.21 ± 2.59 <sup>ac</sup>	55.10 ± 12.89 <sup>ac</sup>	2.03 ± 0.42 <sup>a</sup>
48 wk	16.85 ± 2.42 <sup>c</sup>	67.54 ± 12.09 <sup>c</sup>	2.57 ± 0.49 <sup>c</sup>	19.00 ± 2.69 <sup>ac</sup>	54.86 ± 14.56 <sup>ac</sup>	2.09 ± 0.47 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 移植组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前。

表 4 两次肝穿刺时移植组与对照组LSM及纤维化指标变化

时间	移植组			对照组		
	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)
治疗前	29.80 ± 4.46	482.86 ± 77.50	181.00 ± 28.38	27.94 ± 6.26	420.86 ± 97.73	164.57 ± 32.54
48 wk	30.34 ± 4.55	462.71 ± 65.70	173.43 ± 14.64	31.23 ± 6.78 <sup>a</sup>	404.14 ± 82.91	171.29 ± 18.31

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前。

表 5 移植组与对照组LSM及纤维化指标变化

时间	移植组			对照组		
	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)
治疗前	31.66 ± 6.97	503.56 ± 137.01	185.11 ± 37.91	32.05 ± 9.09	494.23 ± 130.91	192.42 ± 43.18
12 wk	31.98 ± 7.36	460.44 ± 104.35	176.30 ± 29.63	32.60 ± 8.10	472.68 ± 108.95	181.35 ± 32.42
24 wk	31.35 ± 6.73	432.81 ± 94.88 <sup>c</sup>	173.35 ± 30.14 <sup>c</sup>	34.28 ± 8.44 <sup>c</sup>	485.97 ± 100.35 <sup>ac</sup>	191.03 ± 34.92
48 wk	31.78 ± 7.35 <sup>a</sup>	476.77 ± 116.65 <sup>ce</sup>	174.88 ± 19.48	36.39 ± 9.39 <sup>ace</sup>	489.76 ± 139.68	185.66 ± 33.61

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 移植组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前; <sup>e</sup>*P* < 0.05 vs 治疗后24 wk。

高趋势,由治疗前32.05 kPa ± 9.09 kPa升至48 wk时36.39 kPa ± 9.39 kPa,且前后对比有统计学意义(*P* < 0.05)。移植组HA移植前、移植后12、24、48 wk分别为503.56 μg/L ± 137.01 μg/L、460.44 μg/L ± 104.35 μg/L、432.81 μg/L ± 94.88 μg/L、476.77 μg/L ± 116.65 μg/L,移植前与移植后24 wk、48 wk比较有统计学意义(*P* < 0.05);对照组治疗前HA为494.23 μg/L ± 130.91 μg/L,24 wk为485.97 μg/L ± 100.35 μg/L,两者之间变化具有统计学意义(*P* < 0.05)。移植组LN移植前、移植后12、24、48 wk分别为185.11 μg/L ± 37.91 μg/L、176.30 μg/L ± 29.63 μg/L、173.35 μg/L ± 30.14 μg/L、174.88 μg/L ± 19.48 μg/L,移植前与24 wk变化具有统计学意义(*P* < 0.05);对照组LN值变化无统

计学意义。移植组与对照组比较:24 wk时HA值与48 wk时LSM值改变具有统计学意义(*P* < 0.05,表5)。

### 3 讨论

研究表明骨髓干细胞具有生成胆管细胞和肝细胞的能力,在肝脏损伤修复过程中,能补充肝损伤减少的肝细胞数量,从而修复因损伤破坏的肝组织结构,参与代偿和恢复肝脏的生物合成、转化、排泄功能<sup>[11-13]</sup>。而在各种病因导致的肝硬化患者中,肝脏中干细胞及肝细胞增殖有缺陷<sup>[14]</sup>,临床研究显示移植具有同样功能的肝外来源自体骨髓干细胞,对失代偿期肝硬化等严重肝病患者的肝功能及凝血功能具有较好改善作用<sup>[3,15-17]</sup>。



近年来国内外学者通过肝穿刺活检与Fibroscan检查相比较,发现LSM值随着肝纤维化程度增加而增大,肝纤维化各期LSM的临界值因不同病因、不同地区也有所差异。Fibroscan对肝纤维化F3及F4期诊断敏感性和特异性较F1和F2期高,故Fibroscan诊断肝硬化界值仍有争议,普遍认为LSM正常上限值为6.1 kPa, <14.6 kPa可作为排除肝硬化的可靠界值指标,而较多学者认为超过17.5 kPa为诊断肝硬化可靠指标<sup>[18-22]</sup>。Fibroscan检查在一定程度上可替代肝穿刺活检评估肝纤维化程度<sup>[23]</sup>,对乙型病毒性肝炎患者肝纤维化评价优于AST与PLT比值指数(APRI)、FIB-4指数<sup>[24]</sup>。因其操作简单、无创、可重复性好,其检测值可作为连续性观察指标,对慢性乙型病毒性肝炎患者抗病毒治疗疗效进行评价并监测病情变化<sup>[25]</sup>。Fibroscan检查还可以有效预测肝硬化患者发生腹水、食管胃底静脉曲张及破裂出血的可能性,具有一定的临床应用价值<sup>[26-29]</sup>。当然, Fibroscan检查准确性可受到肝纤维化/肝硬化以外的一些因素诸如探头型号、位置、患者体质量、性别等的影响,在检测中应注意避免<sup>[20,30,31]</sup>。

我们的研究结果显示,自体骨髓干细胞移植后大多数患者第8周有明显的临床症状、体征改善,移植后2、4、8、12 wk时ALT、TBIL明显下降并伴有ALB逐渐上升,凝血功能中PT、PTA、FIB在移植后4 wk开始明显改善;与对照组比较,移植组治疗效果总体优于对照组,肝功能中ALT 8、12、24 wk时和TBIL 8、12 wk时及ALB 8、12、48 wk时两组间比较有统计学意义( $P<0.05$ ),凝血功能中PT、PTA、FIB变化自第8周开始两组间比较均有统计学意义( $P<0.05$ )。我们也观察到,移植组ALT与TBIL 24 wk时有轻度回升伴ALB轻度下降,凝血功能中PT、PTA 48 wk也有轻微变化,提示自体骨髓干细胞移植术的疗效可能随病程延长而有所减低。

进一步比较患者LSM值及纤维化指标变化情况:移植组部分患者LSM值下降,总体呈小范围内波动,对照组患者LSM值呈逐渐升高趋势,移植组与对照组比较第48周时有统计学意义( $P<0.05$ )。两组中行肝穿刺活组织检查患者LSM值基本都超过肝硬化诊断标准,且两次病理检查均为特征性肝硬化改变,但LSM值较整组患者低,考虑可能为行肝穿刺检查患者病情相对轻、稳定;常规治疗组患者LSM值升高幅度大,前后对比有明显统计学意义,干细胞移

植患者仅小幅度升高。两组患者肝纤维化指标HA、LN都处于高水平,因移植的骨髓干细胞可使基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)高表达,细胞外基质降解<sup>[32]</sup>,患者HA、LN有一定的下降,对照组下降不明显。结果表明仅接受常规治疗患者肝脏硬度随着病程进展有增加趋势,而接受骨髓干细胞移植虽不能降低肝脏硬度,但遏制硬度增加,其中机制不明。外文文献报道长时间观察慢性乙型肝炎患者使用核苷类药物抗病毒治疗后LSM值变化情况,发现在抗病毒治疗3年中LSM值明显下降,而抗病毒治疗3年以上LSM值无明显改变,说明抗病毒治疗可使肝纤维化一定程度上有效逆转,随着病程进展这种效果也逐渐减弱<sup>[25]</sup>。对于失代偿期肝硬化患者治疗后LSM改变情况较少有类似报道。在我们的研究中,患者均为失代偿期肝硬化、肝脏体积缩小、质地变硬,部分患者行病理检查,结果均显示假小叶形成,逆转可能性极小,为减少干扰因素而未行抗病毒及抗纤维化辅助治疗,从一定程度上又影响LSM、HA、LN值。我们也观察到移植组LSM值虽总体小范围波动,但有部分患者LSM值在24 wk有所下降,48 wk时LSM值有所增加,这部分患者相对病情较轻,预示病情较轻者骨髓干细胞移植有可能降低肝脏硬度。骨髓干细胞移植在早期肝硬化效果会更明显,对于最佳移植时期有待于进一步实验考证;结合国内外研究成果,我们的研究从另一方面也说明对于失代偿期肝硬化患者仍可考虑抗纤维化治疗,有抗病毒治疗指征患者可考虑抗病毒治疗。

总之,我们的研究结果表明自体骨髓干细胞移植对治疗失代偿期肝硬化总体上有明显的改善作用,近期效果安全可靠,远期效果有待于延长随访时间,进一步观察。Fibroscan检查可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段之一,可对肝硬化有关并发症作出有效预测,连续长期监测患者病情变化。我们将加大病例数、放宽骨髓干细胞移植指征、延长观察时间,由此建立一套完整的自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化疗效评估体系。

#### 4 参考文献

- 1 Freeman RB, Steffick DE, Guidinger MK, Farmer DG, Berg CL, Merion RM. Liver and intestine transplantation in the United States, 1997-2006. *Am J Transplant* 2008; 8: 958-976
- 2 Astori G, Soncin S, Lo Cicero V, Siclari F, Sürder D, Turchetto L, Soldati G, Moccetti T. Bone marrow

#### ■名词解释

肝脏弹性测量值(LSM):通过法国Echosens公司Fibroscan仪测得肝脏弹性/硬度值,范围在2.5-75 kPa之间;LSM值随着肝脏硬度增加而增大,LSM值越大,预示肝脏硬化越严重,并发症增加;一般认为LSM正常上限值为6.1 kPa,超过17.5 kPa为诊断肝硬化可靠指标。

## ■同行评价

本文设计合理, 方法采用得当, 结果可信, 讨论恰当, 结论客观, 具有很好的临床意义。

- 3 姚鹏, 王帅, 胡大荣, 闻伟, 周一鸣, 龚丽娟. 肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化30例. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1639-1640
- 4 Gilchrist ES, Plevris JN. Bone marrow-derived stem cells in liver repair: 10 years down the line. *Liver Transpl* 2010; 16: 118-129
- 5 Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2614-2618
- 6 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713
- 7 Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Lédinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006; 55: 403-408
- 8 Vergniol J, de Lédinghen V. [Transient elastography (FibroScan): a new tool in hepatology]. *Presse Med* 2009; 38: 1516-1525
- 9 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329
- 10 Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, Davis J, Dazzi F, Smadja C, Jensen SL, Nicholls JP, Apperley JF, Gordon MY. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 115-125
- 11 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP, Lee OK. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004; 40: 1275-1284
- 12 Sato Y, Araki H, Kato J, Nakamura K, Kawano Y, Kobune M, Sato T, Miyanishi K, Takayama T, Takahashi M, Takimoto R, Iyama S, Matsunaga T, Ohtani S, Matsuura A, Hamada H, Niitsu Y. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood* 2005; 106: 756-763
- 13 Choi D, Kim JH, Lim M, Song KW, Paik SS, Kim SJ, Cheong HJ, Jeon JS, Park HS, Song YS, Khang H, Won JH. Hepatocyte-like cells from human mesenchymal stem cells engrafted in regenerating rat liver tracked with in vivo magnetic resonance imaging. *Tissue Eng Part C Methods* 2008; 14: 15-23
- 14 Stutchfield BM, Forbes SJ, Wigmore SJ. Prospects for stem cell transplantation in the treatment of hepatic disease. *Liver Transpl* 2010; 16: 827-836
- 15 Khan AA, Parveen N, Mahaboob VS, Rajendraprasad A, Ravindrakrishna HR, Venkateswarlu J, Rao SG, Narasu ML, Khaja MN, Pramila R, Habeeb A, Habibullah CM. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study. *Transplant Proc* 2008; 40: 1140-1144
- 16 Salama H, Zekri AR, Zern M, Bahnassy A, Loutfy S, Shalaby S, Vigen C, Burke W, Mostafa M, Medhat E, Alfi O, Huttering E. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant* 2010; 19: 1475-1486
- 17 Jiang J, Fan P, Li DL, Chen SX, He XH, Wang MY, He WX, Xu TT. [Autologous transplantation of bone marrow stem cells versus peripheral blood stem cells for treatment of decompensate liver cirrhosis: a comparative study of 30 cases.] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2011; 19: 136-137
- 18 Ganne-Carrié N, Ziol M, de Lédinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2006; 44: 1511-1517
- 19 Takemoto R, Nakamuta M, Aoyagi Y, Fujino T, Yasutake K, Koga K, Yoshimoto T, Miyahara T, Fukuizumi K, Wada Y, Takami Y, Saito H, Harada N, Nakashima M, Enjoji M. Validity of FibroScan values for predicting hepatic fibrosis stage in patients with chronic HCV infection. *J Dig Dis* 2009; 10: 145-148
- 20 朱霞, 唐红. 瞬时弹性扫描仪在肝纤维化诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2010; 18: 906-912
- 21 Sporea I, Sirli R, Deleanu A, Tudora A, Popescu A, Curescu M, Bota S. Liver stiffness measurements in patients with HBV vs HCV chronic hepatitis: a comparative study. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4832-4837
- 22 Roulot D, Costes JL, Buyck JF, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, Le Clesiau H, Beaugrand M. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut* 2011; 60: 977-984
- 23 Malekzadeh R, Poustchi H. Fibroscan for assessing liver fibrosis: An acceptable alternative for liver biopsy: Fibroscan: an acceptable alternative for liver biopsy. *Hepat Mon* 2011; 11: 157-158
- 24 Zhu X, Wang LC, Chen EQ, Chen XB, Chen LY, Liu L, Lei XZ, Liu C, Tang H. Prospective evaluation of FibroScan for the diagnosis of hepatic fibrosis compared with liver biopsy/AST platelet ratio index and FIB-4 in patients with chronic HBV infection. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2742-2749
- 25 Ogawa E, Furusyo N, Murata M, Ohnishi H, Toyoda K, Taniai H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J. Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog. *Hepatol Res* 2011; 41: 1178-1188
- 26 de Franchis R, Dell'Era A, Primignani M. Diagnosis and monitoring of portal hypertension. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 312-317
- 27 Bureau C, Metivier S, Peron JM, Selves J, Robic MA, Gourraud PA, Rouquet O, Dupuis E, Alric L, Vinel JP. Transient elastography accurately predicts presence of significant portal hypertension in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 1261-1268
- 28 Castéra L, Le Bail B, Roudot-Thoraval F, Bernard PH, Foucher J, Merrouche W, Couzigou P, de Lédinghen V. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: comparison of transient elastography (FibroScan) with standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol* 2009; 50: 59-68
- 29 韩萍, 纪冬, 张健, 李梵, 李冰, 邵清, 陈国凤. 瞬时弹性成像检测对肝硬化腹水的预测作用研究. 解放军医学杂志 2011; 36: 1143-1144

- 30 Ingiliz P, Chhay KP, Munteanu M, Lebray P, Ngo Y, Roulot D, Benhamou Y, Thabut D, Ratzu V, Poynard T. Applicability and variability of liver stiffness measurements according to probe position. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3398-3404
- 31 de Lédinghen V, Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chu SH, Le Bail B, Choi PC, Chermak F, Yiu KK, Merrouche W, Chan HL. Diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: comparison between M and XL probe of FibroScan®. *J Hepatol* 2012; 56: 833-839
- 32 Sakaida I, Terai S, Nishina H, Okita K. Development of cell therapy using autologous bone marrow cells for liver cirrhosis. *Med Mol Morphol* 2005; 38: 197-202

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》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.

# BISAP联合凝血指标对急性胰腺炎严重程度评估的意义

周慧慧, 林连捷, 郑长青, 林艳, 张静洁, 张立伟

## ■背景资料

急性胰腺炎(AP)是目前常见病和多发病,重症死亡率高,早期预测和正确评估AP的严重程度,把握其进展趋势,在临床工作中非常重要。目前由于传统评分应用的时限性、复杂性、局限性等因素,影响了其在临床的应用,需要一种简单、敏感的评估系统。

周慧慧, 林连捷, 郑长青, 林艳, 张静洁, 张立伟, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

周慧慧, 硕士, 主要从事胰腺炎方面的研究。

辽宁省科学技术基金资助项目, No. 2010225008

辽宁省博士科研启动基金资助项目, No. 20081048

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-7

作者贡献分布: 周慧慧与林连捷对此文所作贡献均等; 此课题由周慧慧、林连捷及郑长青设计; 研究过程由周慧慧、林连捷、郑长青、林艳、张静洁及张立伟完成; 数据分析由周慧慧完成; 本论文写作由周慧慧与林连捷完成。

通讯作者: 林连捷, 副教授, 副主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。

audreylin73@hotmail.com

收稿日期: 2012-02-29 修回日期: 2012-04-26

接受日期: 2012-05-18 在线出版日期: 2012-06-28

## Significance of BISAP combined with coagulation parameters in predicting the severity of acute pancreatitis

Hui-Hui Zhou, Lian-Jie Lin, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Jing-Jie Zhang, Li-Wei Zhang

Hui-Hui Zhou, Lian-Jie Lin, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Jing-Jie Zhang, Li-Wei Zhang, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Liaoning Province, No. 2010225008; the Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province, No. 20081048; and the Science and Technology Project of Shenyang, No. F10-205-1-7

Correspondence to: Lian-Jie Lin, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. audreylin73@hotmail.com

Received: 2012-02-29 Revised: 2012-04-26

Accepted: 2012-05-18 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To explore the significance of BISAP (bedside index for severity in AP) combined with coagulation parameters in predicting the severity of acute pancreatitis (AP).

**METHODS:** One hundred and sixty-six patients with AP who were admitted to Shengjing Hospital of China Medical University from 2008 to 2012 were included in this study. The BISAP and APACHE-II scores were calculated using data from the first 24 h from admission and the Ran-

son's score using data from the first 48 h. CTSI was calculated in patients who underwent CECT within 72 h from onset. The activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), D-dimer, fibrinogen (FIB) and platelet (PLT) were measured within the first 24 h from admission. The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) was calculated to explore the significance of BISAP combined with coagulation parameters in predicting the severity of AP.

**RESULTS:** Multivariate Logistic regression analysis showed that D-dimer was an independent predictor of the severity of AP. Increased BISAP score is associated with an increased risk of severe AP (SAP). Taking 2 as the cutoff value for SAP, we obtained the maximum Youden index. The AUC for BISAP in predicting SAP was 0.836 (95% CI: 0.776-0.896), and the BISAP score performed similar to the three "traditional" scoring systems. BISAP score combined with D-dimer (BISAP<sup>+</sup>) could improve the predictive validity.

**CONCLUSION:** BISAP score is an accurate means for predicting the severity of AP, and BISAP<sup>+</sup> score may enhance the accuracy of early prediction of SAP.

**Key Words:** Pancreatitis; Bedside index for severity in AP; Coagulation; D-dimer

Zhou HH, Lin LJ, Zheng CQ, Lin Y, Zhang JJ, Zhang LW. Significance of BISAP combined with coagulation parameters in predicting the severity of acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1638-1643

## 摘要

**目的:** 研究BISAP(bedside index for severity in AP)评分联合凝血指标对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)严重程度评估的意义。

**方法:** 回顾2008-2012年中国医科大学附属盛京医院收治的166例AP患者的临床资料。对所有患者进行入院24 h的BISAP、APACHE-II评分, 48 h的Ranson's及发病72 h内CTSI

## ■同行评议者

陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科



评分, 入院24 h内抽取静脉血测定部分凝血活酶活化时间、凝血酶原时间、D-二聚体(D-dimer)、纤维蛋白原及血小板水平. 分析凝血指标及BISAP评分对AP严重程度判断的意义, 并通过ROC曲线分析二者联合对AP严重程度评估的意义.

**结果:** 多因素Logistic回归分析发现, D-dimer对AP严重程度评估具有独立预测意义; 随着BISAP评分增加, SAP的比率增加; BISAP评分系统评估AP严重程度以2为临界点时Youden指数最大(0.541), ROC曲线下面积为0.836(0.776-0.896), 并不逊于传统评分系统; BISAP评分系统联合D-dimer能更好地评估AP患者的严重程度.

**结论:** BISAP是临床判断AP轻重程度的简单有效的指标, 将BISAP与D-dimer联合应用使得对AP严重程度的评估更为准确.

**关键词:** 胰腺炎; BISAP; 凝血指标; D-二聚体

周慧慧, 林连捷, 郑长青, 林艳, 张静洁, 张立伟. BISAP联合凝血指标对急性胰腺炎严重程度评估的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1638-1643

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1638.asp>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见病和多发病, 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)病死率在20%-30%以上<sup>[1-4]</sup>, 故早期预测和正确评估AP的严重程度, 把握其进展趋势, 在临床工作中非常重要. 目前用于AP评估的常用的评分体系有Ranson's评分、APACHE-II评分、CTSI评分等<sup>[5-8]</sup>, 由于他们的时限性、复杂性、局限性等因素, 影响了其临床应用, 需要一种简单、敏感的评估系统. 最近一种新型预测评分体系-BISAP bedside index for severity in AP)评分体系<sup>[9]</sup>在美国大规模的AP病例研究中得到推广和验证, 被认为是一种能够预测AP严重程度及住院患者风险病死率的简便、精确的评分系统. 目前国内尚未有对该评分系统的验证报道. 另外, 有学者提出凝血功能紊乱与胰腺炎严重度密切相关, 凝血纤溶功能的紊乱可导致胰腺循环紊乱, 加重胰腺炎, 抗凝治疗可能是AP治疗的方法之一<sup>[10,11]</sup>. 本研究采用BISAP评分体系评估AP, 并将凝血指标引入BISAP评分系统, 以提高病情评估的准确率.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-07/2012-01在中国医科大学附属盛京医院接受治疗的AP患者, 根据选入标准和排除标准选入166例AP患者. 胰腺炎诊断标准符合以下3项中至少2项: (1)腹痛的特点; (2)血液淀粉酶或者脂肪酶大于正常高限的3倍; (3)腹部CT影像改变. 诊断为MAP或者SAP取决于48 h后是否有系统并发症和/或局部并发症. 系统并发症包括: (1)休克(收缩压<90 mmHg); (2)呼吸衰竭( $\text{PaO}_2$ <60 mmHg或者需要呼吸技术支持); (3)肾衰竭(血液透析后血肌酐值>2 mg/dL). 局部并发症包括: 胰腺脓肿、假性囊肿及胰腺坏死. 选入标准: 发病3 d内入院, 入院24 h内有BISAP、APACHE-II评分, 48 h Ranson's及发病72 h内有CTSI评分, 入院24 h内有APTT、PT、D-dimer、FIB、PLT等指标. 排除标准: (1)资料不齐的患者; (2)其他非病情原因自动出院的患者; (3)入院后因病情危重无法行CT检查的患者; (4)恶性肿瘤、急性中毒、创伤以及近期或正在服用抗凝或抗血小板药物者. 166例患者, 其中男104例, 女62例, 年龄12-85岁, 平均年龄45岁±15岁. 根据患者的轻重程度将患者分为MAP组( $n = 81$ )和SAP组( $n = 85$ ), 其中SAP组死亡9例, 死亡率10.59%.

### 1.2 方法

**1.2.1 患者评分及指标检测:** 选取指标均为测得的最偏离正常值, 统一选取入院24 h内进行BISAP、APACHE-II评分, 48 h Ranson's及发病72 h内CTSI评分, 入院24 h内抽取静脉血测定部分凝血活酶活化时间(partial thromboplastin time activation, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、D-二聚体(D-dimer)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)及血小板(platelet, PLT)水平.

**1.2.2 治疗与观察目标:** 所有患者病程早期均采用中西医结合内科保守治疗. 如患者出现急性呼吸窘迫综合征, 及时转ICU行呼吸机支持呼吸; 胰腺坏死伴有感染、胰周脓肿以及腹腔室膈综合征、病情危重内科治疗无效者, 转外科行手术治疗; 出现肾脏功能不全, 及时行持续性床旁血液滤过净化治疗. 观察结局的指标主要为出现并发症及死亡. 此次出院或死亡为观察截止时间.

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计软件包进行统计分析; 计量资料采用mean±SD表示; 非连续性变量与多个自变量的回归采用Logistic回归分析; 相关性分析采用spearman相关分析, 诊断

## ■ 研发前沿

BISAP评分体系在美国大规模的AP病例研究中被认为是一种能够预测AP严重程度及住院患者风险病死率的简便、精确的评分系统. 目前国内尚未有对该评分系统的验证报道. 另外, 凝血功能紊乱可能与胰腺炎严重度密切相关.

## ■相关报道

2008年美国Wu等提出BISAP评分系统,并证明其是一种能够预测AP严重程度及住院患者风险病死率的简便、精确的评分系统。

表 1 BISAP分值与MAP、SAP的分布  $n(\%)$ 

BISAP分值	<i>n</i>	MAP	SAP
0	31	29(93.5)	2(0.65)
1	48	32(66.7)	16(33.3)
2	51	17(33.3)	34(66.7)
3	23	3(13.0)	20(87.0)
4	11	0	11(100)
5	2	0	2(100)

表 2 各评分系统预测SAP的曲线下面积 (AUC)

评分系统	AUC(95%CI)
BISAP	0.836(0.776-0.896)
APACHE- II	0.751(0.677-0.825)
Ranson's	0.830(0.769-0.890)
CTSI	0.786(0.715-0.857)

价值比较采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)及曲线下面积(AUC)。

## 2 结果

2.1 凝血指标对AP病情严重程度评估的预测意义 将APTT、PT、D-dimer、FIB和PLT 5项指标进行多因素Logistic回归分析,发现D-dimer进入回归模型,说明D-dimer对AP患者病情严重程度判断有预测意义。根据ROC曲线确定D-dimer评估SAP的最佳截点为418  $\mu\text{g/L}$ ; SAP组D-dimer阳性者69例,阳性率为81.18%; MAP组D-dimer阳性者21例,阳性率为25.93%,两组比较差异有显著性( $P<0.01$ )。D-dimer与APACHE- II、Ranson's及CTSI评分系统的相关系数分别为0.278、0.401、0.299,差异有显著性(均 $P<0.01$ )。

2.2 BISAP评分高低与SAP发病率的相关性 BISAP分值与MAP、SAP的分布列于表1,随着BISAP分值的升高,患SAP的可能性也随之增加。

2.3 BISAP、APACHE- II、Ranson's及CTSI评分系统预测AP轻重程度的ROC曲线 BISAP评分系统及各传统评分系统预测SAP的ROC曲线及曲线下面积(AUC)见图1及表2,根据最佳约登指数确定截点为2,此时他判断SAP的敏感性为78.82%,特异性为75.31%,约登指数和AUC分别为0.541和0.836; APACHE- II的截点为8,此时他判断SAP的灵敏度为80.00%,特异度为59.26%,约登指数和AUC分别为0.393和0.751; Ranson's的截点在3和4之间,取3时判断SAP的灵敏度为71.76%,特异度为75.31%,约登指数为0.470,取4

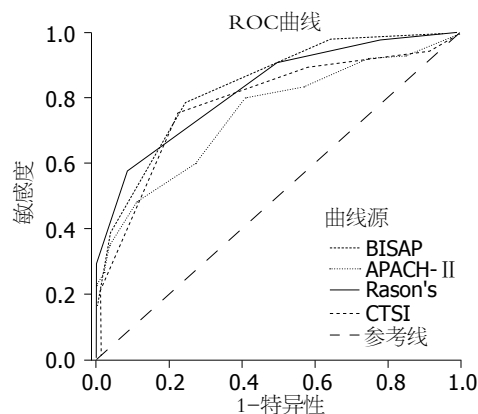
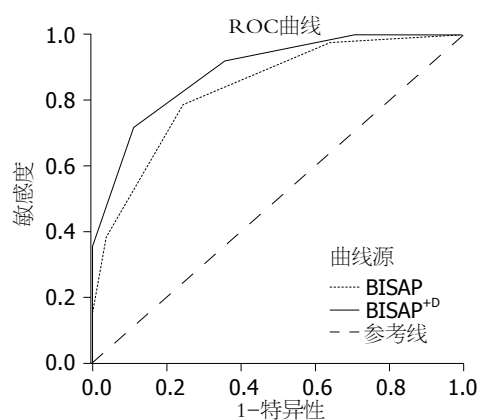


图 1 BISAP、APACHE- II、Ranson's及CTSI评分系统预测SAP的ROC曲线。

图 2 BISAP及BISAP评分与D-dimer联合评分(BISAP<sup>+D</sup>)预测SAP的ROC曲线。

时灵敏度为57.65%, 特异度为91.36%, 约登指数为0.490, AUC为0.830; CTSI的截点为4, 此时判断SAP的灵敏度为75.29%, 特异度为75.31%, 约登指数和AUC分别为0.531和0.760; 将BISAP评分系统与各传统评分系统的AUC进行比较, 差异不显著( $P>0.05$ ), 说明BISAP评分系统并与传统评分系统相比对AP严重程度的预测能力相似。

2.4 BISAP评分以及联合评分(BISAP<sup>+D</sup>)预测AP严重程度的预测价值比较 将BISAP评分与D-dimer联合评分(BISAP<sup>+D</sup>), 即将D-dimer  $\geq 418 \mu\text{g/L}$ 记为1分纳入BISAP评分系统, 描记ROC曲线, 并计算AUC(图2)。与BISAP评分系统相比, BISAP评分及BISAP<sup>+D</sup>评分对AP患者预测SAP的AUC分别是0.836(0.776-0.896)和0.889(0.841-0.936)( $P>0.05$ ); 根据最佳约登指数确定最佳截点, 二者对应的评价指标及预测指标见表3。

## 3 讨论

AP有25%的患者表现为重症, 重症者并发症多, 病死率达20%-30%<sup>[1-4]</sup>。尽管近年来AP的诊治已

表 3 BISAP与BISAP<sup>+</sup>D根据最佳约登指数确定最佳截点对应的评价指标及预测指标

评分系统	最佳约登指数	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
BISAP = 2	0.541	78.82%	75.31%	77.01%	77.22%
BISAP <sup>+</sup> D = 3	0.607	71.76%	88.89%	87.14%	75.00%

经取得了相当大的进步和成就,但并发症仍是一个治疗难点,对该病的预后起着决定性作用<sup>[12-17]</sup>。通过早期快速对轻症和SAP作出诊断和鉴别,有助于进行有效的治疗,降低死亡率<sup>[12,17]</sup>。

我国现普遍采用中华医学会消化病学分会2007年制定的SAP诊断标准<sup>[18]</sup>:具备AP的临床表现和生化改变,且具下列之一者:局部并发症(胰腺坏死、假性囊肿、胰腺脓肿),器官衰竭,Ranson's评分 $\geq 3$ ,APACHE-II评分 $\geq 8$ ,CT分级为D、E。这在区分AP的轻重程度上起了很大的作用。但通过一系列研究发现,Ranson's评分、APACHE-II评分及CTSI评分等标准存在一定的局限性。

Ranson's评分系统用于AP严重程度的评估有30多年的历史,其预测病情程度及预后敏感度可达70%-80%<sup>[7]</sup>。本组Ranson's评分体系评估SAP的ROC曲线下面积为0.830,最佳截点在3与4之间,取3时判断SAP的灵敏度特异度分别为71.76%、75.31%,这与Forsmark等<sup>[19]</sup>研究(灵敏度特异度分别为75%、77%)接近;取4时判断SAP的灵敏度为57.65%,特异度为91.36%。但因取4时对应的灵敏度较低,可能会使一部分SAP患者漏诊而延误诊治,故我们认为本组中取3时诊断价值最佳。然而Ranson's评分体系需要收集患者入院48 h内的指标信息<sup>[19-23]</sup>,而且目前需要的很多指标在住院期间不能常规获得,比如碱缺乏、液体丢失,影响了对疾病的早期预测与评估。

APACHE-II评分系统以其精确性在评估AP严重程度过程中被广泛认可,但是该系统复杂、繁琐,无针对SAP的特异性参数<sup>[24]</sup>,而一些重要参数如胰腺的损伤及一些有意义的并发症被忽略,影响了疾病严重程度的评测<sup>[4]</sup>。本组APACHE-II评分体系评估SAP的ROC曲线下面积为0.751,最佳截点为8,此时他判断SAP的灵敏度为80.00%,特异度为59.26%。这与Osvaldt等<sup>[25]</sup>研究(灵敏度、特异度分别为75%、79%)的截点一致,但灵敏度、特异度略有差异。

CTSI评分系统以直观的影像学指标反映了胰腺的病变情况,其在评估胰腺坏死的发生、

坏死范围等方面较其他评分系统更具优势,但不能反映患者的全身炎症反应状态。而且,在发病早期,影像学指标通常不会有明显的变化,此外当患者出现肾功能衰竭或对比剂过敏时,由于无法实施增强扫描,可导致间质与坏死区区别不佳,因此,对AP早期的预测与评估,CTSI评分系统存在一定的局限性。

BISAP评分系统采用患者入院24 h内的尿素氮水平、受损精神状态、全身炎症反应综合征、年龄、胸腔积液等5方面资料进行AP严重程度评分<sup>[9]</sup>。对于AP住院患者病死风险率、系统并发症、胰腺坏死精确性的预测评估,BISAP评分体系与传统的APACHE-II评分、Ranson's评分及CTSI评分系统相比较,预测精确度无明显差异,对SAP的评估简单有效<sup>[21,22]</sup>。本组BISAP评分体系评估AP的严重程度的ROC曲线下面积为0.836,这与Singh等<sup>[26]</sup>报道ROC曲线下面积为0.82一致,但关于BISAP对SAP评估的最佳截点该文献中没有系统的报道,本研究建议预测SAP最佳截点为2,此时他判断AP轻重程度的敏感性为78.82%,特异性为75.31%。将BISAP评分系统与各传统评分系统的AUC进行比较,差异不显著,说明与传统评分系统相比,BISAP评分系统对AP轻重程度的预测能力相似。本组中BISAP预测死亡的最佳截点为3,ROC曲线下面积为0.859,这与Wu等<sup>[9]</sup>研究接近。BISAP评分系统能早期评估AP的严重程度,并能预测死亡风险<sup>[9,21,22,26]</sup>。本组研究中随着BISAP分值的升高,患SAP的可能性也随之增加。

BISAP评分系统相对其他传统评分体系而言,在临床实际工作中容易获取,评判指标易被临床医师熟练掌握。因而BISAP评分系统可作为一种更简便的评分体系在临床推广应用,但同时也暴露出一些局限性,如缺乏凝血方面的预测指标。研究证实,凝血系统的功能紊乱是AP重要的发病机制之一<sup>[27,28]</sup>。本组将APTT、PT、D-dimer、FIB和PLT等5项指标进行多因素Logistic回归分析,发现D-dimer进入回归模型,说明D-dimer对AP患者病情严重程度判断有预测意义。D-dimer是出现继发纤溶时FIB在凝

#### ■创新盘点

本研究证明,早期预测和正确评估AP严重程度时BISAP评分系统较传统评分系统简便,且可以反复进行评估;且提出的BISAP联合凝血指标在评估AP的严重程度比BISAP更为准确,同时不增加临床操作复杂性。

## ■应用要点

BISAP联合凝血指标能够简便准确地评估AP患者的病情变化,对预测预后及指导临床有重要意义。

血酶的作用下转化为纤维蛋白,纤维蛋白单体经活化的XII因子作用交联成不溶性凝块,形成D-dimer交联的纤维蛋白被纤溶酶水解后产生的一种特异性降解产物,其出现是继发纤溶的标志<sup>[29]</sup>。Kong等<sup>[30]</sup>提出AP患者中D-dimer明显升高,Radenkovic等<sup>[31]</sup>认为D-dimer可以作为早期预测AP患者器官衰竭的有效指标。D-dimer作为高凝状态和纤溶亢进的分子标志物,提示SAP早期存在微循环血栓形成和继发性纤溶的改变。有人认为血浆中D-dimer水平明显升高,一方面反映体内纤维蛋白水平较高,有形成血栓倾向;另一方面D-dimer过多,可促进局部炎症细胞特别是单核细胞合成并释放某些细胞因子(如IL-1、IL-2),加剧胰腺微循环障碍、病情恶化。本组资料显示SAP组D-dimer明显高于MAP组,且D-dimer与APACHE-II、Ranson's及CTSI评分之间存在相关性。

为了更好地预测严重程度,我们将BISAP评分与D-dimer联合评分(BISAP<sup>+</sup>D)描记ROC曲线,通过比较AUC来比较BISAP评分与BISAP<sup>+</sup>D评分在评估AP患者严重程度方面的价值。BISAP与BISAP<sup>+</sup>D评估SAP的ROC曲线下面积分别是0.836(0.776-0.896)和0.889(0.841-0.936),虽然统计学没有显著差异,但AUC明显增大;而且两者根据最佳约登指数确定的最佳截点,最佳约登指数分别为0.541和0.607,对应的阳性预测值分别为77.01%和87.04%,阴性预测值分别为77.22%和75.00%;说明联合评分对AP的严重程度具有较好的预测价值,可以提高预测的准确率。ROC曲线下面积没有显著差异,这可能与样本量少有关,有待于更大样本数据证实。

早期预测和正确评估AP的严重程度,以便更好地指导治疗,在临床工作中非常重要。我们认为BISAP评分系统较传统评分系统简便,且可以反复进行评估;而我们提出的BISAP<sup>+</sup>D在评估AP的严重程度比BISAP更为准确,同时不增加临床操作复杂性。由于本研究为单中心回顾性研究,不可避免地存在一定的局限性,希望能多一些多中心的前瞻性研究以准确评价BISAP联合凝血指标在AP严重程度评估中的作用。

## 4 参考文献

- Baron TH, Morgan DE. Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 1999; 340: 1412-1417
- Whitcomb DC. Clinical practice. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2142-2150
- Fagenholz PJ, Castillo CF, Harris NS, Pelletier AJ, Camargo CA. Increasing United States hospital

admissions for acute pancreatitis, 1988-2003. *Ann Epidemiol* 2007; 17: 491-497

- Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829
- Taylor SL, Morgan DL, Denson KD, Lane MM, Pennington LR. A comparison of the Ranson, Glasgow, and APACHE II scoring systems to a multiple organ system score in predicting patient outcome in pancreatitis. *Am J Surg* 2005; 189: 219-222
- Ranson JH, Rifkind KM, Turner JW. Prognostic signs and nonoperative peritoneal lavage in acute pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 143: 209-219
- Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JH. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology* 1990; 174: 331-336
- Wu BU, Johannes RS, Sun X, Tabak Y, Conwell DL, Banks PA. The early prediction of mortality in acute pancreatitis: a large population-based study. *Gut* 2008; 57: 1698-1703
- Lu XS, Qiu F, Li JQ, Fan QQ, Zhou RG, Ai YH, Zhang KC, Li YX. Low molecular weight heparin in the treatment of severe acute pancreatitis: a multiple centre prospective clinical study. *Asian J Surg* 2009; 32: 89-94
- Zhang XP, Shi Y, Zhang L. Progress in the study of therapeutic effects of traditional Chinese medicine and extracts in treating severe acute pancreatitis. *JOP* 2007; 8: 704-714
- Steinberg W, Tenner S. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 1198-1210
- Johnson CD, Abu-Hilal M. Persistent organ failure during the first week as a marker of fatal outcome in acute pancreatitis. *Gut* 2004; 53: 1340-1344
- Perez A, Whang EE, Brooks DC, Moore FD, Hughes MD, Sica GT, Zinner MJ, Ashley SW, Banks PA. Is severity of necrotizing pancreatitis increased in extended necrosis and infected necrosis? *Pancreas* 2002; 25: 229-233
- Malangoni MA, Martin AS. Outcome of severe acute pancreatitis. *Am J Surg* 2005; 189: 273-277
- Rau BM, Bothe A, Kron M, Beger HG. Role of early multisystem organ failure as major risk factor for pancreatic infections and death in severe acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1053-1061
- Warshaw AL, Jin GL. Improved survival in 45 patients with pancreatic abscess. *Ann Surg* 1985; 202: 408-417
- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 206-208
- Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2022-2044
- Ranson JH, Pasternack BS. Statistical methods for quantifying the severity of clinical acute pancreatitis. *J Surg Res* 1977; 22: 79-91
- Papachristou GI, Muddana V, Yadav D, O'Connell M, Sanders MK, Slivka A, Whitcomb DC. Comparison of BISAP, Ranson's, APACHE-II, and CTSI scores in predicting organ failure, complications, and mortality in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 435-441; quiz 442
- Villacis X, Calle P, Patiño J, Calle G. [Score BISAP validation as a prognostic system in acute pancreatitis]. *Rev Gastroenterol Peru* 2011; 31: 230-235



- 23 Garcea G, Gouda M, Hebbes C, Ong SL, Neal CP, Dennison AR, Berry DP. Predictors of severity and survival in acute pancreatitis: validation of the efficacy of early warning scores. *Pancreas* 2008; 37: e54-e61
- 24 王中秋, 黎介寿. 急性胰腺炎CT评价及进展. *医学研究学报* 2002; 15: 450 - 452
- 25 Osvaldt AB, Viero P, Borges da Costa MS, Wendt LR, Bersch VP, Rohde L. Evaluation of Ranson, Glasgow, APACHE-II, and APACHE-O criteria to predict severity in acute biliary pancreatitis. *Int Surg* 2001; 86: 158-161
- 26 Singh VK, Wu BU, Bollen TL, Repas K, Maurer R, Johannes RS, Morteale KJ, Conwell DL, Banks PA. A prospective evaluation of the bedside index for severity in acute pancreatitis score in assessing mortality and intermediate markers of severity in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 966-971
- 27 Maeda K, Hirota M, Ichihara A, Ohmuraya M, Hashimoto D, Sugita H, Takamori H, Kanemitsu K, Baba H. Applicability of disseminated intravascular coagulation parameters in the assessment of the severity of acute pancreatitis. *Pancreas* 2006; 32: 87-92
- 28 Lindström OK, Tukiainen EM, Kylänpää ML, Mentula PJ, Puolakkainen PA, Wartiovaara-Kautto UM, Repo H, Petäjä JM. Thrombin generation in vitro and in vivo, and disturbed tissue factor regulation in patients with acute pancreatitis. *Pancreatology* 2011; 11: 557-566
- 29 Salomone T, Tosi P, Palareti G, Tomassetti P, Migliori M, Guariento A, Saieva C, Raiti C, Romboli M, Gullo L. Coagulative disorders in human acute pancreatitis: role for the D-dimer. *Pancreas* 2003; 26: 111-116
- 30 Kong H, Ding Z, Zhu XC, Gao XY, Wu J, Qian W, Wang CY, Hou XH. d-Dimer change in human acute pancreatitis as determined by serum triglyceride. *Pancreas* 2011; 40: 1103-1106
- 31 Radenkovic D, Bajec D, Ivancevic N, Milic N, Bumbasirevic V, Jeremic V, Djukic V, Stefanovic B, Stefanovic B, Milosevic-Zbutega G, Gregoric P. D-dimer in acute pancreatitis: a new approach for an early assessment of organ failure. *Pancreas* 2009; 38: 655-660

■同行评价  
BISAP是近几年国际推行的AP严重程度评估的良好指标, 国内尚未全面推广. 本文增加凝血指标, 联合BISAP, 为AP的严重程度的判断提供良好的方法, 临床意义重大.

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》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的370位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价.

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术.

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务.

# 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义

张磊, 张淑云

## ■背景资料

病毒和机体的相互作用决定乙型肝炎病毒(HBV)感染的自然进程和治疗结果。尤其是HBV基因组在长期进化中形成的具有种族和地域差异的HBV基因型(Genotype)、基因亚型(Sub-genotype)和准种(Quasispecies)特征在HBV感染和治疗中的作用备受关注。

张磊, 张淑云, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心  
黑龙江省哈尔滨市 150086

张磊, 硕士, 主要从事临床病毒感染的转归机制研究。

黑龙江省省政府博士后启动基金资助项目, No. LRB2006-354

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 12521186

作者贡献分布: 本综述由张磊完成; 张淑云审校。

通讯作者: 张淑云, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院科研实验中心。zhshuyun136@yahoo.com.cn

电话: 0451-86664393 传真: 0451-86664393

收稿日期: 2012-03-20 修回日期: 2012-05-07

接受日期: 2012-06-11 在线出版日期: 2012-06-28

## Variations in the hepatitis B virus genome and their clinical significance

Lei Zhang, Shu-Yun Zhang

Lei Zhang, Shu-Yun Zhang, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Postdoctoral Foundation of Heilongjiang Province, No. LRB2006-354; the Science and Technology Project of Educational Department of Heilongjiang Province, No. 12521186

Correspondence to: Shu-Yun Zhang, Professor, Scientific Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zhshuyun136@yahoo.com.cn

Received: 2012-03-20 Revised: 2012-05-07

Accepted: 2012-06-11 Published online: 2012-06-28

## Abstract

Hepatitis B virus (HBV) is a hepatotropic DNA virus. The HBV genome is prone to variations. Based on genomic variations, HBV is divided into ten genotypes, many subgenotypes and quasispecies. These genotypes, subgenotypes and quasispecies have distinct race and geographic distribution and have been associated with outcome of HBV infection, disease progression and treatment.

Key Words: Hepatitis B virus; HBV genotype; HBV subgenotype; HBV quasispecies; HBV infection

Zhang L, Zhang SY. Variations in the hepatitis B virus genome and their clinical significance. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(18): 1644-1652

## 摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染仍是世界范围内的公共健康问题。HBV为一嗜肝细胞DNA病毒, 不仅可以引起隐匿性、急性和慢性病毒性肝炎, 还与肝硬化和肝细胞癌的发生发展密切相关。HBV基因组易发生变异, 并在长期进化过程中不断积累, 形成了具有种族和地域差异的HBV基因型、基因亚型和准种, 与HBV感染的发生、发展和治疗等密切相关。

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 基因亚型; HBV准种; HBV感染

张磊, 张淑云. 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1644-1652

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1644.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)为一嗜肝细胞DNA病毒, 不仅可以引起隐匿性、急性和慢性病毒性肝炎, 还与肝硬化和肝细胞癌的发生发展密切相关。虽然通过对HBV和宿主及其相互作用的研究, 已经发展了有效的预防疫苗和多种抗病毒药物, 但HBV感染仍是世界范围内的公共健康问题<sup>[1,2]</sup>。大量研究表明, HBV基因组易发生变异, 在长期的进化中已经形成具有种族和地域差异的HBV基因型(Genotype)和基因亚型(Subgenotype)<sup>[3-5]</sup>, 而且使HBV在机体内的状态具有准种(Quasispecies)的特点, 抗病毒药物的应用增加了准种的复杂性<sup>[6,7]</sup>。对HBV基因变异的深入研究和深刻认识, 必将为揭示HBV感染不同临床表现的分子机制和开发治疗预防新策略提供依据。

## 1 HBV基因组及其变异

HBV基因组是一松弛环状、部分双链DNA。负链长度固定, 约为3.2 kb, 包含HBV全部遗传信息。其结构分为4个开放读码框架(open reading frame, ORF)和多个基因表达调控区。HBV基因组易发生变异, 一方面是由其复制特点决定的,

## ■同行评议者

宣世英, 教授, 青岛市立医院肝病内科

即HBV-DNA聚合酶不仅是DNA聚合酶, 而且还是前基因组RNA逆转录为子代DNA的逆转录酶, 这种逆转录过程和逆转录酶的活性, 不具备有效的校对功能, 可产生众多的基因变异. HBV复制虽然缺乏校对功能, 但复制效率却非常高, 有研究<sup>[8-10]</sup>综合报道HBV进化率为每年每位点 $<2 \times 10^{-4}$  ( $1.4 \times 10^{-4}$  -  $5.7 \times 10^{-5}$ ) 个核酸替换, 体现了HBV高复制的动力学状态, 其突变率是其他DNA病毒的10倍, 这使HBV种群具有明显的异质化倾向; 另一方面由于机体的免疫系统和抗病毒药物等的选择性压力, 使HBV种群的组成和比例不断地动态变化<sup>[7,11]</sup>. 所以, HBV变异在长期进化过程中不断地积累形成了具有重大意义的HBV基因型、基因亚型和准种.

## 2 HBV基因型、基因亚型及临床意义

**2.1 HBV基因型及亚型的种类和分布** 1979年Galibert等<sup>[12]</sup>首次报告了HBV的全基因序列; 1988年Okamoto等<sup>[13]</sup>对18株不同血清型HBV全基因序列比较, 以不同基因型间核苷酸序列异源性 $\geq 8\%$ 为标准, 将18株HBV分为A、B、C、D 4个基因型; 此后, Norder等<sup>[14]</sup>用PCR方法, 发现2株HBV基因区序列与其他毒株间差异分别为13.6%和15.5%, 遂鉴定了2个新的基因型E和F; 2000年Stuyver等<sup>[15]</sup>分析了来自法国和美国的121例HBV慢性感染者的基因型分布, 其中来自法国的2例和来自美国的11例不能归为已知的A-F型, 其异源性为15.8%, 分子进化分析显示为新的基因型, 命名为G型; 2002年Arauz-Ruiz等<sup>[16]</sup>在分析来自西班牙、瑞典、中非、尼加拉瓜和美国共10株HBV的基因型时发现, 来自尼加拉瓜的2株和来自美国的1株与已知的基因型异源性为8.1%-14.1%, S基因差异为3.6%-8.0%, 分子进化分析显示有分枝, 应该为1个新的基因型, 命名为H型; 2007年Tran等<sup>[17]</sup>应用长链PCR技术, 在越南分离出1株全基因与已确定的基因型差异为7.4%-15%, 通过分子进化分析为新的基因型, 命名为I; 2009年Tatematsu等<sup>[18]</sup>应用巢式PCR技术在日本分离出1株全基因, 将HBV全基因克隆在DH5 $\alpha$ 细胞中进行基因测序, 分析与其他基因型差异为11.7%-15.7%, 命名J基因型. 到目前为止, HBV共分为A-J 10个基因型.

在每种基因型中, 又根据HBV全基因序列异质性 $\geq 4\%$ , 且 $<8\%$ 的原则分出多种基因亚型. 自2005年Kramvis等<sup>[19]</sup>明确提出基因亚型的概念到目前为止, A基因亚型有A1-A7<sup>[20]</sup>, B基因亚型有

B1-B9<sup>[21]</sup>, C基因亚型有C1-C16<sup>[22]</sup>, D基因亚型有D1-D8<sup>[23]</sup>, F基因亚型有F I a和 I b-FIV<sup>[24]</sup>, 而E、G、H、I和J尚未有基因亚型的报道.

流行病学调查表明HBV基因型和基因亚型呈一定的地理区域分布(表1). Attaullah等<sup>[25]</sup>认为HBV的基因型地理分布与人口流动有相关性. 亚洲人从里海移民到伊朗、印度和欧洲, 在他们移民前就携带有HBV的D基因型, 致使以上地区以D基因型为主. 因此移民较多的国家, 其HBV基因型也较复杂. 而我国北方地区人口流动性小, 以C基因型为主, 占90%, 且为C2基因亚型<sup>[26]</sup>.

随着研究进展, 对HBV基因型及亚型又有了新的认识. 2008年Kramvis等<sup>[27]</sup>通过计算机对670个HBV全基因序列再分析, 提出了新的基因型和基因亚型的分型标准, 即全基因序列异源性 $\geq 7.5\%$ 可分为不同的基因型; 而基因亚型区分要符合2条标准, 一是全基因序列异源性 $\geq 4\%$ 且 $<7.5\%$ , 二是有较高的置信值(high bootstrap value)支持. 2010年Pourkarim等<sup>[28]</sup>根据新的分型标准对A1-A6基因亚型的全基因序列进行再分析, 其中A1、A2和A6符合分型标准, 而A3-A5则未达到分型标准的要求, 根据其地理分布定为“准亚型”(“quasi-subgenotypes”), 介于基因亚型和进化枝(clade)之间.

**2.2 HBV基因型及亚型的临床意义** HBV感染临床表现比较复杂, 初始HBV感染可表现为急性、急性暴发性或隐匿性感染, 在感染过程中与机体免疫系统相互作用, 结果清除病毒者被称为急性自限性HBV感染; 否则转为慢性HBV感染, 表现为无症状的HBV携带者或慢性乙型肝炎. 慢性HBV感染25%-40%可进展为肝硬化和肝癌. 大量的研究表明, 不同HBV基因型或亚型的感染可导致不同的临床结果、疾病进展和对抗病毒治疗的反应<sup>[29]</sup>.

**2.2.1 HBV基因型与HBV感染及慢性化:** 日本作为亚洲国家其HBV流行株主要为C型和B型, 但在急性感染者中A型也占较高的比例, HBV急性感染后慢性化比率较低(1%), 且与A2相关<sup>[30]</sup>, 并在长期的进化中已经导致HBV慢性感染人群A2基因型比例的漂移(2000-2001 vs 2004-2005, 1.7% vs 3.5%)<sup>[31]</sup>. 同样来自日本的急性乙型肝炎HBV基因型分布的最新调查数据更证明了这一点, 在日本东京地区急性乙型肝炎HBV基因A型的比率随着时间的推移不断增加, 依次为4.8%(1991-1996), 29.3%(1997-2002)

## ■ 研发前沿

随着实验技术的发展, 新的HBV基因型、基因亚型和新的耐药位点不断被检出, HBV体内存在的准种特点的研究也不断深入, HBV基因异质性对HBV传播和对HBV感染自然进程、疾病进展和治疗的影响越来越被重视.

## ■相关报道

近年来不断有基于多中心或社区的大规模回顾性研究报道,进一步阐述了HBV基因型与HBV感染结果和疾病进展等的相关性,以及HBV准种检测在HBV感染治疗中的作用等.

表 1 HBV基因型及亚型的地域分布、突变区域及临床意义

基因型及亚型	地域分布	突变区域	临床意义	参考文献
A	北欧 非洲	前C区		[13,20]
A1	非洲		未确定	
A2	欧洲		急性感染、慢性感染干扰素治疗比D型更敏感	
A3	非洲西部		未确定	
A4	非洲西部		未确定	
A5	非洲西部		未确定	
A6	比利时		未确定	
A7	卢旺达 喀麦隆		未确定	
B	亚洲	基本核心启动子	急性肝炎	[12,21]
B1	日本		爆发性肝炎	
B2	亚洲大部 韩国较多		急性肝炎 <50岁的肝癌	
B3	印度尼西亚		未确定	
B4	印度尼西亚 越南		未确定	
B5	印度尼西亚 菲律宾		未确定	
B6	印度尼西亚		未确定	
B7	印度尼西亚		未确定	
B8	印度尼西亚		未确定	
B9	印度尼西亚		未确定	
C	亚洲 大洋洲	基本核心启动子	肝癌、肝硬化	[13,22]
C1	亚洲南部 中国南部		肝癌、肝硬化	
C2	亚洲东北部 中国		>50岁者易患肝硬化和肝癌	
C3	印度尼西亚 菲律宾		未确定	
C4	澳大利亚		未确定	
C5	印度尼西亚 菲律宾		未确定	
C6	印度尼西亚 菲律宾		未确定	
C7	印度尼西亚		未确定	
C8	菲律宾		未确定	
C9	中国台北		未确定	
C10	印度尼西亚		未确定	
C11	巴布亚		未确定	
C12	巴布亚		未确定	
C13	巴布亚		未确定	
C14	巴布亚		未确定	
C15	巴布亚		未确定	
C16	巴布亚		未确定	
D	地中海 中东 南亚 大洋洲	前C区	慢性肝脏疾病	[13,23]
D1	中东 地中海地区		慢性肝脏疾病、肝癌	
D2	俄罗斯 波罗的海 印度		无明显症状	
D3	印度尼西亚 印度		隐匿性感染	
D4	大洋洲		未确定	
D5	印度		无明显临床症状	
D6	印度尼西亚		未确定	
D7	突尼斯		未确定	
D8	尼日尔		未确定	
E	非洲中部和西部	无特异性	未确定	[14]
F	美洲中部和南部	前C区	未确定	[14,24]
F I a	美国中部 智利 阿拉斯加		肝癌	
F I b	阿根廷 日本 委内瑞拉 美国		未确定	
F II	巴西 委内瑞拉 尼加拉瓜		未确定	
F III	委内瑞拉 巴拿马 哥伦比亚		未确定	
F IV	阿根廷 玻利维亚 法国		未确定	



G	墨西哥 加拿大	无特异性	未确定	[15]
H	墨西哥	无特异性	未确定	[16]
I	越南 老挝	无特异性	未确定	[17]
J	日本	无特异性	肝癌	[18]

## ■创新盘点

从HBV基因型、基因亚型到HBV准种全面系统地综述了HBV基因变异的研究历程及其临床意义。

和50.0%(2003-2008), 并以A2为主. 研究者认为HBV A2亚型已通过性工作者在当地迅速传播<sup>[32]</sup>. 中国是HBV感染高流行区, 主要以B(B1, B2)和C(C1, C2)为主, 而且从南方向北方C型逐渐增多, B型逐渐减少. Yin和Zhang等<sup>[33,34]</sup>报道在上海地区, 慢性HBV感染人群主要以C2(62.1%-72.9%)和B2(13.4%-28.0%)为主, 但B2在急性感染人群中比例增高为48.5%(33/68), C2比例降低为51.2%(35/68); 慢性化率为8.50%(7/68), 以C2(5/7)为主, 认为HBV C2是急性感染慢性化的独立因素. 我们对中国东北地区HBV感染人群的HBV基因型和基因亚型分布进行了分析, 在慢性感染者中C(C2)高达90%, 有少量B(B2), 即使在急性自限性感染者中也以C(C2)为主, 是否体现地域差异有待进一步研究<sup>[26,35]</sup>. 台湾学者对HBV基因型与HBV急性感染慢性化的相关性提出质疑<sup>[36]</sup>.

急性HBV感染后尚可表现为暴发性HBV感染, 虽然发生率较低, 但死亡率较高, 而且有基因型特异性和伴随的基因变异. 如来自日本的报道是暴发性HBV感染发生与B1相关, 在印度暴发性HBV感染的发生与D1相关, 均伴有BCP G1896A和PreC/C A1762T/G1764A突变<sup>[30,37]</sup>.

隐匿性HBV感染是指使用现有的常规方法在患者的外周血中未检测到乙肝表面抗原, 而检测到HBV DNA, 即HBsAg-/HBV DNA+, 或只在肝脏中检测到HBV DNA, 是HBV传播, 尤其是输血后HBV感染的重要原因, 已受到高度重视<sup>[38]</sup>. 其发生原因可能是因为HBsAg基因突变, 使HBsAg合成障碍, 或共感染使HBsAg表达降低. 但近期有与HBV基因型相关的报道. 有研究报道在隐匿性HBV感染者中, 基因型的种类和分布与慢性感染人群较一致, 但有研究报道隐匿性HBV感染可能与D基因型有关, 而与HCV共感染无关<sup>[39,40]</sup>.

2.2.2 HBV基因型与慢性HBV感染的疾病转归: 慢性HBV感染即HBsAg阳性持续超过6 mo者, 包括慢性携带者和慢性乙型肝炎(HBeAg阳性或阴性). 慢性HBV感染在自然进程中也可有少数患者(0.5%-2.3%)清除病毒, 即HBsAg转阴<sup>[41,42]</sup>. HBsAg转阴的可能性与HBV DNA水平短期内快

速下降密切相关<sup>[42]</sup>. 如果HBV DNA水平在3 mo内持续下降3个数量级, HBsAg转阴的可能性增加4倍; 并可能发生在第1次检测到有意义下降后的4.6年. 如果HBV DNA水平能从 $10^4$ 拷贝/mL总体下降到300拷贝/mL以下, 那么在此后第60 mo HBsAg转阴率为25.8%, 第100个月则为51.3%. 早在2002年<sup>[43]</sup>和2004年<sup>[44]</sup>有2篇关于HBsAg转阴与基因型相关性的报道, 认为HBV基因型A和B比D和C有较高的HBsAg转阴率, 但近期较少有HBsAg转阴与基因型相关性的报道<sup>[45]</sup>. 基于目前对HBsAg转阴的认识, 已大大增强了战胜慢性HBV感染的信心.

HBeAg血清逆转是HBV感染临床转归过程中的重要事件, 如果发生在急性感染早期将预示有较好的预后, 但在慢性感染反复发后发生HBeAg血清逆转或HBeAg缺失则可加重病情, 积累较多突变, 易进展为肝硬化和肝癌. 基因型C和D较A和B更易发生延迟或HBeAg缺失的慢性感染, 从而也易进展为年长的严重肝病<sup>[4]</sup>.

长期慢性HBV感染可导致严重的肝病, 包括肝硬化、肝功能失代偿和肝癌<sup>[29]</sup>. Lin等<sup>[4]</sup>总结报道慢性HBV感染者每年肝硬化的发生率是2%-10%, 肝癌的发生率是1%-3%. 亚洲是HBV感染高发区, 以C(C2)和B(B2)基因(亚)型为主. 随着年龄的增长, 基因型C感染积累较多突变, 易进展为肝硬化和肝硬化后肝癌; 而基因型B感染病毒复制活跃, 在年轻时易发生无肝硬化的肝癌, 不同报道分界年龄略有不同(30岁-50岁)<sup>[46-50]</sup>. Liang等<sup>[51]</sup>研究报道基因型C感染也是肝癌切除后复发的危险因素.

非洲也是HBV感染高发区. 在南非流行的HBV基因型有A、D和E, 其中以A基因型为主, A1亚型感染者常伴有较高的病毒载量, 在年轻时易进展为肝细胞癌<sup>[52-55]</sup>. 在印度流行的HBV基因型有A和D, 而D基因型感染者在年轻时易进展为肝细胞癌<sup>[56]</sup>. 在美国的阿拉斯加F基因型感染者在年轻时也易进展为肝细胞癌<sup>[43,57]</sup>.

2.2.3 HBV基因型与抗病毒治疗: 慢性乙型肝炎治疗的总体目标是最大限度地长期抑制HBV, 甚至消除HBV即HBsAg转阴和血清逆转. 主要治疗方法是抗病毒治疗, 包括干扰素和核苷(酸)类

## ■应用要点

通过本文可较全面地了解HBV基因型和准种的研究历程和临床意义。

似物<sup>[29,58]</sup>。有研究<sup>[4,5,59]</sup>较详尽地综述报道了HBV基因型对抗病毒治疗反应的影响。

干扰素是最早用于抗病毒治疗的免疫制剂,包括普通和长效2种。早期报道普通干扰素治疗后HBeAg血清逆转率可达33%。基因型A和B感染较基因型D和C感染对干扰素治疗有良好的反应,尤其是A基因型伴HBeAg阴性感染者对治疗的长期反应最好(>40%)<sup>[60]</sup>。C基因型感染者对长效干扰素治疗的反应好于普通干扰素。到目前为止仍只有1篇关于其他基因型与干扰素治疗关系的报道,即HBV E、F和H基因型感染者干扰素治疗效果要好于HBV G基因型感染者<sup>[61]</sup>。

核苷(酸)类似物是针对HBV聚合酶区的抗病毒制剂,先后已有5种被应用于临床,即拉米夫定、阿德福韦、替比夫定、恩替卡韦和泰诺福韦。恩替卡韦和泰诺福韦因最高的有效性和最低的耐药性而作为未治疗的HBV感染者的一线用药<sup>[62]</sup>。大量的报道认为HBV基因型与核苷(酸)类似物治疗效果和耐药突变的出现无相关性<sup>[4,5,59,63]</sup>。但也有少数不同报道,认为B基因型比C基因型易较早地产生拉米夫定耐药<sup>[64]</sup>,而且易发生M204I突变<sup>[35]</sup>,需要进一步研究。

## 3 HBV准种及临床意义

**3.1 HBV准种的概念** 1979年Epstein等<sup>[65]</sup>在研究RNA分子的复制机制时提出准种的概念,而HBV准种这一概念直至1993年才由Blum<sup>[66]</sup>提出。2005年中华肝脏病杂志《慢性乙型肝炎防治指南》将HBV感染者体内形成的以1个优势株为主的相关突变株病毒群称为HBV准种<sup>[29]</sup>。所谓准种是指不同病毒种群间核酸突变造成的序列长度差异,一般不超过核苷酸总长度2%-4%,尚不构成病原体不同基因型或基因亚型,但存在基因序列差异即基因异质性的现象。基因型与亚型若无高突变或同源重组常呈稳定状态,而准种则一直在演化。2006年娄国强<sup>[67]</sup>进一步提出“准种单位”概念,即准种单位是不同的感染进化单位,是依时空方式的有序组织构成体内混合性的病毒群体,准种单位内的分离株则是感染进化的一个参数。同时提出了基于准种单位上的理论,能更好地解释乙型肝炎发病机制。准种理论的提出可使我们从患者体内整个病毒群体水平上认识HBV的生物学特性和临床意义。

**3.2 HBV准种的临床意义** 我国学者<sup>[68-70]</sup>在国内率先开展了HBV准种的研究。他们先后对HBV的S基因区、反转录酶区、PreC/C基因序列、

X基因及涵盖了DR II、DR I、EN II等调控序列的HBV核心启动子序列等进行了一系列研究,发现准种存在于HBV基因序列的结构基因区和调节基因区,具有普遍性和个体化双重特点。对准种的深入研究已揭示某些特征性点突变可能是形成某种HBV感染不同临床表现和耐药的分子基础。

**3.2.1 HBV准种与HBV感染:** PreC区第28位氨基酸发生G1896A变异,可产生一个终止密码子(TAG),阻止了HBeAg的翻译;BCP区A1762T/G1764A联合突变,选择性地抑制前C mRNA转录,降低HBeAg合成,形成HBeAg阴性的慢性HBV感染<sup>[71,72]</sup>。有报道BCP区G1776A突变也可能与HBeAg阴性的慢性HBV感染相关<sup>[72]</sup>。S基因区的基因变异可能与隐匿性HBV感染相关。2011年Burni等<sup>[73]</sup>对41名隐匿型乙型肝炎患者和162名非隐匿型乙型肝炎患者HBV核苷酸对比分析,发现有7个点突变(G78A/A233G/G418T/A2240G/C224 1T/C2435A/A2485G)与隐匿性HBV感染相关,突变位点涉及HBV基因组S、P和C 3个开放读码框架,未涉及X基因和调控区,其中意义更大的位点为A233G,此位点突变可导致S和P 2个ORFs以及聚合酶、大表面抗原、中表面抗原和小表面抗原4种蛋白结构发生改变;表面抗原终止密码子的出现率:隐匿型(7.3%)高于非隐匿型(3.1%),但确切相关的突变位点尚不明确。

**3.2.2 HBV准种与HBV感染临床转归:** 2003年刘映霞等<sup>[74]</sup>通过对慢性乙型肝炎不同疾病类型患者S区准种复杂性的差异进行分析,认为HBV准种的复杂性随病情发展而增加;2006年刘霖等<sup>[75]</sup>采集了5例慢性乙型肝炎患者在病情发展不同阶段的血清标本,且整个过程未接受抗病毒药物治疗,利用PCR-构象敏感凝胶技术,对HBV前C/C及BCP区进行研究,发现慢性HBV急性发作时HBV准种复杂性较低,而病情好转时准种复杂性较高。2009年Cao<sup>[6]</sup>总结报道了在HBV的PreS1 Enh II/BCP/前C区有明显的差异性,PreS缺失、C1653T、T1753V及A1762T/G1764A的突变可增加患肝癌的几率。2010年Zhang等<sup>[72]</sup>对192名慢性乙型肝炎病毒患者的全基因研究证实,35岁以上的慢性患者,年龄是疾病发展的重要因素,而G1896A的突变是独立于年龄以外导致疾病发展的另一重要因素。进一步研究证明G1776A突变会导致HBeAg阴性,并伴有高病毒载量,这种患者发展成为肝癌和肝硬化的几率

表 2 不同基因型HBV感染者抗病毒治疗的耐药突变位点

药物	A	B	C	D	E	F	参考文献
拉米夫定	M204V L180M	V173L	M204I/V M552Y M552I L180M	T128N W153Q A181T V173L, L180M, M204V/I	—	M204I	[63,83]
恩曲他滨		L180M	M250V/I N236T P237H A181T				[79,83]
阿德福韦	—	A181V	I233V	N236T	A194T	—	[82,83]
恩替卡韦	—	I169T	M204V/I L180M T184S/A/I/ L/G/	M250V	—	—	[83]
		T184G	C/M S202C/G/I I169T M250V/I				
替比夫定	—	—	M204V/I L180M	—	—	—	[81,83]
泰诺福韦	—	—	—	A194T	A194T	—	[79,80,82]

## ■名词解释

HBV准种: HBV感染者体内形成的以一个优势株为主的相关突变株病毒群。

更高。192名患者中BCP和前C区存在3种最常见的多重突变: 二重突变A1762T/G1764A(36%), 三重突变A1762T/G1764A/G1896A(11%), 四重突变T1753(A/C)/A1762T/G1764 A/G1896A(8%)。多重突变越多、年龄越大后果越严重。患者长时间受感染, 宿主的免疫系统会引起HBV突变, 但某些突变可能只代表长期感染的结果, 例如T1753A/C、G1764A和A1762T; 而另一种突变一旦出现, 则预示可能发展成严重的临床结果, 如G1896A。

2006年Osiowy等<sup>[76]</sup>对4名未经过任何抗病毒药物治疗的慢性乙型肝炎患者, 25年前后的血清样本中HBV全基因序列进行分析, 其中差异性最大的1对为1.9%, 在平均进化率水平上, 无明显差异性。说明在25年间准种的变化率不会使整体平均进化率产生明显改变。2007年赫兢等<sup>[77]</sup>对5例急性自限性HBV患者的表面抗原区进行测序, 碱基序列非常相似, 均为adw亚型, 其中有3例碱基序列同源性>99%。每例患者提取5个重组质粒进行测序, 结果所有质粒序列相同, 证明所测序列应为优势种群。2009年黄维金等<sup>[78]</sup>克隆了HBV中国流行株B、C、D/C及A基因型的全基因并进行了序列分析。同一标本中分离的不同HBV克隆存在一定的差异, 但差异性不大, 保持了一定的种群稳定性。以上研究表明HBV准种的复杂性随着疾病的波动和进展而加重。相对简单的HBV准种组成可能有利于疾病的稳态和病毒的清除。

**3.2.3 HBV准种与抗HBV治疗:** 抗病毒治疗耐药是治疗失败的主要原因。研究已发现针对不同抗病毒药物的多种耐药位点(表2), 而且HBV感染者体内HBV准种的组成特点是抗HBV治疗反应的基础<sup>[6,7,79-83]</sup>。2003年兰林等<sup>[84]</sup>应用构象敏感凝胶电泳(CSGE)对20例(完全应答者和无应答者各10例)已接受IFN- $\alpha$ 治疗的慢性乙型肝炎患

者治疗前血清中HBV准种的异质性进行检测, 以研究HBV准种的异质性与IFN- $\alpha$ 应答性间的关系。结果证明HBV准种的异质性对IFN- $\alpha$ 的应答性有影响。慢性乙型肝炎患者血清中HBV准种异质性越大, IFN- $\alpha$ 治疗的难度可能越大。最近研究报道HBV的干扰素调控元件的突变将影响干扰素治疗反应<sup>[85]</sup>。

2007年Zhu等<sup>[79]</sup>对1名经阿德福韦治疗和另1名已对拉米夫定产生耐药性又改为阿德福韦治疗的2名患者HBV DNA进行准种群的克隆测序, 纵向分析临床治疗时准种群的变化, 结果治疗初期无耐药的, 治疗后出现阿德福韦耐药株(rtA181V); 有拉米夫定突变株存在的(rtL180M/M204I/V)又出现新的阿德福韦突变株(rtS202S/G)。2009年Margeridon-Thermet等<sup>[86]</sup>应用超深焦磷酸测序法(Ultra-deep pyrosequencing, UDPS)与PCR直接测序法对核苷酸逆转录酶抑制剂(NRTI)治疗者和未治疗者的准种组成进行检测。结果UDPS的高灵敏度不仅较PCR直接测序法可多检出低流行的变异株, 而且在17名未治疗者中有2名检出NRTI耐药性突变, 其中1名为M204I, 其突变率为1.3%。另1名为A181T和M204I, 突变率为1.0%, 表明在抗HBV治疗前用高灵敏的方法检测个体病毒准种的组成, 尤其是耐药病毒株的检测, 对制定有效的个体化抗病毒治疗方案有重大的指导意义。Nishijima等<sup>[83]</sup>的研究进一步证明了UDPS在准种分析中的作用和意义。

## 4 结论

HBV易发生变异, 在长期的进化中已形成具有种族和地域差异的基因型、基因亚型和准种。到目前为止, 以HBV全基因序列异源性 $\geq 8\%$ 为标准, 将HBV共分为A-J 10个基因型。在每种基因型中, 又根据HBV全基因序列异质性 $\geq 4\%$ , 且

# 同行评价

本文选题较好, 内容较丰富, 有助于读者从基因水平了解HBV的致病机制, 进而为临床治疗提供一定的参考。

<8%的原则分出多种基因亚型。HBV基因(亚)型与HBV感染、临床转归、疾病进展和治疗等密切相关。某一个体感染的HBV都是一类病毒株相似的群体, HBV全基因序列异质性<4%, 表现为准种, 有优势株和弱势株, 在某一时期体现的是优势株。HBV感染种群变异特点的深入研究增加了对HBV感染多种临床表现、耐药和免疫失败的认识, 同时也认识到慢性HBV感染治疗所面临的困难<sup>[87]</sup>。

## 参考文献

- Kao JH. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J Intern Med* 2011; 26: 255-261
- Lloje UH, Yang HI, Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has REVEAL Revealed? *Liver Int* 2012; Apr 17. [Epub ahead of print]
- 王洪岩, 张淑云. 乙型肝炎病毒基因亚型的研究进展. *国际病毒学杂志* 2009; 16: 137-141
- Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 123-130
- Tanwar S, Dusheiko G. Is there any value to hepatitis B virus genotype analysis? *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 37-46
- Cao GW. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5761-5769
- Durantel D. Fitness and infectivity of drug-resistant and cross-resistant hepatitis B virus mutants: why and how is it studied? *Antivir Ther* 2010; 15: 521-527
- Nassal M. Hepatitis B viruses: reverse transcription a different way. *Virus Res* 2008; 134: 235-249
- Jazayeri SM, Alavian SM, Carman WF. Hepatitis B virus: origin and evolution. *J Viral Hepat* 2010; 17: 229-235
- Harrison A, Lemey P, Hurler M, Moyes C, Horn S, Pryor J, Malani J, Supuri M, Masta A, Teriboriki B, Toatu T, Penny D, Rambaut A, Shapiro B. Genomic analysis of hepatitis B virus reveals antigen state and genotype as sources of evolutionary rate variation. *Viruses* 2011; 3: 83-101
- Thai H, Campo DS, Lara J, Dimitrova Z, Ramachandran S, Xia G, Ganova-Raeva L, Teo CG, Lok A, Khudyakov Y. Convergence and coevolution of hepatitis B virus drug resistance. *Nat Commun* 2012; 3: 789
- Galibert F, Mandart E, Fitoussi F, Tiollais P, Charney P. Nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome (subtype ayw) cloned in E. coli. *Nature* 1979; 281: 646-650
- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 1988; 69: 2575-2583
- Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503
- Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, Rossau R. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000; 81: 67-74
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-2073
- Tran TT, Trinh TN, Abe K. New complex recombinant genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. *J Virol* 2008; 82: 5657-5663
- Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol* 2009; 83: 10538-10547
- Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2005; 12: 456-464
- Hübschen JM, Mbah PO, Forbi JC, Otegbayo JA, Olinger CM, Charpentier E, Muller CP. Detection of a new subgenotype of hepatitis B virus genotype A in Cameroon but not in neighbouring Nigeria. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 88-94
- Thedja MD, Muljono DH, Nurainy N, Sukowati CH, Verhoef J, Marzuki S. Ethnogeographical structure of hepatitis B virus genotype distribution in Indonesia and discovery of a new subgenotype, B9. *Arch Virol* 2011; 156: 855-868
- Mulyanto P, Depamede SN, Wahyono A, Jirintai S, Nagashima S, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H. Identification of four novel subgenotypes (C13-C16) and two inter-genotypic recombinants (C12/G and C13/B3) of hepatitis B virus in Papua province, Indonesia. *Virus Res* 2012; 163: 129-140
- Abdou Chekaraou M, Brichler S, Mansour W, Le Gal F, Garba A, Dény P, Gordien E. A novel hepatitis B virus (HBV) subgenotype D (D8) strain, resulting from recombination between genotypes D and E, is circulating in Niger along with HBV/E strains. *J Gen Virol* 2010; 91: 1609-1620
- Mbayed VA, Barbini L, López JL, Campos RH. Phylogenetic analysis of the hepatitis B virus (HBV) genotype F including Argentine isolates. *Arch Virol* 2001; 146: 1803-1810
- Attaullah S, Rehman S, Khan S, Ali I, Ali S, Khan SN. Prevalence of hepatitis B virus genotypes in HBsAg positive individuals of Afghanistan. *Virol J* 2011; 8: 281
- Wang HY, Li D, Liu W, Jin X, Du B, Li YP, Gu HX, Zhang SY. Hepatitis B virus subgenotype C2 is the most prevalent subgenotype in northeast China. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 477-481
- Kramvis A, Arakawa K, Yu MC, Nogueira R, Stram DO, Kew MC. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J Med Virol* 2008; 80: 27-46
- Pourkarim MR, Amini-Bavil-Olyae S, Lemey P, Maes P, Van Ranst M. Are hepatitis B virus "subgenotypes" defined accurately? *J Clin Virol* 2010; 47: 356-360
- 中华医学会肝病学分会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 881-891
- Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang JH, Hige S, Kuramitsu T, Suzuki K, Tanaka E, Okada



- S, Tokita H, Asahina Y, Inoue K, Kakumu S, Okanoue T, Murawaki Y, Hino K, Onji M, Yatsushashi H, Sakugawa H, Miyakawa Y, Ueda R, Mizokami M. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 44: 326-334
- 31 Matsuura K, Tanaka Y, Hige S, Yamada G, Murawaki Y, Komatsu M, Kuramitsu T, Kawata S, Tanaka E, Izumi N, Okuse C, Kakumu S, Okanoue T, Hino K, Hiasa Y, Sata M, Maeshiro T, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Miyakawa Y, Mizokami M. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1476-1483
- 32 Tamada Y, Yatsushashi H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H. Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B. *Gut* 2012; 61: 765-773
- 33 Yin J, Zhang H, Li C, Gao C, He Y, Zhai Y, Zhang P, Xu L, Tan X, Chen J, Cheng S, Schaefer S, Cao G. Role of hepatitis B virus genotype mixture, subgenotypes C2 and B2 on hepatocellular carcinoma: compared with chronic hepatitis B and asymptomatic carrier state in the same area. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1685-1691
- 34 Zhang HW, Yin JH, Li YT, Li CZ, Ren H, Gu CY, Wu HY, Liang XS, Zhang P, Zhao JF, Tan XJ, Lu W, Schaefer S, Cao GW. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China. *Gut* 2008; 57: 1713-1720
- 35 Li D, Gu HX, Zhang SY, Zhong ZH, Zhuang M, Hattori T. YMDD mutations and genotypes of hepatitis B virus in northern China. *Jpn J Infect Dis* 2006; 59: 42-45
- 36 Lin CL, Kao JH. HBV genotypes and chronicification of acute hepatitis B: more questions than answers. *Gut* 2009; 58: 1027-1028; author reply 1027-1028
- 37 Khare S, Negi SS, Singh S, Singhal M, Kumar S, Prakash C, Venugopal R, Rawat DS, Chauhan LS, Rai A. Genetic analysis of precore/core and partial pol genes in an unprecedented outbreak of fulminant hepatitis B in India. *Epidemiol Infect* 2012; 1-7. [Epub ahead of print]
- 38 Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut* 2012; 61 Suppl 1: i6-i17
- 39 Candotti D, Lin CK, Belkhir D, Sakuldamrongpanich T, Biswas S, Lin S, Teo D, Ayob Y, Allain JP. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East Asia: molecular characterisation and potential mechanisms of occurrence. *Gut* 2012; Jan 20. [Epub ahead of print]
- 40 Arababadi MK, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, Hassanshahi G, Salehi M, Ahmadabadi BN, Kennedy D. Hepatitis B virus genotype, HBsAg mutations and co-infection with HCV in occult HBV infection. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 554-559
- 41 Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 1991; 13: 627-631
- 42 Liu J, Yang HI, Lee MH, Lu SN, Jen CL, Wang LY, You SL, Iloeje UH, Chen CJ. Incidence and determinants of spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance: a community-based follow-up study. *Gastroenterology* 2010; 139: 474-482
- 43 Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123: 1848-1856
- 44 Yuen MF, Wong DK, Sablon E, Tse E, Ng IO, Yuan HJ, Siu CW, Sander TJ, Bourne EJ, Hall JG, Condeay LD, Lai CL. HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B in the Chinese: virological, histological, and clinical aspects. *Hepatology* 2004; 39: 1694-1701
- 45 Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, Su TH, Wang CC, Chen CL, Kuo SF, Liu CH, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Determinants of spontaneous surface antigen loss in hepatitis B e antigen-negative patients with a low viral load. *Hepatology* 2012; 55: 68-76
- 46 Merican I, Guan R, Amarapuka D, Alexander MJ, Chutaputti A, Chien RN, Hasnain SS, Leung N, Lesmana L, Phiet PH, Sjalfoellah Noer HM, Sollano J, Sun HS, Xu DZ. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1356-1361
- 47 Yin JH, Zhao J, Zhang HW, Xie JX, Li WP, Xu GZ, Shen J, Dong HJ, Zhang J, Wang L, Han JK, Wang HY, Cao GW. HBV genotype C is independently associated with cirrhosis in community-based population. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 379-383
- 48 Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, Wang LY, Lu SN, You SL, Chen DS, Liaw YF, Chen CJ. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1134-1143
- 49 Yin J, Zhang H, He Y, Xie J, Liu S, Chang W, Tan X, Gu C, Lu W, Wang H, Bi S, Cui F, Liang X, Schaefer S, Cao G. Distribution and hepatocellular carcinoma-related viral properties of hepatitis B virus genotypes in Mainland China: a community-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 777-786
- 50 Han YF, Zhao J, Ma LY, Yin JH, Chang WJ, Zhang HW, Cao GW. Factors predicting occurrence and prognosis of hepatitis-B-virus-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4258-4270
- 51 Liang TJ, Mok KT, Liu SI, Huang SF, Chou NH, Tsai CC, Chen IS, Yeh MH, Chen YC, Wang BW. Hepatitis B genotype C correlated with poor surgical outcomes for hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 580-586
- 52 Kew MC, Kramvis A, Yu MC, Arakawa K, Hodgkinson J. Increased hepatocarcinogenic potential of hepatitis B virus genotype A in Bantu-speaking sub-saharan Africans. *J Med Virol* 2005; 75: 513-521
- 53 Viana R, Wang R, Yu MC, Welschinger R, Chen CY, Kew MC. Hepatitis B viral loads in southern African Blacks with hepatocellular carcinoma. *J Med Virol* 2009; 81: 1525-1530
- 54 Kew MC. Hepatocellular carcinoma in African Blacks: Recent progress in etiology and pathogenesis. *World J Hepatol* 2010; 2: 65-73
- 55 Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus

- infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathol Biol* (Paris) 2010; 58: 273-277
- 56 Thakur V, Gupta RC, Kazim SN, Malhotra V, Sarin SK. Profile, spectrum and significance of HBV genotypes in chronic liver disease patients in the Indian subcontinent. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 165-170
- 57 Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, Bulkow LR, Hurlburt KJ, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, Williams JL, Chulanov VP. Hepatitis B virus genotypes in Alaska Native people with hepatocellular carcinoma: preponderance of genotype F. *J Infect Dis* 2007; 195: 5-11
- 58 Yuen MF, Lai CL. Treatment of chronic hepatitis B: Evolution over two decades. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 138-143
- 59 Raimondi S, Maisonneuve P, Bruno S, Mondelli MU. Is response to antiviral treatment influenced by hepatitis B virus genotype? *J Hepatol* 2010; 52: 441-449
- 60 Suzuki F, Arase Y, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Seko Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Long-term efficacy of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection in Japan. *J Gastroenterol* 2012; Feb 24. [Epub ahead of print]
- 61 Erhardt A, Göbel T, Ludwig A, Lau GK, Marcellin P, van Bömmel F, Heinzl-Pleines U, Adams O, Häussinger D. Response to antiviral treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes E-H. *J Med Virol* 2009; 81: 1716-1720
- 62 Tujios SR, Lee WM. New advances in chronic hepatitis B. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 193-197
- 63 Mello FC, Fernandes CA, Gomes Sde A. Antiviral therapy against chronic hepatitis B in Brazil: high rates of lamivudine resistance mutations and correlation with HBV genotypes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012; 107: 317-325
- 64 Hsieh TH, Tseng TC, Liu CJ, Lai MY, Chen PJ, Hsieh HL, Chen DS, Kao JH. Hepatitis B virus genotype B has an earlier emergence of lamivudine resistance than genotype C. *Antivir Ther* 2009; 14: 1157-1163
- 65 Epstein IR, Eigen M. Selection and self-organization of self-reproducing macromolecules under the constraint of constant flux. *Biophys Chem* 1979; 10: 153-160
- 66 Blum HE. Hepatitis B virus: significance of naturally occurring mutants. *Intervirology* 1993; 35: 40-50
- 67 娄国强. HBV准种单位—超感染模式的探索与研究. *医学研究杂志* 2006; 35: 6-7, 17
- 68 董菁, 成军, 王勤环, 刘友昭, 王刚, 施双双, 夏小兵, 邵清, 斯崇文. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒准种特点的初步研究. *中华内科杂志* 2000; 39: 838-839
- 69 陈恩强, 雷秉钧, 唐红. 乙型肝炎病毒准种的临床应用及其研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1086-1091
- 70 王琦, 成军. HBV准种的研究进展. *诊断学* 2008; 7: 93-95
- 71 吴伟, 李兰娟, 陈瑜, 李君, 钱香, 程东庆. 重型乙型肝炎患者血清乙型肝炎病毒全基因克隆及测序. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 734-737
- 72 Zhang D, Ma S, Zhang X, Zhao H, Ding H, Zeng C. Prevalent HBV point mutations and mutation combinations at BCP/preC region and their association with liver disease progression. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 271
- 73 Bruni R, Prosperi M, Marcantonio C, Amadori A, Villano U, Tritarelli E, Lo Presti A, Ciccozzi M, Ciccaglione AR. A computational approach to identify point mutations associated with occult hepatitis B: significant mutations affect coding regions but not regulative elements of HBV. *Virol J* 2011; 8: 394
- 74 刘映霞, 胡国龄, 谭德明. 乙型肝炎病毒S区准种与疾病活动性的关系. *中华传染病杂志* 2002; 20: 282-286
- 75 刘霖, 王宇明, 兰林, 李俊刚, 邓国宏, 夏杰, 赵学兰, 张绪清. 慢性乙型肝炎急性发作患者血清病毒准种动力学研究. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 29-32
- 76 Osiowy C, Giles E, Tanaka Y, Mizokami M, Minuk GY. Molecular evolution of hepatitis B virus over 25 years. *J Virol* 2006; 80: 10307-10314
- 77 赫兢, 辛绍杰, 杨静, 沈宏辉, 胡燕, 侯俊, 貌盼勇. 急性乙型肝炎患者血清中乙型肝炎病毒序列的研究. *中国卫生检验杂志* 2007; 17: 2242-2243, 2297
- 78 黄维金, 周诚, 王佑春, 张华远, 吴星, 梁争论, 李河民. 乙型肝炎病毒中国流行株B、C、D/C及A基因型的全基因克隆与序列分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2978-2983
- 79 Zhu Y, Curtis M, Snow-Lampart A, Yang H, Delaney W, Miller MD, Borroto-Esoda K. In vitro drug susceptibility analysis of hepatitis B virus clinical quasispecies populations. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3335-3341
- 80 Sheldon J, Soriano V. Hepatitis B virus escape mutants induced by antiviral therapy. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 766-768
- 81 Wang YZ, Xiao JH, Liu LG, Ye CY, Shen HY, Xu TM, Zhu KZ. Simultaneous detection of hepatitis B virus genotypes and mutations associated with resistance to lamivudine, adefovir, and telbivudine by the polymerase chain reaction-ligase detection reaction. *Braz J Infect Dis* 2011; 15: 560-566
- 82 Dupouey J, Gerolami R, Solas C, Colson P. Hepatitis B virus variant with the a194t substitution within reverse transcriptase before and under adefovir and tenofovir therapy. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: e26-e28
- 83 Nishijima N, Marusawa H, Ueda Y, Takahashi K, Nasu A, Osaki Y, Kou T, Yazumi S, Fujiwara T, Tsuchiya S, Shimizu K, Uemoto S, Chiba T. Dynamics of hepatitis B virus quasispecies in association with nucleos(t)ide analogue treatment determined by ultra-deep sequencing. *PLoS One* 2012; 7: e35052
- 84 兰林, 王宇明. 乙型肝炎病毒准种异质性对干扰素应答性的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 169-172
- 85 Lu JJ, Chen EQ, Yang JH, Zhou TY, Liu L, Tang H. A mutation in the interferon regulatory element of HBV may influence the response of interferon treatment in chronic hepatitis B patients. *Virol J* 2012; 9: 10
- 86 Margeridon-Thermet S, Shulman NS, Ahmed A, Shahriar R, Liu T, Wang C, Holmes SP, Babrzadeh F, Gharizadeh B, Hanczaruk B, Simen BB, Egholm M, Shafer RW. Ultra-deep pyrosequencing of hepatitis B virus quasispecies from nucleoside and nucleotide reverse-transcriptase inhibitor (NRTI)-treated patients and NRTI-naïve patients. *J Infect Dis* 2009; 199: 1275-1285
- 87 Panjaworayan N, Brown CM. Effects of HBV Genetic Variability on RNAi Strategies. *Hepat Res Treat* 2011; 2011: 367908

# SB431542对HSC T6细胞Smad4蛋白细胞内转位及表达的影响

刘芳, 刘浩, 宋丽秀, 陈卫刚, 黎永军, 郑勇

刘芳, 刘浩, 宋丽秀, 陈卫刚, 黎永军, 郑勇, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市832002

刘芳, 在读硕士, 住院医师, 主要从事肝硬化门脉高压方面的研究. 作者贡献分布: 本课题由刘芳、陈卫刚及郑勇设计; 研究过程由刘芳与刘浩完成; 研究所用试剂由陈卫刚与郑勇提供; 数据分析由刘芳、宋丽秀及黎永军完成; 本论文写作由刘芳、郑勇及陈卫刚完成.

通讯作者: 郑勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路32小区, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科. zy2850@126.com

电话: 0993-2859284

收稿日期: 2012-03-13 修回日期: 2012-05-07

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-06-28

## SB431542 alters the expression and intracellular translocation of Smad4 protein in HSC-T6 cells

Fang Liu, Hao Liu, Li-Xiu Song, Wei-Gang Chen, Yong-Jun Li, Yong Zheng

Fang Liu, Hao Liu, Li-Xiu Song, Wei-Gang Chen, Yong-Jun Li, Yong Zheng, Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com

Received: 2012-03-13 Revised: 2012-05-07

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression and intracellular translocation of Smad4 protein in HSC-T6 cells treated with SB431542.

**METHODS:** Adherent HSC-T6 cells were incubated with SB431542 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) for two hours, and the intracellular translocation of Smad4 protein was observed by immunofluorescence using a Laser scanning confocal microscope. Another part of HSC-T6 cells were randomly divided into three groups: a normal control group and two SB431542 treatment groups (treated with 1 and 10  $\mu\text{mol/L}$  of SB431542, respectively). After

incubation with SB431542 for 24 hours, cytoplasmic protein and nuclear protein were extracted and detected by Western blot.

**RESULTS:** Intracellular translocation of Smad4 protein did not occur when the cells were incubated with 10  $\mu\text{mol/L}$  of SB431542 for two hours. Compared to the control group, the expression of Smad4 protein in the cytoplasm increased and that in the nucleus decreased after treatment with SB431542 for 24 h, and the effects were dose-dependent.

**CONCLUSION:** SB431542 blocks the TGF $\beta$ 1/Smads signaling pathway by inhibiting Smad4 nuclear translocation in HSC-T6 cells.

**Key Words:** SB431542; Hepatic stellate cells; Smad4

Liu F, Liu H, Song LX, Chen WG, Li YJ, Zheng Y. SB431542 alters the expression and intracellular translocation of Smad4 protein in HSC-T6 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1653-1656

## 摘要

**目的:** 探讨SB431542对肝星状细胞T6(HSC T6) Smad4蛋白细胞内转位及表达的影响.

**方法:** HSC T6细胞贴壁后, 在细胞培养瓶中加入SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 培养2 h, 用免疫荧光法结合激光共聚焦显微镜观察细胞内Smad4蛋白细胞内转位. 将HSC T6细胞分成3组: 空白对照组、SB431542 1  $\mu\text{mol/L}$ 组、SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 组, 培养24 h后分别提取细胞浆蛋白及核蛋白, 以Western blot法检测Smad4蛋白表达水平变化.

**结果:** SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 作用2 h后, 未出现Smad4蛋白向细胞核内转位. HSC T6细胞贴壁后被SB431542 1  $\mu\text{mol/L}$ 、SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 作用24 h后, 细胞浆内Smad4蛋白表达量较空白对照组减少, 呈剂量依赖型; 而细胞核内Smad4蛋白表达量较空白对照组增多.

## ■背景资料

活化的肝星状细胞(HSC)在肝纤维化过程中起关键作用, 是肝纤维化的细胞学基础. TGF- $\beta$ 1作为肝纤维化最关键的细胞因子, 以其为靶目标的抗纤维化治疗仍是当今的研究特点.

## ■同行评议者

吴君, 主任医师, 贵阳医学院附属医院感染科

## ■研发前沿

TGF- $\beta$ 1与单次跨膜蛋白激酶受体I和II的结合并活化,是TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路的开端。研究开发能抑制TRBI和TRBII活化的药物是阻断TGF- $\beta$ 1/Smad通路的研究特点之一。

**结论:** SB431542通过抑制大鼠HSC活化过程中Smad4蛋白在细胞内的核转位,可起到阻断TGF- $\beta$ 1/Smad通路的细胞内信号转导的作用。

**关键词:** SB431542; 大鼠肝星状细胞; Smad4蛋白

刘芳, 刘浩, 宋丽秀, 陈卫刚, 黎永军, 郑勇. SB431542对HSC T6细胞Smad4蛋白细胞内转位及表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1653-1656

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1653.asp>

## 0 引言

肝纤维化的发生是由于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失衡造成的。ECM主要来源于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), HSC激活是肝纤维化形成的关键<sup>[1]</sup>。目前已证实转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)在HSC激活过程中起着关键调节作用, Smads蛋白为TGF- $\beta$ 家族的特异性细胞内信号转导分子。TGF- $\beta$ 1/Smad信号转导在ECM表达调节中的作用是研究肝纤维化的热点<sup>[2]</sup>。已知的一种小分子物质(SB431542)是TGF- $\beta$ 1 I型受体的特异性阻断剂<sup>[3]</sup>。本研究拟通过观察Smad4蛋白在肝星状细胞系HSC T6细胞内的转位及细胞浆、细胞核内蛋白量的变化情况,初步验证SB431542可能通过阻断Smad4蛋白在细胞内的转位及表达量的变化发挥抑制HSC T6细胞活化的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝星状细胞HSC T6细胞株购自中南大学湘雅中心实验室; 胎牛血清、DMEM(高糖)培养基、胰蛋白酶-EDTA、PBS缓冲液购自美国Hyclone公司; SB431542(S4317)购自美国Sigma公司; Smad4蛋白(SC-7966)一抗为美国Santa Cruz北京中杉金桥生物技术有限公司进口分装。

### 1.2 方法

**1.2.1 HSC T6细胞培养:** HSC T6选用100 mL/L FBS DMEM(高糖)培养液,按 $2 \times 10^5$ 个/mL接种,37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>中培养,8 h常规贴壁,24 h换液,2-3 d后细胞铺满瓶底70%-90%传代,传至细胞生长活跃,传代周期稳定即可用于实验。

**1.2.2 激光共聚焦显微镜观察细胞内Smad4蛋白细胞内转位:** 在培养皿中放入20 mm×20 mm盖玻片, HSC T6以 $2 \times 10^5$ 个/mL接种,8 h贴壁后,分2组处理: 空白对照组、SB431542 10  $\mu$ mol/L组。分别继续培养2 h,以4%多聚甲醛进行细胞

固定,蒸馏水冲洗后,山羊血清封闭,滴加一抗Smad4(1:200),湿盒内4℃过夜(>8 h),滴加荧光二抗(Smad4 FITC 1:50),湿盒内室温孵育2 h,含50%甘油的PBS封片,激光共聚焦显微镜下观察。  
**1.2.3 Western blot法检测Smad4蛋白表达水平变化:** 以 $2 \times 10^5$ /mL的浓度将HSC T6细胞接种到培养瓶中,8 h后细胞贴壁。分3组: 空白对照组、SB431542 1  $\mu$ mol/L组、SB431542 10  $\mu$ mol/L组,培养24 h后分别提取细胞浆蛋白及核蛋白。统一蛋白浓度为1 g/L,蛋白变性后待用。每孔每次加样20  $\mu$ L,在SDS-PAGE凝胶中电泳分离,Mark位置标记,湿转法将蛋白从凝胶中转至PVDF膜上,室温下5%脱脂奶粉封闭2 h,加Smad4(1:200)一抗,室温下孵育2 h后转至4℃冰箱过夜。TBST洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温下孵育90 min, TBST洗膜后加入化学发光试剂曝光,显影、定影后将胶片置于凝胶成像分析进行定量分析。用同样的方法检测 $\beta$ -actin内参蛋白的表达。

**统计学处理** 结果以mean $\pm$ SD表示,不同浓度的SB431542对HSC T6细胞Smad4蛋白表达的影响采用单因素方差分析,用SPSS17.0统计软件进行分析。

## 2 结果

**2.1 免疫荧光观察细胞内Smad4蛋白细胞内转位** 经免疫荧光FITC标记, Smad4蛋白呈绿色,空白对照组Smad4主要定位于细胞核内,发生转位; SB431542 10  $\mu$ mol/L作用组Smad4定位于细胞浆内,未出现转位,即TGF- $\beta$ 1/Smads的细胞内信号转导中断(图1)。说明10  $\mu$ mol/L SB431542可抑制HSC T6活化过程中Smad4由胞浆向胞核的正常转位。

**2.2 Western blot法检测Smad4蛋白表达水平与正常对照组比较,** SB431542 1  $\mu$ mol/L组及SB431542 10  $\mu$ mol/L组均能够增强细胞浆内的Smad4蛋白的表达( $P<0.05$ ); 同时随SB431542剂量的增加,胞浆内Smad4的表达增强( $P<0.05$ )。细胞核内的Smad4蛋白的表达趋势与浆内相反,与对照组相比, SB431542作用组均可减少Smad 4的表达( $P<0.05$ ),随剂量增大,胞核内Smad 4的表达量减少( $P<0.05$ ,图2)。

## 3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病的共同病理过程,最终可发展成肝硬化,引起肝功能衰竭,导致死亡。

## ■相关报道

赵彩彦等人报道应用SB431542阻止人肝星状细胞活化过程中TGF- $\beta$ 1介导的Smad3磷酸化,可抑制Smad3调控基因的表达,并呈一种剂量依赖的方式阻断TGF- $\beta$ 1诱导的ECM基因表达和Smad3磷酸化。

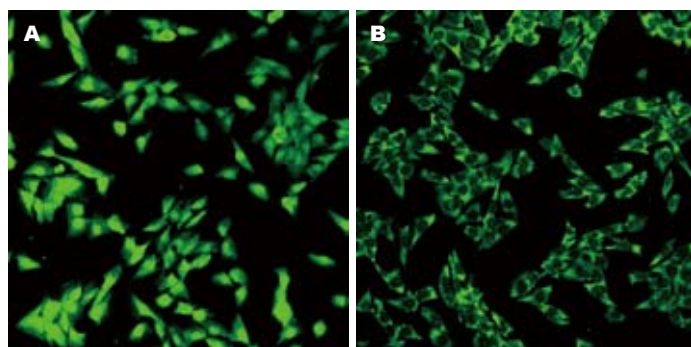


图1 HSC T6细胞中SB431542作用后Smad4蛋白的细胞内定位( $\times 200$ )。A: Smad4空白对照组; B: Smad4 SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 。

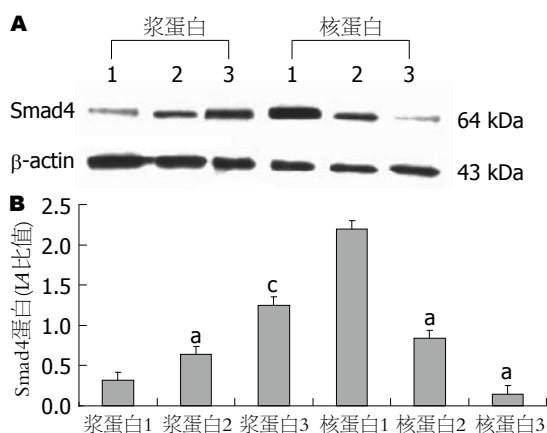


图2 不同浓度的SB431542对HSC T6细胞Smad4蛋白表达的影响。A: Western blot; B: Smad4蛋白表达柱状图。1: 空白对照组; 2: SB431542 1  $\mu\text{mol/L}$ ; 3: SB431542 10  $\mu\text{mol/L}$ 。<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 1组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 2组。

因此, 肝纤维化能否逆转、可以逆转的阶段及其逆转机制一直是研究的特点。HSC活化是肝纤维化的核心环节。HSC是肝内胶原及其他ECM的主要来源。在肝脏受损伤时, 由于炎症和细胞因子的作用, 处于静止状态的HSC被激活, 进而分泌大量的ECM, 并表达 $\alpha$ -平滑肌激动蛋白、I型胶原、III型胶原和金属蛋白酶组织抑制剂-1等促纤维化因子, 对肝纤维化的发生和发展起着重要的作用。这些细胞因子有TGF- $\beta$ 、结缔组织生长因子、血小板衍生生长因子、内皮素等。TGF- $\beta$ 1在此过程中起重要作用, 是促活HSC并促进其表达ECM的关键因子<sup>[4]</sup>。

目前认为, TGF- $\beta$ 1发挥作用首先要与细胞膜表面的II型和I型丝氨酸/苏氨酸激酶受体形成异四聚复合体。在这个复合体中, II型受体是组成性的自动磷酸化组分, 他将I型受体的GS结构域磷酸化<sup>[5]</sup>。Smad蛋白是目前所知唯一的I型受体胞内底物, 介导TGF- $\beta$ 1的胞内信号转导, 是TGF- $\beta$ 家族信号从受体到核的细胞内转导分子<sup>[6]</sup>。Smads蛋白目前已知至少有9种蛋白, 分为3类: 受体依赖性Smad蛋白(R-Smad: Smad1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8、Smad9), 介

质性Smad蛋白(Co-Smad: Smad4), 抑制性Smad蛋白(I-Smad: Smad6、Smad7)。有研究证实, Smad2和Smad3通过SARA(smad anchor for receptor activation)结合到活化的I型受体, 在其C-末端磷酸化后与I型受体解离, 并与Smad4形成异聚复合体转入核内, 调节靶基因的表达。故Smad4蛋白在信号传输途径中处于中枢地位, Smad4与活化的R-Smad结合形成复合物正常转入细胞核内是TGF- $\beta$ 1介导的HSC活化, 促进ECM沉积的关键环节<sup>[7]</sup>。在HSC活化过程中, 抑制Smad4的表达可显著降低细胞培养上清液中III型胶原的含量。李萍等<sup>[8]</sup>通过实验提出调整Smad4分子的表达水平有望成为临床上防止肝纤维化的一个有效途径。

活化素激酶样受体(activin receptor-like kinase, ALK)是TGF- $\beta$ 1的关键膜受体, TGF- $\beta$ 1与ALK的结合调控着该条生物信号通路的正常传导。SB431542是一种TGF- $\beta$ 1超家族I型受体ALK4、ALK5和ALK7的特异性阻断剂<sup>[3,9]</sup>。已有研究结果显示, SB431542可通过阻断TGF- $\beta$ 1与I型受体的结合, 改善TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路介导产生的炎症、纤维化、肿瘤等多种生物学效应。Xiao等<sup>[10]</sup>认为, SB431543可抑制手术后皮肤瘢痕纤维组织的形成; Waghbi等<sup>[11]</sup>提出, SB431542作为TGF- $\beta$ I型受体ALK5的特异性阻断剂, 通过阻断TGF- $\beta$ 通路可抑制南美地区心肌细胞锥虫感染周期性信号通路的传导; Mark论证了SB431542可抑制TGF- $\beta$ 通路介导的人体胶质瘤细胞的增殖作用<sup>[12]</sup>。Halder等<sup>[13]</sup>证实了SB431542可通过抑制TGF- $\beta$ 诱导的肿瘤细胞的基因及蛋白表达, 促进了肿瘤细胞的凋亡。Segawa等<sup>[14]</sup>利用SB431542特异性阻断ALK5的作用, 减弱了TGF- $\beta$ 抑制白介素对肺间质纤维化疾病的作用。Liu等<sup>[15]</sup>还论证了SB431542通过阻止TGF- $\beta$ R1介导的Smad3磷酸化、抑制Smad3调控基因的表达, 进一步证明了SB431542对Smad4上游蛋白亦起到了相同作用。在人HSC活

#### ■创新盘点

本研究从胞内信号转导层面, 运用分子生物学技术论证TRBI受体阻断剂对TGF- $\beta$ 1/Smad通路转导中枢纽物质Smad4核转位的影响, 进一步证实了此类受体阻断剂改善TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路介导产生的炎症、纤维化、肿瘤等多种生物学效应的作用。



# 同行评价

本研究旨在阐明TGF- $\beta$ 1受体阻断剂可改善TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路介导产生的炎症、纤维化、肿瘤等多种生物学效应,实验数据客观,有一定的学术价值。

化过程中发现,SB431542可阻止TGF- $\beta$ 1介导的Smad3磷酸化,抑制Smad3调控基因的表达,并呈一种剂量依赖的方式阻断TGF- $\beta$ 1诱导的ECM基因表达和Smad3磷酸化<sup>[16]</sup>。

本实验通过加用SB431542作用于大鼠HSC的活化过程,利用共聚焦显微镜观察Smad4蛋白在细胞内的转位情况,发现经SB431542作用后的HSC、Smad4未能正常转位进入细胞核,说明SB431542通过阻断TGF- $\beta$ 1与I型受体的结合未能正常形成异四聚复合体,而异四聚复合体不能继续与胞内底物Smad2、Smad3结合使其磷酸化后再结合Smad4形成异聚复合体跨核膜进入核内调节靶基因的表达。分别提取SB431542作用后的HSC细胞浆与细胞核蛋白,测定Smad4蛋白表达量,结果显示,SB431542作用后的HSC细胞浆内Smad4蛋白较正常活化的浆Smad4蛋白含量表达增高;同时细胞核内的Smad4蛋白表达情况较浆Smad4趋势相反。说明SB431542可通过阻断Smad4复合物的正常转位,抑制TGF- $\beta$ 1/Smads通路的传导,并且其抑制作用随SB431542浓度的增加而增强。I型受体活化是TGF- $\beta$ 1信号转导的起点,也是最关键的一步,SB431542阻断TGF- $\beta$ 1/Smad的上游信号通路,引起有活性的TGF- $\beta$ 1未能与I型受体胞内特异性激酶Smads蛋白结合,不能正常形成Smad4蛋白异聚复合体进入细胞核,从而影响了TGF- $\beta$ 1信号从胞浆向胞核的转位聚集。

SB431542是一种小分子水合物,可阻断TGF- $\beta$ 1与I型受体ALK4、ALK5和ALK7的结合,在一定程度上减少了TGF- $\beta$ 1的信号传导。SB431542已在多个脏器TGF- $\beta$ 1介导的抗纤维化及肿瘤发生方面显示了其优势作用,但其应用于临床还有待进一步研究。本研究结果论证了SB431542在大鼠HSC细胞活化过程中,可阻断TGF- $\beta$ 1信号通路中具有中枢地位的Smad4复合物的核转位过程,为SB431542可能成为阻断TGF- $\beta$ 1信号传导的药物,发挥减轻HSC的活化,抑制并减缓肝纤维化的作用提供一定的实验依据。

## 参考文献

- 1 韦燕飞, 彭岳, 谢海源, 赵铁建. 基于肝星状细胞分子机制的抗肝纤维化研究进展. 世界华人消化杂志 2009;

- 17: 1745-1748
- 2 党双锁, 李亚平. TGF- $\beta$ 1在肝纤维化研究中的新进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1631-1636
- 3 Inman GJ, Nicolás FJ, Callahan JF, Harling JD, Gaster LM, Reith AD, Laping NJ, Hill CS. SB-431542 is a potent and specific inhibitor of transforming growth factor-beta superfamily type I activin receptor-like kinase (ALK) receptors ALK4, ALK5, and ALK7. *Mol Pharmacol* 2002; 62: 65-74
- 4 李晶, 殷正丰. 活化型肝星状细胞清除机制及其相关抗肝纤维化策略. 第二军医大学学报 2010; 31: 1017-1019
- 5 Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 46-53
- 6 曾惠芬, 王庆文. 转化生长因子- $\beta$ 及其Smad信号转导的研究进展. 中国药物与临床 2010; 10: 1145-1147
- 7 Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700
- 8 李萍, 陆伟, 曹武奎, 杨积明, 梁树人, 戴晨阳, 李秀梅, 徐健. Smad4特异性小干扰RNA对活化的肝星状细胞作用的实验研究. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 784-785
- 9 Liu X, Hu H, Yin JQ. Therapeutic strategies against TGF-beta signaling pathway in hepatic fibrosis. *Liver Int* 2006; 26: 8-22
- 10 Xiao YQ, Liu K, Shen JF, Xu GT, Ye W. SB-431542 inhibition of scar formation after filtration surgery and its potential mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 1698-1706
- 11 Waghbi MC, Keramidas M, Calvet CM, Meuser M, de Nazaré C Soeiro M, Mendonça-Lima L, Araújo-Jorge TC, Feige JJ, Bailly S. SB-431542, a transforming growth factor beta inhibitor, impairs Trypanosoma cruzi infection in cardiomyocytes and parasite cycle completion. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2905-2910
- 12 Hjelmeland MD, Hjelmeland AB, Sathornsumetee S, Reese ED, Herbstreith MH, Laping NJ, Friedman HS, Bigner DD, Wang XF, Rich JN. SB-431542, a small molecule transforming growth factor-beta-receptor antagonist, inhibits human glioma cell line proliferation and motility. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 737-745
- 13 Halder SK, Beauchamp RD, Datta PK. A specific inhibitor of TGF-beta receptor kinase, SB-431542, as a potent antitumor agent for human cancers. *Neoplasia* 2005; 7: 509-521
- 14 Segawa S, Goto D, Yoshiga Y, Sugihara M, Hayashi T, Chino Y, Matsumoto I, Ito S, Sumida T. Inhibition of transforming growth factor-beta signalling attenuates interleukin (IL)-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease in mice. *Clin Exp Immunol* 2010; 160: 394-402
- 15 Liu XJ, Ruan CM, Gong XF, Li XZ, Wang HL, Wang MW, Yin JQ. Antagonism of transforming growth factor-Beta signaling inhibits fibrosis-related genes. *Biotechnol Lett* 2005; 27: 1609-1615
- 16 赵彩彦, 周俊英, 杨柳, 王亚东. Ciglitazone抑制人肝星状细胞外基质蛋白表达的分子机制. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 840-844

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

# 藤梨根提取物对大肠癌LoVo细胞增殖的抑制作用及诱导凋亡的影响

陈永杰, 史仁杰

陈永杰, 南京中医药大学 江苏省南京市 210046  
史仁杰, 江苏省中医院肛肠科 江苏省南京市 210029  
陈永杰, 博士, 主要从事中医药治疗肛肠疾病的研究。  
江苏省2011年度研究生创新计划立项基金资助项目, No. CXZ Z11\_0769

作者贡献分布: 此课题由陈永杰与史仁杰设计; 研究过程由陈永杰操作完成; 数据分析由陈永杰与史仁杰完成; 本论文写作由陈永杰完成, 史仁杰负责审核。

通讯作者: 史仁杰, 主任医师, 博士生导师, 210029, 江苏省南京市, 江苏省中医院肛肠科. shirenjiectm@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-04-18 修回日期: 2012-04-29

接受日期: 2012-05-31 在线出版日期: 2012-06-28

## Ethanol extract from radix of *Actinidia chinensis* inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colon carcinoma cell line LoVo

Yong-Jie Chen, Ren-Jie Shi

Yong-Jie Chen, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Ren-Jie Shi, Department of Coloproctology, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the 2011 Graduate Innovation Program of Jiangsu Province, No. CXZZ11\_0769

Correspondence to: Shi-Ren Jie, Chief Physician, Department of Coloproctology, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. shirenjiectm@yahoo.com.cn

Received: 2012-04-18 Revised: 2012-04-29

Accepted: 2012-05-31 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To explore the regulatory effect of ethanol extract from radix of *Actinidia chinensis* (EERAC) on cell proliferation and apoptosis in human colon carcinoma cell line LoVo.

**METHODS:** LoVo cells were divided into four treatment groups (10, 40, 160, 320 mg/L EERAC) and blank control group. After treatment for different durations, the morphological alterations of LoVo cells were observed by inverse microscopy and AO/EB fluorescent staining, cell proliferation was detected by MTT assay, and the expression of apoptosis-related proteins Bcl-2, Bax and Cas-

pase-3 was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Compared to the control group, EERAC treatment reduced cell density, slowed down cell growth, gradually increased cell size, and resulted in an increase in the number of particles in the cytoplasm and the occurrence of cell detachment. Fluorescence staining showed that treated cells emitted an orange-red fluorescence and showed typical apoptotic features such as nuclear fragmentation and pyknotic nuclei. Apoptosis was positively correlated with EERAC concentrations. MTT assay showed that the optimal duration of action was 72 h in EERAC treatment group, and the maximal inhibition rate was 79.48%. The inhibitory effect was concentration- and time-dependent. ICH results showed that the expression of Bcl-2 and the ratio of Bcl-2/Bax were obviously decreased, while the expression levels of Bax and Caspase-3 were significantly increased after treatment for 24 h ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** EERAC can significantly inhibit LoVo cell proliferation possibly via mechanisms associated with decreasing Bcl-2 expression and increasing Bax and Caspase-3 expression.

**Key Words:** Ethanol extract from radix of *actinidia chinensis*; LoVo cells; Morphology; Cell proliferation; Apoptosis

Chen YJ, Shi RJ. Ethanol extract from radix of *Actinidia chinensis* inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colon carcinoma cell line LoVo. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1657-1661

## 摘要

**目的:** 研究藤梨根提取物(ethanol extract from radix of *actinidia chinensis*, EERAC)对人大肠癌LoVo细胞增殖和凋亡的影响。

**方法:** 提取藤梨根抗癌有效活性成分(EERAC), 按浓度分为4处理组(10、40、160、320 mg/L)和空白对照组(0 mg/L)。各实验组经作用24、48、72 h后, 进行一般形态学和AO/EB荧光

## ■背景资料

大肠癌是最常见的消化系统肿瘤之一, 对人类健康的威胁性极大, 中药藤梨根是大肠癌术后常用的有效药物, 其抗癌的机制尚未完全明确; Bcl-2, Bax, Caspase-3属调控肿瘤增殖与凋亡的重要调控基因, 可在一定程度上反应抗肿瘤药物的内在机制。

## ■同行评议者

徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东)肝二科

## ■ 研发前沿

肛肠科常用中药藤梨根,经临床实践证明,有着较好的抗肿瘤作用,其疗效确切,越来越受到人们关注,藤梨根抗肿瘤的化学成分和药理作用虽已有初步的研究,但其有效部位、作用机制缺乏系统的药理跟踪研究。

染色观察; MMT法检测细胞增殖的抑制情况; 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)法测定LoVo细胞中凋亡相关基因Bcl-2、Bax、Caspase-3的蛋白表达变化。

**结果:**与空白对照组比较,一般形态学显示EERAC处理组能使细胞密度减低,增殖变慢; 细胞逐渐变大,细胞间接触变松,胞浆中颗粒增多,细胞脱壁现象和周围碎片增多; 荧光染色观察可见处理组细胞呈橙红色荧光,细胞核出现碎片状或固缩状的凋亡特征学形态改变,凋亡现象与EERAC的浓度呈正相关性; MTT法检测显示, EERAC处理组对LoVo细胞的最佳作用时间为72 h, 最大抑制率为79.48%, 具有浓度和时间的依赖性( $P < 0.01$ ); IHC检测结果显示EERAC作用LoVo细胞24 h后, Bcl-2表达明显减弱, Bax、Caspase-3表达水平明显增高, Bcl-2/Bax比值下降, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 其效应与浓度相关。

**结论:**EERAC具有明显抑制LoVo细胞增殖的作用, 其机制可能与降低Bcl-2表达, 上调Bax、Caspase-3的表达水平, 激活线粒体凋亡途径有关。

**关键词:**藤梨根提取物; LoVo细胞; 形态学; 细胞增殖; 凋亡

陈永杰, 史仁杰. 藤梨根提取物对大肠癌LoVo细胞增殖的抑制作用及诱导凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1657-1661

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1657.asp>

## 0 引言

中药藤梨根味咸、酸、涩, 性凉, 无毒, 具有清热解毒、祛风除湿、利尿止血的功效, 在中医“癌毒”<sup>[1]</sup>和“湿热致病”学说的指导下, 常用于治疗各种恶性肿瘤。据临床报道, 朱秀山等<sup>[2]</sup>使用藤梨根为主药的昭黄散, 治疗72例胃癌患者(经诊断不能进行手术), 疗效与5-Fu相当, 能明显提高生存质量和延长生存时间, 不良反应明显小于西药对照组。田林等<sup>[3]</sup>应用MTT比色法检测藤梨根乙酸乙酯提取物在不同浓度及不同时间对人食管癌Eca-109细胞生长作用, TUNEL法检测其对癌细胞生长的诱导凋亡效应, 发现藤梨根乙酸乙酯提取物对人食管癌Eca-109细胞的生长抑制作用随着药物浓度的升高和作用时间的延长而增强。藤梨根乙酸乙酯提取物对人食管癌Eca-109细胞具有明显的凋亡效应。基于上述的研究基础, 本实验将观察藤梨

根提取物(ethanol extract from radix of actinidia chinensis, EERAC)对大肠癌LoVo细胞增殖的作用和凋亡相关蛋白的影响, 并探讨其可能的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 藤梨根提取物根据中国科学院化学研究所公布的藤梨根抗癌有效活性成分醇提取工艺(专利公开号: CN1977869A), 由中国药科大学生命科学院实验中心制备; 人大肠癌LoVo细胞株购自中国科学院上海细胞库; 兔抗小鼠多抗(Caspase-3、Bcl-2、Bax抗体稀释度1:80)、生物素标记羊抗兔IgG、胎牛血清、RPMI 1640培养基、0.25%胰酶、DAB显色试剂盒、吖啶橙(AO)、溴乙啶(EB)、MTT、Bcl-2、Bax、Caspase-3抗体(鼠抗人多抗), 生物素IgG、倒置显微镜、24孔/96孔培养板及细胞培养瓶、Elx800多功能酶标仪。

### 1.2 方法

**1.2.1 藤梨根抗癌有效活性成分的制取:**根据专利技术的提取流程进行酒精溶解, 回流提取, 色谱分离, 梯度洗脱, 最后将所得干燥提取物100 g, 用蒸馏水调配成50、100、200 mg/L药物浓度, 分装, 置4℃冰箱备用。

**1.2.2 藤梨根有效活性成分醇提取物的质量控制:**用醋酐浓硫酸反应和泡沫实验加以鉴定, 符合三萜皂苷类反应特征的该次提取物作为本实验用药。

**1.2.3 HPLC(高效液相色谱)指纹图谱鉴定:**采用国际公认的, 能反应中药样品整体化学特征的HPLC-DAD指纹图谱技术, 对10批次的藤梨根样品进行了分析研究。结果显示, HPLC-DAD获得的指纹图谱峰值、趋势一致, 显示本实验使用的中药藤梨根各批次化学成分稳定均一, 具有可重复性。

**1.2.4 EERAC对LoVo细胞形态学的观察:**一般形态学观察: LoVo细胞生长于含100 mL/L新生牛血清RPMI 1640培养液中, 并置37℃恒温、50 mL/L CO<sub>2</sub>及饱和湿度的培养箱中培养。细胞呈单纯贴壁生长。每2-3 d传代1次。取对数生长期的LoVo细胞以0.25%胰蛋白酶消化吹打制成细胞悬液, 按所需浓度接种使用, 用倒置显微镜观察96孔培养板内0、10、40、160、320 mg/L EERAC作用LoVo细胞24 h后, 各培养孔内的细胞形态、结构变化并拍照。AO/EB荧光染色观察: (1)LoVo细胞在100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液中稳定培养24 h, 经倒置显微镜观察,

确认其生长稳定及状态良好; (2)用纯RPMI 1640, 配制成 $5 \times 10^4$ /mL细胞悬液, 滴加入孔板中, 每孔0.1 mL, 每个剂量组设6个复孔, 分别加入终浓度为10、40、160、320 mg/L的EERAC溶液0.1 mL, 滴加时间为24、48、72 h; (3)各时间段, 加入EERAC后的第2天需更换同浓度的培养基1次, 总体积不能超过200  $\mu$ L; (4)在24、48、72 h停止使用EERAC后, 去除培养基, 各实验组加入2  $\mu$ L的AO染液(100 mg/L)及2  $\mu$ L EB染液(100 mg/L), 迅速转入荧光显微镜观察并拍照。

**1.2.5 EERAC对LoVo细胞增殖的抑制作用:** MTT比色法: 先同1.2.4中荧光观察实验, 然后在24、48、72 h停止使用EERAC后, 去除培养基, 加入5 g/L的MTT 20  $\mu$ L, 再返回正常培养条件下培养4 h; 去掉孔内培养液, 加入100  $\mu$ L的DMSO充分振荡10 min, 用酶联免疫检测仪测定测定吸光度(A)值, 激发波长为570 nm。细胞生长抑制率 =  $(1 - \text{实验组}A_{570 \text{ nm}} \text{值} / \text{对照组}A_{570 \text{ nm}} \text{值}) \times 100\%$ 。

**1.2.6 免疫组织化学法测定各组细胞中凋亡相关基因Bcl-2、Bax、Caspase-3的蛋白表达:** 细胞培养、传代同实验1.2.4, 在进行测定前, 用倒置显微镜观察各组培养孔内细胞形态结构的状况, 确认其生长稳定及状态良好后予各浓度的EERAC处理。24 h后进行以下操作: (1)用40 g/L多聚甲醛(PFA)固定细胞分布, 室温搁置20 min, 之后用PBS平衡液洗3遍; (2)0.3%的Triton(溶于PBS)通透细胞, 约室温30 min; (3)PBS平衡液漂洗3次, 每次3 min; (4)用5%羊血清, 置室温下封闭30 min; (5)将Caspase-3、Bcl-2、Bax抗体按1:80稀释, 孵育, 4  $^{\circ}\text{C}$ 放置12 h; (6)PBS浸洗5次, 每次5 min; (7)生物素IgG 37  $^{\circ}\text{C}$ 下孵育, 0.5 h; (8)PBS浸洗5次, 每次5 min; (9)孵育37  $^{\circ}\text{C}$ , 进行SP反应, 0.5 h; (10)PBS浸洗5次, 每次5 min; (11)DAB显色: 3-10 min; (12)苏木素伊红复染、石蜡封装玻片、倒置显微镜下观察; (13)PBS浸洗5次, 每次5 min; 倒置显微镜下观察并拍照; (14)采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统, 计算积分吸光度(I4)值。

**统计学处理** SPSS17.0分析, 数据以mean  $\pm$  SD表示, 计量资料用 $t$ 检验, 计数资料用 $\chi^2$ 检验分析, 多组间比较用方差分析, 百分数用 $U$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 细胞形态学的影响

**2.1.1 一般形态学:** (1)空白对照组细胞生长旺盛, 呈高亮状, 胞体丰满, 在24、48、72 h时间段的

形态变化不大; (2)EERAC组细胞数量随着药物浓度的增加而增殖减慢, 增殖也时间延长, 细胞形态与对照组相比, 逐渐变小并呈灰暗状, 有脱落漂浮现象, 甚至可见到细胞膜破裂; (3)随着EERAC作用时间增长, 浓度增高, 漂浮细胞逐渐增多。ERAC的最高浓度组320 mg/L, 还可见到大量悬浮的细胞碎片。

**2.1.2 荧光染色:** 细胞经EERAC作用24 h后, 进行AO/EB荧光染色, 各处理组均发生典型的细胞凋亡形态学改变, 早期为绿色荧光显现, 细胞核为碎片状、固缩状, 晚期为显示橙红色荧光, 细胞核亦出现碎片状或固缩状。空白组细胞为绿色荧光显现, 形态均匀正常。凋亡现象与EERAC的浓度呈正相关性(图1)。

**2.2 EERAC对LoVo细胞增殖的影响** 不同浓度EERAC作用LoVo细胞24、48、72 h后, 能不同程度地抑制细胞增殖, 其抑制作用与药物浓度和作用时间具有依赖性特点。与空白组对比, EERAC各实验组对LoVo细胞生长抑制率, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ , 表1), 其中以320 mg/L浓度的实验组在72 h时抑制率最高, 达到79.48%。

**2.3 EERAC对LoVo细胞中凋亡相关蛋白的影响** 经作用24 h后, 与对照组相比, EERAC各实验组LoVo细胞内的Bax蛋白水平表达呈上升趋势(除10 mg/L组外, 40 mg/L组 $P < 0.05$ , 160、320 mg/L组均为 $P < 0.01$ ), 而Bcl-2的表达下降( $P < 0.01$ ), Bcl-2/Bax比例下降, Caspase-3表达水平明显升高( $P < 0.01$ ), 且均呈现浓度依赖性, 其中以320 mg/L浓度的变化最为显著( $P < 0.01$ , 表2)。

## 3 讨论

肿瘤的特点就是无限增殖、生长, 一般认为肿瘤细胞是从正常细胞演变而来, 正常细胞转变为恶性肿瘤的过程为癌变。凋亡是一种细胞自主性、程序性的死亡过程, 属于一种类似“细胞自杀”的生命现象, 对于维护人体内环境的稳定和抑制肿瘤的形成和发展具有重要的意义。细胞在凋亡过程中可通过出现特殊的形态学和生物化学特征而被研究者获悉<sup>[4]</sup>。本研究发现EERAC能使LoVo细胞发生细胞变圆, 体积变小, 细胞核固缩, 核内色素沉着的一般形态学改变, 还能在AO/EB荧光染色观察下发现凋亡典型特性显像—橙红色细胞, 随着浓度的增加而越来越多, 表明EERAC具有LoVo细胞凋亡的作用, 诱导且具有时效和量效关系。

MTT法自20世纪60年代末发现以来, 能客

### ■创新盘点

本文从细胞形态学和凋亡相关基因Bcl-2、Bax、Caspase-3的蛋白表达变化, 观察藤梨根提取物(EERAC)在体外实验中对大肠癌LoVo细胞的抑制及诱导凋亡的作用, 并探讨其可能的作用机制。

# ■名词解释

癌毒学说: 中医认为, 癌毒是恶性肿瘤的一个重要致病因素, 其形成与饮食、外感、情志等有关, 皆可导致癌病的发生, 又可作为一个病理产物, 进一步使病邪深重不解。

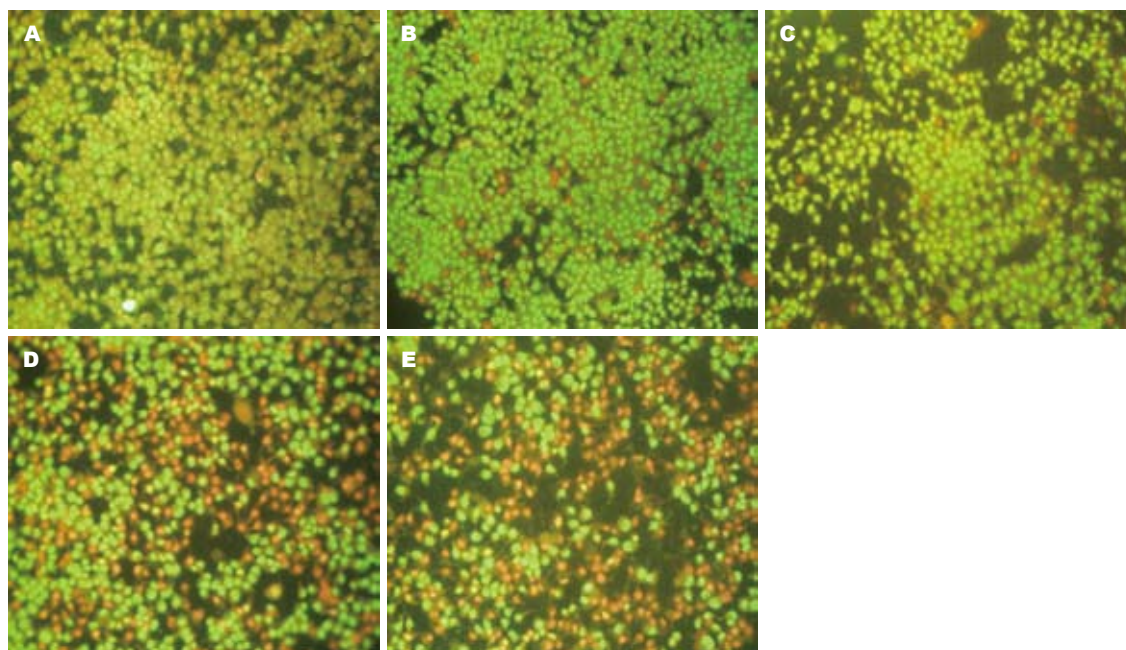


图 1 不同浓度EERAC作用LoVo细胞24 h后AO/EB荧光变化( $\times 100$ ). A: 空白对照组; B: EERAC(10 mg/L)组; C: EERAC(40 mg/L)组; D: EERAC(160 mg/L)组; E: EERAC(320 mg/L)组。

表 1 EERAC对人大肠癌LoVo细胞增殖的影响 ( $n = 6$ , mean  $\pm$  SD)

分组	浓度 (mg/L)	24 h		48 h		72 h	
		A	IR(%)	A	IR(%)	A	IR(%)
EERAC	10	$0.448 \pm 0.001^a$	19.82	$0.598 \pm 0.081^b$	6.25	$0.562 \pm 0.019^b$	23.75
	40	$0.339 \pm 0.021^a$	37.85	$0.235 \pm 0.042^b$	47.35	$0.274 \pm 0.010^b$	63.40
	160	$0.224 \pm 0.027^b$	60.92	$0.241 \pm 0.037^b$	64.84	$0.218 \pm 0.008^b$	70.91
	320	$0.163 \pm 0.081^b$	70.13	$0.142 \pm 0.019^b$	76.86	$0.141 \pm 0.013^b$	79.48
空白对照组	0	$0.532 \pm 0.012$	0	$0.654 \pm 0.087$	0	$0.758 \pm 0.007$	0

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白对照组。

表 2 各组Bcl-2、Bax和Caspase-3吸光度变化 (mean  $\pm$  SD)

分组	浓度(mg/L)	Bcl-2	Bax	Caspase-3
EERAC	10	$0.372 \pm 0.021^b$	$0.326 \pm 0.017$	$0.325 \pm 0.015^b$
	40	$0.334 \pm 0.019^b$	$0.339 \pm 0.025^a$	$0.330 \pm 0.035^b$
	160	$0.312 \pm 0.028^b$	$0.381 \pm 0.042^b$	$0.341 \pm 0.014^b$
	320	$0.308 \pm 0.016^b$	$0.402 \pm 0.030^b$	$0.347 \pm 0.058^b$
空白对照组	0	$0.617 \pm 0.034$	$0.306 \pm 0.023$	$0.316 \pm 0.021$

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白对照组。

观评价活细胞的生存和增殖的状况<sup>[5]</sup>, 并逐渐成为抗肿瘤药物筛选的重要检测途径<sup>[6-8]</sup>。本实验采用MTT法来确定EERAC对LoVo细胞增殖的抑制, 发现其最佳作用时间为72 h, 最大抑制率为79.48%, 表明EERAC具有明显的抑制LoVo细胞增殖的作用且作用特点具有浓度和时

间的依赖性。

在细胞凋亡的过程中, 是一个多基因参与的复杂的生命过程<sup>[9]</sup>, Bcl-2是一种原癌基因, 具有促进细胞增殖和突变的作用, 在细胞凋亡过程中负调控作用<sup>[10,11]</sup>, 而Bax为凋亡促进基因, 对Bcl-2基因有重要的调节作用<sup>[12-14]</sup>, Caspase-3是



细胞凋亡线粒体途径中信号转导通路的核心效应分子,可以导致细胞发生一系列凋亡形态和生化改变<sup>[15,16]</sup>。本实验结果表明EERAC处理LoVo细胞后, Bcl-2表达水平降低, 而Bax表达增强, 从而导致与凋亡密切相关的Bcl-2/Bax比值下降。与此同时, EERAC还能上调Caspase-3表达水平, 激活细胞的线粒体凋亡途径。

本研究中, 证实EERAC具有抑制LoVo细胞增殖和诱导凋亡的作用, 其机制可能与EERAC抑制癌变正调控基因Bcl-2的蛋白表达, 上调抑癌基因Bax、Caspase-3的蛋白表达、降低Bcl-2/Bax的比值有关, 其抑瘤作用可能与激活细胞线粒体凋亡途径相关。从EERAC对LoVo细胞的形态学影响、增殖抑制作用、调控凋亡相关蛋白的方面, 为应用中药藤梨根临床治疗大肠癌提供客观的实验依据。

#### 4 参考文献

- 1 程海波, 吴勉华. 周仲瑛教授从癌毒辨治恶性肿瘤病机要素分析. 中华中医药学刊 2010; 28: 313-315
- 2 朱秀山, 许继平, 黄德辉, 黄国荣, 应翔华. 壁虎藤梨根治疗胃癌临床及实验研究. 中国民间疗法 1999; 3: 43-44
- 3 田林, 刁路民, 国宏莉, 张丽. 藤梨根乙酸乙酯提取物促凋亡作用的实验研究. 陕西中医 2010; 31: 1424-1426
- 4 沈强, 俞彰, 法京, 刘懿, 高鸿建, 钟慈声. 电镜下几种凋亡细胞的形态特征. 复旦学报(医学版) 2010; 37: 322-325
- 5 Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65: 55-63
- 6 Dung TD, Chang HC, Binh TV, Lee MR, Tsai CH, Tsai FJ, Kuo WW, Chen LM, Huang CY. Zanthoxylum avicennae extracts inhibit cell proliferation through protein phosphatase 2A activation in HA22T human hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. *Int J Mol Med* 2012; 29: 1045-1052
- 7 Yamazaki M, Yamashita Y, Kubo N, Yashiro M, Ohira M, Ako E, Tanaka H, Muguruma K, Sawada T, Hirakawa K. Concurrent biological targeting therapy of squamous cell carcinoma of the esophagus with cetuximab and trastuzumab. *Oncol Rep* 2012; 28: 49-54
- 8 Jia XQ, Cheng HQ, Li H, Zhu Y, Li YH, Feng ZQ, Zhang JP. Inhibition of connective tissue growth factor overexpression decreases growth of hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 3794-3799
- 9 董张丽, 杨丽娟, 赖东梅. 免疫对肿瘤的负向调控. 现代免疫学 2011; 31: 428-431
- 10 Zhang H, Li Y, Huang Q, Ren X, Hu H, Sheng H, Lai M. MiR-148a promotes apoptosis by targeting Bcl-2 in colorectal cancer. *Cell Death Differ* 2011; 18: 1702-1710
- 11 Zhang MS, Hu AH, Qiu H, Xiong HH, Chen Y. The correlation between IGF-II and Bcl-2 expression in colorectal adenocarcinoma. *Med Oncol* 2012; 29: 928-932
- 12 Anvari K, Seilanian Toussi M, Kalantari M, Naseri S, Karimi Shahri M, Ahmadnia H, Katebi M, Sedighi Pashaki A, Dayani M, Broumand M. Expression of Bcl-2 and Bax in advanced or metastatic prostate carcinoma. *Urol J* 2012; 9: 381-388
- 13 Zhong ZG, Wu DP, Huang JL, Liang H, Pan ZH, Zhang WY, Lu HM. Progalin A isolated from the acetic ether part of the leaves of *Phyllanthus emblica* L. induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma BEL-7404 cells by up-regulation of Bax expression and down-regulation of Bcl-2 expression. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 765-772
- 14 Wang W, Lu J, Zhu F, Wei J, Jia C, Zhang Y, Zhou L, Xie H, Zheng S. Pro-apoptotic and anti-proliferative effects of mitofusin-2 via Bax signaling in hepatocellular carcinoma cells. *Med Oncol* 2012; 29: 70-76
- 15 Sabine VS, Faratian D, Kirkegaard-Clausen T, Bartlett JM. Validation of activated caspase-3 antibody staining as a marker of apoptosis in breast cancer. *Histopathology* 2012; 60: 369-371
- 16 Li S, Tian D, Fei P, Gao Y, Chen Z, Wang Q, Tong Q. A cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398-enhanced apoptosis of esophageal carcinoma cell EC9706 by adjusting expression of survivin and caspase-3. *Cancer Invest* 2011; 29: 102-106

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

#### ■同行评价

本研究观察EER-AC对人大肠癌细胞增殖凋亡的影响, 并探讨其可能机制, 为中医治疗临床大肠癌提供了一定参考。

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)

## β-连环素与原发性肝癌术后复发和转移的相关性

张志强, 李东良, 陈少华, 江艺, 程变巧, 范敬静, 马明

### ■背景资料

肝细胞癌(HCC)是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 由于其恶性程度高、病情隐匿且易复发、转移等特点, 临床上治疗效果往往不理想。本文研究β-连环素与原发性肝癌术后复发和转移的相关性, 为肝癌临床预后判断提供可能的指导意义。

张志强, 福建医科大学福总临床医学院肝胆内科 福建省福州市 350025

李东良, 程变巧, 范敬静, 马明, 中国人民解放军南京军区福州总医院肝胆内科 福建省福州市 350025

陈少华, 江艺, 中国人民解放军南京军区福州总医院肝胆外科 福建省福州市 350025

张志强, 硕士, 主要从事肝胆疾病方面的研究。

福建省自然科学基金资助项目, No. 2012J01399

作者贡献分布: 张志强与李东良对此文所作贡献均等; 此课题由李东良与张志强设计; 研究过程由张志强、李东良、程变巧、范敬静及马明操作完成; 本论文写作由张志强与李东良完成。

通讯作者: 李东良, 教授, 350025, 福建省福州市西二环156号, 福建医科大学福总临床医学院, 中国人民解放军南京军区福州总医院肝胆内科。dongliangli@gmail.com

电话: 0591-22859128

收稿日期: 2012-03-04 修回日期: 2012-05-07

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-06-28

### Correlation between β-catenin expression and recurrence and metastasis of primary hepatocellular carcinoma in patients after surgery

Zhi-Qiang Zhang, Dong-Liang Li, Shao-Hua Chen, Yi Jiang, Bian-Qiao Cheng, Jing-Jing Fan, Ming Ma

Zhi-Qiang Zhang, Department of Hepatobiliary Medicine, the Affiliated Clinical Medical College of Fuzhou General Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Dong-Liang Li, Bian-Qiao Cheng, Jing-Jing Fan, Ming Ma, Department of Hepatobiliary Medicine, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Shao-Hua Chen, Yi Jiang, Department of Hepatobiliary Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Fujian Province, No. 2012J01399

Correspondence to: Dong-Liang Li, Professor, Clinical Medical College of Fuzhou General Hospital, Fujian Medical University; Department of Hepatobiliary Medicine, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. dongliangli@gmail.com

Received: 2012-03-04 Revised: 2012-05-07

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-06-28

### Abstract

**AIM:** To examine the expression of β-catenin in hepatocellular carcinoma and to analyze its correlation with recurrence and metastasis of primary hepatocellular carcinoma in patients after surgery.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of β-catenin in tumor samples and matched tumor-adjacent tissue samples taken from patients who had recurrence and/or metastasis within one year after surgery for primary hepatocellular carcinoma and those had no recurrence or metastasis. The correlation between β-catenin expression and the clinicopathological characteristics of primary hepatocellular carcinoma was analyzed.

**RESULTS:** β-catenin was mainly distributed on the membrane of cells in tumor-adjacent tissue. The rate of aberrant expression of β-catenin was significantly higher in tumor tissue than in tumor-adjacent tissue (60% vs 15%,  $\chi^2 = 17.28$ ,  $P < 0.001$ ). There was no significant difference in the expression of β-catenin in tumor-adjacent normal tissue between patients with and without cirrhosis ( $\chi^2 = 0.388$ ,  $P = 0.533$ ). The rate of aberrant expression of β-catenin was significantly higher in primary hepatocellular carcinoma with recurrence and/or metastasis than in that without recurrence or metastasis (80.0% vs 40%,  $\chi^2 = 6.667$ ,  $P = 0.010$ ). Aberrant expression of β-catenin was not correlated with age, liver cirrhosis, tumor size or differentiation, but was associated with the recurrence and metastasis of primary hepatocellular carcinoma.

**CONCLUSION:** Aberrant expression of β-catenin is associated with the development, recurrence metastasis of primary hepatocellular carcinoma and may be used as a useful prognostic parameter to predict overall survival.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; β-catenin; Immunohistochemistry; Recurrence; Metastasis

Zhang ZQ, Li DL, Chen SH, Jiang Y, Cheng BQ, Fan JJ, Ma M. Correlation between β-catenin expression and recurrence and metastasis of primary hepatocellular carcinoma in patients after surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1662-1666

### 摘要

**目的:** 探讨β-连环素在肝细胞癌(hepatic cell carcinoma, HCC)的表达及与肝癌术后复发、

### ■同行评议者

姚鹏, 副教授, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病中心

转移的关系。

**方法:** 采用免疫组织化学方法对比观察手术前TNM分期相同, 术后1年内出现复发和/或转移的HCC与未出现复发和/或转移的HCC患者癌组织及癌旁组织中 $\beta$ -连环素的表达及其与临床病理特征的关系。

**结果:** 癌组织 $\beta$ -连环素细胞膜表达降低, 异常表达率达60%(24/40), 明显高于癌旁肝组织15%(6/40), 两组相比具有统计学意义( $\chi^2 = 17.28, P < 0.001$ ); 而在癌旁组织中无论是否伴有肝硬化,  $\beta$ -连环素表达无差异( $\chi^2 = 0.388, P = 0.533$ );  $\beta$ -连环素在复发和转移HCC患者中的异常表达率高达80.0%(16/20), 明显高于未发生复发或转移组40.0%(8/20), 两组相比具有统计学意义( $\chi^2 = 6.667, P = 0.010$ );  $\beta$ -连环素异常表达与患者年龄、肿瘤大小、分化程度及是否伴有肝硬化均无明显相关性( $P > 0.05$ ), 但与肿瘤的复发和转移有关( $P < 0.05$ )。

**结论:**  $\beta$ -连环素的异常表达可能与HCC的发生及术后复发、转移有关。有可能作为HCC恶性程度及预后判断的预测指标。

**关键词:** 原发性肝细胞癌;  $\beta$ -连环素; 免疫组织化学; 复发; 转移

张志强, 李东良, 陈少华, 江艺, 程变巧, 范敬静, 马明.  $\beta$ -连环素与原发性肝癌术后复发和转移的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1662-1666  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1662.asp>

## 0 引言

肝癌是一个隐匿性疾病, 不少患者在初次诊断时往往已经发生浸润或转移, 即便是一些还能手术切除的患者, 也很容易发生复发和转移。因而针对肿瘤复发、转移后的治疗成为了延长患者带瘤生存时间的关键因素<sup>[1,2]</sup>。肿瘤细胞脱离原发病灶和运动能力增强是肿瘤发生转移的先决条件。 $\beta$ -连环素是Wnt通路中的关键分子, 是一种多功能蛋白, 在细胞连接处作为一种细胞骨架蛋白, 他的稳定性对Wnt信号转导起重要作用。已有研究显示 $\beta$ -连环素在原发性肝细胞癌(hepatic cell carcinoma, HCC)中具有异常表达<sup>[3]</sup>, 但其与肝癌的复发和转移的关系尚不明确。本研究采用免疫组织化学方法对比观察 $\beta$ -连环素在出现转移与未发生转移的原发性肝癌患者癌组织及癌旁组织中的表达, 进一步探讨 $\beta$ -连环素异常表达与肝癌恶性分化、侵袭、转移的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集中国人民解放军南京军区福州总医院肝胆外科2010-05/2011-01行手术切除, 并在1年的观察随访中发生肝癌复发或转移的原发性HCC患者的石蜡组织标本20例, 另外, 随机选取同期行手术治疗, 随访1年未复发和/或转移的原发性HCC患者的石蜡组织标本20例, 两组患者术前肿瘤TNM分期无差异, 对照观察 $\beta$ -连环素在两组患者癌及癌旁组织的表达差异。所有患者术前均未接受介入栓塞化疗及其他治疗。

### 1.2 方法

**1.2.1  $\beta$ -连环素的免疫组织化学法(Elivison二步法)检测:** 临床手术切除标本后用常规10%甲醛固定, 石蜡包埋, 制成3  $\mu$ m连续切片后, 分别脱蜡、脱水, 微波炉内抗原热修复90 s暴露抗原, 3%双氧水室温下孵育10 min, 阻断内源性过氧化物酶活性; 室温下放入0.05% Tween20(pH 7.0)10 min, 滴加鼠抗人 $\beta$ -连环素单克隆抗体(购自北京中杉金桥生物技术有限公司)(1:150), 室温下1 h, 以PBS冲洗3 $\times$ 3 min, 再次放入0.05% Tween20(pH 7.0)2 h, 滴加增强剂20 min; 加生物素化抗兔二抗(即用型第2代免疫组织化学Elivision plus广谱试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司)室温下30 min, PBS冲洗, DBA显色剂显色5-20 min, 苏木精复染, 饱和碳酸锂30 s, 在95%-100%酒精脱水, 吹干, 封片, 镜下观察, 照相。对照设置: PBS代替一抗作为阴性对照进行同步染色。

**1.2.2 结果判定:**  $\beta$ -连环素阳性产物主要分布在正常肝组织的肝细胞膜上, 为粗细一致的棕黄色颗粒, 在细胞质可有微量表达, 细胞核无表达。判断标准按Maruyama等<sup>[4]</sup>方法, 高倍镜( $\times 400$ )下每个视野计数100个细胞, 每张切片数5个视野, 观察细胞膜、细胞质、细胞核的表达情况, 当细胞膜阳性细胞率 $< 5\%$ 记为阴性(-), 表达率为5%-24%时为弱阳性(+), 表达25%-50%时为阳性(++),  $> 50\%$ 为强阳性(+++). 当细胞膜上阴性及弱阳性表达和/或出现胞质阳性表达率 $> 10\%$ 及细胞核阳性表达时均判定为异常表达。

**统计学处理** 采用SPSS13.0 for Windows统计软件包进行, 采用 $\chi^2$ 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1  $\beta$ -连环素在癌旁肝组织和癌组织中的表达** 癌旁肝组织中 $\beta$ -连环素蛋白主要在细胞膜上表达, 细胞膜阳性表达率为85.0%(34/40, 图1)。无

### ■研发前沿

$\beta$ -连环素是Wnt通路中关键分子, 是一种多功能蛋白, 在细胞连接处作为一种细胞骨架蛋白, 他的稳定性对Wnt信号转导起重要作用。已有研究显示 $\beta$ -连环素在原发性HCC中具有异常表达, 但与其与肝癌的复发和转移的关系尚不明确。

### ■相关报道

曾建平等研究发现 $\beta$ -catenin的异常表达与肝癌的进展和转移有关, 其机制可能是通过激活cyclin D1基因的表达, 促使肝细胞增殖和恶性转化而实现。

## ■应用要点

本研究所得结果对于预测肝癌术后是否出现复发、转移可能有重要的临床指导意义。

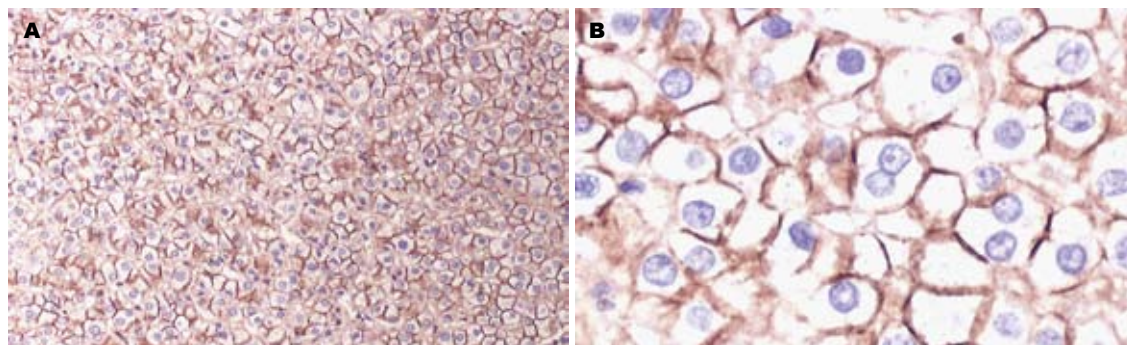


图1 Power Vision™染色检测β-连环素在癌旁组织细胞膜的表达. A: 100倍; B: 400倍.

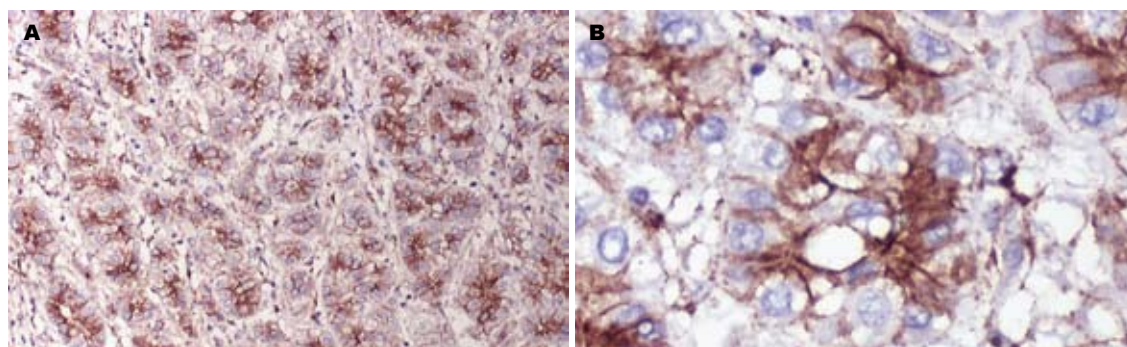


图2 Power Vision™染色检测β-连环素在未复发或/和转移患者肝癌组织中的表达. A: 100倍; B: 400倍.

表1 β-连环素在HCC及癌旁肝组织中的表达

	<i>n</i>	表达情况		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
		正常表达( <i>n</i> )	异常表达( <i>n</i> )		
癌旁组织					
无肝硬化	18	16	2	0.388	0.533
伴肝硬化	22	18	4		
癌组织	40	16	24	17.28	<0.01

肝硬化组和伴有肝硬化组均有少数标本癌旁组织检出β-连环素异常表达,但两组相比无明显差异( $\chi^2 = 0.388$ ,  $P = 0.533$ ).而癌组织β-连环素细胞膜表达率降低,异常表达率达60.0%(24/40),明显高于癌旁肝组织15.0%(6/40)( $\chi^2 = 17.28$ ,  $P < 0.001$ ,表1).

**2.2 β-连环素在未复发或/和转移患者肝癌组织中的表达** 在未出现复发或转移的患者中,癌组织β-连环素异常表达率40.0%(8/20).主要为细胞膜表达缺失,同时6例患者伴有细胞质异常表达,5例伴细胞核异常表达(图2).而本组患者癌旁肝组织β-连环素异常表达率为10.0%(2/20),两者比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 4.80$ ,  $P = 0.028$ ).

**2.3 β-连环素在复发和转移患者癌组织中的表达** 在出现复发或/和转移的患者中,癌组织β-连环素异常表达率高达80.0%(16/20),同时12例患者

伴有细胞质异常表达,10例伴有细胞核异常表达(图3).本组患者癌旁肝组织β-连环素异常表达率为20.0%(4/20),两者比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 14.40$ ,  $P = 0.000$ ).与未发生复发或转移组相比也具有统计学意义(80% vs 40%,  $\chi^2 = 6.667$ ,  $P = 0.010$ ,表2).

**2.4 β-连环素与HCC患者临床病理特征的关系** β-连环素异常表达与患者年龄、肿瘤大小、分化程度及是否伴有肝硬化均无明显相关性,但与肿瘤的复发和转移有关( $P < 0.05$ ,表2).

### 3 讨论

β-连环素是胞质内糖蛋白,基因位于人染色体3q21,分子量为92 kDa,是一种重要的细胞黏附分子和细胞骨架成分,同时β-连环素参与Wnt信号<sup>[5]</sup>通路.他介导APC/β-连环素/Tcf/lef-1构成



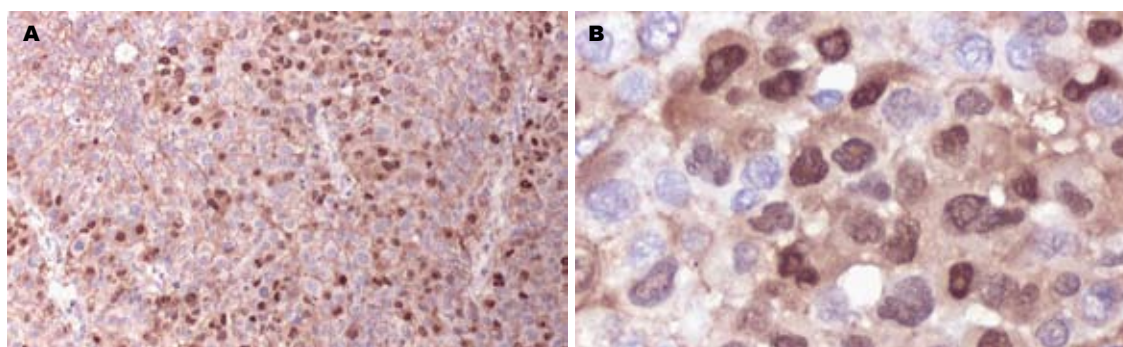


图 3 Power Vision<sup>TM</sup>染色检测 $\beta$ -连环素在复发和转移患者癌组织中的表达. A: 100倍; B: 400倍.

# ■同行评价

本文探讨了 $\beta$ -连环素与原发性肝癌术后复发和转移的相关性,具有一定的临床参考价值 and 意义.

表 2 癌组织 $\beta$ -连环素表达与HCC患者临床病理特征的关系

	<i>n</i>	$\beta$ -连环素		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
		正常表达( <i>n</i> )	异常表达( <i>n</i> )		
年龄(岁)					
<45岁	16	6	10	0.2730	0.601
$\geq 45$ 岁	24	11	13		
伴肝硬化					
无	18	8	10	0.0510	0.822
有	22	9	13		
肿瘤大小					
<5 cm	23	11	12	0.0628	0.428
$\geq 5$ cm	17	6	11		
分化程度					
高中分化	21	11	10	1.7660	0.184
中低分化	19	6	13		
复发转移					
无	20	12	8	6.6670	0.010
有	20	4	16		

的Wnt信号传导通路,与胚胎发育和肿瘤有关.近年来研究发现 $\beta$ -连环素蛋白在乳腺癌<sup>[6]</sup>、胃癌<sup>[7]</sup>、结肠癌<sup>[8]</sup>、喉癌<sup>[9]</sup>、结直肠癌<sup>[10]</sup>、慢性髓性白血病<sup>[11]</sup>、食管鳞状细胞癌<sup>[12]</sup>、HCC<sup>[3]</sup>、胆道肿瘤<sup>[13]</sup>等都出现不同程度的异常表达,并且 $\beta$ -连环素异常表达与肿瘤细胞的分化程度有关,高、中分化HCC  $\beta$ -连环素主要在细胞膜和/或细胞质表达,而核表达见于中、低分化肝癌<sup>[14]</sup>.Calvisi等<sup>[15]</sup>在实验中证实,在肝癌增殖性强、肿瘤体积较大等的恶性程度高的癌组织中, $\beta$ -连环素在胞质和/或核内聚集的程度也更明显.Suzuki等<sup>[16]</sup>研究发现分化低的癌细胞,细胞质和细胞核内 $\beta$ -连环素表达显著增加,周围分化高的癌细胞中, $\beta$ -连环素表达主要位于细胞膜上.这种由周边高分化癌的 $\beta$ -连环素膜定位到逐渐变成低分化癌的 $\beta$ -连环素细胞质和/或核定位,显示了肝癌细胞去分化的过程.相比之下,对正常

肝组织的研究发现 $\beta$ -连环素表达于细胞膜上,细胞质内有弱表达,无核内表达.

$\beta$ -连环素与HCC复发和/或转移的相关性研究较少,其与HCC复发及转移的关系尚不明确.本研究采用免疫组织化学方法对比观察了 $\beta$ -连环素在出现复发和/或转移与未发生复发、转移的原发性肝癌患者癌组织及癌旁组织中的表达,进一步探讨 $\beta$ -连环素异常表达与肝癌复发、转移的关系.结果显示癌组织 $\beta$ -连环素细胞膜表达降低,异常表达率明显高于癌旁肝组织;并且 $\beta$ -连环素的异常表达与肿瘤的复发和转移有密切关系.发生复发和/或转移的HCC患者癌组织 $\beta$ -连环素的异常表达明显高于未发生复发和/或转移的患者,且细胞核阳性表达较常见,提示 $\beta$ -连环素可能在肝癌的复发和转移中发挥着重要的生物学作用.可以作为一个预后判断的良好指标.



## 4 参考文献

- 1 吴孟超. 原发性肝癌的诊断及治疗进展. 中国医学科学院学报 2008; 30: 363-365
- 2 汤钊猷. 肝癌转移复发的基础与临床. 上海: 上海科技教育出版社, 2003; 1
- 3 Miyoshi Y, Iwao K, Nagasawa Y, Aihara T, Sasaki Y, Imaoka S, Murata M, Shimano T, Nakamura Y. Activation of the beta-catenin gene in primary hepatocellular carcinomas by somatic alterations involving exon 3. *Cancer Res* 1998; 58: 2524-2527
- 4 Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, Nakamura S, Baba S, Moriya Y, Hirohashi S. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer. *Oncology* 2000; 59: 302-309
- 5 Kikuchi A. Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer Sci* 2003; 94: 225-229
- 6 何艳姣, 乔超, 刘朝霞, 俞进, 李光. 乳腺癌中 $\beta$ -catenin、cyclinD1、c-myc表达及意义. 首都医科大学学报 2011; 32: 549-552
- 7 Tanaka M, Kitajima Y, Edakuni G, Sato S, Miyazaki K. Abnormal expression of E-cadherin and beta-catenin may be a molecular marker of submucosal invasion and lymph node metastasis in early gastric cancer. *Br J Surg* 2002; 89: 236-244
- 8 Horst D, Reu S, Kriegl L, Engel J, Kirchner T, Jung A. The intratumoral distribution of nuclear beta-catenin is a prognostic marker in colon cancer. *Cancer* 2009; 115: 2063-2070
- 9 牟江洪, 向德兵, 肖华亮, 林俐.  $\beta$ -catenin与VEGF-C和-D在结直肠癌中的表达及其相关性. 世界华人消化杂志 2011; 19: 636-639
- 10 薛令军, 李培梅, 孙瑜宁, 张恩东, 刘艳, 孙彩波, 刘新义, 孙文海.  $\beta$ -连环素和P65在喉癌中的表达及其临床意义. 中国耳鼻喉颅底外科杂志 2011; 17: 11-17
- 11 邹外一, 许多荣, 苏畅, 陈媚, 陈运贤, 李娟, 罗绍凯. 慢性髓性白血病患者 $\beta$ -catenin的表达及其临床意义. 中国病理生理杂志 2010; 26: 709-712
- 12 马红, 陈晓, 马海梅, 尼加提·热合木, 蒲红伟. E-cadherin、 $\beta$ -catenin和CathepsinD在食管鳞状细胞癌中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1757-1762
- 13 乔岐禄, 温泉, 赵建勋, 刘玉树.  $\beta$ -catenin与cyclinD1在胆道肿瘤中的表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2007; 17: 134-137
- 14 Wong CM, Fan ST, Ng IO. beta-Catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma: clinicopathologic and prognostic significance. *Cancer* 2001; 92: 136-145
- 15 Calvisi DF, Ladu S, Factor VM, Thorgeirsson SS. Activation of beta-catenin provides proliferative and invasive advantages in c-myc/TGF- $\alpha$  hepatocarcinogenesis promoted by phenobarbital. *Carcinogenesis* 2004; 25: 901-908
- 16 Suzuki T, Yano H, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M. Beta-catenin expression in hepatocellular carcinoma: a possible participation of beta-catenin in the dedifferentiation process. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 994-1000

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》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<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。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。

# 超声内镜引导下细针穿刺活检对胰腺实性占位定性诊断价值的Meta分析

朱成林, 黄强, 刘臣海, 谢放, 姚谦

朱成林, 黄强, 刘臣海, 谢放, 姚谦, 安徽医科大学附属医院普外科 安徽省合肥市 230001

朱成林, 在读硕士, 主要从事胆道肿瘤的基础研究和胆胰微创外科的研究。

作者贡献分布: 此课题设计由黄强、刘臣海及朱成林设计; 资料收集与数据分析由朱成林、谢放及姚谦操作完成; 本论文写作由朱成林、黄强及刘臣海完成。

通讯作者: 黄强, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院普外科。

hq-sohu@sohu.com

电话: 0551-2283797

收稿日期: 2011-12-14 修回日期: 2012-04-20

接受日期: 2012-05-18 在线出版日期: 2012-06-28

## Diagnostic value of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for solid pancreatic masses: A meta-analysis

Cheng-Lin Zhu, Qiang Huang, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Qian Yao

Cheng-Lin Zhu, Qiang Huang, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Qian Yao, Department of General Surgery, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Qiang Huang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. hq-sohu@sohu.com

Received: 2011-12-14 Revised: 2012-04-20

Accepted: 2012-05-18 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To establish the overall diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) for solid pancreatic masses.

**METHODS:** We searched PubMed (1966/2011-10), Cochrane Library (from establishment to 2011-10), CNKI (1994/2011-10), CBM (1978/2011-10) and Wanfang (2000/2011-10) databases to find all diagnostic tests about EUS-FNA for solid pancreatic masses. After collecting studies according to inclusion criteria of diagnostic tests, data (study background, design information and diagnostic parameters) were extracted. QUADAS items were used to evaluate the qualities of the included studies. Meta-disc software

was used to handle data of included studies and to examine heterogeneity. The effect-model was selected according to outcomes of heterogeneity. After all included studies were weighted and combined, sensitivity, specificity, positive likelihood ratio (PLR), negative likelihood ratio (NLR), diagnostic odds ratio (DOR) and their 95%CI were calculated, and SROC curve was drawn.

**RESULTS:** A total of 280 potentially relevant studies were retrieved. According to eligibility criteria, 18 studies were included (all in English). The meta-analysis results are as follows: pooled sensitivity 0.90 (95%CI, 0.89-0.92), pooled specificity 0.95 (95%CI, 0.93-0.97), PLR 13.56 (95%CI, 8.31-22.15), NLR 0.12 (95%CI, 0.10-0.15), DOR 143.62 (95%CI, 93.98-219.46) and SROC AUC 0.9711 ( $Q^* = 0.9215$ ). Moreover, subgroup analysis was performed to identify the sources of heterogeneity according to the presence or absence of an on-site cytopathologist. The SROC AUC was 0.9757 ( $Q^* = 0.9295$ ) in the presence of an on-site cytopathologist. The DOR in the presence of an on-site cytopathologist was higher than in the absence of an on-site cytopathologist [173.37 (95%CI, 98.09-306.44) vs 113.64 (95%CI, 60.22-214.46)].

**CONCLUSION:** EUS-FNA has a high sensitivity and specificity in the diagnosis of solid pancreatic masses, especially in the presence of an on-site cytopathologist.

**Key Words:** Endoscopic ultrasound; Fine-needle aspiration; Solid pancreatic masses; Meta-analysis

Zhu CL, Huang Q, Liu CH, Xie F, Yao Q. Diagnostic value of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for solid pancreatic masses: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1667-1676

## 摘要

**目的:** 系统评价超声内镜引导下细针穿刺活检(EUS-FNA)在胰腺实性占位定性诊断中的价值。

## ■背景资料

胰腺实性肿瘤能够做到早期良恶性定性诊断非常困难, 随着内镜技术的快速发展, 超声内镜引导下细针穿刺(EUS-FNA)作为一种新兴高灵敏的检查手段, 临床上正逐渐被采用与推广, 但对其在胰腺实性占位定性诊断中的价值尚未有系统性评价。

## ■同行评议者

徐辉雄, 教授, 主任医师, 博士生导师, 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

## ■ 研究前沿

虽然EUS-FNA有较高的诊断率,但其结果存在一定假阴性率,加上仪器设备和检查费用昂贵,使其在临床的诊断价值受到争议和广泛推广受到限制。

**方法:** 计算机检索MEDLINE、Cochrane Library、中国生物医学文献数据库、万方数据库、中国学术期刊全文数据库等数据库,检索时间均为建库至2011-10。全面查找有关EUS-FNA诊断胰腺实性占位的文献,按照诊断试验的纳入标准筛选文献,提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息),根据QUADAS质量评价标准纳入文献的质量。采用Meta-Disc1.4软件进行Meta分析,检验异质性,并根据异质性结果选择相应的效应模型。对纳入文献予以加权定量合并,计算汇总敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比和诊断优势比及其95%CI,绘制汇总受试者工作特征(SROC)曲线,并计算曲线下面积(AUC)。

**结果:** 共检索出相关文献280篇,按照文献纳入标准,最终纳入18篇文献(均为英文文献)。EUS-FNA对胰腺实性占位定性诊断价值分别为:汇总敏感度为0.90[95%CI(0.89-0.92)],汇总特异度为0.95[95%CI(0.93-0.97)],汇总阳性似然比为13.56[95%CI(8.31-22.15)],汇总阴性似然比为0.12[95%CI(0.10-0.15)],汇总诊断优势比为143.62[95%CI(93.98-219.46)],SROC曲线下面积AUC为0.9711,  $Q^* = 0.9215$ 。另外,本研究还对有无病理医生在场指导进行了亚组分析,发现有病理医生在场的AUC为0.9757,  $Q^* = 0.9295$ 。且汇总诊断优势比173.37[95%CI(98.09-306.44)],明显较无病理医生在场的113.64[95%CI(60.22-214.46)]高。

**结论:** 经SROC曲线证实, EUS-FNA活检在胰腺实性占位定性诊断中具有较高的灵敏度和特异度,尤其是有病理医生在场指导的情况下,可作为临床上胰腺实性占位定性诊断的重要检查手段。

**关键词:** 超声内镜; 细针穿刺; 胰腺实性占位; Meta分析

朱成林, 黄强, 刘臣海, 谢放, 姚谦. 超声内镜引导下细针穿刺活检对胰腺实性占位定性诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1667-1676

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1667.asp>

## 0 引言

近年来,胰腺恶性肿瘤的发病率国内外报道均呈明显上升趋势,特别是胰腺实性肿瘤,缺乏有效的早期诊断方法是其主要原因之一。胰腺实性肿瘤主要包括导管腺癌、神经内分泌瘤、胃泌素瘤、胰岛细胞瘤、胰高血糖素瘤及生长抑素瘤。由于患者早期没有明显的症状,且胰腺位

于腹膜后,早期各种检查和肿瘤指标缺乏特异性,故其早期定性诊断非常困难。随着内镜技术的快速发展,自90年代首次报道超声内镜引导下细针穿刺(endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration, EUS-FNA)以来,因其具有安全、有效且能早期获得病理性诊断等传统检查所不具备的优势,已成为对各种消化系统、恶性疾病进行鉴别或分期的一种重要检查手段。虽然EUS-FNA有较高的诊断率,但其结果存在一定假阴性率,加上仪器设备和检查费用昂贵,使其在临床的诊断价值受到争议和广泛推广受到限制。目前,国内外关于EUS-FNA对胰腺实性占位的定性诊断研究较多。本研究旨在采用循证医学的方法,汇总分析国内外EUS-FNA诊断胰腺实性占位的价值,为其在临床上的使用提供证据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 数据库查找有关EUS-FNA诊断胰腺实性占位的文献,按照诊断试验的纳入标准筛选文献,提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息),进行系统性评价分析。

### 1.2 方法

**1.2.1 文献纳入和排除标准:** 同时符合以下条件的文献被纳入: (1)中文和英文文献; (2)研究目的为评价EUS-FNA对胰腺实性占位定性诊断的临床价值; (3)前瞻性或回顾性研究; (4)研究对象大于30例; (5)所有纳入的研究对象均进行EUS-FNA和金标准检查; (6)以手术切除的病理或长期随访的结果为金标准; (7)若数据重复发表,选择其中最详尽的数据或最近发表的文章; (8)文章能直接或间接提供数据,可分别计算真阳性值(TP)、假阳性值(FP)、真阴性值(TN)、假阴性值(FN)。文献排除标准: (1)研究对象不足30例; (2)无法获得诊断结果的数据; (3)数据重叠,小样本,早期或低质量文献; (4)无法获得全文者。

**1.2.2 文献检索:** (1)数据库: 英文数据库包括MEDLINE和Cochrane图书馆,中文数据库包括中国生物医学文献数据库、万方数据库、中国学术期刊全文数据库。检索时间均从建库至2011-10。此外使用Google Scholar和Medical Matix等搜索引擎检索互联网上的相关文献,追查纳入文献的参考文献; (2)检索策略: 英文检索词: EUS-FNA, endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, solid pancreatic mass, solid pancreatic lesion, pancreatic cancer, pancreatic tumor,

sensitivity and specificity, diagnosis, false negative, false positive. 中文检索词: 超声内镜, 细针穿刺, 胰腺实性占位, 胰腺占位, 胰腺癌, 胰腺肿瘤. 参考“The Bayes library of diagnostic studies and reviews”<sup>[1]</sup>制定的检索策略, 检索词分目标疾病、目标人群、诊断方法和诊断准确性指标部分, 并且根据具体数据库调整, 采取主题词和自由词检索结合的方式, 所有检索策略都通过多次预检索后确定, 检索语种不限.

1.2.3 纳入和排除文献方法: 由朱成林和姚谦医生按照制定的纳入和排除标准同时单独纳入和排除文献, 如遇分歧讨论决定.

1.2.4 文献资料提取: 按照预先设计的资料提取表, 由朱成林医生提取和录入资料, 姚谦医生核对, 如遇分歧讨论解决或由谢放医生判定, 缺乏的资料通过电话或电子邮件与作者联系予以补充. (1)研究背景或设计信息的提取: 包括作者、国家、发表时间、EUS-FNA检查方法、样本量、偏倚和研究设计(前瞻性或回顾性)及其他信息; (2)诊断参数信息的提取: 包括TP、FP、TN、FN、敏感度、特异度、阳性似然比(PLR)、阴性似然比(NLR)和诊断优势比(DOR).

1.2.5 文献质量评价方法: 依据Whiting等<sup>[2]</sup>制定的QUADAS(quality assessment of diagnostic accuracy studies)14条标准评价文献质量, 分别对14个条目按“是”(满足此标准)、“否”(不满足或未提及)、“不清楚”(部分满足或者从文献中无法得到足够信息)3个判断标准进行评价. 由刘臣海和黄强医生独立评价文献质量, 如遇分歧讨论决定.

1.2.6 发表偏倚分析: 对诊断优势比对数与有效样本大小平方根的倒数进行分析, 绘制漏斗图.

**统计学处理** 采用Meta-Disc1.4软件进行Meta分析. 根据 $\chi^2$ 检验, 若 $P < 0.05$ , 且 $I^2 > 50\%$ , 说明纳入研究间具有异质性, 选择随机效应模型进行Meta分析; 反之,  $P > 0.05$ , 且 $I^2 < 50\%$ , 说明纳入研究间具有同质性, 选择固定效应模型进行Meta分析. 绘制汇总受试者工作特征(SROC)曲线, 并计算曲线下面积(AUC)和Q\*指数, Q\*指数为SROC曲线与直线(敏感度 = 特异度)相交处的敏感度, Q\*指数越大, 表示诊断试验的准确性越大; AUC越接近1, 表示诊断试验的准确性越高, 说明该项检查的诊断价值越高.

## 2 结果

2.1 纳入文献的一般情况 初检出相关文献280篇. 朱成林与姚谦医生通过阅读文献及摘要, 排

除综述, 动物实验, 非诊断性试验252篇, 初步纳入文献28篇; 进一步阅读全文并与谢放医生讨论后排除不满足纳入标准及无法提取诊断参数信息的10篇(穿刺针大小不同对胰腺实性占位诊断的比较1篇<sup>[3]</sup>, 有无病理医生在场对胰腺实性占位诊断的比较2篇<sup>[4,5]</sup>, 但无法获取总体资料, 与纳入资料有重复数据1篇<sup>[6]</sup>, 病例中包括胰腺囊性病变或病例数 $< 30$ 的5篇<sup>[7-11]</sup>, 无法获取4个表资料的1篇<sup>[12]</sup>). 最终纳入18篇文献<sup>[13-30]</sup>, 均为英文文献, 共纳入研究对象2 592例, 一般情况及纳入文献的诊断参数信息具体见表1.

2.2 纳入文献质量评价 18篇均符合QUADAS标准中的11项条目, 即疾病谱组成, 选择标准, 金标准, 疾病进展偏倚, 部分参照偏倚, 多重参照偏倚, 混合偏倚, 待评价试验的实施, 金标准的实施, 试验解读偏倚, 临床解读偏倚. 另3个条目描述如下, 所有文献均是在知晓待评价试验的结果的情况下进行金标准试验. 5篇<sup>[17,18,22,24,30]</sup>未解释报告中难以解释的中间试验结果, 2篇<sup>[20,23]</sup>对退出的病例没有做出解释, 2篇<sup>[21,24]</sup>对退出病例无法从文献中得到足够信息. 具体见表2.

### 2.3 Meta分析

2.3.1 Meta分析异质性检验: 阈值效应的异质性检验: 计算敏感度对数与(1-特异度)对数的Spearman相关系数 = 0.394,  $P = 0.106$ . 表明纳入研究不存在阈值效应导致的异质性. 非阈值效应检验:  $PLR(\chi^2 = 24.61, P = 0.1037)$ ,  $DOR(\chi^2 = 10.78, P = 0.8679)$ , 敏感度( $\chi^2 = 53.73, P = 0.0000$ ), 特异度( $\chi^2 = 38.77, P = 0.0019$ )及 $NLR(\chi^2 = 50.13, P = 0.0000)$ , 说明研究间存在由非阈值效应导致的异质性.

2.3.2 Meta分析: 由于研究之间存在异质性, 采用随机效应模型进行Meta分析. 结果显示: 汇总敏感度为0.90[95%CI(0.89-0.92)] (图1A), 汇总特异度为0.95[95%CI(0.93-0.97)] (图1B), 汇总阳性似然比为13.56[95%CI(8.31-22.15)] (图2A), 汇总阴性似然比为0.12[95%CI(0.10-0.15)] (图2B), 汇总诊断优势比为143.62[95%CI(93.98-219.46)] (图3A), SROC曲线下面积AUC为0.9711,  $Q^* = 0.9215$ (图3B).

2.3.3 亚组分析: 由于受研究数量及质量限制, 本研究只对有无病理医生在场进行亚组分析. 有病理医生在场敏感度( $\chi^2 = 19.14, P = 0.0078, I^2 = 63.4\%$ )和无病理医生在场敏感度( $\chi^2 = 27.65, P = 0.0011, I^2 = 67.5\%$ ), 有明显异质性, 采用随机效应模型进行Meta分析. 结果显示有病理医生在场AUC为0.9757,  $Q^* = 0.9295$ , 且汇总诊断优势

### ■ 相关报道

自90年代首次报道EUS-FNA以来, 因其具有安全、有效且能早期获得病理学诊断等传统检查所不具备的优势, 已成为对各种消化系统、恶性疾病进行鉴别或分期的一种重要检查手段.

## ■创新盘点

本研究采用循证医学的方法, 汇总分析国内外EUS-FNA诊断胰腺实性占位的价值, 减少了因各中心小样本的病倒分析而出现的差异, 更准确地评价EUS-FNA的临床价值。

表 1 纳入文献的一般情况及诊断参数信息

年份	作者	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1999年	Williams等 <sup>[13]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2001年	Gress等 <sup>[14]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2002年	Harewood等 <sup>[15]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2003年	Raut等 <sup>[16]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2004年	Agarwal等 <sup>[17]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	否	是
2005年	Ryozawa等 <sup>[18]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	否	是
2005年	Wakatsuki等 <sup>[19]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2006年	Horwhat等 <sup>[20]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否
2007年	Eloubeidi等 <sup>[21]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	不清楚
2008年	Ross等 <sup>[22]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	否	是
2008年	Fisher等 <sup>[23]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	否
2009年	Wilson等 <sup>[24]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	否	不清楚
2009年	Moller等 <sup>[25]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2010年	Napoleon等 <sup>[26]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2010年	Kliment等 <sup>[27]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2010年	Cherian等 <sup>[28]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2010年	Raddaoui等 <sup>[29]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	是	是
2011年	Itot等 <sup>[30]</sup>	是	是	是	是	是	是	是	是	是	是	否	是	否	是

1: 疾病谱组成; 2: 选择标准; 3: 金标准; 4: 疾病进展偏倚; 5: 部分参照偏倚; 6: 多重参照偏倚; 7: 混合偏倚; 8: 待评价试验的实施; 9: 金标准的实施; 10: 试验解读偏倚; 11: 金标准解读偏倚; 12: 临床解读偏倚; 13: 难以解释的实验结果; 14: 退出病例。

表 2 纳入文献的质量评价

年份	作者	<i>n</i>	国家	真阳性 ( <i>n</i> )	假阳性 ( <i>n</i> )	假阴性 ( <i>n</i> )	真阴性 ( <i>n</i> )	穿刺针 大小	肿块大小 (mm)	病理医生 (是/否)
1999年	Williams等 <sup>[13]</sup>	144	美国	101	0	22	21	22, 23	35	否
2001年	Gress等 <sup>[14]</sup>	102	美国	57	0	4	41	22, 23	35 ± 32.7	是
2002年	Harewood等 <sup>[15]</sup>	185	美国	154	6	10	15	22	30 ± 13	否
2003年	Raut等 <sup>[16]</sup>	233	美国	197	0	19	15	22	none	是
2004年	Agarwal等 <sup>[17]</sup>	81	美国	63	0	8	10	不清楚	不清楚	否
2005年	Ryozawa等 <sup>[18]</sup>	47	日本	23	0	5	19	22	33	否
2005年	Wakatsuki等 <sup>[19]</sup>	53	美国	39	0	3	11	22	34.2 ± 13.7	是
2006年	Horwhat等 <sup>[20]</sup>	36	美国	21	0	4	11	20-22	28.7 ± 10.1	否
2007年	Eloubeidi等 <sup>[21]</sup>	547	美国	414	9	23	101	22	36	是
2008年	Ross等 <sup>[22]</sup>	83	美国	55	0	11	17	22	不清楚	是
2008年	Fisher等 <sup>[23]</sup>	100	澳大利亚	82	0	5	13	22	35.1 ± 12.9	否
2009年	Wilson等 <sup>[24]</sup>	72	澳大利亚	55	0	8	9	19/22	不清楚	是
2009年	Moller等 <sup>[25]</sup>	192	希腊	128	1	26	37	22	不清楚	否
2010年	Napoleon等 <sup>[26]</sup>	35	法国	22	0	6	7	22	30 ± 12	否
2010年	Kliment等 <sup>[27]</sup>	207	捷克	151	5	12	39	22	31.5 ± 9.7	是
2010年	Cherian等 <sup>[28]</sup>	78	英国	65	0	2	11	22	不清楚	否
2010年	Raddaoui等 <sup>[29]</sup>	42	沙特阿拉伯	17	0	6	20	22	不清楚	是
2011年	Itot等 <sup>[30]</sup>	355	日本	256	3	30	66	19/22/25	不清楚	否

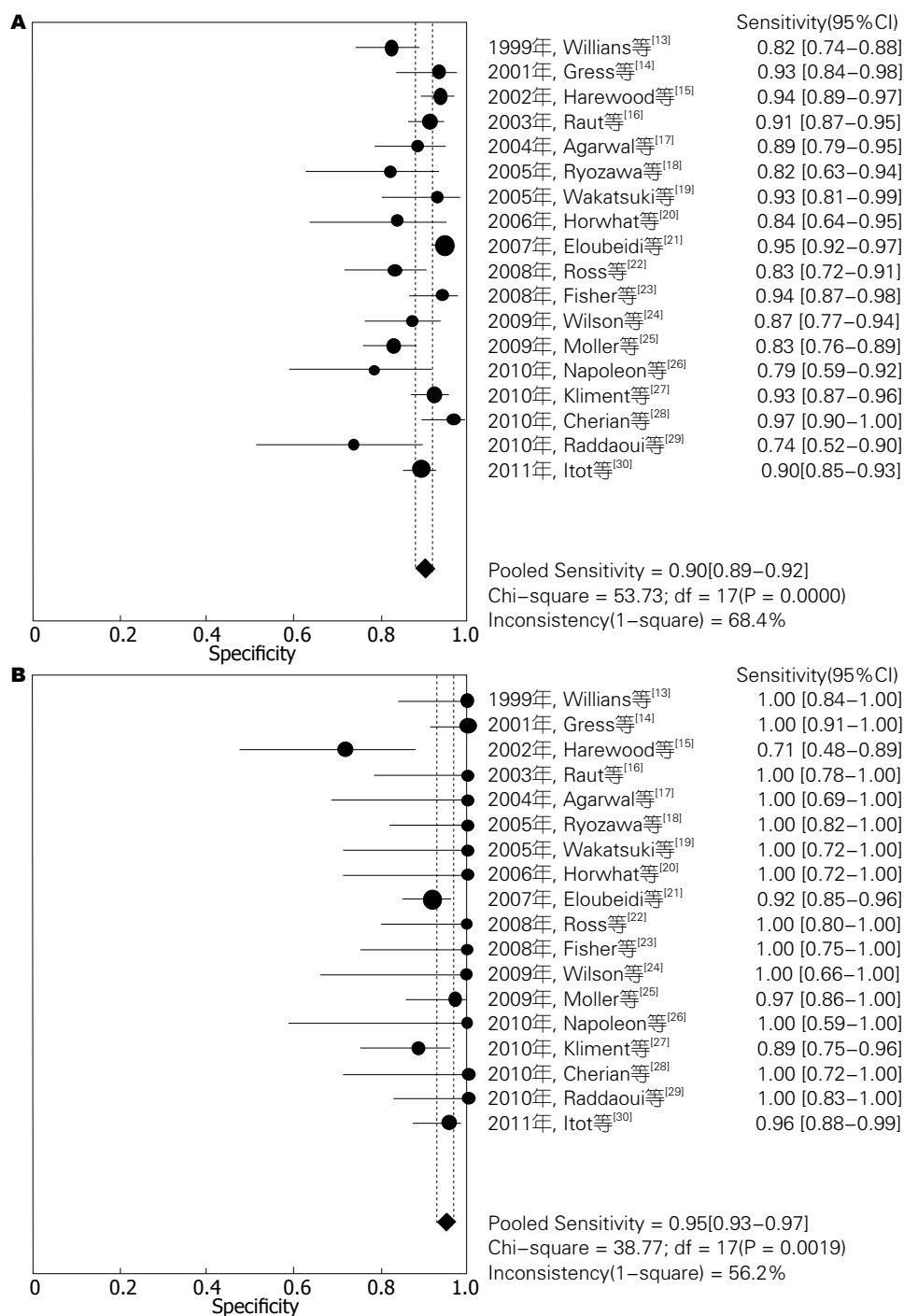
比173.37[95%CI(98.09-306.44)](图4A), 明显比无病理医生在场的113.64[95%CI(60.22-214.46)](图4B)高。

2.3.4 敏感性分析: 将每个研究逐一排除后的分

析显示汇总敏感度和特异度未见明显改变, 这说明纳入文献的稳定性好。

2.3.5 发表偏倚分析: 漏斗图分析显示, 发表偏倚系数( $Z$ ) = -10.226,  $P$  = 0.765, 说明纳入的研究发





### 应用要点

本研究显示EUS-FNA作为一种具有高敏感性和特异度的检查方法,对于可能切除的病例有利于术前诊断并决定手术方案,对于晚期的胰腺肿瘤可避免不必要的剖腹探查,并能指导合理的使用化疗,可以作为胰腺实性占位定性诊断的重要检查方法,临床上值得应用与推广。

图1 EUS-FNA诊断胰腺实性占位敏感性和特异度的Meta分析。A: 敏感性分析; B: 特异度分析。

表偏倚不明显(图5)。

### 3 讨论

胰腺实性肿瘤在临床上能够做到早期良恶性定性诊断非常困难,尤其是对胰腺癌与肿块性胰腺炎。EUS-FNA作为一种新兴高灵敏的检查手段,由于仍具有一定的假阴性,导致许多临床医生认为,既然最后确诊仍有赖于手术病理或长期跟踪随访,不如直接手术或保守治疗观察;另外因检查设备昂贵,重视操作者水平,穿刺标本

易失败以及可能出现并发症等,使其诊断价值广受争议。临床上对其定性价值的报道均是各中心小样本的病例分析,缺乏系统的分析,针对其争议,本研究采用诊断试验的系统评价方法对EUS-FNA在胰腺实性占位定性诊断中的价值进行分析。

Meta分析纳入了18篇以手术病理和长期病例跟踪随访为金标准的EUS-FNA的诊断性研究。结果显示, EUS-FNA定性诊断胰腺实性占位的汇总敏感度为90%, 汇总特异度为95%, 提示

### ■同行评价

本研究目的合理, 有可行性及临床意义, 收集的文献较全面, 制定了严格的纳入排除标准, Meta分析步骤正确, 明确了EUS-FNA的诊断价值。

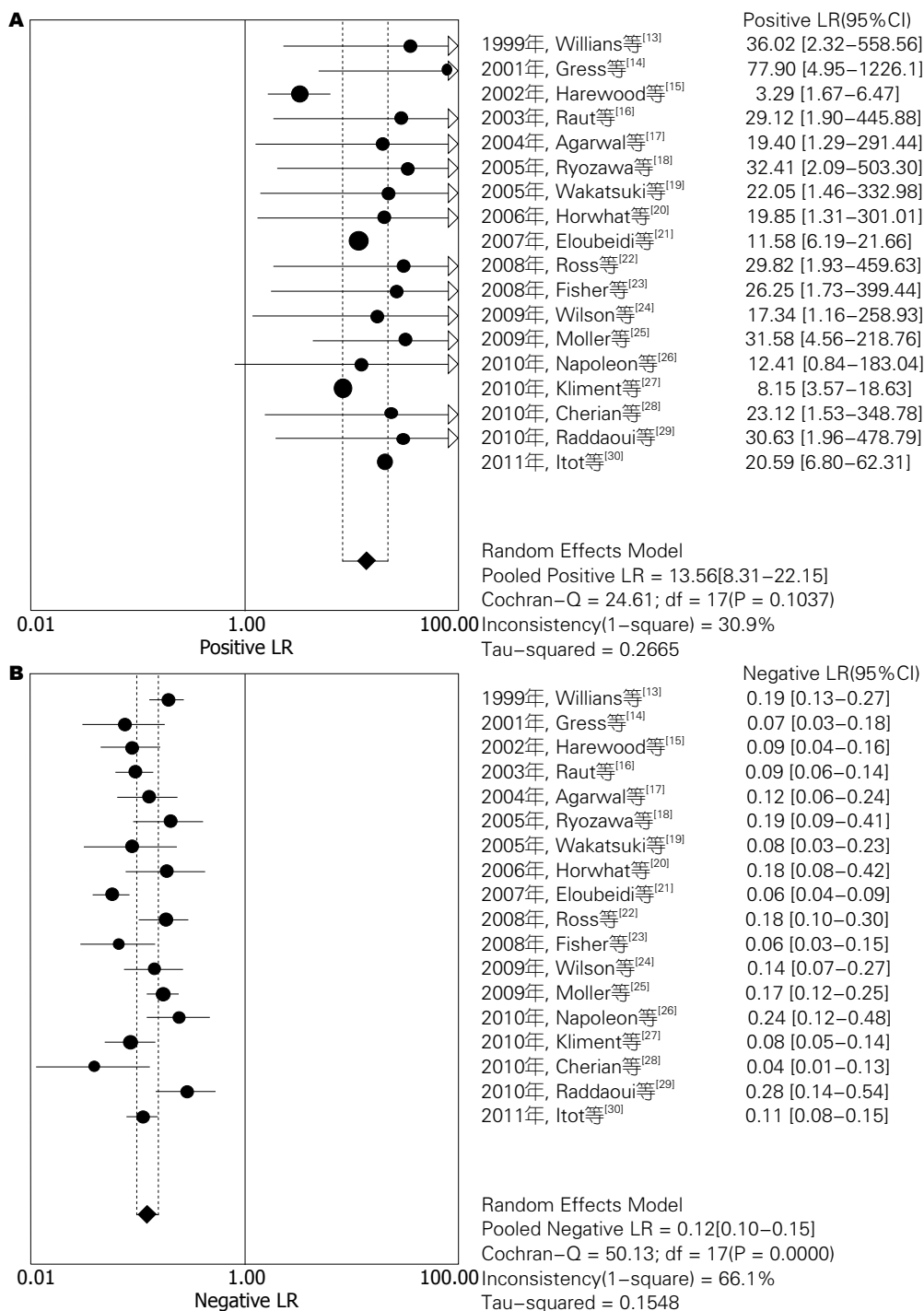


图2 EUS-FNA诊断胰腺实性占位PLR和NLR的Meta分析. A: PLR分析; B: NLR分析.

漏诊率为10%, 误诊率为5%, 说明该试验检验效能高; 汇总PLR为13.56, 提示EUS-FNA试验结果为阳性时, 疑似病例可基本确诊为恶性肿瘤; 汇总NLR为0.12, 提示诊断试验结果为阴性时, 疑似病例可基本排除为恶性肿瘤; 诊断汇总DOR为143.62, 提示诊断试验的判断效果较好, SROC AUC为0.9711, 提示诊断试验的诊断准确性较高. 以上结果表明, EUS-FNA对于胰腺实性占位的定性诊断具有较高的敏感度和特异度, 诊断

准确性较好, 可以作为重要的检测手段.

结合QUADAS质量评价结果, 分析异质性可能主要来自以下几个方面: (1)试验设计缺陷: 纳入研究的大部分均为回顾性研究, 设计理念不符合高质量诊断试验的要求, 而且所有病例都是在知道诊断试验的结果下行金标准试验, 且是根据诊断试验的结果决定性金标准试验, 金标准试验不仅是手术病理还包括对诊断试验良性的进行长期跟踪随访, 虽然最后都得到确

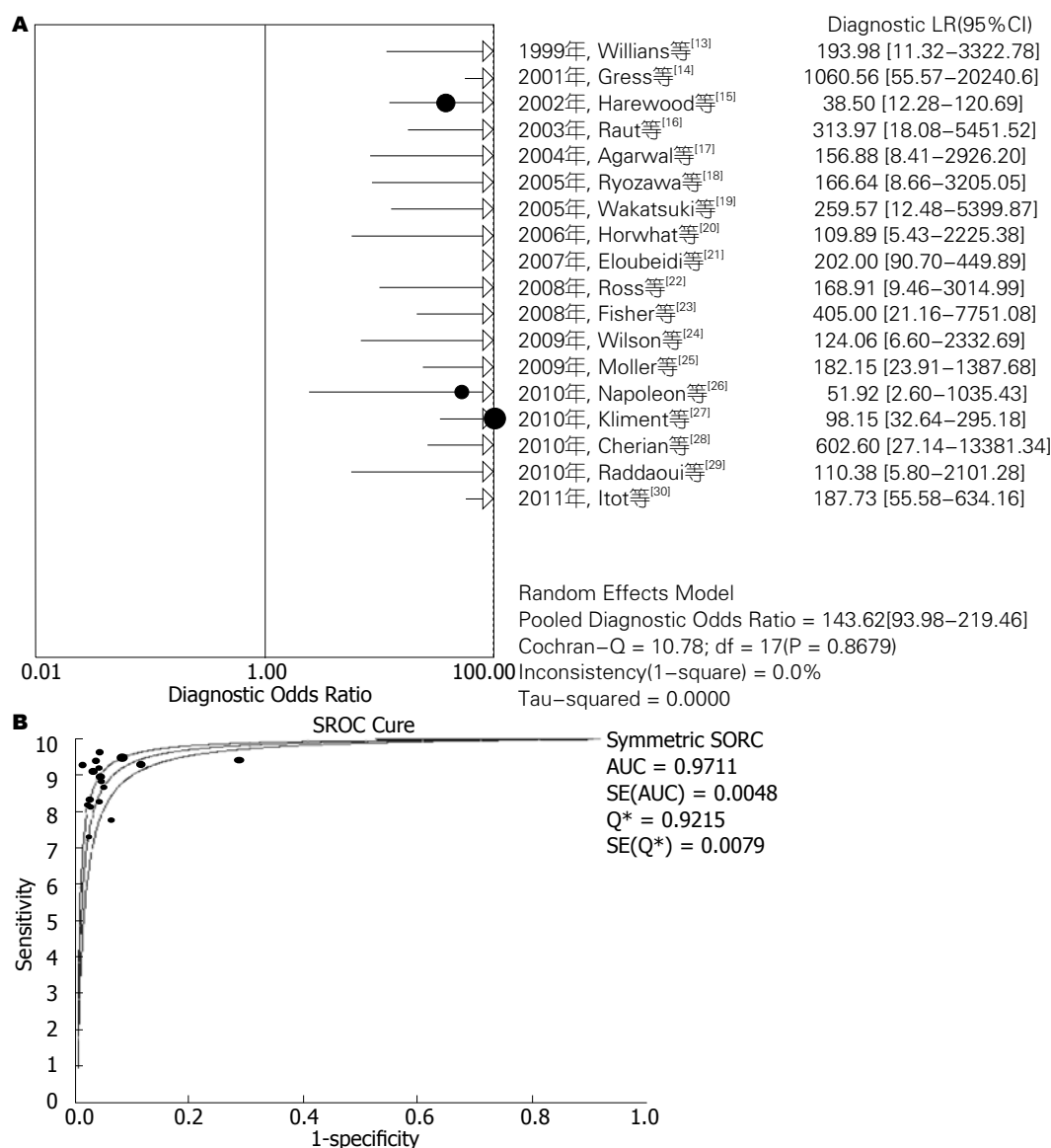


图 3 EUS-FNA诊断胰腺实性占位DOR的Meta分析和SROC曲线。A: DOR的Meta分析; B: SROC曲线。

诊,但随访的资料可能存在误差不能排除;(2)由于不同医疗单位的诊疗技术、设备的差异,可能导致异质性。目前对EUS-FNA诊断影响较大的因素<sup>[31]</sup>主要是操作者的经验、穿刺针的选择、负压的选择、试验时细胞病理诊断和穿刺次数的选择及有无病理医生现场指导和病变的部位、大小和种类。本研究准备对肿瘤大小、穿刺针大小及有无病理医生现场指导进行Meta回归和亚组分析,但因文献质量有限,只对有无病理医生在场指导进行了亚组分析,研究显示有病理医生在场的DOR173.37[95%CI(98.09-306.44)],比无病理医生在场指导DOR113.64[95%CI(60.22-214.46)]要高的多,有趣的是本研究将有无病理医生在场和设计资料类型纳入Meta回归(结果未给出),二者均与诊断结果的差异无显著统计学意义,其主要原因可能与纳入的病例不

够,或与自变量过少有关,但据国内外最新报道,二者之间确实有关。国内金震东等<sup>[12]</sup>研究报道的EUS-FNA敏感性67.6%,加用病理医师现场快速染色观片后敏感性上升至93.1%,国外Iglesias-Garcia等<sup>[5]</sup>也报道了有无病理医生在场的诊断灵敏度分别为96.2% vs 78.2%,并能够显著降低并发症;(3)人种、地域不同,可能存在差异。检索策略、发表偏倚及灰色文献也是产生异质性的来源。

从方法学质量评价及异质性分析结果来看,本文纳入研究的质量较高。另外,在对待选择偏倚及数据摘录方面,经漏斗图分析显示,发表偏倚系数( $Z$ ) = -10.226,  $P$  = 0.765,说明纳入的研究发表偏倚不明显。但仍有改进的地方:(1)尽量采用诊断性试验报告标准,提高诊断性试验的报告质量;(2)诊断性试验和对照试验应尽量同步

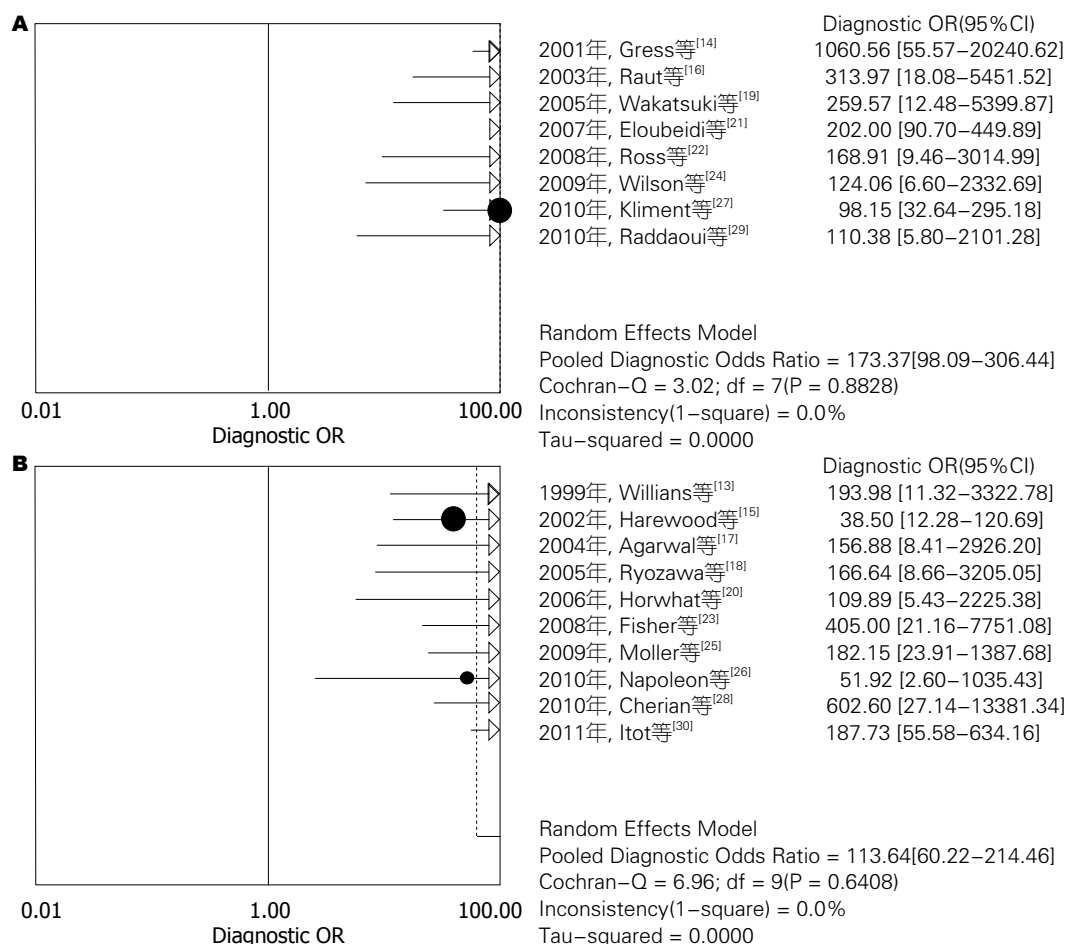


图 4 EUS-FNA在有和无病理医生现场指导DOR的Meta分析. A: 有病理医生; B: 无病理医生.

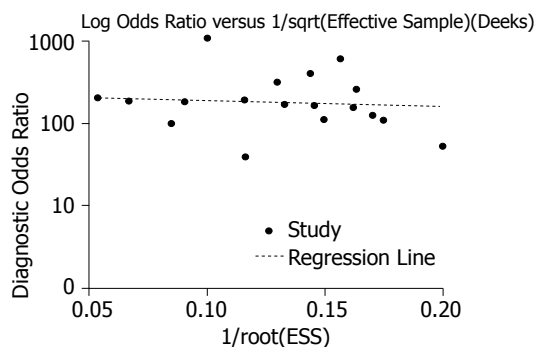


图 5 发表偏倚的漏斗图.

进行. 在进行诊断时应做到“盲法”评估; (3)应尽可能采用前瞻性研究方法, 以避免回顾性偏倚的影响; (4)对此方法用于诊断胰腺实性占位的定性诊断评价, 除评价诊断准确性外, 还应关注安全性和成本-效果等问题.

总之, EUS-FNA是一种具有高敏感性和特异度的检查方法, 同时作为一种简单、安全、有效的方法, 对于可能切除的病例有利于术前诊断并决定手术方案; 对于晚期的胰腺肿瘤可避免不必要的剖腹探查, 并能指导合理的使用

化疗, 可以作为胰腺实性占位定性诊断的重要检查方法, 但还需要高质量的前瞻性研究, 以进一步证实其在胰腺实性占位定性诊断中的价值.

#### 4 参考文献

- 1 Main C, Moxham T, Wyatt JC, Kay J, Anderson R, Stein K. Computerised decision support systems in order communication for diagnostic, screening or monitoring test ordering: systematic reviews of the effects and cost-effectiveness of systems. *Health Technol Assess* 2010; 14: 1-227
- 2 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25
- 3 Fabbri C, Polifemo AM, Luigiano C, Cennamo V, Baccarini P, Collina G, Fornelli A, Macchia S, Zanini N, Jovine E, Fiscoletti M, Alibrandi A, D'Imperio N. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration with 22- and 25-gauge needles in solid pancreatic masses: a prospective comparative study with randomisation of needle sequence. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 647-652
- 4 Hikichi T, Irisawa A, Bhutani MS, Takagi T, Shibukawa G, Yamamoto G, Wakatsuki T, Imamura H,



- Takahashi Y, Sato A, Sato M, Ikeda T, Hashimoto Y, Tasaki K, Watanabe K, Ohira H, Obara K. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of solid pancreatic masses with rapid on-site cytological evaluation by endosonographers without attendance of cytopathologists. *J Gastroenterol* 2009; 44: 322-328
- 5 Iglesias-Garcia J, Dominguez-Munoz JE, Abdulkader I, Larino-Noia J, Eugenyeva E, Lozano-Leon A, Forteza-Vila J. Influence of on-site cytopathology evaluation on the diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) of solid pancreatic masses. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1705-1710
- 6 Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun IA, Jhala D, Chhieng DC, Jhala N, Vickers SM, Wilcox CM. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy of patients with suspected pancreatic cancer: diagnostic accuracy and acute and 30-day complications. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2663-2668
- 7 郑孔林, 陈涛, 居峰, 王含芬, 王辉, 范苑丹, 杜虎, 唐良, 陆国民, 蒋丽莎, 占强. 内镜超声引导下细针穿刺活检诊断胰腺占位性病变28例. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 657-658
- 8 郭文, 雷珊, 程天明, 朱微, 姚永莉, 周丹, 智发朝, 姜泊. 超声内镜引导细针穿刺活检对胰腺占位性病变的诊断价值. *现代消化及介入诊疗* 2010; 15: 223-226
- 9 毛靖伟, 徐鸽鸽, 唐海英, 王英德. 内镜超声及其引导下的细针穿刺活检在胰腺疾病中的诊断价值. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 533-537
- 10 杨秀疆, 谢渭芬, 任大宾, 刘苏, 陈伟忠, 胡志前, 蔡洪培. 内镜超声引导细针穿刺对胰腺癌的诊断价值. *中华消化杂志* 2005; 25: 462-465
- 11 孙思予, 王孟春, 孙素云. 内镜超声引导下细针穿刺对胰腺占位病变的诊断价值. *中华消化杂志* 2002; 22: 29-31
- 12 金震东, 王东, 李兆申, 邹多武, 湛先保, 陈洁, 许国铭. 内镜超声引导下细针穿刺活检对胰腺占位性病变的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2007; 24: 326-330
- 13 Williams DB, Sahai AV, Aabakken L, Penman ID, van Velse A, Webb J, Wilson M, Hoffman BJ, Hawes RH. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy: a large single centre experience. *Gut* 1999; 44: 720-726
- 14 Gress F, Gottlieb K, Sherman S, Lehman G. Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration biopsy of suspected pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 2001; 134: 459-464
- 15 Harewood GC, Wiersema MJ. Endosonography-guided fine needle aspiration biopsy in the evaluation of pancreatic masses. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1386-1391
- 16 Raut CP, Grau AM, Staerker GA, Kaw M, Tamm EP, Wolff RA, Vauthey JN, Lee JE, Pisters PW, Evans DB. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in patients with presumed pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 118-126; discussion 127-128
- 17 Agarwal B, Abu-Hamda E, Molke KL, Correa AM, Ho L. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 844-850
- 18 Ryozaawa S, Kitoh H, Gondo T, Urayama N, Yamashita H, Ozawa H, Yanai H, Okita K. Usefulness of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for the diagnosis of pancreatic cancer. *J Gastroenterol* 2005; 40: 907-911
- 19 Wakatsuki T, Irisawa A, Bhutani MS, Hikichi T, Shibukawa G, Takagi T, Yamamoto G, Takahashi Y, Yamada Y, Watanabe K, Obara K, Suzuki T, Sato Y. Comparative study of diagnostic value of cytologic sampling by endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration and that by endoscopic retrograde pancreatography for the management of pancreatic mass without biliary stricture. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1707-1711
- 20 Horwhat JD, Paulson EK, McGrath K, Branch MS, Baillie J, Tyler D, Pappas T, Enns R, Robuck G, Stiffler H, Jowell P. A randomized comparison of EUS-guided FNA versus CT or US-guided FNA for the evaluation of pancreatic mass lesions. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 966-975
- 21 Eloubeidi MA, Varadarajulu S, Desai S, Shirley R, Heslin MJ, Mehra M, Arnoletti JP, Eltoun I, Wilcox CM, Vickers SM. A prospective evaluation of an algorithm incorporating routine preoperative endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration in suspected pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 813-819
- 22 Ross WA, Wasan SM, Evans DB, Wolff RA, Trapani LV, Staerker GA, Prindiville T, Lee JH. Combined EUS with FNA and ERCP for the evaluation of patients with obstructive jaundice from presumed pancreatic malignancy. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 461-466
- 23 Fisher L, Segarajasingam DS, Stewart C, Deboer WB, Yusoff IF. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration of solid pancreatic lesions: Performance and outcomes. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 90-96
- 24 Wilson JL, Kalade A, Prasad S, Cade R, Thomson B, Banting S, Mackay S, Desmond PV, Chen RY. Diagnosis of solid pancreatic masses by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Intern Med J* 2009; 39: 32-37
- 25 Möller K, Papanikolaou IS, Toermer T, Delicha EM, Sarbia M, Schenck U, Koch M, Al-Abadi H, Meining A, Schmidt H, Schulz HJ, Wiedenmann B, Rösch T. EUS-guided FNA of solid pancreatic masses: high yield of 2 passes with combined histologic-cytologic analysis. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 60-69
- 26 Napoleon B, Alvarez-Sanchez MV, Gincoul R, Pujol B, Lefort C, Lepilliez V, Labadie M, Souquet JC, Queneau PE, Scoazec JY, Chayvialle JA, Ponchon T. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound in solid lesions of the pancreas: results of a pilot study. *Endoscopy* 2010; 42: 564-570
- 27 Kliment M, Urban O, Cegan M, Fojtik P, Falt P, Dvorackova J, Lovecek M, Straka M, Jaluvka F. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pancreatic masses: the utility and impact on management of patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1372-1379
- 28 Cherian PT, Mohan P, Douiri A, Taniere P, Hejmadi RK, Mahon BS. Role of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in the diagnosis of solid pancreatic and peripancreatic lesions: is onsite cytopathology necessary? *HPB (Oxford)* 2010; 12: 389-395
- 29 Raddaoui E. Clinical utility and diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pancreatic lesions: Saudi Arabian experi-

- ence. *Acta Cytol* 2011; 55: 26-29
- 30 Itoi T, Tsuchiya T, Itokawa F, Sofuni A, Kurihara T, Tsuji S, Ikeuchi N. Histological diagnosis by EUS-guided fine-needle aspiration biopsy in pancreatic

- solid masses without on-site cytopathologist: a single-center experience. *Dig Endosc* 2011; 23 Suppl 1: 34-38
- 31 陈希, 诸琦. 影响内镜超声引导细针抽吸术结果的因素分析. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 222-224

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》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](mailto:submission@wjgnet.com)咨询, 编务将在1个工作日内回复.

**第二步 审稿:** 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

**第三步 编辑、修改稿件:** 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

**第四步 录用稿件:** 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

**第五步 排版制作:** 电子编辑对稿件基本情况进行核对, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

**第六步 组版:** 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

**第七步 印刷、发行:** 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

# 胆管腺瘤临床分析11例

张晓峰, 邱法波, 何俊闯, 曹景玉, 王祖森, 韩冰

张晓峰, 何俊闯, 曹景玉, 王祖森, 韩冰, 青岛大学 山东省青岛市 266003

邱法波, 青岛大学医学院附属医院 山东省青岛市 266003

张晓峰, 硕士, 主要从事肝胆胰脾外科方面的研究。

作者贡献分布: 张晓峰与邱法波对此论文所作贡献均等; 此课题由张晓峰与邱法波设计; 研究过程由张晓峰、邱法波、何俊闯、曹景玉、王祖森及韩冰操作完成; 数据分析由张晓峰、邱法波及何俊闯完成; 本论文写作由张晓峰与邱法波完成。

通讯作者: 邱法波, 主任医师, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科. qiu fabo@sina.com  
电话: 0532-82911395

收稿日期: 2012-03-14 修回日期: 2012-04-23

接受日期: 2012-05-18 在线出版日期: 2012-06-28

## A clinical analysis of 11 cases of bile duct adenoma

Xiao-Feng Zhang, Fa-Bo Qiu, Jun-Chuang He, Jing-Yu Cao, Zu-Sen Wang, Bing Han

Xiao-Feng Zhang, Jun-Chuang He, Jing-Yu Cao, Zu-Sen Wang, Bing Han, Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Fa-Bo Qiu, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Fa-Bo Qiu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Shinan District, Qingdao 266003, Shandong Province, China. qiu fabo@sina.com

Received: 2012-03-14 Revised: 2012-04-23

Accepted: 2012-05-18 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinicopathologic features, diagnosis and treatment of bile duct adenoma.

**METHODS:** The clinical data for 11 patients with pathologically confirmed bile duct adenoma at our hospital were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** This group of patients included 9 females and 2 males. Their age ranged from 25 to 75 years, with an average of 62.2 years. Abdominal pain, jaundice and fever were main clinical manifestations. Diagnosis must rely on histopathological examination. Radical resection of the tumor is the most important treatment owing to the high incidence of malignant transformation. Eight patients had papillary adenoma, and

3 had tubule-papillary adenoma. Six cases were associated with cancer, and four cases had varying degrees of dysplasia. One patient underwent biopsy, and 10 patients underwent radical tumor resection. All patients showed no obvious signs of recurrence throughout the follow-up period.

**CONCLUSION:** Bile duct adenoma has a high incidence of malignant transformation. It is difficult to diagnose before surgery and is easily misdiagnosed. Diagnosis must rely on histopathological examination. Surgical resection is an effective way to treat the disease with a good prognosis.

**Key Words:** Bile duct adenoma; Pathology; Diagnosis; Treatment

Zhang XF, Qiu FB, He JC, Cao JY, Wang ZS, Han B. A clinical analysis of 11 cases of bile duct adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1677-1680

## 摘要

**目的:** 探讨胆管腺瘤的临床病理特点及诊断治疗方法。

**方法:** 对我院经病理证实的11例胆管腺瘤的临床资料进行回顾性分析。

**结果:** 11例胆管腺瘤患者有9例女性, 2例男性, 平均年龄62.2岁。主要临床表现为腹痛、黄疸、发热。术前确诊困难, 必须依靠病理组织学检查, 恶变率高, 肿瘤根治性切除是主要的治疗方法。所有患者均经病理证实为胆管腺瘤, 其中乳头状腺瘤8例, 管状乳头状腺瘤3例。其中6例伴有癌变, 4例伴有不同程度的不典型增生。11例患者中, 1例患者行活体活检, 10例患者行肿瘤根治性切除术。所有患者随访期间均未见明显复发迹象。

**结论:** 胆管腺瘤可广泛累及胆道系统, 术前诊断较困难, 恶变率高, 易被误诊, 确诊必须依靠病理组织学检查, 肿瘤根治性切除是有效治疗方法, 预后较好。

**关键词:** 胆管腺瘤; 病理学; 诊断; 治疗

## ■背景资料

胆管腺瘤是一种起源于胆管黏膜上皮的良性肿瘤, 可广泛累及胆道系统。文献报道乳头状腺瘤最多, 大多数是单发, 少数为多处孤立性病灶。

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外科

## ■研究前沿

本病临床较为罕见,术前确诊困难,易被忽视或误诊,且恶变率高。目前对胆管腺瘤的诊断治疗尚无统一的标准。

张晓峰,邱法波,何俊国,曹景玉,王祖森,韩冰.胆管腺瘤临床分析11例.世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1677-1680  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1677.asp>

## 0 引言

胆管腺瘤是一种较为罕见的胆道系统良性肿瘤,起源于胆管黏膜上皮。恶变率高,临床易被忽视或误诊。现对我院经病理证实的11例胆管腺瘤患者的临床资料进行回顾性分析,旨在提高对本病的认识,为本病的临床诊疗提供参考。

## 1 材料和方法

1.1 材料 11例患者,9例女性,2例男性,年龄25-75岁,平均年龄62.2岁。6例患者既往有胆石症病史,其中1例因胆石症行胆囊切除及胆总管切开取石术。临床表现主要为腹痛、黄疸及发热,所有患者均反复出现发热、寒战、黄疸等胆系感染和胆道不全梗阻临床表现。

1.2 方法 分别行实验室检查、影像学检查(B超、CT、磁共振、经内镜逆行胰胆管造影、经皮穿刺胆道造影)以及病理学检查,最后统计11例患者的临床病例资料并进行随访。

## 2 结果

2.1 实验室检查 患者常规术前检查,CA199升高8例,其中1例CA199>1 000 U/L;低蛋白血症7例;谷丙转氨酶及谷草转氨酶升高9例,碱性磷酸酶升高9例,术前所有患者总胆红素及谷氨酰转肽酶均不同程度的升高。

2.2 影像学检查 (1)B超检查: 7例患者行B超检查,均探及胆管扩张及结石,扩张胆管直径可达2 cm,有1例患者发现左右肝管汇合部、肝总管区及胆总管上段管腔内低回声肿物充填,术后病理证实为乳头状腺瘤伴癌变,其余均未发现明显肿块; (2)CT检查: 9例行CT检查,均发现胆管扩张明显,直径 $\geq 2$  cm,6例于胆管内可见结节状软组织密度影,3例仅发现胆管末端截断性狭窄,未见明显肿块。术后病理证实8例为乳头状腺瘤(均伴有黄疸表现),1例管状乳头状腺瘤; (3)磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)检查: 2例行MRI检查,发现胆总管上段、肝总管、左右肝管占位性病变,病变近端胆管扩张显著,考虑胆管癌可能性大。术后病理证实均为乳头状腺瘤伴癌变; (4)经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)检查: 2例行ERCP检查,可见胆总管截断性狭窄,考虑

恶性肿瘤所致。术后病理证实为乳头状腺瘤; (5)经皮穿刺胆道造影(percutaneous cholangiography, PTC)检查: 1例行PTC检查,造影见肝内胆管明显扩张达2 cm,下端结石样充盈缺损影,考虑胆总管下端结石。术后病理证实为乳头状腺瘤伴癌变-高分化腺癌。

2.3 术前诊断 1例误诊为肝内胆管结石,其余10例均考虑胆管占位性病变,性质难定。

2.4 手术及所见 术中见11例患者胆总管均有扩张,其中7例合并有结石,2例切开胆总管后可见其内充满大量胶冻样肿物。术中冰冻考虑为胆管腺瘤(8例乳头状腺瘤,3例管状乳头状腺瘤)。4例行胰十二指肠切除术,3例行肿瘤切除,肝总管空肠Roux-en-Y吻合,3例行左半肝切除,左尾状叶切除,肝外胆管切除,胆囊切除,右肝管空肠Roux-en-Y吻合术,1例因患者一般状况较差仅行肿瘤活检、胆总管切开取石及外引流术。

2.5 病理学检查 11例肿瘤均经病理证实胆管腺瘤,其中乳头状腺瘤8例,管状乳头状腺瘤3例。肉眼见切面灰白质脆,易碎,易脱落,肿瘤直径0.8-5.5 cm,累及胆管壁。镜检可见扩张的胆管上皮增生肿瘤细胞围绕复杂纤维血管组织形成乳头状瘤样结构,表面覆盖单层柱状或立方上皮,核圆形或椭圆形,位于基底部。伴局灶性癌变者可见细胞异形明显,细胞核不规则且重叠,核分裂相多见。伴不典型增生者可见细胞形态不一,伴有变形、浓染细胞核,核分裂相偶见。11例中8例单发,3例多发,4例肿瘤位于左肝管,7例位于胆总管。6例伴有癌变,2例侵达胆管壁外脂肪组织,2例侵达胆管壁肌层,4例伴有不同程度的不典型增生。

2.6 随访 随访期1-120 mo,11例患者均存活。随访的具体情况如表1所示。

## 3 讨论

胆管腺瘤是一种起源于胆管黏膜上皮的良性肿瘤,可广泛累及胆道系统。目前尚无统一分类方法,WHO将腺瘤分为管状腺瘤、乳头(绒毛)状腺瘤和乳头管状腺瘤(混合型)3类<sup>[1]</sup>。文献报道乳头状腺瘤最多,大多数是单发,少数为多处孤立性病灶<sup>[2]</sup>。本病临床较为罕见,术前确诊困难,恶变率高,易被忽视或误诊。Fletcher等<sup>[3]</sup>报道单发胆管乳头瘤19例,不典型增生和癌变率达58%。胆管乳头状瘤病癌变率可达42%-83%<sup>[4,5]</sup>。本组11例患者,其中6例肿瘤局部发生癌变(54.5%),4例不同程度的不典型增生(36.4%)。

表 1 11例胆管腺瘤的临床资料

收集时间	性别	年龄(岁)	胆石症 病史(年)	合并 结石	肿瘤部位	单/ 多发	大量 黏液	病理 分型	不典型增 生/癌变	手术方式	随访结果
2010-07	女	75	40	有	胆总管	单	无	乳头状 腺瘤	癌变	肿瘤切除, 肝总管空肠 Roux-en-Y吻合	15 mo, 存活
2011-06	女	71	无	无	壶腹部	单	无	乳头状 腺瘤	癌变	胰十二指肠切除术	4 mo, 存活
2010-08	女	67	9	有	左肝管	单	无	乳头状 腺瘤	癌变	左半肝切除、右肝管空 肠Roux-en-Y吻合术	14 mo, 存活
2011-03	女	65	6	有	左肝管	多	有	乳头状 腺瘤	无	肿瘤活检、胆总管切开 取石术、T管引流	7 mo, 存活
2010-10	女	72	无	有	壶腹部	单	无	管状乳头 状腺瘤	中-重度	胰十二指肠切除术	12 mo, 存活
2011-04	女	68	无	无	胆总管	单	无	管状乳头 状腺瘤	轻度	胰十二指肠切除术	6 mo, 存活
2011-09	男	50	无	无	胆总管	多	无	乳头状 腺瘤	癌变	胰十二指肠切除术	1 mo, 存活
2011-07	女	60	10	有	左肝管	多	有	管状乳头 状腺瘤	轻度	左半肝切除+胆总管切 开取石+T管引流	3 mo, 存活
2004年	男	25	无	无	左肝管	单	无	乳头状 腺瘤	轻度	左半肝切除术	7年, 存活
2001年	女	75	25	有	胆总管	单	无	乳头状 腺瘤	癌变	肿瘤切除, 肝总管空肠 Roux-en-Y吻合	10年, 存活
2008年	女	56	10	有	胆总管	单	无	乳头状 腺瘤	癌变	肿瘤切除, 胆总管空肠 Roux-en-Y吻合	3年, 存活

■应用要点  
本文主要是通过总结分析胆管腺瘤的临床诊疗特点, 为探索胆管腺瘤的发病机制, 加强对胆管腺瘤的诊断提供帮助, 并为胆管腺瘤的临床治疗提供思路。

本病发病机制尚不清楚, 多数报道认为, 胆管结石、先天性胆管扩张症等慢性胆道疾病引起胆汁淤积和反复感染, 导致胆管周围炎症、胆管上皮增生和不典型增生, 可进一步进展为腺瘤<sup>[6]</sup>。本组11例中, 6例既往有胆石症病史(54.5%), 提示胆道系统结石为胆管腺瘤发病的重要诱因, 对于术前诊断为胆道系统结石的患者应高度警惕合并胆管腺瘤。

胆管腺瘤的临床表现主要为腹痛、黄疸、发热、胆管不完全梗阻, 与胆石症相似。本病具有发病隐匿、进展缓慢等特点, 与胆管癌相比, 本病反复出现胆系感染和黄疸, 多表现为发作性高热、寒战、黄疸, 且黄疸多较胆管癌患者轻。本组11例均反复出现发热、寒战、黄疸等胆系感染表现。

本病实验室检查呈现胆道梗阻的特点, 易与胆石症等混淆, 可通过影像学表现鉴别胆石症。B超及CT等影像学检查很难明确诊断, 但胆管扩张多较明显, 可达2 cm。本资料显示ERCP可以准确定位壶腹部腺瘤, 病理活检可以明确诊断, 是胆总管下段癌首选的检查方法, 检出率高于PTC<sup>[7]</sup>。11例患者中1例误诊为肝内胆管结石, 其余10例均考虑不同部位胆管占位性病变, 性质难定。

胆管腺瘤本身并无特异性的诊断特征, 但通过结合患者病史、临床表现及术中探查有助于本病与恶性肿瘤的鉴别。胆管腺瘤潜伏期长, 临床症状不明显, 一般情况较好, 由于腺瘤及其分泌物、继发感染等导致胆管不完全阻塞, 因此可出现波动性黄疸表现, 且容易反复发生胆道感染, 故胆管壁较厚。而胆道恶性肿瘤多病程较短, 发展迅速, 短时间内即可导致胆道完全梗阻, 黄疸较重, 胆道扩张明显, 但胆道炎症较轻。组织学检查是本病首选的特异性诊断方法, 术中快速冰冻病理检查对于本病的良恶性鉴别具有重要意义。

朱冠宝等<sup>[8]</sup>认为本病具有多发性、双侧性和广泛累及胆管树的特点。本病可广泛累及胆道系统, 恶变率较高, 单发多见, 部分多发者于胆管内常可见大量胶冻样黏液。因此, 对于胆管结石或胆管内可见大量胶冻样黏液的患者应高度警惕合并胆管腺瘤。

根治性手术切除是胆管腺瘤的首选治疗方案, 但由于本病的多发特点, 所以很难完全检出所有病灶, 术中胆道镜有助于提高病变检出率, 对于不愿或者因病变范围较广不能手术者, 可考虑内镜下治疗<sup>[9]</sup>。本资料10例患者行根治性切除, 术后恢复良好, 随访未见明显复发迹象。对



### ■同行评价

本文通过对11例胆管腺瘤患者的临床资料进行回顾性分析,探讨胆管腺瘤的临床病理特点及诊断治疗方法。为胆管腺瘤的临床特点、手术方式、病理分型及术后随访提供了临床数据,有一定的临床价值。

于无法行根治性手术的患者可行姑息性手术切除与引流,本资料1例老年女性因一般情况较差、多次手术史,只能行姑息性手术治疗,但随访发现患者恢复较好,无明显复发迹象。因本病具有多发特点,广泛累及的病变很难完全切除,复发的病变很难再行根治性切除,因此有学者认为胆管腺瘤是肝移植新的适应证,现文献报道的肝移植病例有6例<sup>[10-15]</sup>,但随访期限很短,其有效性还有待进一步评价。

有研究表明<sup>[4]</sup>胆管腺瘤患者的生存期与病理的良恶性关系不密切,而与是否进行根治性切除相关。由于现有病例数较少及随访时间太短,尚不能准确评估本病的生存期。

### 4 参考文献

- 1 黄洁夫. 胆管良性肿瘤的类型及特点. 肝胆胆道肿瘤外科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 770-773
- 2 Marchal G, Gelin J, Van Steenberg W, Fevery J, Vanneste A, Geboes K, Kerremans R, Ponette E, Baert AL. Sonographic diagnosis of intraluminal bile duct neoplasm: a report of 3 cases. *Gastrointest Radiol* 1984; 9: 329-333
- 3 Fletcher ND, Wise PE, Sharp KW. Common bile duct papillary adenoma causing obstructive jaundice: case report and review of the literature. *Am Surg* 2004; 70: 448-452
- 4 Yeung YP, AhChong K, Chung CK, Chun AY. Biliary papillomatosis: report of seven cases and review of English literature. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10: 390-395
- 5 Lee SS, Kim MH, Lee SK, Jang SJ, Song MH, Kim KP, Kim HJ, Seo DW, Song DE, Yu E, Lee SG, Min YI. Clinicopathologic review of 58 patients with biliary papillomatosis. *Cancer* 2004; 100: 783-793
- 6 屠金夫, 黄秀芳, 朱冠保, 李剑敏, 蒋飞照, 张启瑜. 胆管乳头状瘤14例的临床病理及外科治疗. *中华普通外科杂志* 2007; 22: 420-423
- 7 韩新巍, 李臻. 胆管癌并阻塞性黄疸的影像学诊断及介入治疗现状与进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3249-3254
- 8 朱冠保, 程骏, 陈宗静. 胆管乳头状瘤病. *肝胆外科杂志* 1999; 7: 118-120
- 9 杨丽, 杨锦林, 胡兵, 王一平. 胆管乳头状瘤病研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1967-1971
- 10 Imvrios G, Papanikolaou V, Lalountas M, Patsiaoura K, Giakoustidis D, Fouzas I, Anagnostara E, Antoniadis N, Takoudas D. Papillomatosis of intra- and extrahepatic biliary tree: Successful treatment with liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13: 1045-1048
- 11 Ciardullo MA, Pekolj J, Acuña Barrios JE, Gadano A, Mullen E, Castaing D, de Santiñanes E. [Multifocal biliary papillomatosis: an indication for liver transplantation]. *Ann Chir* 2003; 128: 188-190
- 12 Dumortier J, Scoazec JY, Valette PJ, Ponchon T, Boillot O. Successful liver transplantation for diffuse biliary papillomatosis. *J Hepatol* 2001; 35: 542-543
- 13 Marion-Audibert AM, Guillet M, Rode A, Barnoud R, Mesnil A, Ducerf C, Bancel B, Pere-Verge D, Mabrut JY, Viale JP, Souquet JC. [Diffuse biliary papillomatosis: a rare indication for liver transplantation]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33: 82-85
- 14 Beavers KL, Fried MW, Johnson MW, Zacks SL, Gerber DA, Weeks SM, Fair JH, Odell P, Shrestha R. Orthotopic liver transplantation for biliary papillomatosis. *Liver Transpl* 2001; 7: 264-266
- 15 Charre L, Boillot O, Goffette P, Geubel A, Gigot JF, Sempoux C, Lerut J. Long-term survival after isolated liver transplantation for intrahepatic biliary papillomatosis. *Transpl Int* 2006; 19: 249-252

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》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)

# 上消化道异物内镜急诊处理162例

席银雪, 马东升, 于林芳

席银雪, 马东升, 于林芳, 龙岗区第二人民医院 广东省深圳市 518112

作者贡献分布: 此论文由席银雪设计、整理资料; 内镜处理由席银雪、马东升及于林芳操作完成; 图片由马东升与于林芳提供; 数据分析、论文写作由席银雪完成。

通讯作者: 席银雪, 副主任医师, 518112, 广东省深圳市, 龙岗区第二人民医院. xiyinxue2005@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-08-01 修回日期: 2011-12-01

接受日期: 2012-04-10 在线出版日期: 2012-06-28

## Emergency endoscopic management of upper gastrointestinal foreign bodies: An analysis of 162 cases

Yin-Xue Xi, Dong-Sheng Ma, Lin-Fang Yu

Yin-Xue Xi, Dong-Sheng Ma, Lin-Fang Yu, the Second People's Hospital of Longgang, Shenzhen 518112, Guangdong Province, China

Correspondence to: Yin-Xue Xi, Associate Chief Physician, the Second People's Hospital of Longgang, Shenzhen 518112, Guangdong Province, China. xiyinxue2005@yahoo.com.cn

Received: 2011-08-01 Revised: 2011-12-01

Accepted: 2012-04-10 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To summarize our experience with the removal of upper gastrointestinal foreign bodies by emergency endoscopy.

**METHODS:** One hundred and sixty-two patients who underwent removal of foreign bodies in the upper gastrointestinal tract by emergency endoscopy at our hospital from July 2002 to July 2011 were included in the study. There were 89 males and 73 females, and their age ranged from 0.8 to 82 years. The time from swallowing the foreign body to diagnosis was 3 minutes to 9 days. The clinical data for these patients were analyzed.

**RESULTS:** Under local or general anesthesia, a definite diagnosis was made by emergency endoscopy. Based on the location, shape and size of the foreign body, appropriate equipment was selected to remove the foreign body or get it removed through the intestine. Of all 162 patients, satisfactory results were obtained in 155 cases,

and 7 patients were converted to surgery after treatment failure. The success rate for emergency endoscopy in removing upper gastrointestinal foreign bodies was 95.7%. Some patients experienced throat mucosal injury.

**CONCLUSION:** Emergency endoscopy under local or general anesthesia is a safe, effective method for removing upper gastrointestinal foreign bodies.

**Key Words:** Upper gastrointestinal; Foreign body; Emergency; Endoscopy

Xi YX, Ma DS, Yu LF. Emergency endoscopic management of upper gastrointestinal foreign bodies: An analysis of 162 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1681-1684

## 摘要

**目的:** 探讨上消化道异物内镜下急诊诊断及取出的处理方式。

**方法:** 2002-07/2011-07龙岗区第二人民医院胃镜室共完成内镜下急诊异物取出上消化道异物患者162例, 男89例, 女73例, 年龄0.8-82岁, 异物吞入后就诊时间为3 min-9 d, 分析患者临床资料。

**结果:** 采用局麻或全麻下急诊用内镜直视下明确诊断, 按照异物的位置、形态、大小、选择合适的器械, 取出异物或设法让异物通过肠道排出体外。162例患者中155例通过上述方法治疗后取得满意疗效, 7例患者治疗失败后改为手术处理, 内镜下急诊取出治疗上消化道异物成功率为95.7%, 部分并发咽喉黏膜损伤。

**结论:** 经内镜局麻或全麻下急诊取出上消化道异物是一种安全、有效的方法; 手法得当, 用内镜上消化道异物急诊取出应为首选方法, 有器质性病变的患者取出异物后应尽早病因治疗。

**关键词:** 上消化道; 异物; 急诊; 内镜

席银雪, 马东升, 于林芳. 上消化道异物内镜急诊处理162例. 世

## ■背景资料

上消化道异物为常见的急症, 可发生于任何年龄段, 内镜应用之前, 常通过吞钡餐、X射线检查; 随着内镜技术的进展和设备的普及, 内镜下消化道异物取出术逐渐成熟起来。

## ■同行评议者

李旭, 副教授, 南方医院急诊科

## ■ 研究前沿

上消化道异物临床不少见, 多为食用鸡、鸭、鹅、骨、鱼刺等导致, 症状轻者咽喉部疼痛、异物感、胸腹痛、恶心及呕吐, 重者并发上消化道大出血、溃疡、穿孔, 甚至死亡. 特别是食管中段主动脉弓处异物要小心, 此处易导致大出血及死亡.

界华人消化杂志 2012; 20(18): 1681-1684

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1681.asp>

## 0 引言

上消化道异物为常见的急症, 可发生于任何年龄段, 内镜应用之前, 常通过吞钡餐、X射线检查, 确诊后由五官科收住院, 麻醉下应用食管镜将异物取出, 较费时且增加患者痛苦和费用. 若异物位于胃或十二指肠则由外科医生手术取出或期望其自行排出, 这些方法或视野小, 取出成功率低, 或是创伤大, 并发症多. 随着内镜技术的进展和设备的普及, 内镜下消化道异物取出术逐渐成熟起来. 我院胃镜室2002-07/2011-07共完成内镜下急诊异物取出上消化道异物患者162例, 其中155例成功, 7例失败, 现报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2002-07/2011-07龙岗区第二人民医院胃镜室共完成内镜下急诊异物取出上消化道异物患者162例, 男89例, 女73例, 年龄0.8-82岁. 异物吞入后就诊时间为3 min-9 d; 异物种类: 鸡、鸭、鹅、骨共58例; 鱼刺38例; 硬币27例共29枚; 肉团块及瓜块共8例; 瓶塞6例; 枣及枣核4例; 义齿3例; 玻璃块3例共7枚; 项链2例; 戒指2例; 竹筷2例; 不规则形金属片、纽扣、牙签、铁钉、塑料棒、钢笔套、剃须刀片、发夹、牙刷各1例. 因鱼刺或鸭骨刺入食管壁6-8 d已形成食管溃疡的2例; 并存食管癌、贲门癌各1例; 食管贲门癌术后吻合口狭窄1例; 合并胃及十二指肠球部溃疡各3例; 异物部位: 异物在食管入口及食管内114例, 其中4例位于食管中段平主动脉弓处; 胃腔内35例, 十二指肠12例. 并发症: 出现大出血, 咽喉部黏膜损伤11例, 术后予以草珊瑚含片或金嗓子喉宝含化3 d症状消失. 无严重食管黏膜损伤. 胃镜型号: 日产Pantex2400, 日产Olympus1600和2600, 附件包括网篮、圈套器、三抓钳、鼠齿钳等.

**1.2 方法** 详细询问病史, 了解异物部位、种类、大小及嵌顿的时间. 术前一般不必行钡餐检查以免影响内镜诊治. 不能配合的患儿需氯胺酮全麻, 成人咽反射敏感或有恐惧心理的, 应用丙泊酚静脉麻醉, 能配合的患者用地卡因麻醉胶含服后行内镜检查, 选用合适的异物器械钳小心钳取异物或设法让异物经肠道排出体外.

## 2 结果

上消化道异物内镜检查结果见图1. 162例异物

患者在内镜下经异物钳取出或设法让异物通过肠道排出体外者155例, 其中4例为鱼骨嵌顿在食管中段平主动脉弓处, 内镜下急诊取出治疗上消化道异物成功率为95.7%. 部分并发咽喉黏膜损伤. 7例内镜治疗失败改为手术处理.

## 3 讨论

上消化道异物的原因有: (1)器质性原因: 如贲门失弛缓症, 食管中段狭窄(原因不明); 高龄患者食管运动无力致食管堵塞; Plummer-Vinson综合征: 长期严重贫血致食管黏膜异常增生形成食管蹼; 肿瘤或溃疡形成的狭窄等; (2)非器质性原因: 多为误服, 如鸡、鸭、鹅、骨、鱼刺、硬币等. 少数为故意吞服, 如犯人吞服剃须刀片、钢丝、牙刷等.

上消化道异物临床不少见, 多为食用鸡、鸭、鹅、骨、鱼刺等导致, 症状轻者咽喉部疼痛、异物感、胸腹痛、恶心及呕吐, 重者并发上消化道大出血、溃疡、穿孔, 甚至死亡. 特别是食管中段主动脉弓处异物要小心, 此处易导致大出血及死亡<sup>[1-3]</sup>.

本病一旦确诊应尽早内镜将异物取出: 内镜取异物适用于异物在食管至十二指肠部位. 异物取出技巧<sup>[2,3]</sup>: 根据异物特点决定取出方案, 一般异物小、边缘钝且未刺入食管壁黏膜、消化系通畅者, 无需取出, 待自行排出; 若异物大或锐利有刺破管壁及引起梗阻可能的均应取出. 对于锐利异物, 观察其刺入的方向, 顺势拉向口端或胃端而拔出. 若异物两端均刺入食管壁黏膜, 可用内镜前端按压异物一侧的食管壁, 使异物端一侧先游离出来然后取出, 易抓取的用异物钳取出. 较大钝圆的用网篮、圈套器取出<sup>[4]</sup>. 取玻璃及刀片等锐利物时, 为避免食管入口及咽后壁损伤, 可在内镜下用塑料布将异物包裹后用网篮取出<sup>[5,6]</sup>, 或收到外套管内缓慢取出, 以免划伤周围组织. 本组中有2例玻璃及1例剃须刀片用此法成功取出. 牙刷异物: 柄朝上的可用丝线穿入柄尾部的小孔, 用线缓慢拉出. 外科手术<sup>[7]</sup>: 本组病例中有一犯人为了自杀吞服了5片玻璃, 另一犯人吞服一双竹筷, 在手术室中予以直视下开腹取出. 另5例中转手术者, 4例因鸭腿骨深卡在主动脉弓处, 另1例因筷子深卡在十二指肠降部. 异物脱落: 一般较大或较长异物随胃镜取出到达至食管入口时经常脱落. 我们的体会是, 较大或较长异物到食管入口时不要急于将异物拔出, 嘱患者做呕吐动作, 待食管入口开

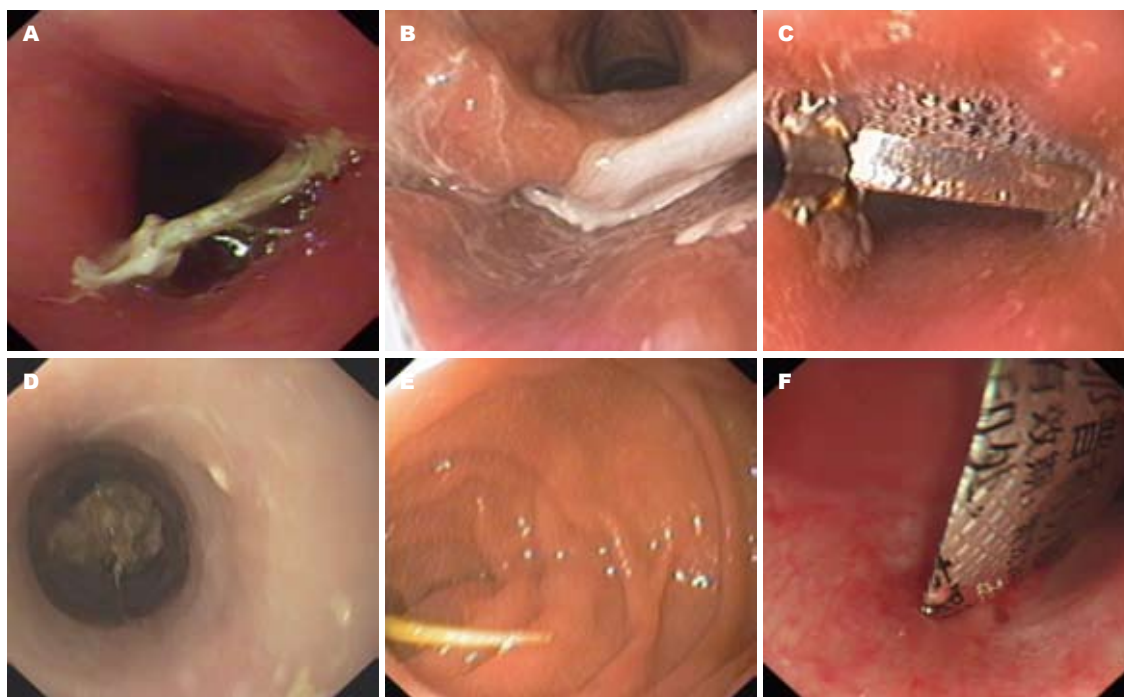


图1 上消化道异物内镜检查。A: 鸭骨横卡在食管; B: 鸡骨卡在食管入口处; C: 钥匙误吞入食管; D: 肉团堵在食管; E: 误吞牙签后滑落至十二指肠降部; F: 误吞药物及硬质外包装, 在食管。

#### ■应用要点

根据异物特点决定取出方案, 一般异物小、边缘钝且未刺入食管壁黏膜、消化系通畅者, 无需取出, 待自行排出; 若异物大或锐利有刺破管壁及引起梗阻可能的均应取出。

放时顺势将胃镜滑出, 异物随之顺利到达口腔, 并可减少咽喉部黏膜损伤。吞钡透视: 大部分患者就诊时胃内食物未排空, 如先行钡餐检查, 更增加寻找及夹取异物的难度。本组1例误吞鱼刺的患者, 因食管内挂棉钡剂滞留多, 未能发现异物。于第2天空腹后复查胃镜找到鱼刺并取出。因此我们认为, 在胃镜检查前不宜做钡餐检查, 钡餐仅用于疑有异物而胃镜不能发现者<sup>[8]</sup>。内镜异物取出后治疗: 上消化道异物取出后, 较重者应常规应用抗生素及制酸药。因患者一旦出现局部感染化脓, 特别是食管可能会出现溃疡及穿孔, 并进一步形成食管胸膜漏等。

总之, 本组资料内镜下急诊取出治疗上消化道异物成功率为95.7%, 与Park、陈中和等<sup>[9,10]</sup>报道成功率一致。经内镜局麻或全麻下急诊取出上消化道异物是一种安全、有效的方法<sup>[11-13]</sup>, 此法优点: 准确、省时、损伤小; 手法得当, 用内镜上消化道异物急诊取出应为首选方法<sup>[14,15]</sup>, 有器质性病变的患者取出异物后应尽早病因治疗。

#### 4 参考文献

- 王盛根, 王寿九, 郭枫, 涂金兰, 吴楠, 潘桂红, 焦霞. 91例上消化道异物胃镜治疗体会. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 193-194
- Zhang S, Cui Y, Gong X, Gu F, Chen M, Zhong B. Endoscopic management of foreign bodies in the upper gastrointestinal tract in South China: a retrospective study of 561 cases. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1305-1312
- Peonim V, Udnoon J. Left subclavian arterioesophageal fistula induced by chicken bone with upper gastrointestinal hemorrhage and unexpected death: report of a case. *J Med Assoc Thai* 2010; 93: 1332-1335
- Katsinelos P, Kountouras J, Paroutoglou G, Zavos C, Mimidis K, Chatzimavroudis G. Endoscopic techniques and management of foreign body ingestion and food bolus impaction in the upper gastrointestinal tract: a retrospective analysis of 139 cases. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 784-789
- 张月寒, 张建生, 焦洋. 改造取石网篮在上消化道异物中的应用体会. 中国内镜杂志 2006; 12: 1176-1177
- 王进. 上消化道异物176例内镜钳取体会. 郑州大学学报(医学版) 2007; 42: 371-372
- Syrakos T, Zacharakis E, Antonitsis P, Zacharakis E, Spanos C, Georgantis G, Kiskinis D. Surgical intervention for gastrointestinal foreign bodies in adults: a case series. *Med Princ Pract* 2008; 17: 276-279
- 王琛, 许树长, 张霞, 张东伟, 陈锡美. 上消化道异物内镜下治疗61例. 同济大学学报(医学版) 2008; 29: 59-61
- Park JH, Park CH, Park JH, Lee SJ, Lee WS, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS, Kim SJ. [Review of 209 cases of foreign bodies in the upper gastrointestinal tract and clinical factors for successful endoscopic removal]. *Korean J Gastroenterol* 2004; 43: 226-233
- 陈中和, 张梅, 朱柏桂, 汤宗示, 卢全娣. 内镜诊治上消化道异物224例. 现代消化及介入诊疗 2006; 11: 125-126
- 廖跃光, 谢志军, 付曲波, 江萌, 黄才斌. 胃镜治疗上消化道异物81例分析. 赣南医学院学报 2007; 29: 354-355
- 杨善峰, 李祥, 石振旺, 王志红, 李兆梅, 戴丽. 内镜治疗上消化道异物106例. 中华全科医学杂志 2008; 6: 907-908
- 赖亚栋, 陈俊杰, 许向农, 孙斌, 刘麒樱, 林淑惠, 陈雪芬. 385例上消化道异物的急诊胃镜诊疗分析. 中国消化内镜 2009; 3: 15-20

## ■同行评价

本研究有一定的  
实用性, 文章条理  
清晰, 分析合理。

- 14 毛果伟, 朱俊, 陈志荣, 龚菲, 郑丽华, 任伯良, 149例故意摄入上消化道异物的处理. 苏州大学学报(医学版) 2008; 28: 1083-1084
- 15 Arms JL, Mackenberg-Mohn MD, Bowen MV, Chamberlain MC, Skrypek TM, Madhok M,

Jimenez-Vega JM, Bonadio WA. Safety and efficacy of a protocol using bougienage or endoscopy for the management of coins acutely lodged in the esophagus: a large case series. *Ann Emerg Med* 2008; 51: 367-372

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 •

## 百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

**本刊讯** 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊。12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文。12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)



# 功能性便秘动力学改变与情志因素的相关性

迟玉花, 赵刚

迟玉花, 赵刚, 青岛大学医学院附属医院肛肠科 山东省青岛市 266000

迟玉花, 主治医师, 主要从事中西医结合治疗肛肠病方面的研究。  
作者贡献分布: 本研究由赵刚进行试验设计、论文修改; 迟玉花完成实验操作、论文撰写。

通讯作者: 赵刚, 副主任医师, 266000, 山东省青岛市黄岛区五台山路1677号, 青岛大学医学院附属医院。

zhaogang7938@sina.com

电话: 0532-82919561

收稿日期: 2012-02-21 修回日期: 2012-03-13

接受日期: 2012-04-25 在线出版日期: 2012-06-28

## Correlation of anorectal motility with anxiety and depression in patients with functional constipation

Yu-Hua Chi, Gang Zhao

Yu-Hua Chi, Gang Zhao, Department of Proctology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Correspondence to: Gang Zhao, Associate Chief Physician, Department of Proctology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Huangdao District, Qingdao 266000, Shandong Province, China. zhaogang7938@sina.com

Received: 2012-02-21 Revised: 2012-03-13

Accepted: 2012-04-25 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation of anorectal motility with anxiety and depression in patients with functional constipation (FC).

**METHODS:** Anorectal manometry was used to examine the changes in anorectal function. The quality of life affected by constipation was evaluated using the 36-item short form health survey scale. Anxiety and depression were assessed using the Zung self-rating anxiety and depression scales.

**RESULTS:** The quality of life scores in FC patients were significantly lower than those in healthy controls. The quality of life scores were negatively correlated with anxiety and depression in FC patients. Anorectal motility parameters were significantly associated with anxiety and depression. Anal squeeze pressure and anal

squeeze pressure duration were negatively correlated with anxiety and depression, while anal resting pressure, first sensation volume, defecating sensation volume, and maximum tolerable volume were positively correlated with anxiety and depression.

**CONCLUSION:** FC patients tend to suffer from anxiety and depression. The quality of life in FC patients negatively correlates with anxiety and depression. Anorectal motility parameters are closely associated with anxiety and depression in FC patients.

**Key Words:** Functional constipation; Anorectal motility; Anxiety and depression

Chi YH, Zhao G. Correlation of anorectal motility with anxiety and depression in patients with functional constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1685-1689

## 摘要

**目的:** 分析功能性便秘(functional constipation, FC)肛肠动力学与患者生活质量及情志因素相关性。

**方法:** 患者进行肛肠动力学指标观察分析, 采用生命质量调查问卷、精神心理状态评定量表问卷调查, 进行动力学指标和情志因素相关性分析。

**结果:** 患者组生活质量所有8个维度的评分均低于健康对照组, 存在明显的焦虑、抑郁情绪。焦虑、抑郁积分与生活质量负相关; 肛肠动力学和精神心理因素相关( $P<0.05$ ), 肛管缩榨压及其持续时间与抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)、焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)呈负相关; 初始感觉阈值、排便感觉阈值和最大耐受容量与SAS、SDS呈正相关。

**结论:** 便秘显著损害患者的生存质量, 易合并有焦虑、抑郁等情志因素的异常。焦虑、抑郁和生存质量相关, 肛肠动力学和精神心理因素相关。

## ■背景资料

功能性便秘(FC)临床表现复杂, 影响患者的生活质量, 动力学检查对肛管直肠的运动提供了一种有效的定量手段。

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

## ■ 研发前沿

随着医学分子生物学的发展,可深入研究情绪改变的生化基础及其与胃肠功能变化的关系。

**关键词:** 功能性便秘; 肛肠动力学; 情志因素

迟玉花, 赵刚. 功能性便秘动力学改变与情志因素的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1685-1689

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1685.asp>

## 0 引言

功能性便秘(functional constipation, FC)一般病程较长, 反复发作, 不是单一因素的疾病, 而是多因素多种疾病可能产生的一组症状, 临床表现复杂多样, 严重地影响了患者的生活质量. 国内外的调查均显示, 便秘患病率逐年增高, 使他们的精神与肉体遭受到极大的伤害, 但是却易被医护人员及患者忽视. 随着临床病例研究的深入, 我们发现FC表现出多种病因, 联合致病, 但主要还是结直肠动力障碍所致. 近年来, 肛肠动力学的检测技术和观察指标不断提高, 可以通过判断有无直肠、盆底功能异常或直肠感觉阈值异常, 对盆底运动状态下的功能进行定性、定量观察, 从而在肛肠疾病的诊断和研究中得到广泛应用. 随着生物-心理-社会医学模式的提出, 精神心理社会因素在疾病中的作用越发受到重视, 精神心理因素在FC中作用机制复杂, 影响患者的生存质量. 心理因素异常不仅是胃肠疾病发生的诱因, 也是胃肠疾病的表现. 本研究以肛肠动力学检测和问卷调查的方式对门诊便秘患者的症状谱、精神心理状况、生命质量状况等方面进行相关性分析, 将生物和心理社会因素结合起来研究FC, 为临床诊疗提供了新的诊疗思路和方法.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究对象为肛肠科门诊及病房的FC患者, 采用功能性便秘的罗马III标准, 根据临床症状可分为结肠慢传输型(slow transit constipation, STC)和出口梗阻型(outlet obstructive constipation, OOC)2个基本类型. STC和OOC同时存在为混合型(mix constipation, MC). 排除胃肠道器质性疾病和药物所致便秘.

### 1.2 方法

**1.2.1 肛肠动力学检测:** 肛肠动力学检测采用荷兰Medical Measurement Systems公司生产的系列仪器. 直肠肛管压力测定的检测指标包括以下几个方面: (1)直肠静息压(rectal resting pressure, RRP)及肛管静息压(anal resting pressure, ARP)的测定. 测定时受检者处于平静放松状态, 依次记录8个通道的压力, 2、3、4、5通道记录

的为ARP, 而8通道记录的压力为RRP. 以上检测连续重复3次, 然后取2、3、4、5通道中最大压力的数值为ARP, 取8通道中3次检测的平均值为RRP; (2)肛管缩榨压(anal squeeze pressure, ASP)及肛管缩榨压持续时间(anal squeeze pressure time, ASPt)的测定: 嘱受检者做用力屏大便动作(用力收缩肛门动作), 重复2次, 每次间隔30 s, 记录4个通道压力及动作持续时间, 最大压力为肛管缩榨压, 记录的时间为持续时间; (3)直肠肛管抑制反射(rectoanal inhibitory reflex, RAIR): 测试时, 以10 mL/次的梯度, 2 mL/s的速度向测压球囊注入空气, 3-5 s后放出空气, 记录是否出现RAIR; 重复上述操作, 分别注入10、20、30、40、50 mL的空气, 直至出现RAIR为止. 直肠肛门抑制反射的3种状态: 存在、不典型、缺乏; (4)直肠感觉功能检测: 受试者直肠感觉功能检测指标主要有: 分别检测直肠对容量刺激的初始感觉阈值(first sensitive volume, FSV)、排便感觉阈值(defecating sensation volume, DSV)、排便窘迫阈值(defecating tolerable volume, DTV)、直肠最大耐受量(maximum tolerable volume, MTV). 在具体检测中, 对受试者以10 mL/次的梯度, 2 mL/s的速度, 间隔30 s缓缓地气囊内注气, 当受试者感到直肠被扩张时的最小注气量为FSV, 受试者感到有便意时的最小注气量为DSV, 当受试者出现尚可控制的排便感的注气量为DTV, 当受试者出现不可控制的排便感的注气量即为MTV.

**1.2.2 便秘临床症状调查分析:** 入选者须符合“罗马III诊断标准”. 入选者需排除结直肠肿瘤等所引起的梗阻性便秘.

**1.2.3 精神心理状态评定量表:** 抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)和焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)<sup>[1]</sup>使用简单, 能相当直观地反映患者抑郁或焦虑的主观感受, 基本达到量化, 使用者不需要经过特殊训练. 嘱患者本人根据最近1-2 wk的实际情况, 对问卷中的问题作出合适的选择, 医生进行必要的解释. 根据患者选择, 计算粗分和标准评分. SDS与SAS按症状出现频度评定, 分4个等级: 没有或很少时间, 少部分时间(3-5 d), 相当多时间(6-10 d), 绝大部分或全部时间(11-14 d). 若为正向评分题, 依次评为粗分1、2、3、4. 反向评分题(文中有\*者), 则评为4、3、2、1. 病情指数 = 总分(累加分)/80(满分)×100%. 该值越大, 病情越重. 标准评分50%以下为正常范围; 50%以上为抑郁或焦

虑; 50%-59%为轻度抑郁或焦虑; 60%-69%为中度抑郁或焦虑; 70%为重度抑郁或焦虑。

1.2.4 SF-36生命质量调查问卷表: SF-36(short form health survey, SF-36)<sup>[2]</sup>主要用于14岁以上普通人群的健康测量。从定量化的角度, 比较直观、全面地反映人群的健康状况, 且易于管理和操作, 包括10项共36个条目, 分为8个维度, 分别是生理功能(physical function, PF)、生理角色限制(role physical, RP)、躯体疼痛(body pain, BP)、总体健康(general health, GH)、活力(vitality, VT)、社会功能(social function, SF)、情感角色限制(role emotional, RE)、心理健康(mental health, MH)。在所有条目中, 除第1个条目(健康自我评价变化)外, 其余均被用来计算得分。前4个维度被定义为生理健康内容(physical health components, PHC), 后4个维度被定义为心理健康内容(mental health components, MHC)。评分越高, 说明生命质量越好。

其评分方法是逐条回答SF-36中的每1个问题, 其中躯体角色功能和情绪角色功能的问题回答“是”或“否”, 其余问题的回答分4个或5个等级, 每个问题根据其代表的功能损害的严重程度, 将各维度得分转换成百分制。每一维度最大可能评分为100, 最小分为0, 8个维度得分之和为综合分数, 得分越高所代表的功能损害越轻。各个维度的原始分按量表转换公式: 各维度转换得分 = [(原始分-最低可能评分)/一般平均可能评分] × 100。

**统计学处理** 使用SPSS16.0统计分析软件。根据观察指标和数据的不同, 计量资料采用频数统计、均值计算、中位数计算等统计学处理, 用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 形式表示, 多组间比较用方差分析, 组间两两比较用 $t$ 检验; 计数资料采用 $\chi^2$ 检验。变量之间采用Logistic回归及线性相关分析, 相关系数 $r$ 值为正, 表示正相关;  $r$ 值为负, 表示负相关。  $P < 0.05$ 为差异有显著性,  $P < 0.01$ 为差异有非常显著性。

## 2 结果

2.1 症状分布与性别、年龄、病程的关系 分析各种症状在不同性别、年龄和便秘病程的患者中的分布规律, 以患者有无某症状为应变量(0表示无此症状, 1表示有此症状), 以年龄、性别(0为男, 1为女)、病程为自变量, 作应变量为二分类的Logistic回归分析。结果显示在不同性别、年龄、病程的患者中, 某些症状的出现率存在差

表 1 症状分布与性别、年龄、病程的关系

项目	症状
在病程长的患者中更多见的症状	排便不尽感 排便梗阻感 手助排便
在年龄相对较大的患者中更多见的症状	排便费力 排便不尽感 手助排便 硬粪便
在女性患者中更多见的症状	排便不尽感 手助排便 排便费力
分布与性别、年龄、病程均无关的症状	排便次数 排便时间 腹胀

对于便秘相关症状, 除排便次数、排便时间、大便性状等客观症状外, 其他主观症状只有当其强度在中等以上或出现频率在经常以上时才认为患者具有此症状(如“排便不尽感”, 当患者经常或每次排便后都有此症状时, 我们认为患者有此症状)。

表 2 FC和正常对照SAS和SDS自评量表比较 ( $\text{mean} \pm \text{SD}$ )

	SAS标准分	SDS标准分
FC	$57.68 \pm 6.83$	$56.67 \pm 6.29$
健康对照组	$44.50 \pm 2.37$	$41.85 \pm 2.14$
$t$ 值	12.907	15.941
$P$ 值	0.008	0.005

异(表1)。

## 2.2 精神心理状况和生命质量

2.2.1 精神心理状况: 患者和健康对照比较, 患者存在明显的焦虑、抑郁状态, 经统计学处理差异极显著( $P < 0.01$ , 表2)。

2.2.2 SF-36问卷: 接受调查的便秘患者和健康对照生活质量方面的比较, 患者组所有8个维度的评分均低于健康对照组, 除生理职能、活力和情感职能外, 经统计学处理,  $P < 0.01$ (表3)。

2.2.3 便秘患者生活质量与焦虑、抑郁情绪的相关性: 患者焦虑、抑郁积分与其生活质量呈负相关, 焦虑、抑郁积分越高, 生活质量越低。提示不良精神因素可能是FC患者生活质量欠佳的主要原因(表4)。

2.2.4 FC肛肠动力学指标与焦虑、抑郁情绪的相关性: FC患者肛管缩榨压及缩榨压持续时间与SAS、SDS评分呈负相关; 初始感觉阈值、排便感觉阈值和最大耐受容量与SAS、SDS呈正相关, 经统计学处理,  $P < 0.05$ (表5)。

## ■应用要点

本课题对FC通过生物反馈训练, 脑肠共治, 可改善患者的肛肠动力学指标, 患者临床症状的缓解又有助于改善患者情绪。

## ■同行评价

该课题立体合理, 手段科学, 结论可信, 对临床有一定指导意义.

表 3 便秘患者和健康对照生命质量方面的比较 (分, mean  $\pm$  SD)

SF-36	便秘患者	健康对照	P值
生理功能(RF)	84.12 $\pm$ 12.71	94.50 $\pm$ 4.38	0.001
生理职能(RP)	72.94 $\pm$ 17.56	85.00 $\pm$ 12.91	0.734
躯体疼痛(BP)	65.06 $\pm$ 15.80	85.56 $\pm$ 5.37	0.001
总体健康(GH)	71.57 $\pm$ 10.58	87.00 $\pm$ 3.50	0.001
活力(VT)	68.40 $\pm$ 13.50	85.00 $\pm$ 8.82	0.179
社会功能(SF)	74.24 $\pm$ 16.56	92.80 $\pm$ 6.20	0.001
情感职能(RE)	67.52 $\pm$ 19.91	76.90 $\pm$ 15.94	0.722
精神健康(MH)	61.90 $\pm$ 9.36	78.40 $\pm$ 2.07	0.000

表 4 便秘患者生活质量与焦虑、抑郁情绪的相关性

生活质量各维度	相关系数	
	SAS	SDS
生理功能(RF)	-0.031 <sup>b</sup>	-0.097 <sup>a</sup>
生理职能(RP)	-0.067 <sup>b</sup>	-0.049 <sup>a</sup>
躯体疼痛(BP)	-0.049 <sup>b</sup>	-0.059 <sup>a</sup>
总体健康(GH)	-0.082 <sup>b</sup>	-0.097 <sup>a</sup>
活力(VT)	-0.048 <sup>b</sup>	-0.145 <sup>a</sup>
社会功能(SF)	-0.087 <sup>b</sup>	-0.079 <sup>a</sup>
情感职能(RE)	-0.031 <sup>b</sup>	-0.083 <sup>a</sup>
精神健康(MH)	-0.082 <sup>b</sup>	-0.217 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01.

表 5 肛肠动力学指标与焦虑、抑郁情绪的相关性

肛肠动力学指标	相关系数	
	SAS	SDS
RRP	-0.228	-0.104
ARP	-0.038	-0.066
ASP	-0.013 <sup>a</sup>	-0.021 <sup>a</sup>
ASPt	-0.144 <sup>a</sup>	-0.083 <sup>a</sup>
初始感觉阈值	0.091 <sup>a</sup>	0.053 <sup>a</sup>
排便感觉阈值	0.029 <sup>a</sup>	0.011 <sup>a</sup>
排便窘迫阈值	0.013	0.024
最大耐受容量	0.017 <sup>a</sup>	0.104 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05.

## 3 讨论

便秘患者易出现焦虑抑郁状态, 一方面因长期受病痛折磨, 严重影响生活质量, 在生理、心理上产生明显的负面影响; 另一方面, 心理障碍可影响脑-肠轴的调控, 进一步损害排便机制, 降低疗效, 使患者缺乏信心和耐心, 降低治疗依从性<sup>[3]</sup>. 肠道功能既受自主神经系统的控制, 也受神经内分泌的影响, 这2个系统中枢与情感中枢

的皮层下整合中心位于同一解剖部位<sup>[4]</sup>. 精神抑郁、过分激动或负性生活事件使机体条件反射障碍, 高级中枢对副交感神经抑制增强, 导致肠壁交感神经活动加强<sup>[5]</sup>. 异常的精神心理因素导致肠道动力和感觉异常有明确的解剖生理学基础<sup>[6]</sup>, 患者不同的主观感受可能与不同中枢处理过程有关<sup>[7]</sup>. 杨崇美等<sup>[8]</sup>研究FC初始感觉阈值、疼痛阈值、排便阈值及引起肛门直肠抑制反射的最低充气量均高于对照组, 说明患者可能存在内脏感觉异常, 心理障碍尤其焦虑可增加盆底肌群的紧张度, 从而引起排便时肛门直肠矛盾运动<sup>[9]</sup>. 林征等<sup>[10]</sup>研究表明FC症状的发生或加重往往与工作生活中某些导致心理应激的事件有关, 导致人体正常生理功能紊乱, 影响胃肠道功能.

本研究我们认识到, 生活质量及精神心理状态与FC有着密切关系, FC患者更易表现为焦虑和抑郁等心理障碍, 精神心理因素和便秘症状可能通过肛肠动力学变化而互相影响, 便秘可能作为一种躯体化症状(somatization symptom), 随着抑郁和/或焦虑精神心理障碍的发展而持续存在, 这类患者的便秘症状往往由心理冲突、情绪矛盾转化而来<sup>[11,12]</sup>, 精神心理因素导致肛门直肠动力学异常而产生便秘<sup>[13]</sup>. 此外, 抑郁情绪会导致直肠敏感性降低, 直肠壁容量扩张机械刺激引起排便反射所需容积增加, 患者感觉功能受损, 缺乏便意感. 徐海珊等<sup>[14]</sup>发现部分便秘患者, 由于精神因素经常或长时间地用意识主动收缩括约肌抑制排便, 结果肛管静息压和直肠感觉增高, 不仅使直肠对粪便刺激的敏感性降低或消失, 而且由于随意性抑制反射作用, 抑制直肠收缩, 加大了直肠扩张度, 导致直肠顺应性过高, 直肠无力, 因而产生便秘.

总之, 本研究发现, 焦虑、抑郁等心理因素对慢性便秘患者的生活质量存在着广泛的负面

影响, 并涉及到生活质量的多个领域<sup>[15]</sup>. 所以, 在今后治疗中必须对患者进行多因素的动力学、心理学等研究和详细分析, 加强对FC症状人群的生活质量和精神心理状态与肛肠动力学的相关性研究, 为临床治疗提供依据.

#### 4 参考文献

- 1 汪向东, 王希林, 马弘. 心理卫生评定量表手册(增订版). 北京: 中国心理卫生杂志社, 1999: 194-196, 235-238
- 2 Ware JE, Snow KK, Kosinski M, Gandek B. SF-36 Health Survey: Manual and Interpretation Guide. Boston. MA: The Health Institute, 1993
- 3 Lembo A, Camilleri M. Chronic constipation. *N Engl J Med* 2003; 349: 1360-1368
- 4 Lydiard RB. Irritable bowel syndrome, anxiety, and depression: what are the links? *J Clin Psychiatry* 2001; 62 Suppl 8: 38-45, discussion 46-47
- 5 林征. 老年人慢性便秘的社会心理因素分析及其治疗. *实用老年医学* 2010; 24: 110-112
- 6 周吕, 柯美云. 神经胃肠病学与动力: 基础与临床. 北京: 北京科学出版社, 2005: 349-368
- 7 匡荣光, 匡彦, 左秀丽, 王建文, 吕国苹. 功能性便秘患者直肠扩张脑诱发电位研究. *中国医师杂志* 2008; 10: 1380-1381
- 8 杨崇美, 李延青, 朱强, 刘吉勇, 朱菊人. 慢性功能性便秘肛门直肠敏感性和排便动力学研究. *临床内科杂志* 2004; 21: 538-539
- 9 李岩. 功能性便秘与精神心理因素. *中国实用内科杂志* 2004; 24: 195-196
- 10 林征, 林琳, 张红杰, 王美峰. 功能性便秘患者社会、心理、行为状况调查及生物反馈治疗效果随访. *中国临床康复* 2005; 9: 67-69
- 11 王玉明, 王邦茂. 慢通过型便秘诊治进展. *大肠肛门病外科杂志* 2002; 8: 194-197
- 12 吴文源, 季建林. 综合医院精神卫生. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2001: 35-98
- 13 周丽荣, 林征, 林琳, 张红杰, 王美峰, 朱芬芬, 叶咏梅. 功能性便秘患者肛门直肠动力学与精神心理因素的相关性分析. *中华消化杂志* 2009; 29: 132-133
- 14 徐海珊, 姜铀. 慢性特发性便秘患者肛门直肠动力学及精神心理因素的研究. *临床内科杂志* 2001; 18: 379-381
- 15 柯美云, 王英凯. 老年人慢性便秘的流行病学和研究进展. *实用老年医学* 2010; 24: 92-94

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》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法. 定量评价指标体系采用了被引量、被引量、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).



# 结直肠癌肝转移的危险因素分析138例

王健, 余强

## ■背景资料

肝脏是结直肠癌远处转移的主要好发部位。越来越多的专家学者尝试分析与结直肠癌肝转移相关的临床病理危险因素, 以期对结直肠癌肝转移的早期预测及合理治疗提供一定的理论依据。

王健, 常熟市第五人民医院肿瘤内科 江苏省常熟市 215500  
余强, 南京医科大学附属苏州市立医院消化内科 江苏省苏州市 215002

王健, 主治医师, 主要从事肿瘤内科治疗研究。

作者贡献分布: 王健与余强对此文所作贡献均等; 此研究由王健与余强设计; 研究过程由王健与余强操作完成; 数据分析由王健完成; 本论文写作由王健与余强完成。

通讯作者: 余强, 主治医师, 215002, 江苏省苏州市道前街26号, 南京医科大学附属苏州市立医院消化内科。24500265@qq.com  
电话: 0512-62362044

收稿日期: 2012-02-09 修回日期: 2012-05-03

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-06-28

## Analysis of prognostic factors in patients with colorectal cancer with liver metastases

Jian Wang, Qiang Yu

Jian Wang, Department of Medical Oncology, the Fifth People's Hospital of Changshu, Changshu 215500, Jiangsu Province, China

Qiang Yu, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Qiang Yu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 26 Daoqian Street, Suzhou 215002, Jiangsu Province, China. 24500265@qq.com

Received: 2012-02-09 Revised: 2012-05-03

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To explore prognostic factors in patients with colorectal cancer with liver metastases.

**METHODS:** The survival and prognostic factors in 138 patients with liver metastases from colorectal cancer, who had complete follow-up data, were retrospectively assessed by Kaplan-Meier analysis and multivariate regression analysis.

**RESULTS:** The median survival time of the 138 patients was 18.3 months. Univariate analysis demonstrated that age ( $P = 0.460$ ), primary tumor site ( $P = 0.568$ ), primary tumor size ( $P = 0.250$ ), and histological grade of primary tumor ( $P = 0.589$ ) had no significant correlation with the overall survival. However, gender ( $P = 0.048$ ), pretreatment serum CEA level ( $P = 0.023$ ),

number ( $P = 0.000$ ) and size ( $P = 0.001$ ) of liver metastases, lymphatic invasion ( $P = 0.001$ ), and resection of liver metastases ( $P = 0.002$ ) were all independently related with the prognosis of patients. Multivariate regression analysis showed that pretreatment serum CEA level ( $P = 0.028$ ), number ( $P = 0.001$ ) and size ( $P = 0.001$ ) of liver metastases, lymphatic invasion ( $P = 0.049$ ), and resection of liver metastases ( $P = 0.003$ ) were key factors affecting the prognosis of patients with liver metastases from colorectal cancer.

**CONCLUSION:** Pretreatment serum CEA level, number and size of liver metastases, lymphatic invasion, and resection of liver metastases are independent prognostic factors for colorectal cancer with liver metastases.

**Key Words:** Colorectal cancer; Liver metastases; Risk factor

Wang J, Yu Q. Analysis of prognostic factors in patients with colorectal cancer with liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1690-1693

## 摘要

**目的:** 探讨影响结直肠癌肝转移的危险因素。

**方法:** 采用Kaplan-Meier和多因素回归分析方法, 分析138例有完整随访资料的结直肠癌肝转移患者的生存情况及影响预后的相关因素。

**结果:** 138例患者的中位生存时间为18.3 mo。单因素分析显示, 患者年龄( $P = 0.460$ )、原发肿瘤部位( $P = 0.568$ )、原发肿瘤最大直径( $P = 0.250$ )、原发肿瘤组织学分级( $P = 0.589$ )与患者的总生存时间无关, 而性别( $P = 0.048$ )、治疗前血清CEA水平( $P = 0.023$ )、肝转移灶数目( $P = 0.000$ )、肝转移灶最大直径( $P = 0.001$ )、区域淋巴结转移情况( $P = 0.001$ )、肝转移灶手术与否( $P = 0.002$ )与患者的预后有关。多因素回归分析显示, 治疗前血清CEA水平( $P = 0.028$ )、肝转移灶数目( $P = 0.001$ )、肝转移灶最大直径( $P = 0.001$ )、区域淋巴结转移情况( $P = 0.049$ )、肝转移灶手术与否( $P = 0.003$ )是影响结直肠癌肝转移患者预后的主

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

要因素.

**结论:** 治疗前血清CEA水平、肝转移灶数目、肝转移灶最大直径、区域淋巴结转移情况、肝转移灶手术与否是结直肠癌肝转移患者预后的影响因素; 治疗前血清CEA水平越低、肝转移灶数目越少、肝转移灶最大直径越小、无区域淋巴结转移、肝转移灶通过手术治疗的患者预后越好.

**关键词:** 结直肠癌; 肝转移; 危险因素

王健, 余强. 结直肠癌肝转移的危险因素分析138例. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1690-1693  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1690.asp>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer)是常见的恶性肿瘤之一, 据报道, 2010年全美有102 900例结肠癌和约39 670例直肠癌的新发病例, 而有51 370例患者死于结直肠癌<sup>[1]</sup>. 有研究显示, 15%-25%的结直肠癌患者同时存在肝脏转移<sup>[2]</sup>, 而经手术切除的结直肠癌患者中, 约50%的患者最终会发生肝转移<sup>[3]</sup>. 本研究回顾2007-01/2010-12常熟市第五人民医院及南京医科大学附属苏州市立医院收治的138例结直肠癌肝转移患者的临床资料, 研究结直肠癌肝转移的相关危险因素.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本组结直肠癌肝转移患者138例, 其中男78例, 女60例. 年龄30-85岁, 中位58岁. 结肠癌52例, 直肠癌86例.

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 本组病例中125例进行了原发病灶手术, 其中根治性手术112例, 姑息性手术13例. 肝转移灶手术切除19例, 未行肝转移灶手术切除119例. 单纯行全身化疗84例, 肝转移灶介入化疗联合全身化疗31例, 单纯肝转移灶介入化疗15例, 未化疗8例. 所有患者均经CT、B超、术中探查或术后病理学检查证实为肝转移.

**1.2.2 随访:** 患者随访时间为6-48 mo, 中位随访时间26 mo. 随访方式为门诊、信访和电话随访, 本组无失访病例.

**统计学处理** 所有资料应用SPSS17.0统计学软件进行统计分析, 生存曲线采用Kaplan-Meier方法, 并用Log-rank检验. 建立COX比例风险回归模型进行多因素分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

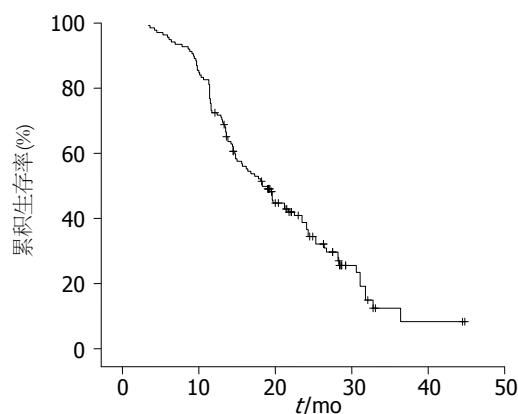


图1 138例结直肠癌肝转移患者总生存曲线.

## ■创新盘点

收集结直肠癌肝转移患者的临床资料及预后情况, 用Kaplan-Meier生存分析及Log-rank检验进行单因素分析, 将有统计学意义的预后因素纳入Cox回归模型进行多因素分析, 从而得出结直肠癌肝转移的临床预后因素及治疗方案对预后的影响.

## 2 结果

**2.1 生存分析** 本组138例结直肠癌肝转移患者总生存期为3.4-44.8 mo, 中位生存期为18.3 mo. 生存曲线见图1.

**2.2 单因素分析** 单因素分析结果显示, 患者性别、治疗前血清CEA水平、肝转移灶数目、肝转移灶最大直径、区域淋巴结转移情况、肝转移灶手术与否均与预后有关, 患者为女性、治疗前血清CEA水平 $< 20 \mu\text{g/L}$ 、肝转移灶数目仅1个、肝转移灶最大直径 $< 3 \text{ cm}$ 、区域淋巴结没有转移、肝转移灶施行手术切除者预后较好(表1).

**2.3 多因素分析** 将单因素分析结果有统计学意义的6个因素作为自变量, 生存时间作为应变量, 应用COX比例风险回归模型进行多因素分析. 结果显示治疗前血清CEA水平、肝转移灶数目、肝转移灶最大直径、区域淋巴结转移情况、肝转移灶手术与否是影响结直肠癌肝转移患者预后的主要因素(表2).

## 3 讨论

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 肝脏是结直肠癌远处转移的好发部位, 继发性肝癌中最常见的就是结直肠癌肝转移. 结直肠癌肝转移死亡占结直肠癌死亡的60%-71%<sup>[4]</sup>, 如不进行治疗, 中位生存期仅为6-12 mo<sup>[5]</sup>. 结直肠癌肝转移是影响患者远期疗效的一个重要因素. 本研究中, 单因素显示结直肠癌患者性别与预后有一定相关, 但在多因素分析中被排除. 表明患者性别并非独立危险因素. 而治疗前血清CEA水平、肝转移灶数目、肝转移灶最大直径、区域淋巴结转移情况、肝转移灶手术与否是影响结直肠癌肝转移患者预后的独立因素.

本组结果显示, 女性结直肠癌肝转移患者

## ■应用要点

本文从大量结肠癌肝转移临床病例中分别对性别、年龄、治疗前血清CEA水平、原发肿瘤部位等多种因素进行分析, 尝试总结这些因素与结肠癌肝转移预后的相关性, 为个体化治疗提供依据。

表 1 138例结肠直肠癌肝转移患者预后的单因素分析

临床因素	n	中位生存期(mo)	P值
性别			0.048
男	78	15.7(11.1–20.3)	
女	60	19.6(16.1–23.1)	
年龄(岁)			0.460
≥60	63	18.3(14.3–22.3)	
<60	75	19.5(14.2–24.8)	
治疗前血清CEA水平(μg/L)			0.023
≥20	64	14.4(13.0–15.8)	
<20	74	21.2(17.6–24.8)	
原发肿瘤部位			0.568
结肠	52	17.3(13.0–21.6)	
直肠	86	19.6(15.2–24.0)	
原发肿瘤最大直径(cm)			0.250
≥3	61	14.8(11.3–18.3)	
<3	77	19.6(18.1–21.1)	
原发肿瘤组织学分级			0.589
高分化	58	19.7(13.3–26.1)	
中分化	43	17.3(12.4–22.2)	
低分化	37	18.3(13.2–23.4)	
肝转移灶数目(个)			0.000
1	44	24.1(16.1–32.1)	
2–3	41	18.1(12.0–24.2)	
≥4	53	13.4(9.8–17.0)	
肝转移灶最大直径(cm)			0.001
≥3	85	15.6(12.8–18.4)	
<3	53	24.3(18.4–30.2)	
区域淋巴结转移			0.001
有	56	14.2(8.4–20.0)	
无	69	24.1(16.4–31.8)	
无法评估	13	21.7(18.3–25.1)	
肝转移灶手术与否			0.002
手术	19	28.2(24.2–31.9)	
未手术	119	15.7(12.7–18.7)	

中位生存时间优于男性(19.6 mo vs 15.7 mo,  $P = 0.048$ )。多因素Logistic回归分析未显示两者差异有统计学意义( $P = 0.338$ )。有学者认为雌激素对结肠癌的发生具有保护作用, 是女性患者预后好于男性患者的主要原因, 其机制尚未明确<sup>[6]</sup>。但也有报道显示性别与患者的预后无关<sup>[7]</sup>。年龄同结肠癌患者预后的关系同样存在争议。有学者认为, 年轻患者肿瘤的恶性程度高, 发展较快, 发生淋巴结及远处转移的可能性更大, 所以预后较差<sup>[8]</sup>。本组研究中<60岁组及≥60岁两组患者的中位生存时间无统计学差异, 其中可能与≥60岁组患者年龄大, 并发症较多, 存在非肿瘤死亡原因有关。因此, 性别、年龄是否影响预后还需更多病例研究证实。

表 2 138例结肠直肠癌肝转移患者预后的多因素分析

影响因素	风险比	95%CI	P值
性别	0.802	0.511–1.260	0.338
治疗前血清CEA水平(μg/L)	0.630	0.418–0.951	0.028
肝转移灶数目(个)	1.362	1.131–1.641	0.001
肝转移灶最大直径(cm)	2.187	1.387–3.447	0.001
区域淋巴结转移	1.324	1.001–1.752	0.049
肝转移灶手术与否	2.537	1.362–4.728	0.003

本组资料分析结果显示原发肿瘤大小及肿瘤分化程度与患者预后无明显相关性,  $P$ 值分别为0.250和0.589。虽然一般认为肿瘤越大, 其侵犯周围器官和腹膜播散的可能性也越大, 根治切除机会越小。但罗吉辉等<sup>[9]</sup>报道结肠癌肿瘤大小与患者预后无关。低分化肿瘤更容易发生远处转移, 由此肿瘤分化越低, 其预后越差, 中高分化肿瘤患者的预后相对较好。Kaiser等<sup>[10]</sup>认为虽然肝转移有随着分化程度减低而增加的趋势, 但尚无证据说明肿瘤分化程度与结肠癌肝转移有关。本组结果与国内外研究结果相类似。

Fujita等<sup>[11]</sup>曾报道了97例结肠直肠癌伴肝转移患者施行同期切除术, 发现结肠直肠癌肝脏转移瘤数目、大小以及分布与预后无关。本组病例中肝转移灶数目为1个、2–3个和≥4个的3组患者中位生存时间分别为24.1 mo、18.1 mo和13.4 mo,  $P$ 值为0.000, 差异具有统计学意义。肝转移灶最大直径≥3 cm和<3 cm的两组患者中位生存时间分别为15.6 mo和24.3 mo,  $P$ 值为0.001, 差异亦有统计学意义。分析其中原因, 考虑是因为大直径转移灶及卫星灶的出现提示肿瘤的倍增时间短, 增殖速度快, 肿瘤的播散范围广, 造成患者预后差。

本研究显示区域淋巴结转移与患者生存相关, 是结肠癌肝转移患者预后的独立危险因素。只有高转移潜能的癌细胞进入血液和淋巴液中才能形成转移癌。有区域淋巴结转移者表明机体内高转移潜能癌细胞存在。这些癌细胞在邻近区域发生淋巴结转移, 并通过淋巴系统播散至邻近区域淋巴结形成癌细胞克隆。同时通过血液系统转移至肝脏, 在肝脏中生长发展成明显的肝转移病灶。

血清CEA是结肠癌特异性最高的肿瘤标志物。术后血清CEA水平持续升高提示复发或转移的几率明显增加, 术前高CEA水平往往

提示病情较重, 存在邻近或远处转移. 本文结果显示, 结直肠癌肝转移患者中CEA水平较低者预后明显优于CEA水平较高者, 两者具有显著性差异( $P = 0.023$ ). 国内赖新峰等<sup>[12]</sup>研究显示, 术前CEA水平正常组3年生存率明显高于术前CEA水平异常组(86.7% vs 51.7%,  $P = 0.014$ ). Arru等<sup>[5]</sup>亦报道术前CEA>200  $\mu\text{g/L}$ 的患者预后较差. 美国癌症联合委员会(AJCC)更将CEA水平归为I类危险因子, 这都表明CEA指标在结直肠癌诊治过程中有着重要的参考价值.

本组患者中行肝转移灶手术者的预后明显优于未行手术切除者( $P = 0.002$ ). 以往认为结直肠癌肝转移已属肿瘤晚期, 一般不再考虑手术治疗, 除非合并肠梗阻、肠穿孔、出血等并发症, 且患者长期生存率低. 但现已有大量回顾性对照研究支持手术切除是唯一能根治的治疗方法<sup>[13]</sup>. 现在认为, 肝转移灶的大小、数目、部位、分布已经不是影响结直肠癌转移患者手术的因素, 只要患者的心肺功能等情况允许, 能够达到完全切除并保证足够的残余肝脏体积, 均可以手术切除<sup>[14]</sup>. 有研究显示<sup>[15]</sup>, 手术切除的肝转移患者5年生存率为25%-55%, 而未手术的肝转移患者5年生存率为0%-5%. 可见手术在结直肠癌肝转移患者的治疗中有着举足轻重的地位.

#### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300
- 2 Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R, Köhne CH, Pozzo C, Poston G, Ychou M, Rougier P. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2212-2221
- 3 Cohen AD, Kemeny NE. An update on hepatic arterial infusion chemotherapy for colorectal cancer. *Oncologist* 2003; 8: 553-566
- 4 Garcea G, Ong SL, Maddern GJ. Inoperable colorectal liver metastases: a declining entity? *Eur J Cancer* 2008; 44: 2555-2572
- 5 Arru M, Aldrighetti L, Castoldi R, Di Palo S, Orsenigo E, Stella M, Pulitanò C, Gavazzi F, Ferla G, Di Carlo V, Staudacher C. Analysis of prognostic factors influencing long-term survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer. *World J Surg* 2008; 32: 93-103
- 6 许慈, 俞丽芬, 蔡劬, 卢君瑶, 钟捷. 人结肠癌细胞株 HCT116 中雌激素受体 $\beta$ 与mTOR基因相互作用的初步研究. *外科理论与实践* 2011; 16: 392-396
- 7 胡金龙, 黄建瑾, 付鲜花. 结直肠癌肝转移患者生存情况及预后因素分析. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 286-289
- 8 Zamboni BA, Yothers G, Choi M, Fuller CD, Dignam JJ, Raich PC, Thomas CR, O'Connell MJ, Wolmark N, Wang SJ. Conditional survival and the choice of conditioning set for patients with colon cancer: an analysis of NSABP trials C-03 through C-07. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2544-2548
- 9 罗吉辉, 高枫, 张森, 陈利生, 杨剑锋. 122例结直肠癌同时性肝转移患者的临床预后分析. *中国肿瘤临床* 2009; 36: 308-312
- 10 Kaiser AM, Kang JC, Chan LS, Beart RW. The prognostic impact of the time interval to recurrence for the mortality in recurrent colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2006; 8: 696-703
- 11 Fujita S, Akasu T, Moriya Y. Resection of synchronous liver metastases from colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30: 7-11
- 12 赖新峰, 林良辉, 张茂忠. 结直肠癌肝转移的手术治疗及预后分析. *中国临床实用医学* 2010; 4: 9-11
- 13 Al-Asfoor A, Fedorowicz Z, Lodge M. Resection versus no intervention or other surgical interventions for colorectal cancer liver metastases. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (2): CD006039
- 14 Vauthey JN, Zorzi D, Pawlik TM. Making unresectable hepatic colorectal metastases resectable--does it work? *Semin Oncol* 2005; 32: S118-S122
- 15 Van den Eynde M, Hendlisz A. Treatment of colorectal liver metastases: a review. *Rev Recent Clin Trials* 2009; 4: 56-62

#### ■同行评价

本研究针对结直肠癌肝转移的因素作相应分析, 设计合理, 方法科学, 取材得当, 统计分析可靠, 结论可信, 对临床有指导意义.

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 •

### 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)



# 《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<sup>H</sup>, *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,  $\mu$ 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),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (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、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  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% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 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 =  $45 \times 10^{-6}$ ; 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 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (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<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第三套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ 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 $\leq 100$ , 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: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 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 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 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<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。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](mailto: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](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

## 2012年国内国际会议预告

2012-06-22/25

第十四届国际病毒性肝炎和肝病大会

会议地点: 上海市

联系方式: info@isvhd2012.org

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: qgzxyjh@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

2012-07-12/15

第六届地坛国际感染病会议

会议地点: 北京市

联系方式: info@bjditan.org

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

2012-08-17/19

第九届中国人民解放军肿瘤学术大会(长征肿瘤大会)

会议地点: 重庆市

联系方式: huangxiaoyu@stapricot.com

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

2012-08-30/09-02

2012年中华医学会全国麻醉学术年会

会议地点: 重庆市

联系方式: csa2012@live.cn

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会

会议地点: 济南市

联系方式: doclf@163.com

2012-09-06/09

第七届中国肿瘤学术大会暨第十一届海峡两岸肿瘤学术会议

会议地点: 北京市

联系方式: shengwangyan@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

2012-09-20/23

2012中国消化病学大会

会议地点: 上海市

联系方式: abstract@ccdd2012.org

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

2012-10-21/11-10

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

2012-10-31/11-03

第十届中国介入放射学学术大会(2012CSIR)暨2012国际栓塞会议

会议地点: 南京市

联系方式: liufang@cyberzone.cn

2012-11-13/17

肿瘤微环境(冷泉港亚洲、国际癌症的微环境学会联合承办)

会议地点: 苏州市

联系方式: qxue@csh-asia.org



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授

南昌大学第一附属医院消化内科

陈海龙 教授

大连医科大学附属第一医院院办

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

仇毓东 教授

南京大学医学院附属鼓楼医院

杜奕奇 副教授

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

傅春彬 主任医师

吉化集团公司总医院一院消化内科

高润平 教授

吉林大学第一医院肝病科

管世鹤 副教授

安徽医科大学第一附属医院检验科

郝建宇 教授

首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科

何敏 教授

广西医科大学医学科学实验中心

李健丁 教授

山西医科大学第一医院放射科CT室

莫卫东 教授

安徽省立院肝胆外科

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

金瑞 教授

首都医科大学附属北京佑安医院消化科

靳雪源 副主任医师

中国人民解放军第302医院消化内科

刘连新 教授

哈尔滨医科大学第一临床医学院普通外科

刘森 副教授

安徽医科大学病原生物学

邱伟华 主任医师

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙诚谊 教授

贵阳医学院附属医院

孙殿兴 主任医师

白求恩国际和平医院肝病科

谭晓冬 教授

中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

唐南洪 教授

福建医科大学附属协和医院省肝胆外科研究所

唐世刚 教授

湖南省人民医院

王正康 教授

中日友好医院普外科

魏睦新 教授

南京医科大学第一附属医院

吴泰璜 教授

山东省立医院肝胆外科

夏时海 副教授

武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

许玲 教授

上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授

青岛市立医院肝病内科

于聪慧 教授

中国人民解放军北京军区总医院肝胆外科