

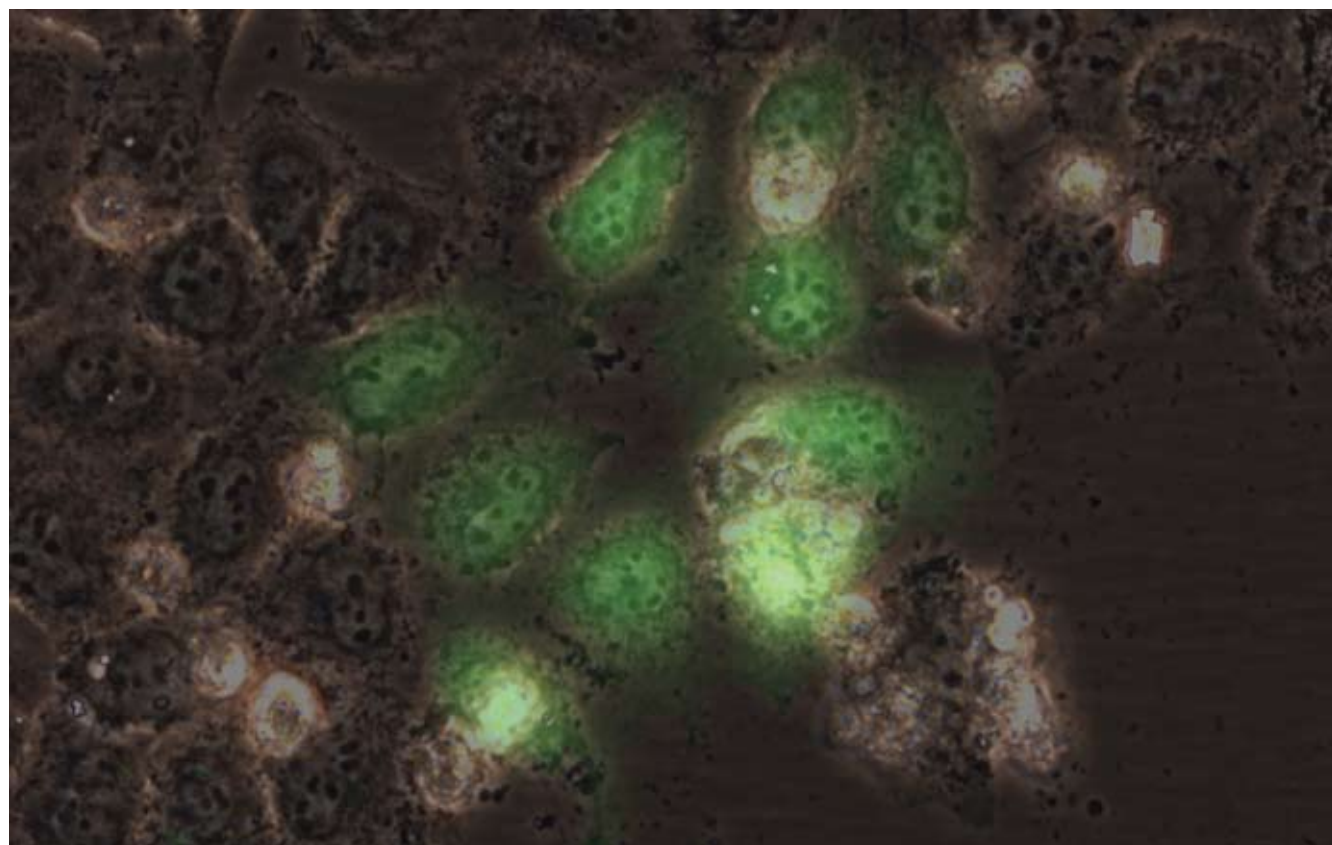
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2011 年 9 月 28 日 第 19 卷 第 27 期 (Volume 19 Number 27)**



**27/2011**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

### 总顾问

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

### 名誉总编辑

潘伯荣教授

### 社长/总编辑

马连生教授

### 副总编辑

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

### 常务编委

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

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
苒新明教授  
陈国忠副主任医师  
陈洪副教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授

邓长生教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊晓明主任医师  
房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
高峰副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
何松教授  
洪天配教授  
侯晓华教授  
胡伏莲教授  
胡和平主任医师  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
霍丽娟教授  
季国忠教授  
江米足主任医师  
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  
李定国教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
李玉明教授  
廖家智副主任医师  
林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘铁夫教授  
刘莹副主任医师  
刘占举教授  
陆伦根教授  
吕志武教授  
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  
任粉玉副教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈守荣教授  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
宋于刚教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
宛新建副教授  
王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王俊平教授  
王晓艳副教授  
闻勤生教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐可树教授  
许乐主任医师  
杨建民教授  
姚树坤教授  
叶红军主任医师  
张春清教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张小晋主任医师  
张晓岚教授  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永副教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
周国雄主任医师  
周晓东副教授  
周宇教授  
朱春兰主任医师  
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  
陈力教授  
陈立波教授  
陈凇教授  
陈强谱教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程爱群主任医师  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
董明教授  
杜成友教授  
杜顺达副主任医师  
房林副教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅志仁主任医师  
高成新教授  
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  
姜卫东教授  
姜波健教授  
蒋龙元副教授  
金山副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李杰教授  
李奇林教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔主任医师  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超副教授  
刘建教授  
刘颖斌主任医师  
卢实春教授  
陆才德教授  
陆云飞教授  
禄韶英副主任医师  
吕明德教授  
吕云福教授  
彭吉润主任医师  
彭心宇教授  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民副主任医师  
邱宝安主任医师  
邱双健副教授  
邱伟华副主任医师  
仇毓东副教授  
裘正军教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
沈世强教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君副研究员  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙学英教授  
孙延平副主任医师  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤恢焕教授  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
田晓峰教授  
汪波副主任医师

汪根树副教授  
王春友教授  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王广义教授  
王健生教授  
王鲁副教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴河水教授  
吴健雄教授  
吴金术教授  
吴泰璜教授  
吴志勇教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
谢晓华副教授  
邢光明教授  
徐大华主任医师  
徐迅迪教授  
徐洪副教授  
徐戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
严律南教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨维良教授  
杨银学教授  
杨尹默教授  
伊力亚尔·夏合丁教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
于则利教授  
禹正杨副教授  
郁宝铭教授  
元云飞教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张群华教授  
张水军教授  
张宗明教授  
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  
陈仕珠主任医师  
陈志辉副主任医师  
党双锁教授  
丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
高润平教授  
高泽立副教授  
高志良主任医师  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郝春秋副教授  
何生松教授  
胡国信副主任医师  
靳雪源副主任医师  
林菊生教授  
刘正稳教授  
宁琴教授  
牛俊奇教授  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
唐霓副研究员  
唐晓鹏教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
魏来教授  
吴建国教授  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
杨林副研究员  
姚鹏副教授  
张继明教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵连三教授  
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

蔡淦教授

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘平教授  
刘绍能主任医师  
龙致贤教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
沈洪教授  
司富春教授  
唐志鹏研究员  
王富春教授  
王新月教授  
邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲副教授  
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  
陈公琰主任医师  
陈克能教授  
代智副研究员  
华海清教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘彬彬副研究员  
刘云鹏教授  
秦叔逵教授  
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  
熊斌教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
陈克敏教授  
官泳松教授  
韩新巍教授  
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  
施海彬教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐爱民副教授  
徐辉雄教授  
徐克教授  
严惟力副教授  
杨业发教授  
杨建勇教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

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

### 消化中西医结合学

唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
张春虎副教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
曹师承教授  
陈敬贤教授  
陈秋生教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
樊红教授  
高春芳研究员  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
李东辉教授  
李刚教授  
李杰副教授  
李君文研究员  
李永哲副研究员  
李增山副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授

梅林教授  
钱其军研究员  
钱睿哲教授  
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  
田颖刚副研究员  
汪思应教授  
王钦红教授  
魏继福副研究员  
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  
姚登福教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
张青云研究员  
张学教授  
赵平副教授  
周南进研究员  
周士胜教授  
周素芳教授  
周晓东研究员  
周晓武副主任医师  
朱进霞教授

### 消化病理学

杜祥教授  
李菊玲副教授  
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  
吕宁主任医师  
马大烈教授  
门秀丽教授  
潘兴华副主任医师  
孙伟副研究员  
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  
赵景民教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2011年9月28日 第19卷 第27期 (总第359期)

## 述 评

2805 胰腺癌流行病学和病因学研究进展

吕文超, 崔云甫

## 基 础 研 究

2810 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申

2816 EGF、SS在海洛因戒断、脱毒、复吸大鼠颌下腺组织中的表达

胡赟, 梁文妹, 韩晶, 洪艳, 夏白娟, 李一欣, 谢莉

2822 靶向PIK1的siRNA对肝癌细胞凋亡的影响

孙威, 刘宝林, 陈爱山, 曹献旭, 苏琪

2829 急性胆道梗阻肠黏膜屏障破坏与氯离子通道-2的关系

陈振勇, 王延刚, 杨鹏, 黄文广, 周有生, 冯贤松

2835 IL-10基因转化的大肠杆菌对小鼠结肠炎的治疗作用

顾秋平, 谢俊锋, 陈江, 张翼, 洪凯, 白爱平

## 临 床 研 究

2841 RhoC和IQGAP1蛋白在原发性肝细胞癌中的表达及意义

范玉梅, 张连峰, 赵媛, 陈莉莉

## 文 献 综 述

2846 骨髓干细胞治疗肝脏疾病的临床应用进展

孟云超, 姜海行, 张君红

2852 多排螺旋CT三维重建技术在肝癌切除术中的应用

席江伟, 梅铭惠

2857 维甲酸的免疫调节与炎症性肠病

方年富, 李弼民, 冷芳

## 研 究 快 报

2863 模拟失重大鼠实验性胃溃疡愈合的影响

张雯, 李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 杨春敏

## 临 床 经 验

2869 术前联合放化疗与单纯手术治疗食管癌疗效的Meta分析

金海林, 韩树堂, 李文杰, 吴大鹏

2876 肝癌根治术后肝内复发合并肝外转移积极手术治疗10例

刘煌, 陈达丰, 李冉冉, 陈文有, 柯恩明, 张文华, 刘静

2881 上海松江地区胆囊良性疾病的流行病学调查30 901例

孙晓敏, 徐萍, 马志红, 程晓松, 朱佳莉, 何挂钩, 任大宾

2886 云南省慢性胰腺炎430例

耿琼梅, 张海蓉, 段丽平

2890 Yes相关蛋白在结直肠癌组织中的表达及其临床意义

陈志山, 洪黎清, 杨昌毅, 林再全

2895 米氮平治疗严重功能性消化不良22例

宋军民, 郝庆, 李岩, 李卉, 彭森



附 录	<p>2900 《世界华人消化杂志》投稿须知</p> <p>2905 2011年国内国际会议预告</p>
志 谢	<p>2906 志谢世界华人消化杂志编委</p>
消 息	<p>2809 《世界华人消化杂志》出版流程</p> <p>2815 《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》</p> <p>2821 《世界华人消化杂志》参考文献要求</p> <p>2828 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》</p> <p>2834 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</p> <p>2845 《世界华人消化杂志》正文要求</p> <p>2851 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.625</p> <p>2862 WJG总被引频次排名位于第174名</p> <p>2868 《世界华人消化杂志》外文字符标准</p> <p>2880 招聘生物医学编辑部主任</p> <p>2885 WJG成功通过评审被PMC收录</p> <p>2894 《世界华人消化杂志》修回稿须知</p> <p>2899 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标</p>
封面故事	<p>孙威, 刘宝林, 陈爱山, 曹献馗, 苏琪. 靶向Plk1的siRNA对肝癌细胞凋亡的影响.</p> <p>世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2822-2828</p> <p><a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2822.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2822.asp</a></p>
本期责任人	<p>编务 周媛; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李军亮; 审核编辑 李军亮;</p> <p>形式规范 马连生</p>

<p><b>世界华人消化杂志</b></p> <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</p> <p>(旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2011-09-28 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p><b>编辑</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>出版</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>印刷</b> 北京科信印刷厂</p> <p><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)</p> <p><b>订购</b> 全国各地邮电局</p> <p><b>邮购</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></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>2011年版权归世界华人消化杂志所有</p>
<p>中国标准连续出版物号 <b>ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)</b> 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证</p> <p>CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期56.00元 全年2016.00元 1401004000050</p> <p><a href="http://www.wjgnet.com">www.wjgnet.com</a></p>		

# World Chinese Journal of Digestology

**September 2011 Contents in Brief Volume 19 Number 27**

<b>EDITORIAL</b>	2805 Advance in understanding the epidemiology and etiology of pancreatic cancer <i>Ly WC, Cui YF</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>2810 Identification and functional analysis of a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene in human gastric cancer cell line MKN-45 <i>Wang K, Li LP, Guo QX, Miao RZ, Cheng L, Jing CQ, Wang JS</i></p> <p>2816 Expression of EGF and somatostatin in the submandibular gland of rats during heroin abstinence, detoxification or relapse <i>Hu Y, Liang WM, Han J, Hong Y, Xia BJ, Li YX, Xie L.</i></p> <p>2822 Small interfering RNA-mediated knockdown of polo-like kinase 1 promotes apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line BCL-7402 <i>Sun W, Liu BL, Chen AS, Cao XK, Su Q</i></p> <p>2829 Relationship between CLC-2 and intestinal mucosal barrier in rats with obstructive jaundice <i>Chen ZY, Wang YG, Yang P, Huang WG, Zhou YS, Feng XS</i></p> <p>2835 Treatment of murine colitis with IL-10-secreting <i>Escherichia coli</i> <i>Gu QP, Xie JF, Cheng J, Zhang Y, Hong K, Bai AP</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	2841 Significance of RhoC and IQGAP1 expression in hepatocellular carcinoma <i>Fan YM, Zhang LF, Zhao Y, Chen LL</i>
<b>REVIEW</b>	<p>2846 Clinical applications of bone marrow stem cells to treat liver diseases: recent progress <i>Meng YC, Jian HX, Zhang JH</i></p> <p>2852 Application of multi-slice spiral CT three-dimensional reconstruction technique in liver resection for hepatic carcinoma <i>Xi JW, Mei MH</i></p> <p>2857 Role of retinoic acid in immune regulation: implications in the treatment of inflammatory bowel disease <i>Fang NF, Li BM, Len F</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	2863 Effect of simulated weightlessness on the healing of experimental gastric ulcer in rats <i>Zhang W, Li J, Han QL, Tang HL, Du B, Chen Y, Yang CM</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>2869 Efficacy of preoperative chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for resectable esophageal carcinoma: a meta-analysis <i>Jin HL, Han ST, Li WJ, Wu DP</i></p> <p>2876 Aggressive management of patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma: an analysis of 10 cases <i>Liu H, Chen DF, Li RR, Chen WY, Ke EM, Zhang WH, Liu J</i></p> <p>2881 An epidemiological survey of benign gallbladder disease in Songjiang District of Shanghai, China <i>Sun XM, Xu P, Ma ZH, Cheng XS, Zhu JL, He GJ, Ren DB</i></p> <p>2886 Etiology of chronic pancreatitis: an analysis of 430 cases in Yunnan Province <i>Geng QM, Zhang HR, Duan LP</i></p> <p>2890 Clinical significance of expression of Yes-associated protein in colorectal carcinoma <i>Chen ZS, Hong LQ, Yang CY, Lin ZQ</i></p>

	2895 Efficacy assessment of mirtazapine in the treatment of severe functional dyspepsia: an analysis of 22 cases <i>Song JM, Hao Q, Li Y, Li H, Peng M</i>
<b>APPENDIX</b>	2900 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 2905 Meeting events calendar in 2011
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	2906 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
<b>COVER</b>	<i>Sun W, Liu BL, Chen AS, Cao XK, Su Q.</i> Small interfering RNA-mediated knockdown of polo-like kinase 1 promotes apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line BCL-7402. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(27): 2822-2828 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2822.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2822.asp</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** September 28, 2011

### 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](mailto: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](mailto:wjcd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

### OVERSEAS DISTRIBUTOR

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

### HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

### EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

### SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

### SUBSCRIPTION

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

### CSSN

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

### COPYRIGHT

© 2011 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2011 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

# 胰腺癌流行病学和病因学研究进展

吕文超, 崔云甫

吕文超, 崔云甫, 哈尔滨医科大学附属第二医院胆胰外科 黑龙江省哈尔滨市150086

崔云甫, 教授, 主要从事肿瘤方面研究.

黑龙江省教育厅科学技术研究资金资助项目, No. 12511247

作者贡献分布: 本文综述由吕文超完成; 崔云甫审校.

通讯作者: 崔云甫, 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胆胰外科.

yfcui777@hotmail.com

收稿日期: 2011-07-17 修回日期: 2011-09-03

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Advance in understanding the epidemiology and etiology of pancreatic cancer

Wen-Chao Lv, Yun-Fu Cui

Wen-Chao Lv, Yun-Fu Cui, Department of Biliary Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Science and Technique Research Program of Heilongjiang Educational Committee, No. 12511247

Correspondence to: Professor Yun-Fu Cui, Department of Biliary Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com

Received: 2011-07-17 Revised: 2011-09-03

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

Pancreatic cancer is a life-threatening digestive system neoplasm with a low rate of surgical resection and poor prognosis. Symptoms of pancreatic cancer are so insidious that it is difficult to identify them at early stage. Due to changes in human lifestyle and diet, the incidence of pancreatic cancer has been increasing worldwide. Both genetic and environmental factors contribute to the pathogenesis of pancreatic cancer. Some hereditary factors, such as genetic mutations and genetic polymorphisms, have been demonstrated to be related to the development of pancreatic cancer. Many risk factors associated with pancreatic cancer, such as smoking, obesity, alcohol consumption, chronic pancreatitis, and diabetes, have also been identified. Here we review the recent advances in understanding the epidemiology and etiology

of pancreatic cancer.

**Key Words:** Pancreatic cancer; Epidemiology; Etiology

Lv WC, Cui YF. Advance in understanding the epidemiology and etiology of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2805-2809

## 摘要

胰腺癌是一种恶性度极高的消化系统肿瘤, 其早期症状隐匿, 发现时多已是晚期, 手术切除率低, 预后差. 随着人类生活习惯与饮食结构的改变, 胰腺癌的发病率在全球范围内逐年上升. 胰腺癌发病是遗传因素和环境因素相互作用的结果, 其可能与基因突变、基因多态性、表观遗传等因素引起的遗传易感性提高有关. 某些与胰腺癌相关的危险因素诸如吸烟、肥胖、饮酒、慢性胰腺炎、糖尿病等已越来越受到广泛关注. 因此, 了解胰腺癌流行病学和病因学的发展将有助于更好地认识这种疾病, 具有重要的意义.

**关键词:** 胰腺癌; 流行病学; 病因学

吕文超, 崔云甫. 胰腺癌流行病学和病因学研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2805-2809

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2805.asp>

## 0 引言

胰腺癌是一种比较常见的恶性肿瘤, 占全部恶性肿瘤的2%. 约95%的胰腺癌为导管细胞腺癌, 其具有恶性度高, 早期诊断率低, 疗效欠佳, 预后差等特点, 病死率接近100%, 总体5年生存率小于5%<sup>[1,2]</sup>. 手术治疗是目前唯一可能治愈胰腺癌的方法, 但即使根治性地切除肿瘤, 患者术后5年生存率仅达到15%-25%<sup>[3,4]</sup>. 近年来胰腺癌的发病率在全球范围内呈逐年上升趋势, 2010年全世界新发胰腺癌病例预计已达到293 541例<sup>[5]</sup>. 随着世界人口的迅速增长和年龄的日趋老龄化, 胰腺癌必将成为威胁人类健康的主要疾病. 了解其流行病学和病因学的发展有助于我们更好地认识这种疾病, 做出正确的预防、诊断及治

## ■背景资料

胰腺癌恶性程度高, 易侵犯周围器官组织、血管及神经丛, 故大多数胰腺癌患者预后较差, 病死率接近100%. 近年来胰腺癌的发病率逐年上升, 已严重威胁人类的健康. 探讨胰腺癌流行病学和病因学的发展有利于对疾病做出正确的防治.

## ■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科; 王忠裕, 教授, 大连医科大学附属医院普外科



## ■ 研发前沿

胰腺癌的发病是遗传与环境因素交互作用的结果,具体的发病机制和相关的危险因素是现在研究的热点。

疗。本文主要从流行病学和病因学两个方面对胰腺癌的发病规律进行综述。

## 1 胰腺癌的流行病学

据世界卫生组织公布的统计资料(GLOBOCAN 2008)<sup>[5]</sup>, 2008年全世界新发胰腺癌病例278 684例, 发病率为3.9/10万, 占全部恶性肿瘤新发病的2.2%, 居第13位。其中男性144 859例, 女性133 825例, 男、女性新发病例比约为1.1:1。全球各大洲新发胰腺癌病例由高到低排列为: 亚洲107 810例(38.7%)、欧洲94 075例(33.8%)、北美洲41 379例(14.8%)、南美洲23 525例(8.4%)、非洲9 132例(3.3%)、大洋洲2 763例(1.0%)。同年死亡病例266 669例, 病死率为3.7/10万, 占全部恶性肿瘤死亡的3.5%, 居第8位。

胰腺癌的发病率与社会经济状况、医疗水平、生活环境等因素可能有一定的联系, 存在明显的地域差异。2008年发达国家新发胰腺癌病例166 156例, 约占总数的60%, 男性发病率和病死率分别为8.2/10万和7.9/10万, 女性分别为5.4/10万和5.1/10万; 而发展中国家男、女性发病率和病死率较低, 均小于3/10万。另外, 胰腺癌的发病率随年龄的增长而升高明显, 30-40岁的人群极少患胰腺癌, 60-65岁为发病的高发年龄, 70-80岁为发病的高峰期<sup>[6]</sup>。

胰腺癌好发于新西兰毛利人、非裔美国人、犹太人等种族, 在瑞典、美国、意大利、日本等国家发病率最高, 在印度、非洲等国家发病率最低。研究显示: 瑞典胰腺癌的发病率最高, 达到125/10万, 并且在过去20年中保持稳定。美国胰腺癌的标化病死率(与发病率极为接近)在50年间(1920-1970年)增长了3倍多, 直到1970年以后才趋于平稳, 保持在8/10万-10/10万<sup>[6]</sup>。2008年美国新发胰腺癌病例37 685例, 死亡病例34 290例, 在恶性肿瘤死亡率中居第4位, 美国黑人的发病率和病死率均高于白人。

胰腺癌的发病率在我国也逐年上升, 其标化病死率在10年间(1991-2000年)从1.46/10万增长到2.38/10万, 增加了近1倍<sup>[7]</sup>。2008年我国新发胰腺癌病例44 217例, 发病率为2.8/10万; 死亡病例39 817例, 病死率为2.5/10万。胰腺癌在我国主要危及中老年人, 60岁以上者约占70%, 80-85岁为死亡的高峰期<sup>[7,8]</sup>, 其已成为引起我国人口死亡的十大恶性肿瘤之一。我国胰腺癌的发病率在地区分布上也存在明显差异。研究表明, 东北和华东地区标化病死率高于华北、华中、华南、

西北及西南地区, 城市高于农村2-4倍<sup>[7]</sup>。病死率最高的省市为上海、天津、辽宁、黑龙江、江苏、吉林、北京及宁夏回族自治区, 最低的为湖南省和广西壮族自治区<sup>[8]</sup>。上海是我国胰腺癌发病率最高的城市, 在2002-2006年间胰腺癌的标化发病率为6.22/10万, 已居世界中等发病水平, 尤其是65岁以上老年人的发病率已达到高发国家水平。其中男性发病率为7.39/10万, 女性为5.14/10万, 占上海市男性发病的第8位, 女性的第7位, 男、女性发病率比为1.18:1<sup>[9]</sup>。

## 2 胰腺癌的病因学

2.1 遗传因素 (1)基因突变, 胰腺癌发生可能与多种基因突变引起的遗传易感性提高有关, 例如BRCA1, 2、MSH2, 6、MLH1、PMS、PM52、APC、CFTR、PRSS1, 2、CDKN2A/P16、STK11/LKB1、FA、ATM、TP53等基因突变能够引起体内多个胚系突变而诱发多种遗传综合征。包括遗传性乳腺癌和卵巢癌、遗传性非息肉性结肠癌、家族性结直肠息肉综合征、囊性纤维性病变、遗传性胰腺炎、家族性多发性黑色素瘤综合征、珀-耶综合征、Fanconi贫血、共济失调-毛细血管扩张综合征及里-费综合征等遗传综合征可以增加胰腺癌发病的危险, 易出现家族遗传倾向<sup>[10]</sup>。约5%-10%的胰腺癌患者具有家族遗传病史, 家族中一级亲属偶患胰腺癌, 那么其他成员发病的危险比一般人群高2倍, 并随一级亲属患病人数增加而危险性升高<sup>[11]</sup>; 有遗传倾向的家族中2个一级亲属同时患胰腺癌, 那么其他成员发病的危险比一般人群高6.8倍<sup>[12]</sup>。最近Wolpin等<sup>[13]</sup>研究发现家族ABO血型可能也与胰腺癌遗传易感性有关。其中A、B及AB型血者易患胰腺癌, 而O型血者发病的危险相对较低, 这说明O型血对胰腺癌发病可能具有保护作用, 具体机制还有待深入研究; (2)基因多态性, 研究发现: 烟草等外源性致癌物可以造成体内胰腺组织DNA损伤, 促进癌基因激活与抑癌基因失活, 参与胰腺癌发生。但胰腺组织的外源性致癌物代谢酶可以避免DNA损伤, 维护基因组的稳定, 从而产生抑癌作用<sup>[14]</sup>。因此, 外源性致癌物代谢酶的基因多态性可能引起个体胰腺癌遗传易感性的差异, 但这一结论尚存在争议。Ockenga等<sup>[15]</sup>在德国北部的白人中发现II相代谢酶的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶UGT1A7基因多态性与胰腺癌有关。研究表明: 人群中携带UGT1A7\*3等位基因者患胰腺癌的危险较高, 同时

该基因在55岁以下的人群中与重度吸烟呈正相关。但Liu等<sup>[16]</sup>对加拿大人进行的一项胰腺癌病例对照研究发现: I相代谢酶的细胞色素P450酶CYP1A1基因多态性和II相代谢酶的谷胱甘肽硫转移酶GSTM1、T1基因多态性与胰腺癌并无相关性。Duell等<sup>[17]</sup>研究高加索人群也得出相似的结论, 并且发现人群中携带GSTT1基因缺失型者同时吸烟的话, 其患胰腺癌的危险将显著增高。另外Wang等<sup>[18]</sup>报道: 体内叶酸摄入不足或叶酸代谢通路上的酶活性改变可能通过降低DNA的含量影响基因组的稳定, 参与胰腺癌发生。其中亚甲基四氢叶酸还原酶MTHFR C677T基因多态性和胸腺嘧啶合成酶TS基因多态性能够增加胰腺癌发生的危险, 可能是提高胰腺癌遗传易感性的重要因素; (3)表观遗传, 表观遗传是指在研究染色质重塑、DNA甲基化及组蛋白修饰、X染色体失活、非编码RNA(miRNAs)调控等过程中发现DNA序列不发生变化, 但基因表达却发生了可遗传性的改变, 这种现象现已广泛存在于多种肿瘤的发生过程。Rachagani等<sup>[19]</sup>研究发现: 异常表达的miRNAs可能通过参与细胞增殖、分化、凋亡等过程诱发胰腺癌发生, miRNAs表达水平可以作为诊断和判断预后的分子标记物应用于胰腺癌的治疗。这一发现使胰腺癌发生与表观遗传学的研究紧密地联系起来。另外Hermann等<sup>[20]</sup>研究报道: 起源于癌细胞分化的肿瘤干细胞在癌组织中能够无限地增殖和不对称地分化, 参与1%-5%的肿瘤发生。其中胰腺癌干细胞在诱发胰腺癌同时可以耐受化疗和放疗等辅助治疗的攻击, 这可能成为胰腺癌预后差的原因之一。

**2.2 环境因素** 胰腺癌发病除了受遗传因素的影响外还可能与环境因素有关。研究发现: 在诱发胰腺癌的诸多危险因素中, 吸烟是目前唯一公认的危险因素, 相对危险度为1.75, 吸烟者较非吸烟者胰腺癌发病的危险高2.5-3.6倍, 并呈剂量反应关系<sup>[21]</sup>; 饮酒在胰腺癌发病中的直接作用尚存在争议<sup>[22]</sup>, 但过量饮酒可以诱发慢性胰腺炎而致癌; 大量高脂、高胆固醇饮食导致的过度肥胖可能增加胰腺癌发病的危险<sup>[23]</sup>, 体质指数可能与胰腺癌发病呈正相关<sup>[24]</sup>; 大量摄入富含维生素C的新鲜水果、蔬菜、膳食纤维等食物, 饮茶, 服用阿司匹林等非甾体抗炎药物都可能具有抑癌作用<sup>[25]</sup>, 但研究证实体内高含量的维生素D不能降低胰腺癌发病的危险, 相反却使其增加危险<sup>[26]</sup>; 咖啡现在认为并不是胰腺癌发病的

危险因素<sup>[27]</sup>。另外, 胰腺癌发病还可能与气候条件、空气污染、危险职业暴露等环境因素相关。

**2.3 疾病因素** (1)慢性胰腺炎, 研究认为由酒精、胆石症、遗传因素等病因引起的慢性胰腺炎是胰腺癌发病的危险因素, 相对危险度为14; 而急性胰腺炎诱发胰腺癌的危险较低, 因而推测慢性胰腺炎可能与胰腺癌发病存在一定的联系, 其分子机制可能与K-ras、PRSS1、2、SPINK1、CFTR等基因突变和染色体的不稳定性有关<sup>[28,29]</sup>。Kudo等<sup>[30]</sup>调查研究218例慢性胰腺炎患者中共有9例最终患胰腺癌, 约占总例数的4%。Raimondi等<sup>[31]</sup>荟萃分析22篇文献发现: 在慢性胰腺炎患者中胰腺癌发病的危险增加了20倍, 遗传性、热带性胰腺炎等少见的慢性胰腺炎发展为胰腺癌的危险最高, 比普通人群高50倍; 遗传性胰腺炎患者同时吸烟的话, 其患胰腺癌的年龄比携带同一突变基因但不吸烟者提前20年; (2)糖尿病, 糖尿病是胰腺癌的早期临床症状, 约60%-81%的胰腺癌患者表现为糖耐量降低或发生糖尿病, 尤其是II型糖尿病及晚发性糖尿病可能与胰腺癌发病存在一定的联系, 但糖尿病能否成为胰腺癌发病的危险因素尚存在争议。Everhart等<sup>[32]</sup>研究表明: 5年或5年以上的糖尿病病史者患胰腺癌的相对危险度为2.1, 长期的糖尿病病史可能是诱发胰腺癌的危险因素; 但Huxley等<sup>[33]</sup>荟萃分析9220例胰腺癌得出结论: II型糖尿病发展为胰腺癌的相对危险度为1.82, 4年内的糖尿病病史者患胰腺癌的危险却比5年或5年以上糖尿病病史者高1倍。另外Draznin等<sup>[34]</sup>研究报道: 应用胰岛素治疗糖尿病者比口服降糖药物者胰腺癌发病的危险高6倍, 这可能是因为高浓度的胰岛素能够促进胰岛素样生长因子1受体活化, 通过有丝分裂作用促进胰腺癌细胞的生长, 但这一发现有待深入研究证实; (3)其他疾病, 胰腺癌发病还与胆囊炎、胆囊切除术后、幽门杆菌感染、胃大部切除术后、阑尾切除术后、免疫缺陷等疾病有关, 具体机制尚不清楚。Schrumpt等<sup>[35]</sup>研究发现在原发性硬化性胆管炎患者中胰腺癌发病的危险比一般人群高14倍。

### 3 结论

胰腺癌发病受遗传因素、环境因素、疾病因素等多个方面影响, 具有自身的流行病学特点。胰腺癌发病隐匿, 缺乏经济、有效的生物学及影像学检查手段, 难以开展大规模人群的早期筛查。因此, 针对胰腺癌的早期预防工作日益重要,

#### ■相关报道

Krejs研究认为饮用咖啡与胰腺癌的发病无相关性, 这说明了之前发表的文章关于咖啡是引起胰腺癌的危险因素的结论是错误的。

## ■应用要点

本文较为系统地总结了胰腺癌流行病学和病因学的发展,为今后全面认识这种疾病起到一定的铺垫作用。

营造良好的生活环境和改变人们不健康的生活习惯及饮食结构可能是降低胰腺癌发病率的有效措施。

## 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249
- 2 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617
- 3 Gudjonsson B. Pancreatic cancer: survival, errors and evidence. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1379-1382
- 4 Tempero MA, Arnoletti JP, Behrman S, Ben-Josef E, Benson AB, Berlin JD, Cameron JL, Casper ES, Cohen SJ, Duff M, Ellenhorn JD, Hawkins WG, Hoffman JP, Kuvshinov BW, Malafa MP, Muscarella P, Nakakura EK, Sasson AR, Thayer SP, Tyler DS, Warren RS, Whiting S, Willett C, Wolff RA. Pancreatic adenocarcinoma. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8: 972-1017
- 5 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917
- 6 Michaud DS. Epidemiology of pancreatic cancer. *Minerva Chir* 2004; 59: 99-111
- 7 Wang L, Yang GH, Lu XH, Huang ZJ, Li H. Pancreatic cancer mortality in China (1991-2000). *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1819-1823
- 8 陈可欣, 张思维, 李连弟. 中国胰腺癌死亡情况报告. *中华流行病学杂志* 2003; 24: 520-522
- 9 顾凯, 吴春晓, 鲍萍萍, 王春芳, 彭鹏, 龚杨明, 向咏梅, 黄哲宙, 金凡, 郑莹, 卢伟. 上海市胰腺癌流行现状、回顾与比较分析. *外科理论与实践* 2009; 14: 510-515
- 10 Hahn SA, Bartsch DK. Genetics of hereditary pancreatic carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2004; 33: 919-934
- 11 Cui J, Wang Q, Wang J, Lv M, Zhu N, Li Y, Feng J, Shen B, Zhang J. Basal c-Jun NH2-terminal protein kinase activity is essential for survival and proliferation of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 3214-3222
- 12 Brune KA, Lau B, Palmisano E, Canto M, Goggins MG, Hruban RH, Klein AP. Importance of age of onset in pancreatic cancer kindreds. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 119-126
- 13 Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, Chanock SJ, Kraft P, Hunter DJ, Giovannucci EL, Fuchs CS. ABO blood group and the risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 424-431
- 14 Standop J, Schneider MB, Ulrich A, Chauhan S, Moniaux N, Büchler MW, Batra SK, Pour PM. The pattern of xenobiotic-metabolizing enzymes in the human pancreas. *J Toxicol Environ Health A* 2002; 65: 1379-1400
- 15 Ockenga J, Vogel A, Teich N, Keim V, Manns MP, Strassburg CP. UDP glucuronosyltransferase (UGT1A7) gene polymorphisms increase the risk of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2003; 124: 1802-1808
- 16 Liu G, Ghadirian P, Vesprini D, Hamel N, Paradis AJ, Lal G, Gallinger S, Narod SA, Foulkes WD. Polymorphisms in GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2000; 82: 1646-1649
- 17 Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Liu M, Wiencke JK, Kelsey KT. A population-based, case-control study of polymorphisms in carcinogen-metabolizing genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma risk. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 297-306
- 18 Wang L, Miao X, Tan W, Lu X, Zhao P, Zhao X, Shan Y, Li H, Lin D. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase and risk of pancreatic cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 743-751
- 19 Rachagani S, Kumar S, Batra SK. MicroRNA in pancreatic cancer: pathological, diagnostic and therapeutic implications. *Cancer Lett* 2010; 292: 8-16
- 20 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323
- 21 Hassan MM, Bondy ML, Wolff RA, Abbruzzese JL, Vauthey JN, Pisters PW, Evans DB, Khan R, Chou TH, Lenzi R, Jiao L, Li D. Risk factors for pancreatic cancer: case-control study. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2696-2707
- 22 Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE, Bergkvist L, Bernstein L, van den Brandt PA, English DR, Freudenheim JL, Fuchs CS, Giles GG, Giovannucci E, Hankinson SE, Horn-Ross PL, Leitzmann M, Männistö S, Marshall JR, McCullough ML, Miller AB, Reding DJ, Robien K, Rohan TE, Schatzkin A, Stevens VL, Stolzenberg-Solomon RZ, Verhage BA, Wolk A, Ziegler RG, Smith-Warner A. Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 765-776
- 23 Batty GD, Kivimaki M, Morrison D, Huxley R, Smith GD, Clarke R, Marmot MG, Shipley MJ. Risk factors for pancreatic cancer mortality: extended follow-up of the original Whitehall Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 673-675
- 24 Berrington de González A, Sweetland S, Spencer E. A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 519-523
- 25 Landi S. Genetic predisposition and environmental risk factors to pancreatic cancer: A review of the literature. *Mutat Res* 2009; 681: 299-307
- 26 Stolzenberg-Solomon RZ, Jacobs EJ, Arslan AA, Qi D, Patel AV, Helzlsouer KJ, Weinstein SJ, McCullough ML, Purdue MP, Shu XO, Snyder K, Virtamo J, Wilkins LR, Yu K, Zeleniuch-Jacquotte A, Zheng W, Albanes D, Cai Q, Harvey C, Hayes R, Clipp S, Horst RL, Irish L, Koenig K, Le Marchand L, Kolonel LN. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol* 2010; 172: 81-93
- 27 Krejs GJ. Pancreatic cancer: epidemiology and risk factors. *Dig Dis* 2010; 28: 355-358
- 28 Keim V. Role of genetic disorders in acute recurrent pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1011-1015
- 29 Whitcomb DC. Genetic aspects of pancreatitis. *Annu Rev Med* 2010; 61: 413-424
- 30 Kudo Y, Kamisawa T, Anjiki H, Takuma K, Egawa N. Incidence of and risk factors for developing pancreatic cancer in patients with chronic pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 609-611
- 31 Raimondi S, Lowenfels AB, Morselli-Labate AM,

- Maisonneuve P, Pezzilli R. Pancreatic cancer in chronic pancreatitis; aetiology, incidence, and early detection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 349-358
- 32 Everhart J, Wright D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis. *JAMA* 1995; 273: 1605-1609
- 33 Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de González A, Barzi F, Woodward M. Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer* 2005; 92: 2076-2083
- 34 Draznin B. Mitogenic action of insulin: friend, foe or 'frenemy'? *Diabetologia* 2010; 53: 229-233
- 35 Schrupf E, Boberg KM. Hepatic and extrahepatic malignancies and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 2003; 52: 165

■同行评价  
本综述内容充实、详尽,有一定的学术价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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. 编辑部主任每周组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

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

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

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

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

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

**第八步 入库:** 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、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16 wk内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

# 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申

## ■背景资料

胃癌在世界范围内仍是引起高死亡率的肿瘤之一, 其发生发展非常复杂, 涉及多种免疫与分子机制, 与多种基因有关, 包括癌基因激活和抑癌基因失活。迄今, 有关胃癌的发生与发展的机制尚未取得突破性的进展。

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申, 山东大学附属省立医院胃肠外科 山东省济南市 250021

王凯, 硕士研究生, 主要从事胃肠道肿瘤发生机制的研究。

山东省自然科学基金资助项目, No. Y2007C127

作者贡献分布: 郭琼行与李乐平对此文所作贡献均等; 此课题由王凯、程力及李乐平设计; 实验过程由王凯操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由靖昌庆与苗瑞政提供; 数据分析由王金申完成; 本论文写作由王凯完成。

通讯作者: 郭琼行, 主任医师, 250021, 山东省济南市, 山东大学附属省立医院胃肠外科. guoqiongxing66@163.com

电话: 0531-85186388

收稿日期: 2011-06-17 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Identification and functional analysis of a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene in human gastric cancer cell line MKN-45

Kai Wang, Le-Ping Li, Qiong-Xing Guo, Rui-Zheng Miao, Li Cheng, Chang-Qing Jing, Jin-Shen Wang

Kai Wang, Le-Ping Li, Qiong-Xing Guo, Rui-Zheng Miao, Li Cheng, Chang-Qing Jing, Jin-Shen Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. Y2007C127

Correspondence to: Qiong-Xing Guo, Department of Gastrointestinal Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China. guoqiongxing66@163.com

Received: 2011-06-17 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the function of miR-622 in human gastric cancer cell line MKN-45 by constructing a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene and to explore the potential role of miR-622 in gastric carcinogenesis.

**METHODS:** A recombinant plasmid carrying miR-622 (pSuper/miR-622) was transfected into MKN-45 cells using lipofectin-mediated method. Cells stably expressing miR-622 were selected

using G418. MKN-45 cells untransfected and those transfected with empty pSuper plasmid were used as controls. The expression levels of miR-622 were detected by TaqMan real-time PCR in stably transfected MKN-45 cells, and Western blot was used to detect the expression of ING1 protein.

**RESULTS:** Compared to untransfected MKN-45 cells, the expression of ING1 protein showed an average 4.63-fold decrease ( $1.83 \pm 0.86$  vs  $8.47 \pm 1.43$ ,  $P < 0.05$ ). MKN-45 cells transfected with pSuper/miR-622 showed higher cell growth activity than control cells ( $P < 0.05$ ). Over-expression of miR-622 in MKN-45 cells promoted cell cycle progression ( $G_0/G_1$  phase:  $21.45 \pm 0.16$  vs  $48.21 \pm 0.34$ ;  $G_2/M$  phase:  $53.67 \pm 0.41$  vs  $20.27 \pm 0.18$ ) compared to cells transfected with pSuper empty vector.

**CONCLUSION:** A MiR-622 eukaryotic expression vector that can stably express miR-622 in MKN-45 cells has been successfully constructed and can be used to study the functions of miR-622 in human gastric cancer.

**Key Words:** Gastric carcinoma; MiR-622; Expression vector; MKN-45 cells

Wang K, Li LP, Guo QX, Miao RZ, Cheng L, Jing CQ, Wang JS. Identification and functional analysis of a miR-622 eukaryotic expression vector targeting the ING1 gene in human gastric cancer cell line MKN-45. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2810-2815

## 摘要

**目的:** 研究构建靶向ING1基因的miR-622真核表达载体并验证其转染人胃癌细胞株MKN-45细胞后对ING1基因的干扰效果及其功能。

**方法:** 将外源性重组真核表达载体pSuper/miR-622转染到人胃癌细胞株MKN-45内, 经G418筛选并建立高表达miR-622的稳定转染胃癌细胞株。稳定表达该miR-622的胃癌细胞

## ■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津第一中心医院消化内科; 姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化内科



为: MKN-45-pSuper/miR-622组, 转染空质粒细胞及未处理细胞为对照组(MKN-45-pSuper组和MKN-45组), 采用实时荧光定量PCR验证miR-622在稳定转染细胞的表达, 蛋白印迹检测其对ING1基因表达的干扰效果, 通过细胞增殖和周期实验验证miR-622在胃癌细胞MKN-45中的功能。

**结果:** 与pSuper空载体组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞中ING1蛋白表达明显减少, 降低了4.63倍( $1.83 \pm 0.86$  vs  $8.47 \pm 1.43$ ,  $P < 0.05$ ); 与转染pSuper空载体的MKN-45细胞对照组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞地促进了胃癌细胞增殖( $P < 0.05$ ), 而转染了pSuper空载体的MKN-45细胞组与正常组组间无统计学意义( $P > 0.05$ )。pSuper/miR-622组在胃癌细胞G0/G1期为 $21.45 \pm 0.16$ 而pSuper空载体组 $48.21 \pm 0.34$ ; pSuper/miR-622组在胃癌细胞G2/M期为 $53.67 \pm 0.41$ 而pSuper空载体组 $20.27 \pm 0.18$ , 与pSuper空载体组细胞相比较, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演化。

**结论:** miR-622真核表达载体构建和稳定表达胃癌细胞筛选成功, 为继续深入的研究miR-622在胃癌中的功能奠定了基础。

**关键词:** 胃癌; 微小RNA-622; 表达载体; MKN-45细胞

王凯, 李乐平, 郭琼行, 苗瑞政, 程力, 靖昌庆, 王金申. 靶向ING1基因的miR-622真核表达载体在胃癌细胞MKN-45中的鉴定及其功能. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2810-2815  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2810.asp>

## 0 引言

近年来, microRNA 的相关研究属研究领域的热点问题, 人的miR-622(MI0003636)定位于13号染色体长臂q31.3, 位于90881436-90885531位点, miR-622前体长度为: 96 bp, 在对miR-622的研究发现miR-622直接靶向细胞周期相关基因ING1, miR-622在胃癌组织中表达下调, miR-622跟胃癌组织的分化和淋巴结转移相关, 体内裸鼠和体外细胞实验证实上调miR-622的表达具有抑制胃癌细胞侵袭和肿瘤形成、转移的能力<sup>[1]</sup>。本研究首先通过PCR技术扩增miR-622前体462 bp扩增后, 定向克隆到microRNA真核表达载体pSUPER.neo+GFP上, 并将其转染至MKN-45细胞株中, 筛选稳定表达miR-622胃癌细胞株MKN-45细胞后, 采用实时荧光定量PCR

和Western blot检测其对ING1基因表达的干扰效果和MKN-45细胞的功能。以初步探讨miR-622在胃癌细胞的作用, 为今后深入研究microRNA在胃癌发生发展中的作用奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞株MKN-45购自中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所细胞库。反转录酶、限制性内切酶、LA-Taq DNA聚合酶购自TaKaRa公司; Transwell小室、Taq DNA聚合酶购自Promega公司; T4连接酶购自天根公司; 小量质粒抽提试剂盒购自上海申能博采公司; 大量质粒抽提试剂盒购自Qiagen公司; 低分子量标准蛋白质购自华美公司; DNA Marker、琼脂糖购自Gibco BRL公司; 蛋白Marker购自天根公司; Lipofectamine脂质体购自Invitrogen公司; microRNA抽提、逆转、定量分析购自Qiagen公司, miR-622前体引物试剂均购自Ambion公司; ING1、GAPDH蛋白单克隆抗体购自Abcam公司; pSuper.gfp/neo空载体由本实验室保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 miR-622真核表达载体构建:** 以人胃癌细胞株MKN-45基因组为模板扩增miR-622前体。引物设计Pre-microRNA-622(上海生工公司合成)上游引物5'-GCGAGATCT GAGGAAGTA-AAAGGCTTACAAG-3'。下游引物5'-GCGCTC-GAG GCTTGACCTTGATGTTTCAGCAGG-3'。其中引入Bgl II和Xho I两个酶切位点。PCR 扩增条件94 °C预变性5 min, 95 °C变性30 s, 58 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 35个循环, 最后72 °C延长10 min。凝胶电泳鉴定可见约462 bp目的条带。用上海申能博采公司纯化试剂盒纯化PCR 产物。Bgl II和Xho I(购于TaKaRa公司)双酶切后再次纯化得到miR-622前体目的片段。pSuper.gfp/neo载体用Bgl II和Xho I双酶切并纯化后, 插入miR-622前体目的片段, 载体构建成功后即pSuper/miR-622送博尚生物有限公司测序鉴定。

**1.2.2 稳定转染胃癌细胞MKN-45筛选:** 胃癌细胞MKN-45用RPMI 1640(10% HYCLONE血清)培养, 转染前1 d 种6孔板, 每孔细胞数为 $1 \times 10^5$ 个, 细胞生长至90%融合时用Lipofectamine2000脂质体进行转染。将pSuper.gfp/neo空载体和pSuper/miR-622载体转染胃癌细胞MKN-45转染24 h后, 加入含G418(1 g/L)的培养液筛选稳定转染细胞株, 3-4 wk克隆形成后, 荧光显微镜下观察克隆的荧光显示情况, 若克隆集中显示荧光, 则

## ■ 研发前沿

胃癌是全球高发的恶性肿瘤之一, 但目前我们对胃癌的发病机制尚缺乏全面和深入的了解。已有研究报道, 胃癌中也存在广泛的mi-croRNA表达失调。

## ■相关报道

越来越多的证据显示,人类的一些恶性肿瘤组织中microRNAs基因的表达发生改变,如肺癌、肝癌、结肠癌、乳腺癌、食管癌。

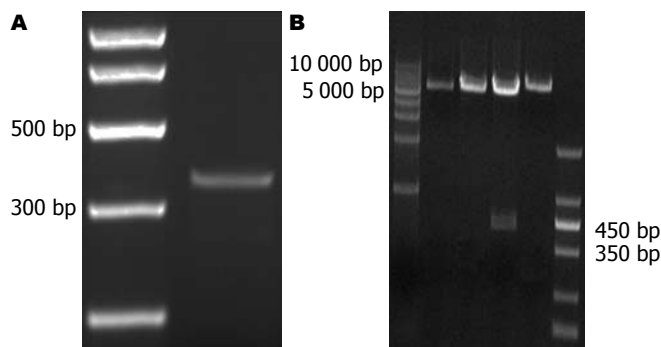


图1 miR-622真核表达载体的构建. A: PCR扩增miR-622前体, 大小约462 bp; B: pSuper/miR-622真核表达载体双酶切鉴定, 片段大小完全正确。

挑出克隆继续扩群培养, G418改为400 mg/L的维持浓度. 最后通过定量PCR验证miR-622的表达情况.

**1.2.3 Western blot检测ING1蛋白水平表达:** 提取细胞总蛋白, 定量, 与上样缓冲液按比例混匀, 100 °C煮5 min, 8% SDS-PAGE电泳后电转移至PVDF膜上, 5%脱脂牛奶室温封闭1 h, 加入一抗, 4 °C孵育过夜, TBST洗涤3次, 每10 min换液1次. 加入二抗, 37 °C孵育45 min, TBST洗涤3次, 每15 min换液1次, 在暗室中压片, 然后显影、定影. 图像应用AlphaImager 2200软件进行分析. 以GAPDH(单抗工作浓度为1:4 000)为内参照.

**1.2.4 CCK-8细胞增殖实验:** 96孔板中培养细胞, 每孔 $10^3$ 个细胞, 每种处理方式的细胞接种5个复孔. 1(细胞已贴壁)、2、3、4、5 d加入CCK-8 10  $\mu$ L. 培养4 h, 酶标仪设置波长570 nm 测定吸光度, 得到4个时间点的吸光度平均值后绘制细胞增殖曲线.

**1.2.5 流式细胞仪检测:** 取胃癌细胞 $10^6$ 个细胞计数, 接种到培养瓶中, 对照组加等体积PBS缓冲液, 胰酶消化细胞, 加入预先-20 °C冰冷的无水乙醇, 过滤到流式细胞计数管, 加50  $\mu$ L(0.1 g/L PI, 2 g/L RNA酶的PBS溶液)染色液混匀, 流式细胞技术计数, 以Flowjo 8.5软件分析细胞周期.

**统计学处理** 采用医用SPSS15.0统计软件进行分析、处理. 数据以mean $\pm$ SD表示. 组间均数的比较采用单因素方差分析. 行 $\times$ 列表资料的率差别采用 $\chi^2$ 检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 构建miR-622重组质粒表达载体** 以人胃癌细胞株MKN-45基因组为模板扩增miR-622前体, 可得到约462 bp目的条带(图1A). 将目的条带纯化后并经过Bgl II和Xho I双酶切克隆入microRNA表达载体pSuper.gfp/neo载体, 挑选阳性克隆鉴定(图1B), DNA测序表明miR-622真核表达载体构建成功.

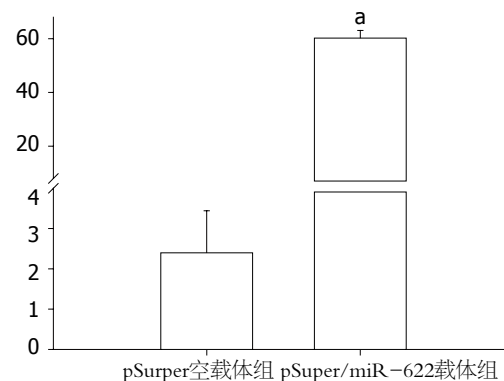


图2 稳定转染胃癌细胞MKN-45中miR-622定量分析.  $^aP<0.05$  vs pSuper空载体组.

**2.2 RT-PCR验证miR-622的表达** 在转染pSuper空载体组和转染pSuper/miR-622载体组定量值分别是:  $2.47 \pm 1.042$ 和 $61.24 \pm 2.86$ , 与pSuper空载体组相比较, 转染了pSuper/miR-622载体组miR-622表达量具有显著差异( $P<0.05$ , 图2), 表明稳转细胞筛选成功.

**2.3 Western blot验证ING1蛋白表达水平** 与pSuper空载体组相比, 转染了pSuper/miR-622高表达质粒的MKN-45细胞中ING1蛋白表达明显减少, 降低了4.58倍( $2.32 \pm 0.31$  vs  $10.62 \pm 1.04$ ,  $P<0.05$ ). 结果表明转染了miR-622的MKN-45细胞ING1蛋白的表达水平明显减少(图3). 实验结果表明ING1蛋白是miR-622靶向之一.

**2.4 miR-622高表达对胃癌细胞增殖的影响** pSuper/miR-622载体组细胞增殖数量明显增加( $P=0.000$ , 图4), miR-622的高表达促进了胃癌细胞的增殖.

**2.5 miR-622高表达对胃癌细胞周期的影响** pSuper/miR-622组在胃癌细胞 $G_0/G_1$ 期为 $21.45 \pm 0.16$ 而pSuper空载体组 $48.21 \pm 0.34$ ; pSuper/miR-622组在胃癌细胞 $G_2/M$ 期为 $53.67 \pm 0.41$ 而pSuper空载体组 $20.27 \pm 0.18$ , 与pSuper空载体组细胞相比较, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演

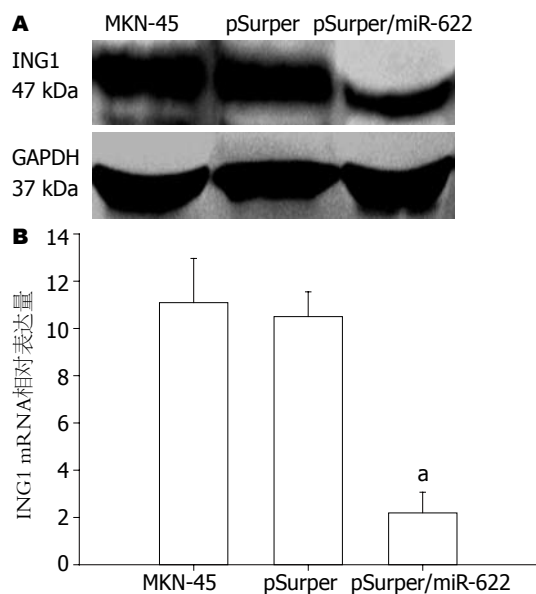


图3 miR-622抑制ING1基因表达。A: miR-622高表达抑制ING1基因表达; B: ING1基因mRNA相对表达量降低。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

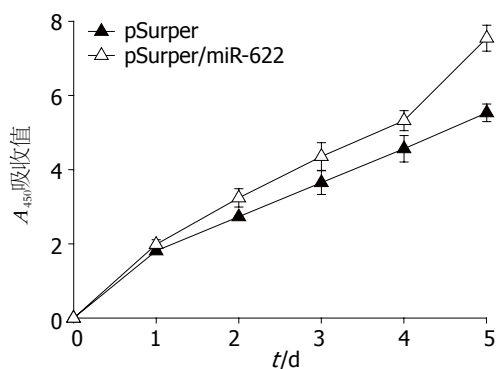


图4 CCK-8法检测两组细胞的生长曲线。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

化(图5)。

### 3 讨论

胃癌是全球高发的恶性肿瘤之一,但目前我们对胃癌的发病机制尚缺乏全面和深入的了解。已有研究报道,胃癌中也存在广泛的microRNA表达失调<sup>[2]</sup>。miRNA是近年才发现的一类小分子单链RNA,长度通常21-25 nt,具有发夹样茎一环二级结构,他主要通过成熟mRNA的3'-UTR序列相结合,抑制mRNA的翻译或使mRNA降解,从而抑制基因的表达<sup>[3-6]</sup>。成熟microRNA通过与靶基因完全(植物内)或不完全(动物内)互补结合,促进靶基因mRNA降解或者抑制翻译,调控基因表达,广泛参与生命过程中一系列重要进程,包括早期发育、细胞增殖、细胞凋亡、

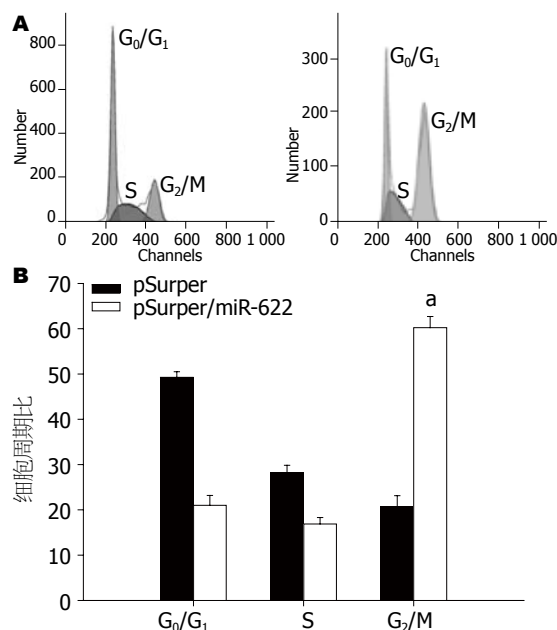


图5 miR-622促进了胃癌细胞周期的演化。A: 流式细胞仪检测的胃癌细胞周期; B: 胃癌细胞周期的统计分析。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pSuper空载体组。

脂肪代谢和细胞分化<sup>[3,4,7]</sup>。据估计microRNA种类在动植物体内多达上千种,至少调控机体内10%-30%基因表达,其在生命活动中的重要性可见一斑。目前,对于microRNA功能研究主要通过真核表达载体、体外转录以及直接合成3种方法为主。由于RNA本身容易收RNA酶污染而降解,合成价格昂贵、使用次数有限,使得后两种方法的应用有限,而采用真核表达载体,却有独特的优势<sup>[8]</sup>。

在本研究中我们首先通过生物信息学的方法分析了miR-622,人的miR-622(MI0003636)定位于13号染色体长臂q31.3,位于90881436-90885531位点,miR-622前体长度为96 bp,我们前期在对miR-622的研究发现miR-622直接靶向细胞周期相关基因ING1,miR-622在胃癌组织中表达下调,miR-622跟胃癌组织的分化和淋巴结转移相关,体内裸鼠和体外细胞实验证实上调miR-622的表达具有抑制胃癌细胞侵袭和肿瘤形成、转移的能力<sup>[1]</sup>。为了更好研究miR-622在胃癌中的作用,本研究采用microRNA表达载体pSuper.gfp/neo载体,此载体具有H1型启动子和绿色荧光蛋白,当microRNA插入此载体多克隆位点时被宿主细胞Dicer酶切割,成为成熟的mi-croRNA。构建的miR-622真核表达载体转染到MKN-45细胞,该细胞本身低表达miR-622<sup>[1]</sup>,转染进的miR-622前体能被宿主细胞Dicer酶切割,

#### ■应用要点

本文构建了pSuper/miR-622真核表达载体,通过实验证明其可在胃癌MKN-45细胞中有效表达并转变为成熟的miR-331发挥生物学作用。

### ■同行评价

本文讨论条理分明,有系统的理论分析和有价值的科学结论.

成为成熟的miR-622, 本实验为构建microRNA表达载体提出新的思路与方法. 其次, 构建的质粒转染入细胞后可整合到细胞基因组中, 稳定表达并与绿色荧光蛋白融合表达, 绿色荧光蛋白的表达可以间接反映microRNA表达情况, 并可以衡量质粒导入细胞过程中的转染效率以及表达情况.

越来越多的证据显示, 人类的一些恶性肿瘤组织中microRNAs基因的表达发生改变, 如肺癌<sup>[4,9]</sup>、肝癌<sup>[10]</sup>、结肠癌<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[12]</sup>、食管癌<sup>[13,14]</sup>. microRNA在胃癌中的调节作用也被越来越多的实验证实, Wan等<sup>[15]</sup>发现miR-9在人类胃癌中下调, 过表达的miR-9抑制人胃癌MGC-803细胞的生长, miR-9打靶NFkappaB1, 并且调节胃癌细胞的生长. miR-150在胃癌细胞系和组织中高表达, 异位表达的miR-150促进肿瘤和胃癌细胞扩散. 荧光素酶报告基因分析表明, EGR2是miR-150的直接靶位点<sup>[16]</sup>. 人类结肠癌细胞系中, miR-200b表达上调, 加入5-氟尿嘧啶处理之后miR-200b表达下调. miR-200b抑制络氨酸磷酸酶蛋白-PTPN12, 从而使c-Abl、Src和Ras等癌基因失活<sup>[17]</sup>. 为了更好阐明miR-622在胃癌发生发展中的作用, 我们通过Western blot实验显示miR-622高表达抑制细胞周期相关基因ING1的表达, ING1基因是1996年Garkavtsev等采用改良的cDNA消减杂交方法(subtractive hybridization)和体内选择技术(*in vivo* selection assay), 克隆到的一个新的肿瘤抑制基因, 主要编码蛋白p33ING1b, 细胞核内表达, 主要与p53共同参与基因调控、DNA修复、细胞周期调控、诱导凋亡以及衰老. 体内、体外和动物等实验也证实了p33ING1b蛋白的过量表达能够减缓细胞生长, 诱导细胞凋亡及促进损伤修复, 其低表达则可刺激克隆的形成, 促使细胞的恶性转化, 导致肿瘤的发生<sup>[18-22]</sup>. 目前认为, 胃癌是一类渐进性细胞周期调控机制破坏的疾病, 表现为细胞周期失调、信号传导途径异常. 生物进化过程中, 细胞建立了一系列的调控机制, 以确保细胞周期各时相严格有序地进行. 不受控制的细胞增殖是恶性肿瘤的最重要特征: 多数恶性肿瘤的发生、发展均与细胞周期调控功能紊乱有关. 因此, 对细胞周期调控机制和肿瘤细胞周期调控改变的深入研究, 小仅有助于认识肿瘤发生和演进, 还将为肿瘤治疗开辟崭新的思路<sup>[23-26]</sup>. 本课题通过胃癌细胞增殖和细胞周期实验对其进行了初步探讨, 我们使用流式细胞仪

对稳定转染胃癌细胞MKN-45进行了细胞周期分析, 实验结果表明, pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期为21.45±0.16明显低于pSuper空载体组48.21±0.34; pSuper/miR-622组在胃癌细胞G<sub>2</sub>/M期为53.67±0.41显著高于pSuper空载体组20.27±0.18, 与pSuper空载体组细胞相比较, 两组之间比较具有明显的统计学差异, miR-622的高表达促进了胃癌细胞周期的演化( $P=0.000$ ).

目前, 虽然已经鉴定出了大量的miRNA, 但其作用机制以及许多miRNA的生理功能还不是很清楚. 本实验构建了pSuper/miR-622真核表达载体, 通过实验证明其可在胃癌MKN-45细胞中有效表达并转变为成熟的miR-622发挥生物学作用, 表明真核表达载体pSuper/miR-622转染细胞可用于其功能研究. 此结果为进一步研究miR-622在胃癌发生发展中的作用提供了实验基础.

### 4 参考文献

- 1 Guo XB, Jing CQ, Li LP, Zhang L, Shi YL, Wang JS, Liu JL, Li CS. Down-regulation of miR-622 in gastric cancer promotes cellular invasion and tumor metastasis by targeting ING1 gene. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1895-1902
- 2 Petrocca F, Visone R, Onelli MR, Shah MH, Nicoloso MS, de Martino I, Iliopoulos D, Pilozi E, Liu CG, Negrini M, Cavazzini L, Volinia S, Alder H, Ruco LP, Baldassarre G, Croce CM, Vecchione A. E2F1-regulated microRNAs impair TGFbeta-dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 272-286
- 3 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297
- 4 Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, Yatabe Y, Kawahara K, Sekido Y, Takahashi T. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 2005; 65: 9628-9632
- 5 Jovanovic M, Hengartner MO. miRNAs and apoptosis: RNAs to die for. *Oncogene* 2006; 25: 6176-6187
- 6 Zhang B, Pan X, Anderson TA. MicroRNA: a new player in stem cells. *J Cell Physiol* 2006; 209: 266-269
- 7 Davis-Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem* 2010; 148: 381-392
- 8 严辉, 陈卫昌, 岑建农, 沈宏杰, 郭凌川, 顾冬梅, 谢学顺. 转染gklf基因对人胃癌细胞MKN-45裸鼠移植瘤的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 7-12
- 9 Lebanony D, Benjamin H, Gilad S, Ezagouri M, Dov A, Ashkenazi K, Gefen N, Izraeli S, Rechavi G, Pass H, Nonaka D, Li J, Spector Y, Rosenfeld N, Chajut A, Cohen D, Aharonov R, Mansukhani M. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2030-2037
- 10 Su H, Yang JR, Xu T, Huang J, Xu L, Yuan Y, Zhuang SM. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and

- suppresses tumorigenicity. *Cancer Res* 2009; 69: 1135-1142
- 11 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891
- 12 Kondo N, Toyama T, Sugiura H, Fujii Y, Yamashita H. miR-206 Expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 5004-5008
- 13 Zhou SL, Wang LD. Circulating microRNAs: novel biomarkers for esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2348-2354
- 14 Feber A, Xi L, Luketich JD, Pennathur A, Landreneau RJ, Wu M, Swanson SJ, Godfrey TE, Little VR. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135: 255-260; discussion 260
- 15 Wan HY, Guo LM, Liu T, Liu M, Li X, Tang H. Regulation of the transcription factor NF-kappaB1 by microRNA-9 in human gastric adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 16
- 16 Wu Q, Jin H, Yang Z, Luo G, Lu Y, Li K, Ren G, Su T, Pan Y, Feng B, Xue Z, Wang X, Fan D. MiR-150 promotes gastric cancer proliferation by negatively regulating the pro-apoptotic gene EGR2. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 392: 340-345
- 17 Rossi L, Bonmassar E, Faraoni I. Modification of miR gene expression pattern in human colon cancer cells following exposure to 5-fluorouracil in vitro. *Pharmacol Res* 2007; 56: 248-253
- 18 Gómez-Cabello D, Callejas S, Benguría A, Moreno A, Alonso J, Palmero I. Regulation of the microRNA processor DGCR8 by the tumor suppressor ING1. *Cancer Res* 2010; 70: 1866-1874
- 19 Liu J, Lin Y, Yang H, Deng Q, Chen G, He J. The expression of p33(ING1), p53, and autophagy-related gene Beclin1 in patients with non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2011 Jul 22. [Epub ahead of print]
- 20 Tallen G, Farhangi S, Tamannai M, Holtkamp N, Mangoldt D, Shah S, Suzuki K, Truss M, Henze G, Riabowol K, von Deimling A. The inhibitor of growth 1 (ING1) proteins suppress angiogenesis and differentially regulate angiopoietin expression in glioblastoma cells. *Oncol Res* 2009; 18: 95-105
- 21 Tamannai M, Farhangi S, Truss M, Sinn B, Wurm R, Bose P, Henze G, Riabowol K, von Deimling A, Tallen G. The inhibitor of growth 1 (ING1) is involved in trichostatin A-induced apoptosis and caspase 3 signaling in p53-deficient glioblastoma cells. *Oncol Res* 2010; 18: 469-480
- 22 Wagner MJ, Helbing CC. Multiple variants of the ING1 and ING2 tumor suppressors are differentially expressed and thyroid hormone-responsive in *Xenopus laevis*. *Gen Comp Endocrinol* 2005; 144: 38-50
- 23 李乐平, 程力, 张黎, 靖昌庆, 徐韬, 李辰生, 郭晓波. 胃癌中靶向E2F1基因的miR-331真核表达载体的构建及功能. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1451-1456
- 24 Foster DA, Yellen P, Xu L, Saqcena M. Regulation of G1 Cell Cycle Progression: Distinguishing the Restriction Point from a Nutrient-Sensing Cell Growth Checkpoint(s). *Genes Cancer* 2010; 1: 1124-1131
- 25 Jin X, Tang S, Chen Q, Zou J, Zhang T, Liu F, Zhang S, Sun C, Xiao X. Furazolidone induced oxidative DNA damage via up-regulating ROS that caused cell cycle arrest in human hepatoma G2 cells. *Toxicol Lett* 2011; 201: 205-212
- 26 Méndez J. Cyclin E goes nuts: a cell cycle regulator affects male fertility. *Cell Cycle* 2010; 9: 4782

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)



# EGF、SS在海洛因戒断、脱毒、复吸大鼠颌下腺组织中的表达

胡 贇, 梁文妹, 韩 晶, 洪 艳, 夏白娟, 李一欣, 谢 莉

## ■背景资料

近年来的研究表明,阿片类药物滥用者胃肠功能损伤明显,并出现多种神经内分泌活动改变,而临床对症状治疗效果不理想。颌下腺能分泌多种活性物质,对胃肠功能的调节有重要作用。EGF是重要的促细胞生长因子,对胃肠道溃疡等疾病有积极治疗作用。SS对胃肠肿瘤及其他疾病有较好治疗效果。目前,国内外有关阿片成瘾的研究大多为神经生物学、分子生物学方面,关于形态学原位研究的报道较少,尚未见有关海洛因戒断及脱毒复吸大鼠颌下腺EGF、SS表达的相关报道。

## ■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化内科; 唐世刚, 教授, 大连大学附属中山医院内科

胡贇, 梁文妹, 韩晶, 洪艳, 夏白娟, 李一欣, 谢莉, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室 贵州省贵阳市 550004

胡贇, 2004年贵阳医学院硕士, 副教授, 主要从事颌下腺神经内分泌活性物质的研究。

贵州省社会发展科技攻关计划基金资助项目, No. 黔科合S字[2007]1048

作者贡献分布: 此课题由梁文妹设计, 并指导实验及对文章的知识性内容作批评性审阅; 胡贇、韩晶、洪艳、夏白娟、李一欣及谢莉完成动物模型的制作; 标本染色、数据采集及分析、文章起草由胡贇完成。

通讯作者: 梁文妹, 教授, 550004, 贵州省贵阳市北京路9号, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室, wenmeiliang@126.com

电话: 0851-6909118

收稿日期: 2011-07-28 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Expression of EGF and somatostatin in the submandibular gland of rats during heroin abstinence, detoxification or relapse

Yun Hu, Wen-Mei Liang, Jing Han, Yan Hong, Bai-Juan Xia, Yi-Xin Li, Li Xie

Yun Hu, Wen-Mei Liang, Jing Han, Yan Hong, Bai-Juan Xia, Yi-Xin Li, Li Xie, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: the Key Science and Technology Program, of Guizhou Province, No. QIAN KE HE S ZI (2007) 1048

Correspondence to: Professor Wen-Mei Liang, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical University, 9 Beijing Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. wenmeiliang@126.com

Received: 2011-07-28 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of epidermal growth factor (EGF) and somatostatin in the submandibular gland of rats during heroin abstinence, detoxification or relapse.

**METHODS:** Male rats were divided into normal control group (NCG,  $n = 5$ ), saline control group (SCG,  $n = 5$ ), and experiment group (EG). The EG group was further divided into heroin abstinence group (HAG,  $n = 5$ ), methadone detoxification group (MDG,  $n = 5$ ), and heroin relapse

group (HRG,  $n = 5$ ). Submandibular gland tissue samples were taken from each group to perform immunohistochemistry to detect the expression of EGF and somatostatin.

**RESULTS:** Compared to the NCG group, the immunostaining density of EGF- and SS-positive cells was greater, the mean grey degree of EGF- and SS-positive cells decreased (EGF:  $71.21 \pm 9.31$  vs  $153.59 \pm 11.00$ ,  $144.35 \pm 7.54$ ,  $F = 37.444$ ; SS:  $158.62 \pm 10.95$  vs  $149.19 \pm 9.00$ ,  $136.73 \pm 7.93$ ,  $F = 19.260$ ; all  $P < 0.05$ ), and the number of EGF-positive cells significantly increased ( $52.13 \pm 5.33$  vs  $60.96 \pm 6.06$ ,  $58.87 \pm 5.69$ ,  $F = 10.363$ , both  $P < 0.05$ ) in the HAG and HRG groups. The number of SS-positive cells significantly increased ( $NCG 45.68 \pm 5.70$  vs  $HAG 56.68 \pm 4.31$ ,  $F = 11.201$ ,  $P < 0.05$ ) in the HAG group but showed no significant changes in the HRG group ( $P > 0.05$ ) compared to the NCG group. In addition, the mean grey degree of EGF- and SS-positive cells did not change significantly in the MDG group ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Heroin abstinence and relapse significantly affect the synthesis and secretion of EGF and SS in the submandibular gland of rats.

**Key Words:** Heroin; Abstinence; Detoxification; Relapse; Submandibular gland; Rats; Epidermal growth factor; Somatostatin; Immunohistochemistry

Hu Y, Liang WM, Han J, Hong Y, Xia BJ, Li YX, Xie L. Expression of EGF and somatostatin in the submandibular gland of rats during heroin abstinence, detoxification or relapse. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2816-2821

## 摘要

**目的:** 研究表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、生长抑素(somatostatin, SS)在海洛因戒断、脱毒及复吸大鼠颌下腺组织中表达的变化。

**方法:** 正常♂SD大鼠35只, 随机分为正常对照组(NCG,  $n = 5$ )、盐水对照组(SCG1、SCG2、SCG3, 各组 $n = 5$ )及实验组( $n = 5$ ), 实验组又

分为海洛因戒断组(HAG,  $n=5$ )、美沙酮脱毒治疗组(MDG,  $n=5$ )、海洛因复吸组(HRG,  $n=5$ )。取各组大鼠颌下腺组织,并用免疫组织化学SABC法及图像分析方法检测其EGF、SS的表达。

**结果:**与NCG及SCG相比, HAG与HRG大鼠颌下腺EGF、SS阳性细胞的免疫染色加深,图像分析方法测得其平均灰度值明显下降(EGF: NCG $171.21 \pm 9.31$  vs HAG $153.59 \pm 11.00$ , HRG $144.35 \pm 7.54$ ,  $F=37.444$ ; SS: NCG $158.62 \pm 10.95$  vs HAG $149.19 \pm 9.00$ , HRG $136.73 \pm 7.93$ ,  $F=19.260$ ,  $P<0.05$ ),而EGF阳性细胞数量明显增多(NCG $52.13 \pm 5.33$  vs HAG $60.96 \pm 6.06$ , HRG $58.87 \pm 5.69$ ,  $F=10.363$ ,  $P<0.05$ ); HAG大鼠颌下腺SS阳性细胞计数增加(NCG $45.68 \pm 5.70$  vs HAG $56.68 \pm 4.31$ ,  $F=11.201$ ,  $P<0.05$ ),而HRG则无明显变化( $P>0.05$ )。MDG大鼠颌下腺EGF、SS阳性细胞的数量及平均灰度值与NCG及SCG相比差异无显著性( $P>0.05$ )。

**结论:**海洛因戒断及复吸对大鼠颌下腺EGF、SS的合成和分泌有明显影响。

**关键词:**海洛因;戒断;脱毒;复吸;颌下腺;大鼠;表皮生长因子;生长抑素;免疫组织化学

胡赞,梁文妹,韩晶,洪艳,夏白娟,李一欣,谢莉. EGF、SS在海洛因戒断、脱毒、复吸大鼠颌下腺组织中的表达. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2816-2821

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2816.asp>

## 0 引言

阿片类药物成瘾及戒断机制的研究与治疗一直是众多学者关注的热点,而如何减轻戒断后稽延症状的发生并防止脱毒后复吸仍是目前尚待解决的难题。海洛因滥用范围广泛,危害严重,对消化功能损害明显,并出现多种神经内分泌活动改变,引起一系列临床症状和病变<sup>[1,2]</sup>。颌下腺除分泌消化酶参与消化外,还能合成分泌多种活性物质,与神经系统共同构成“神经内分泌轴”,对内环境的稳定有重要作用<sup>[3]</sup>。Racz等<sup>[4]</sup>利用这一特点将颌下腺作为基因治疗的靶器官,另有学者通过制备人造颌下腺以获得所需生物活性蛋白<sup>[5]</sup>。这些活性物质中不乏与胃肠功能调节密切相关的细胞因子及神经肽,其中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及生长抑素(somatostatin, SS)的研究最为常见。EGF是重要的促细胞生长因子,能促进胃肠上皮细胞增

殖和分化<sup>[6]</sup>,SS及其类似物在临床应用范围广泛,对胃肠道肿瘤及其他疾病的治疗效果较好<sup>[7]</sup>。目前,国内外有关阿片成瘾的研究大多为神经生物学、分子生物学方面<sup>[8,9]</sup>,关于形态学原位研究的报道较少,尚未见有关海洛因戒断及脱毒复吸大鼠颌下腺EGF、SS表达的相关报道。本实验通过建立海洛因戒断、脱毒、复吸模型,用免疫组织化学及图像分析法,研究颌下腺EGF、SS的定位及表达变化,以期为进一步研究海洛因成瘾及戒断机制提供形态学资料,并试图为临床通过利用颌下腺神经内分泌功能治疗海洛因引起的消化系功能紊乱提供相应的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 成年♂SD大鼠35只,体质量180-220 g,由贵阳医学院实验动物中心提供。海洛因纯度为61.48%,由贵州省公安厅提供。美沙酮由汉方制药厂提供。每组5只。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:**按配对原则随机分为正常对照组(normal control group, NCG)5只、盐水对照组(saline control group, SCG)15只和实验组(experiment group, EG)15只,EG又分为海洛因戒断组(heroine abstinence group, HAG)、美沙酮脱毒组(methadone detoxication group, MDG)和海洛因复吸组(heroine relapse group, HRG),每组5只;盐水对照组也分为3组(SCG1、SCG2、SCG3),每组5只,分别与实验各组对照。

**1.2.2 造模:**(1)海洛因戒断大鼠模型<sup>[10]</sup>:EG大鼠按体质量腹部皮下注射海洛因药液,首日剂量为3 mg/kg,2次/d(上午08:00,下午15:00),每日递增剂量为3 mg/kg,连续9 d至成瘾。第9天剂量为27 mg/kg。第10天取5只大鼠腹腔注射0.8 mg纳洛酮催瘾,观察并记录戒断症状30 min,出现扭体、湿狗样抖、跳跃、站立、齿颤、清理皮毛、上睑下垂等戒断症状,依照Maldonad等的戒断症状评分标准评定,判定大鼠海洛因戒断模型成功,并于1 h内将大鼠处死;(2)美沙酮脱毒治疗模型<sup>[11]</sup>:将其余已成瘾大鼠腹腔注射美沙酮,连续注射6 d,每日剂量递减,依次为5、4、3、2、1、0.5 mg/kg,观察并记录大鼠行为表现。至脱毒治疗第7天时,使用纳洛酮催瘾并观察已无明显戒断症状,脱毒模型成功建立,将5只MDG大鼠处死;(3)海洛因复吸大鼠模型:将剩余5只美沙酮脱毒6 d后的大鼠再次注射海洛因,

## ■ 研究前沿

阿片类药物成瘾及戒断机制的研究与治疗一直是众多学者关注的热点,然而,如何减轻戒断后稽延症状的发生并防止脱毒后复吸仍是目前尚待解决的难题。海洛因(即盐酸二乙酰吗啡)是其中的代表品种,其滥用范围广泛,危害严重,脱毒后复吸的比例极高。

### ■相关报道

EGF能促进胃肠上皮细胞的增殖、分化和成熟,对保持黏膜的完整性有重要作用。SS及其类似物对腹泻、胃肠道肿瘤及胃肠出血等疾病都有较好的治疗效果,且SS及其类似物能激活 $\mu$ 阿片受体,与阿片类物质之间有竞争作用。

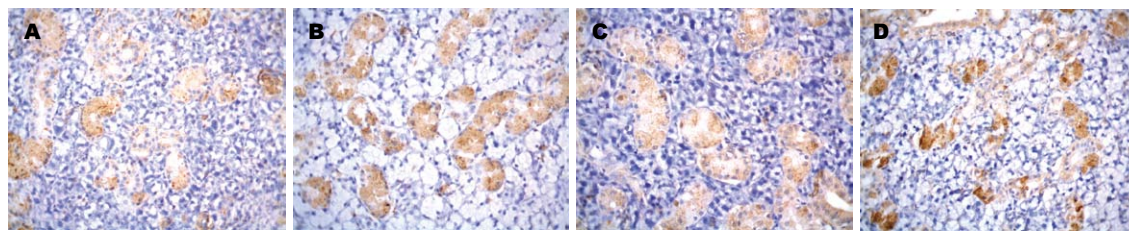


图1 大鼠颌下腺EGF阳性细胞(SABC  $\times 400$ ). A: NCG; B: HAG; C: MDG; D: HRG.

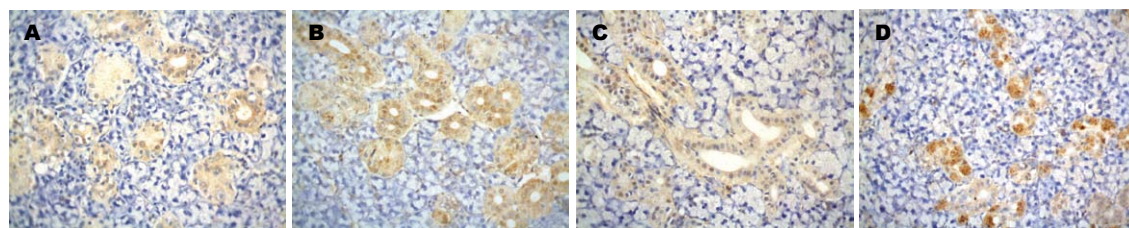


图2 大鼠颌下腺SS阳性细胞(SABC  $\times 400$ ). A: NCG; B: HAG; C: MDG; D: HRG.

注射剂量9 mg/kg首日, 1次/d(上午08:00时), 逐日递增剂量为3 mg/kg, 连续7 d, 让大鼠再次染毒后将其处死。SCG1、SCG2、SCG3按体质量每日注射与EG相当剂量的生理盐水, 并与EG同时处死; NCG不予任何处理, 按时喂养, 同期处死。

1.2.3 取材和标本制备: 分别取NCG、SCG(SCG1、SCG2、SCG3)和EG(HAG、MDG和HRG)大鼠颌下腺组织, Bouin液固定, 常规石蜡包埋, 制成4  $\mu$ m厚的连续切片, 每例每个指标均观察切片3张以上, 切片间隔56  $\mu$ m。

1.2.4 免疫组织化学SABC法: 按免疫组织化学SABC法进行免疫组织化学染色, 分别显示EGF和SS阳性细胞。主要步骤为: 切片常规脱蜡至水, 室温10%甲醇-过氧化氢10 min, 正常羊血清(1:50)室温下封闭20 min, 分别滴加兔EGF(1:500, sigma公司, 美国)、SS抗血清(1:100, 博士得生物工程公司), 4  $^{\circ}$ C孵育过夜, 羊抗兔IgG(1:100, 博士得生物工程公司)37  $^{\circ}$ C孵育20 min, SABC复合物(1:100)37  $^{\circ}$ C孵育20 min, DAB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>液显色, 苏木精轻度复染, 中性树胶封片。方法对照: 以PBS缓冲液代替特异性抗血清作为阴性对照, 用已知阳性片作阳性对照, 余步骤相同。

1.2.5 图像分析: 随机选取NCG、HAG、MDG和HRG和同期SCG颌下腺切片各3例, 应用Bio-Mias图像分析系统进行检测。在40倍物镜下, 每例切片随机选取5个视野, 计数每个视野内有核EGF和SS阳性细胞数, 并检测其平均灰度值。

**统计学处理** 应用SPSS16.0软件包对所得数据进行单因素方差分析(One-way analysis of

variance, ANOVA)进行统计分析(mean  $\pm$  SD).  $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

2.1 大鼠颌下腺EGF阳性细胞 光镜下, NCG大鼠EGF阳性产物呈棕黄色细颗粒状, 分布于以颗粒曲管(granular convoluted tubule cell, GCT)为主的颌下腺各级导管上皮细胞胞质内, 同一导管断面可见不同反应强度的EGF阳性细胞。腺泡细胞为阴性反应(图1A)。SCG大鼠颌下腺EGF阳性细胞的分布及免疫染色均无明显变化。HAG大鼠颌下腺EGF阳性细胞的分布与NCG及SCG大鼠基本一致, 但免疫染色变深(图1B)。与NCG及SCG大鼠相比, MDG大鼠颌下腺EGF阳性细胞的分布及反应强度均无明显变化(图1C)。HRG大鼠EGF阳性细胞染色变深, 部分GCT细胞胞质中可见明显的分泌颗粒(图1D)。

2.2 大鼠颌下腺SS阳性细胞 NCG大鼠颌下腺的SS阳性产物分布于以纹状管和GCT为主的导管上皮细胞胞质中。腺泡细胞呈阴性反应(图2A)。SCG大鼠SS阳性产物的分布及反应强度无明显改变。与NCG及SCG大鼠相比, HAG大鼠颌下腺SS阳性细胞的分布基本一致, 但染色加深(图2B)。MDG大鼠颌下腺SS阳性细胞的分布及反应强度均无明显改变, 与NCG及SCG大鼠基本一致(图2C)。HRG大鼠SS阳性细胞染色明显变深, 阳性产物仍分布于导管上皮细胞胞质内(图2D)。

2.3 各组大鼠颌下腺EGF阳性细胞的图像分析 SCG1、SCG2、SCG3与NCG大鼠相比, 其EGF阳



表 1 各组大鼠颌下腺EGF阳性细胞的图像分析(mean ± SD)

分组	测量指标			
	细胞数量	P值	平均灰度值	P值
NCG	52.13 ± 5.33		171.21 ± 9.31	
SCG1	52.26 ± 4.72	0.938	172.91 ± 11.55	0.508
SCG2	52.44 ± 5.67	0.855	170.04 ± 10.05	0.651
SCG3	52.96 ± 5.36	0.620	171.04 ± 6.22	0.947
HAG	60.96 ± 6.06	0.0001	153.59 ± 11.00	0.0001
MDG	51.70 ± 6.46	0.794	171.92 ± 7.77	0.781
HRG	58.87 ± 5.69	0.0001	144.35 ± 7.54	0.0001

表 2 各组大鼠颌下腺SS阳性细胞的图像分析(mean ± SD)

分组	测量指标			
	细胞数量	P值	平均灰度值	P值
NCG	45.68 ± 5.70		158.62 ± 10.95	
SCG1	46.32 ± 6.58	0.729	159.42 ± 9.13	0.773
SCG2	45.42 ± 6.10	0.885	159.37 ± 8.28	0.784
SCG3	44.16 ± 7.74	0.403	158.12 ± 8.27	0.855
HAG	56.68 ± 4.31	0.0001	149.19 ± 9.00	0.0001
MDG	45.63 ± 4.27	0.977	158.17 ± 12.18	0.870
HRG	45.06 ± 3.00	0.734	136.73 ± 7.93	0.0001

性细胞数量和平均灰度值的差异无统计学意义;而在MDG大鼠, EGF阳性细胞数量及平均灰度值的变化也无显著性; HAG及HRG大鼠颌下腺EGF阳性细胞的数量明显增加( $F = 10.363, P < 0.05$ ), 平均灰度值则下降( $F = 37.444, P < 0.05$ , 表1).

2.4 各组大鼠颌下腺SS阳性细胞的图像分析 与NCG比较, SCG1、SCG2、SCG3大鼠SS阳性细胞数量和平均灰度值差异无显著性; MDG与NCG、SCG之间的差异也无显著性; HAG大鼠颌下腺SS阳性细胞数量明显增加( $F = 11.201, P < 0.05$ ), 而HRG则无明显变化, 但HAG、HRG大鼠颌下腺SS阳性细胞平均灰度值明显下降( $F = 19.260, P < 0.05$ , 表2).

### 3 讨论

在正常生理状态下, 内源性阿片肽与阿片受体相互作用, 通过神经内分泌整合机制来保持内环境的稳定. 当大量外源性阿片肽进入机体, 内源性阿片肽的合成与释放受到抑制, 外源性阿片肽则替代内源性阿片肽在体内建立新的稳态. 长期吸食毒品, 阿片受体对外源性阿片肽很快会产生耐受性, 从而迫使吸毒者不断重复和吸食更多的毒品以保持体内的这种病态平衡. 此

时, 如果骤然中断毒品供给, 则内、外源性阿片肽都缺乏, 阿片肽系统的调节作用丧失, 继而影响神经内分泌整合作用, 表现出以植物神经系统机能亢进为主的戒断症状<sup>[12]</sup>. 纳洛酮是阿片受体竞争性拮抗剂, 能阻断外源性阿片肽与体内阿片受体的结合, 常伴有明显的消化系戒断症状, 如食欲差、腹痛、腹泻, 甚至消化系溃疡及出血等表现等, 这除了外源性阿片肽的直接作用以外, 还与胃肠激素的改变有关<sup>[13,14]</sup>.

EGF于1959年由美国生化学家Cohen首先从小鼠颌下腺中提取, 自从1962年被提纯以来, 一直受到众多学者的关注. 消化系中EGF的含量远远高于血液循环中的浓度, 在正常情况下唾液中的EGF不仅对胃酸分泌有抑制作用, 更重要的是EGF能促进胃黏膜细胞增生及维持胃黏膜完整性, 对萎缩性胃炎、胃肠道溃疡等疾病的治疗有积极作用<sup>[4]</sup>. SS是一种重要的神经内分泌活性物质, 对机体生理功能的影响广泛, 主要是起抑制作用, 对几乎所有的内、外分泌活动及胃肠运动均有较强的抑制作用. 近年来SS及其类似物在临床应用范围非常广泛, 不仅可以用于内分泌肿瘤的治疗, 而且对腹泻、胃肠道肿瘤及胃肠出血等疾病都有较好的治疗效果, 对

### ■创新盘点

本组实验结果表明, 海洛因戒断、复吸大鼠颌下腺EGF、SS分泌增多可能与海洛因引起的胃肠功能损伤调节有关. 而在胃肠道有大量阿片受体的分布, 由于SS能激活 $\mu$ 阿片受体, 提示颌下腺分泌的SS还能竞争性的抑制外源性阿片肽与阿片受体的结合, 减轻外源性阿片肽对机体造成的损伤.

## ■应用要点

为进一步研究海洛因成瘾及戒断机制提供形态学资料,并为临床通过利用颌下腺神经内分泌功能调整体内激素、细胞因子水平来治疗海洛因引起的消化系统功能紊乱提供相应的理论依据。

胃肠道有明显的细胞保护作用<sup>[7,15,16]</sup>。本组实验结果表明,海洛因戒断组大鼠颌下腺EGF、SS阳性细胞数量增加,平均灰度值下降,表明此时EGF、SS合成增多。我们推测增多的EGF、SS不仅对海洛因造成的胃肠功能损害有保护作用,而且还与大鼠出现的消化系戒断症状有关。

美沙酮是人工合成的 $\mu$ 阿片受体激动剂,成本低,是阿片类药物良好的替代品,常用于阿片成瘾的维持治疗<sup>[17]</sup>。本实验通过美沙酮逐日递减法,成功建立美沙酮脱毒大鼠模型,并用免疫组织化学法及图像分析法检测EGF、SS阳性细胞的数量和平均灰度值,结果显示与NCG及SCG的差异无显著性,说明颌下腺分泌的EGF、SS含量恢复正常。且本实验中MDG大鼠未出现明显戒断症状。提示使用美沙酮进行逐日递减脱毒治疗的方法是有效的,颌下腺分泌的EGF、SS与脱毒后大鼠胃肠功能的调节过程有关,但其具体的作用机制有待于进一步研究。

复吸一直是戒毒治疗中一个非常棘手的难题,海洛因依赖者脱毒后复吸的比例极高,而且复吸后海洛因对机体各器官功能的损伤较之前会更为严重<sup>[18]</sup>。海洛因等阿片类毒品对胃肠功能有明显损害,临床常见因胃肠功能紊乱而导致的消化不良、便秘、消化系溃疡及出血等症状,且对治疗效果不理想<sup>[19]</sup>。研究表明,EGF能促进胃肠上皮细胞的增殖、分化和成熟,对上皮细胞有明显的保护作用,并且与胃肠黏膜上皮细胞损伤后的修复有关<sup>[20]</sup>,对保持黏膜的完整性有重要作用<sup>[21]</sup>,与溃疡的发生和愈合有关<sup>[22]</sup>。同时EGF还能促进肠干细胞的增殖<sup>[23]</sup>,预防坏死性小肠结肠炎的发生<sup>[24]</sup>。有研究报道,SS及其衍生物善得定能增加食欲<sup>[25]</sup>,且善得定因具备抗氧化、抗炎及抗细胞凋亡的作用而能促进胃溃疡的愈合<sup>[26]</sup>,同时,SS还能减轻肠管扩张,对术后早期炎性肠梗阻<sup>[27]</sup>以及溃疡性结肠炎<sup>[28]</sup>均有明显治疗作用。在本组实验结果中,HRG大鼠EGF阳性细胞数量增多,平均灰度值明显下降;SS阳性细胞数量虽无明显变化,但平均灰度值也明显下降,说明此时颌下腺分泌EGF、SS增多。提示复吸后胃肠功能再次受损,而颌下腺分泌增多的EGF、SS则与海洛因依赖引起的胃肠功能损伤的调节有关。

另有研究报道<sup>[29]</sup>,阿片受体与SS受体的氨基酸序列具有高度同源性,二者的配体可能相同,SS及其类似物能激活 $\mu$ 阿片受体,与阿片类药物之间有竞争作用。而在胃肠道有大量阿片

受体的分布<sup>[30]</sup>。结合本组研究结果,我们推测海洛因复吸期间颌下腺分泌的SS除参与胃肠道的保护外,还能竞争性的抑制外源性阿片肽与阿片受体的结合,从而减轻外源性阿片肽对机体造成的损伤。

总之,海洛因对颌下腺EGF、SS的分泌活动有明显影响,我们推测这种变化与机体对海洛因产生的适应性调节过程有关,对海洛因造成的胃肠功能损伤有一定的保护作用。但其具体的作用机制尚有待于进一步研究。

## 4 参考文献

- 1 Shi J, Li SX, Zhang XL, Wang X, Le Foll B, Zhang XY, Kosten TR, Lu L. Time-dependent neuroendocrine alterations and drug craving during the first month of abstinence in heroin addicts. *Am J Drug Alcohol Abuse* 2009; 35: 267-272
- 2 McNicol E, Boyce DB, Schumann R, Carr D. Efficacy and safety of mu-opioid antagonists in the treatment of opioid-induced bowel dysfunction: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pain Med* 2008; 9: 634-659
- 3 Mathison RD, Davison JS, Befus AD, Gingerich DA. Salivary gland derived peptides as a new class of anti-inflammatory agents: review of preclinical pharmacology of C-terminal peptides of SMR1 protein. *J Inflamm (Lond)* 2010; 7: 49
- 4 Racz GZ, Perez-Riveros P, Adriaansen J, Zheng C, Baum BJ. In vivo secretion of the mouse immunoglobulin G Fc fragment from rat submandibular glands. *J Gene Med* 2009; 11: 580-587
- 5 Aframian DJ, Amit D, David R, Shai E, Deutsch D, Honigman A, Panet A, Palmon A. Reengineering salivary gland cells to enhance protein secretion for use in developing artificial salivary gland device. *Tissue Eng* 2007; 13: 995-1001
- 6 Yan F, Cao H, Chaturvedi R, Krishna U, Hobbs SS, Dempsey PJ, Peek RM, Cover TL, Washington MK, Wilson KT, Polk DB. Epidermal growth factor receptor activation protects gastric epithelial cells from *Helicobacter pylori*-induced apoptosis. *Gastroenterology* 2009; 136: 1297-1307, e1-3
- 7 Oberg KE, Reubi JC, Kwekkeboom DJ, Krenning EP. Role of somatostatins in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor development and therapy. *Gastroenterology* 2010; 139: 742-53, 753. e1
- 8 Deb I, Chakraborty J, Gangopadhyay PK, Choudhury SR, Das S. Single-nucleotide polymorphism (A118G) in exon 1 of OPRM1 gene causes alteration in downstream signaling by mu-opioid receptor and may contribute to the genetic risk for addiction. *J Neurochem* 2010; 112: 486-496
- 9 张力, 李吉胜. 阿片类药物成瘾机制研究进展. 国际精神病学杂志 2007; 34: 218-221
- 10 潘贵书, 徐国强, 李淑芳. 海洛因成瘾大鼠模型的建立. 贵阳医学院学报 1997; 12: 46
- 11 叶峻, 蒙子卿, 韦世秀, 刘佳娟, 郑毅, 韦献良, 黄绍明, 周燕. 海洛因成瘾复吸动物模型的建立. 广西医科大学学报 2003; 20: 832-825
- 12 郑春兰, 李秉权. 阿片类药物依赖戒断时神经内分泌、细胞内信使系统的变化及影响上述变化的药物。



- 医学综述 1999; 5: 127-132
- 13 Sporer KA, Kral AH. Prescription naloxone: a novel approach to heroin overdose prevention. *Ann Emerg Med* 2007; 49: 172-177
- 14 耿嘉蔚, 郭强, 马德林, 范红, 万苹. 海洛因成瘾者戒毒后部分胃肠肽类激素的测定. *诊断学理论与实践* 2003; 2: 138-139
- 15 Pawlikowski M, Melań-Mucha G. Somatostatin analogs - from new molecules to new applications. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4: 608-613
- 16 Gregersen T, Grønbaek H, Worsøe J, Schlageter V, Laurberg S, Krogh K. Effects of Sandostatin LAR on gastrointestinal motility in patients with neuroendocrine tumors. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 895-902
- 17 Mattick RP, Breen C, Kimber J, Davoli M. Methadone maintenance therapy versus no opioid replacement therapy for opioid dependence. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; CD002209
- 18 Blum K, Chen TJ, Downs BW, Bowirrat A, Waite RL, Braverman ER, Madigan M, Oscar-Berman M, DiNubile N, Stice E, Giordano J, Morse S, Gold M. Neurogenetics of dopaminergic receptor supersensitivity in activation of brain reward circuitry and relapse: proposing "deprivation-amplification relapse therapy" (DART). *Postgrad Med* 2009; 121: 176-196
- 19 Thomas J. Opioid-induced bowel dysfunction. *J Pain Symptom Manage* 2008; 35: 103-113
- 20 Dvorak B. Milk epidermal growth factor and gut protection. *J Pediatr* 2010; 156: S31-S35
- 21 Clark JA, Clark AT, Hotchkiss RS, Buchman TG, Coopersmith CM. Epidermal growth factor treatment decreases mortality and is associated with improved gut integrity in sepsis. *Shock* 2008; 30: 36-42
- 22 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永峰. 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1768-1770
- 23 Biteau B, Jasper H. EGF signaling regulates the proliferation of intestinal stem cells in *Drosophila*. *Development* 2011; 138: 1045-1055
- 24 Nair RR, Warner BB, Warner BW. Role of epidermal growth factor and other growth factors in the prevention of necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2008; 32: 107-113
- 25 Stengel A, Coskun T, Goebel M, Wang L, Craft L, Alsina-Fernandez J, Rivier J, Taché Y. Central injection of the stable somatostatin analog ODT8-SST induces a somatostatin2 receptor-mediated orexigenic effect: role of neuropeptide Y and opioid signaling pathways in rats. *Endocrinology* 2010; 151: 4224-4235
- 26 Nassar NN, Schaalán MF, Zaki HF, Abdallah DM. Octreotide ameliorates gastric lesions in chronically mild stressed rats. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1135-1142
- 27 龙锦, 范建鹏, 许元鸿, 郭克建. 生长抑素治疗术后早期炎症性肠梗阻45例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 864-867
- 28 刘元山, 陈剑群, 朱炳喜. 生长抑素对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道炎症损伤的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1726-1731
- 29 刘威, 赵海清, 张兆山. 阿片受体的研究进展. *生物技术通讯* 2003; 14: 231-234
- 30 Holzer P. Opioid receptors in the gastrointestinal tract. *Regul Pept* 2009; 155: 11-17

#### ■同行评价

本文选题新颖, 有一定创新性, 结果对戒毒治疗有很好的理论和治疗指导意义。

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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.

# 靶向Plk1的siRNA对肝癌细胞凋亡的影响

孙威, 刘宝林, 陈爱山, 曹献馗, 苏琪

## ■背景资料

细胞分裂的过程受多种信号途径的促进与调控以保证基因的稳定, 在调控这些过程的调节酶类中, Plks被认为是最重要的。Plk1是哺乳动物Plks家族中最具特征性的成员, 强烈促进细胞有丝分裂过程, 是多个细胞周期相关事件的重要调节因子。

孙威, 刘宝林, 陈爱山, 曹献馗, 苏琪, 中国医科大学附属盛京医院结直肠、肛门病外科 辽宁省沈阳市 110004

孙威, 博士, 讲师, 中国医科大学附属盛京医院结直肠、肛门病外科, 主要从事消化系统肿瘤的治疗。

作者贡献分布: 本文由孙威、刘宝林及苏琪设计; 研究过程及数据分析由孙威、刘宝林、陈爱山及曹献馗完成, 苏琪审定。

通讯作者: 苏琪, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院结直肠、肛门病外科主任。suq@sj-hospital.org  
电话: 024-96615-31914

收稿日期: 2011-07-25 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-25 在线出版日期: 2011-09-28

## Small interfering RNA-mediated knockdown of polo-like kinase 1 promotes apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line BCL-7402

Wei Sun, Bao-Lin Liu, Ai-Shan Chen, Xian-Kui Cao, Qi Su

Wei Sun, Bao-Lin Liu, Ai-Shan Chen, Xian-Kui Cao, Qi Su, Department of Colorectal Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Qi Su, Department of Colorectal Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. suq@sj-hospital.org

Received: 2011-07-25 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-25 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of small interfering RNA (siRNA)-mediated Polo-like kinase 1 (Plk1) gene silencing on *p53* expression and cell apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line BCL-7402, and to explore the feasibility of targeting the human Plk1 gene as a therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma.

**METHODS:** Two siRNA sequences (siRNA1 and siRNA2) targeting the human Plk1 gene were designed and synthesized. BCL-7402 cells were transfected with blank control, negative control, siRNA1 or siRNA2 via lipofection. After transfection, reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to examine the expression of Plk1 mRNA, and Western blot was used to examine the expression of Plk1 and P53

proteins in transfected BCL-7402 cells. Cell cycle distribution and apoptosis of transfected cells were monitored by flow cytometry (FCM). The ultrastructural changes of transfected BCL-7402 cells were observed by transmission electron microscopy (TEM).

**RESULTS:** BCL-7402 cells transfected with low doses of siRNAs targeting the Plk1 gene showed greatly decreased levels of Plk1 mRNA and protein. In the siRNA1 group, Plk1 mRNA expression was reduced by 51% and 62% and Plk1 protein expression by 65% and 81% 24 and 48 h after transfection (all  $P < 0.01$ ). In the siRNA2 group, Plk1 mRNA expression was reduced by 42% and 56% and Plk1 protein expression by 51% and 65% 24 and 48 h after transfection (all  $P < 0.01$ ). P53 protein levels increased obviously with the decrease in Plk1 protein levels ( $P < 0.01$ ). The percentage of cells at G<sub>2</sub>/M phase increased obviously 24 h after transfection ( $P < 0.01$ ). Apoptosis rate increased remarkably and apoptotic phenotypes could be seen by TEM. in cells 48 h after transfection.

**CONCLUSION:** SiRNAs targeting the human Plk1 gene remarkably inhibited Plk1 expression, increased *p53* gene expression, and promoted apoptosis, suggesting that the Plk1 gene plays important roles in cell cycle control and apoptosis of BCL-7402 cells.

**Key Words:** Small interfering RNA; Polo-like kinase 1; Hepatocellular carcinoma; BCL-7402 cells; Apoptosis

Sun W, Liu BL, Chen AS, Cao XK, Su Q. Effect of small interfering RNA targeting polo-like kinase 1 on apoptosis in hepatocellular carcinoma BCL-7402 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2822-2828

## 摘要

**目的:** 观察靶向作用于Plk1的siRNA对肝癌细胞系BCL-7402细胞中Plk1基因和*p53*基因表达及细胞凋亡的影响, 探求靶向该基因的治疗在肝癌基因治疗中的可行性及效应。

**方法:** 设计合成两对靶向作用于Plk1基因的双

## ■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科; 秦建民, 副教授, 上海中医药大学附属普陀医院肝胆外科; 季菊玲, 副教授, 南通大学医学院病理教研室

链siRNA序列, 分别命名为siRNA1和siRNA2, 应用脂质体法将其转入BCL-7402细胞中. 实验分为siRNA1、siRNA2、无关对照及空白对照4组. 通过RT-PCR检测各组细胞中Plk1 mRNA表达的变化; Western blot检测各组细胞中Plk1和P53蛋白表达的变化; 流式细胞仪检测细胞周期及细胞凋亡的改变; 透射电镜观察细胞超微结构的变化.

**结果:** 转染后24 h和48 h, Plk1 mRNA相对水平siRNA1组分别较无关对照组和空白对照组下降了50%、51%和60%、62%, siRNA2组分别较无关对照组和空白对照组下降了42%、42%和54%、56%, siRNA1组、siRNA2组的Plk1 mRNA相对水平与无关对照组和空白对照组相比有统计学差异( $P<0.01$ ). Plk1蛋白表达的变化趋势与Plk1 mRNA的变化趋势相似, P53蛋白的表达随着Plk1表达的抑制而明显增加( $P<0.01$ ). 转染后24 h, 转染组中G<sub>2</sub>/M期的细胞数量明显增加( $P<0.01$ ). 转染后48 h, 转染组中出现大量的凋亡细胞, 透射电镜下可见凋亡早期及晚期形态学改变.

**结论:** 靶向作用于Plk1的siRNA能够抑制肝癌细胞系BCL-7402细胞中Plk1基因的表达, 同时增加p53基因的表达, 促进转染细胞的凋亡, 提示Plk1基因在对肝癌细胞的细胞周期及凋亡的调控中起重要作用.

**关键词:** 小干扰RNA; 保罗样激酶1; 肝脏肿瘤; BCL-7402细胞; 细胞凋亡

孙威, 刘宝林, 陈爱山, 曹献馥, 苏琪. 靶向Plk1的siRNA对肝癌细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2822-2828  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2822.asp>

## 0 引言

肿瘤的形成是一个多基因参与的多步骤的过程, 包括多种肿瘤抑制基因的丢失及致癌基因的活化. 虽然人类不同肿瘤形成过程中基因损伤积累的方式不同, 但所有的肿瘤细胞均存在细胞增殖的失调及凋亡障碍.

细胞分裂的过程受多种信号途径的促进与调控以保证基因的稳定, 在调控这些过程的调节酶类中, Plks(Polo-like kinases)被认为是最重要的. Plk1(Polo-like kinase 1)是哺乳动物Plks家族中最具特征性的成员, 强烈促进细胞有丝分裂过程, 是多个细胞周期相关事件的重要调节因子. Plk1通过对Cdc25C和cyclin B1的磷酸化促进G<sub>2</sub>/M期中心体的成熟<sup>[1]</sup>、纺锤体两极的形

成<sup>[2]</sup>、染色体分离<sup>[3]</sup>、细胞成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)的激活、后期促进复合物(anaphase promoting compound, APC)的调节及胞质分裂的完成<sup>[4,5]</sup>. Plk1表达升高有助于肿瘤细胞逃脱检测点的监控, 从而有利于肿瘤形成<sup>[6,7]</sup>. 先前的研究中我们已经证实在人类肝细胞肝癌组织中存在Plk1基因的过表达, 为了进一步明确Plk1在肝癌细胞分裂增殖中的作用, 探求靶向该基因的治疗在肝癌基因治疗中的可行性及效应, 本研究利用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)技术抑制Plk1基因的表达, 然后分析其对Plk1基因、p53基因、肝癌细胞周期及细胞凋亡的影响, 并对其机制作初步探讨.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝癌细胞系BCL-7402为我校细胞生物教研室保存. RPMI-1640培养基为Gibco公司产品; 胎牛血清为Hyclone公司产品; 抗Plk1多克隆抗体为德国Merck公司产品; 抗P53多克隆抗体为Santa Cruz公司产品; TRIzol及Lipofectamine™ 2 000为Invitrogen公司产品; RT-PCR试剂盒为Takara公司产品; 碘化丙啶(propidium iodide, PI)单染试剂盒及Annexin V-FITC双染试剂盒为晶美生物公司产品.

### 1.2 方法

**1.2.1 靶向Plk1的siRNA的设计:** 根据已发表的序列(NM 005030)及Plk1 mRNA的二级结构应用Primer Primer软件设计两对双链siRNA寡核苷酸序列, 分别命名为siRNA1和siRNA2. 其中siRNA1(作用位点1470-1490)上游引物: 5'- UGA AGA AGA UCA CCC UCC UdTdT-3', 下游引物: 5'- AGG AGG GUG AUC UUC UUC AdTdT-3'; siRNA2(作用位点554-574), 上游引物: 5'- GCA CCG AAA CCG AGU UAU UdTdT-3', 下游引物: 5'- AAT AAC TCG GTT TCG GTG CdTdT-3'. 通过转染GFP质粒观察转染效率; 无关对照选择普适型无关对照siRNA, 命名为siRNA NC, 上游引物: 5'- UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3', 下游引物: 5'- ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3'. 以上双链siRNA寡核苷酸序列均由上海吉玛公司合成.

**1.2.2 细胞培养和基因转染:** 肝癌细胞系BCL-7402细胞生长于含10%胎牛血清的RPMI 1 640培养液(不加青霉素及链霉素), 置于50 mL/L CO<sub>2</sub>、饱和湿度、37 °C培养箱中培养. 应用Lipofectamine™ 2 000进行转染, 按厂家说明书操作. 细胞分为4组: 转染siRNA1的BCL-7402细

■ **研发前沿**  
抑制Plk1基因表达  
诱导肝癌细胞凋  
亡的途径有待进  
一步的研究.

## ■相关报道

已有研究表明,在人类多种肿瘤中存在着Plk1的过表达。目前已知非小细胞肺癌、食管癌、乳腺癌、直肠癌、胰腺癌、甲状腺癌、鼻咽癌、宫颈癌、肝转移癌、前列腺癌等人类肿瘤中存在Plk1的过表达,且与患者的预后密切相关。

胞为siRNA1组;转染siRNA2的BCL-7402细胞为siRNA2组;转染siRNA NC的BCL-7402细胞为无关对照组;空白对照组加入与实验组等体积的DEPC水及LipofectamineTM 2000。25 cm<sup>2</sup>培养瓶中按1×10<sup>6</sup>/瓶的密度接种细胞,培养24 h后用不含血清的RPMI 1640培养液清洗3次,加入siRNA1、siRNA2及siRNA NC(终浓度均为50 nmol/L)进行转染。6 h后倒掉转染培养液,重新清洗细胞,换以新鲜含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,继续培养24 h和48 h后提取蛋白。同时以相同方法转染GFP质粒,36 h后倒置荧光显微镜下观察转染效率。6孔板中按5×10<sup>5</sup>/孔的密度接种细胞,培养24 h后用不含血清的RPMI 1640培养液清洗3次,加入siRNA1、siRNA2及siRNA NC(终浓度均为50 nmol/L)进行转染。6 h后倒掉转染培养液,重新清洗细胞,换以新鲜含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,继续培养24 h和48 h后提取细胞总RNA。

**1.2.3 Western blot:** 细胞用预冷PBS洗2遍,离心保留细胞沉淀。加入蛋白裂解液,超声充分裂解后离心取上清,蛋白定量。取等量蛋白50 μg,上样于10%聚丙烯酰胺凝胶,再转移至硝酸纤维素膜上;膜于含5%脱脂奶粉的TBST(50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.6, 150 mmol/L NaCl, 0.1% Tween 20)中室温下封闭1 h,分别加以封闭液稀释的抗Plk1多克隆抗体(1:400)、抗P53抗体(1:400)及抗β-actin抗体(1:400),4℃放置过夜;次日用TBST洗膜3×15 min,加封闭液稀释的HRP标记二抗(1:5000),室温下1 h, TBST洗膜3×15 min,加ECL试剂, X光胶片曝光,洗片。

**1.2.4 RT-PCR:** 用TRIzol提取细胞总RNA,按试剂盒内厂家说明书进行逆转录。再取等体积RT产物进行PCR。Plk1引物序列:上游引物5'-CTG CCT GCA TCC CCA TCT TC-3';下游引物5'-CAC CAT AGT GCG GGC GTA GC-3',产物长度为554 bp。扩增条件:94℃ 40 s, 60℃ 40 s, 72℃ 60 s, 32个循环。以β-actin为内参,引物序列:上游引物5'-GAG AAG AGC TAC GAG CTG CCT GA-3';下游引物5'-ATC TTC ATT GTG CTG GGT GCC-3',产物长度为272 bp。扩增条件:94℃ 40 s, 57℃ 40 s, 72℃ 60 s, 32个循环。产物在2%琼脂糖凝胶上分离,EB显色,应用Scion Image软件完成定量分析。

**1.2.5 流式细胞术:** 6孔板中按5×10<sup>5</sup>/孔的密度接种细胞,培养24 h后加入siRNA1、siRNA NC(终浓度均为50 nmol/L)进行转染。6 h后倒掉转染培

养液,换以新鲜含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,继续培养24 h和48 h后收集细胞,750 mL/L乙醇-20℃固定过夜。次日离心收集细胞,弃乙醇,4℃预冷的PBS洗2遍,加入0.5 mL PBS重悬,再加入0.5 mL配制好的PI溶液,4℃避光孵育30 min,上机检测细胞周期。离心收集转染后的BCL-7402细胞,4℃预冷的PBS洗2遍,用结合缓冲液重新悬浮细胞,调节其浓度为1×10<sup>6</sup>/mL,取100 μL的细胞悬液,加入5 μL Annexin V-FITC和10 μL 20 μg/mL的PI溶液,混匀后室温避光孵育15 min,再加入400 μL PBS,流式细胞仪分析细胞凋亡率。

**1.2.6 透射电镜标本的制备:** 收集转染后的BCL-7402细胞,4℃预冷的PBS洗2遍,离心去上清液,加入2.5%戊二醛固定2 h。PBS漂洗,1%锇酸后固定1 h,常规酒精脱水,Epon812浸透包埋后制成70 nm厚度的超薄切片,醋酸铀、柠檬酸铅染色,JEM-1200EX镜下观察。

**统计学处理** 所有的实验均重复3次,所有数据均以mean±SD表示。所得数据应用SPSS11.5软件采取单因素方差分析、卡方检验进行统计分析。以P<0.05为有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 转染效率的观察** 转染GFP质粒的阳性对照组细胞转染36 h后在倒置荧光显微镜下观察,可见约25%-30%肝癌细胞内出现绿色荧光染色(图1)。因瞬时转染siRNA核苷酸片段的效率会远高于质粒转染效率,间接表明应用以上转染方法可以获得较高的转染效率。

**2.2 转染对Plk1 mRNA及蛋白和P53蛋白表达的影响** 转染靶向作用于Plk1基因的siRNA后,Plk1 mRNA及蛋白质水平明显下降。RT-PCR结果显示,在转染24 h和48 h后,平均Plk1 mRNA水平siRNA1组分别较无关对照组和空白对照组下降了50%、51%和60%、62%,siRNA2组分别较无关对照组和空白对照组下降了42%、42%和54%、56%(图2)。Plk1 mRNA的表达在siRNA1组、siRNA2组与无关对照组和空白对照组相比有显著性统计学差异(P<0.01),无关对照组与空白对照组相比无统计学差异。Western blot结果显示,在转染24 h及48 h后,平均Plk1蛋白水平siRNA1组分别较无关对照组和空白对照组下降了64%、65%和78%、81%,siRNA2组分别较无关对照组和空白对照组下降了50%、51%和60%、65%。Plk1蛋白的表达在siRNA1组、siRNA2组与无关对照组和空白对照组相比有显

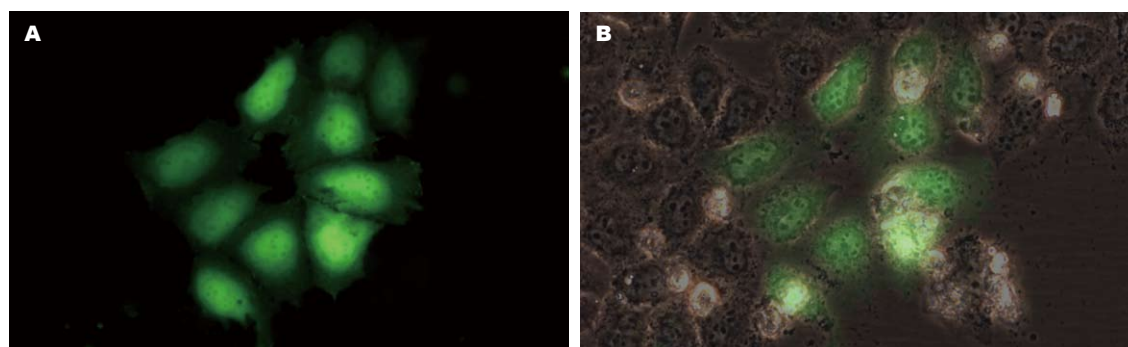


图1 倒置荧光显微镜下观察BCL-7402细胞系细胞转染效率(X400). A: 荧光激发像; B: 荧光激发像与普通光学显微镜像合成像.

**应用要点**  
靶向作用于Plk1的治疗可能成为未来肝癌细胞肝癌基因治疗的一种重要手段.

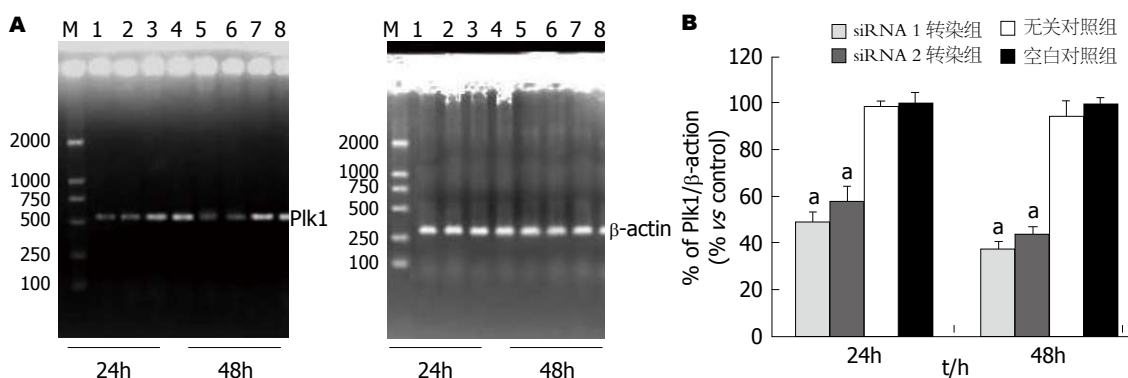


图2 转染靶向Plk1的siRNA后BCL-7402细胞系细胞中Plk1 mRNA水平变化. A: 泳道M: DL2000 DNA标记; 泳道1: 转染siRNA1 24 h后; 泳道2: 转染siRNA2 24 h后; 泳道3: 转染无关对照siRNA 24 h后; 泳道4: 转染空白对照siRNA 24 h后; 泳道5: 转染siRNA1 48 h后; 泳道6: 转染siRNA2 48 h后; 泳道7: 转染无关对照siRNA 48 h后; 泳道8: 转染空白对照siRNA 48 h后. B: Plk1吸光带密度均经过内参照调整, 实验组数据均为与对照组的比值(%), 实验重复3次, 应用mean  $\pm$  SD检验, 实验组与对照组相比 $P < 0.01$ .

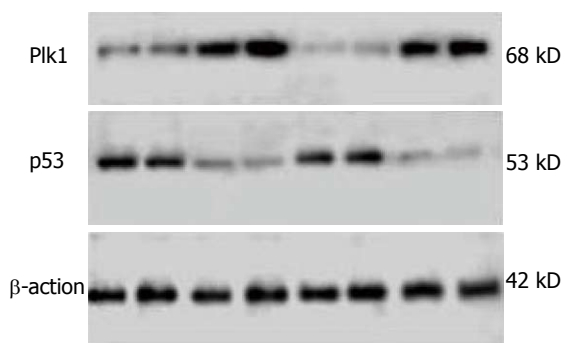


图3 转染靶向Plk1的siRNAs对BCL-7402细胞系细胞中Plk1蛋白及P53蛋白表达的影响. 泳道1: 转染siRNA1 24 h后; 泳道2: 转染siRNA2 24 h后; 泳道3: 转染无关对照siRNA 24 h后; 泳道4: 转染空白对照siRNA 24 h后; 泳道5: 转染siRNA1 48 h后; 泳道6: 转染siRNA2 48 h后; 泳道7: 转染无关对照siRNA 48 h后; 泳道8: 转染空白对照siRNA 48 h后.

著性统计学差异( $P < 0.01$ ), 无关对照组与空白对照组之间无统计学差异. 提示Plk1的表达得到较有效的抑制. 而转染24 h及48 h后, 平均P53蛋白水平在siRNA1组、siRNA2组较无关对照组和空白对照组明显增加(图3). P53蛋白的表达在siRNA1组、siRNA2组与无关对照组和空白对

照组相比同样有统计学差异( $P < 0.01$ ), 无关对照组与空白对照组相比无统计学差异.

**2.3 转染对BCL-7402细胞周期的影响** PI染色后流式细胞仪分析显示, 转染siRNA1 24 h后, BCL-7402细胞周期已出现明显改变,  $G_2/M$ 期细胞数量明显增加(由13.03%增至45.36%),  $G_1$ 期细胞数量减少(由64.05%减至31.61%), S期细胞数量无明显变化, 转染组 $G_2/M$ 期细胞百分率与无关对照组及空白对照组相比有显著性统计学差异( $P < 0.01$ )(图4).

**2.4 转染对BCL-7402细胞凋亡率的影响** Annexin V-FITC、PI双染显示, 转染siRNA1 24 h后凋亡细胞的百分率与空白对照组相比无统计学差异, 而转染48 h后则出现凋亡细胞的明显增多, 与无关对照组、空白对照组相比有显著性统计学差异( $P < 0.01$ )(图5)(表1).

**2.5 透射电镜观察BCL-7402细胞超微结构的变化** 转染siRNA1 48 h后可见BCL-7402细胞表面出现绒毛样突起、细胞核畸形、核内异染色质凝聚并有部分边集等细胞凋亡早期形态学改变, 也可见到



### ■同行评价

本文采用siRNA干扰技术、分子生物学技术、流式细胞术和电镜技术观察抑制PIK1基因功能对肝癌细胞增殖影响,对于研究PIK1基因在肝癌发生、发展中的生物学作用,具有重要的理论价值。

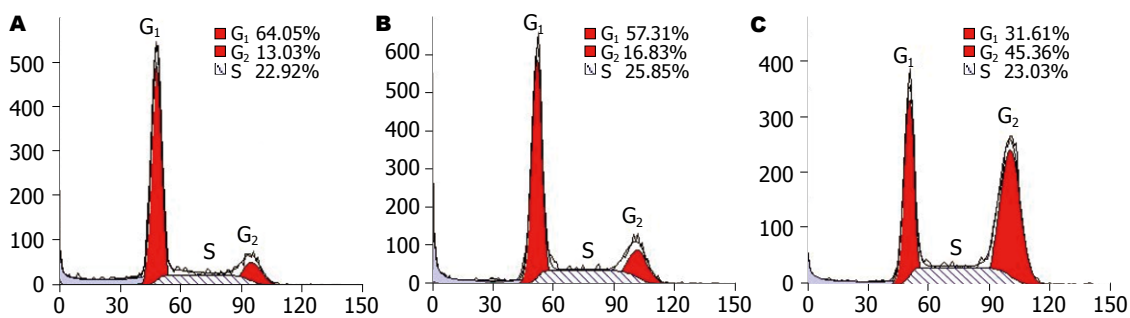


图4 转染siRNA1 24 h后BCL-7402细胞系细胞周期的变化。A:空白对照组; B: 无关对照组; C: siRNA1转染组。

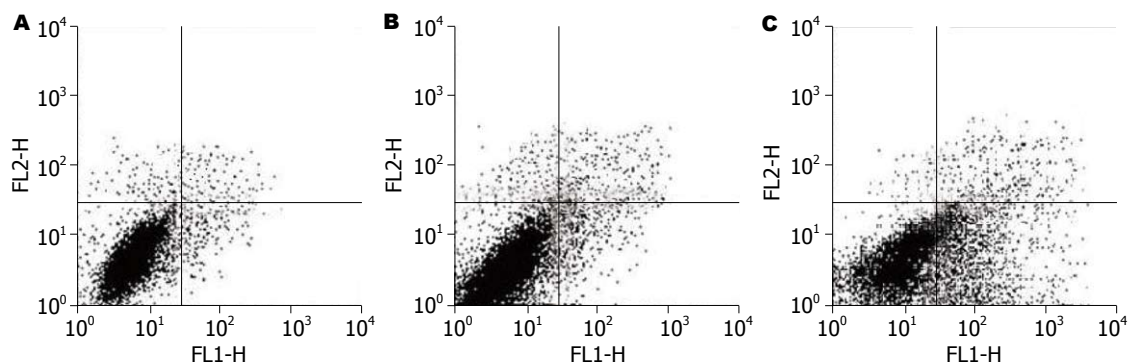


图5 转染siRNA1 48 h后BCL-7402细胞系细胞凋亡率的对比。A: 空白对照组; B: 阴性对照组; C: siRNA1转染组。

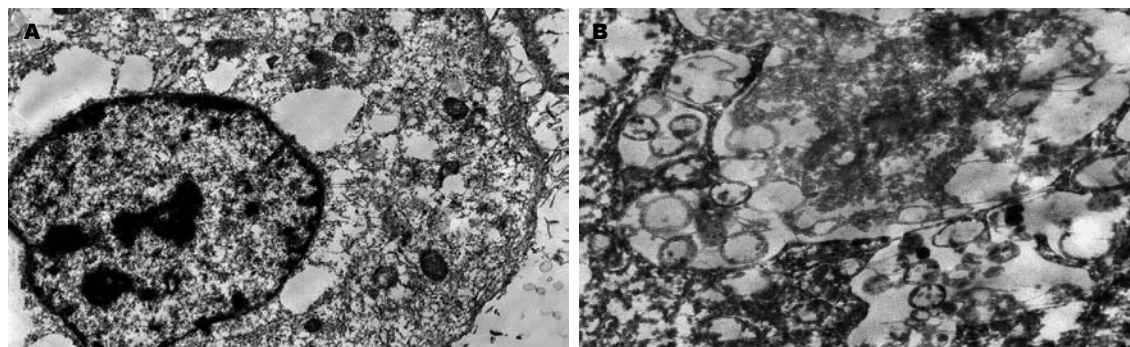


图6 转染siRNA1 48 h后透射电镜观察BCL-7402细胞系细胞超微结构的变化。A: 凋亡细胞(5000X); B: 凋亡小体(8000X)。

表1 转染靶向PIK1的siRNA1后BCL-7402细胞系细胞凋亡率的对比

分组	凋亡率(%)	
	转染24 h后	转染48 h后
空白对照组	1.7	2.1
无关对照组	1.9	3.1
siRNA1转染组	2.9	24.9 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.01.

典型的细胞凋亡晚期形态学改变-凋亡小体(图6)。

### 3 讨论

PIK1属于有丝分裂的丝氨酸/苏氨酸激酶家族,

在真核生物中具有高度保守性。PIK1的表达及活性在G<sub>0</sub>、G<sub>1</sub>及S期很低, G<sub>2</sub>期开始升高, 至M期达高峰, 在此期间参与多个有丝分裂过程的调控<sup>[8-10]</sup>。已有研究表明, 在人类多种肿瘤中存在着PIK1的过表达。目前已知非小细胞肺癌<sup>[11]</sup>、食管癌<sup>[12]</sup>、乳腺癌<sup>[13]</sup>、直肠癌<sup>[14]</sup>、胰腺癌<sup>[15]</sup>、甲状腺癌<sup>[16]</sup>、鼻咽癌<sup>[17]</sup>、子宫颈癌<sup>[18]</sup>、肝转移癌<sup>[4]</sup>、前列腺癌<sup>[19]</sup>等人类肿瘤中存在PIK1的过表达, 且与患者的预后密切相关, 显示了PIK1基因具有显著的癌基因的特征。我们在先前的研究中发现, 在人类肝细胞肝癌组织中及细胞系细胞中存在着PIK1基因的过表达, 而正常肝脏组织中无明显表达, 提示PIK1基因的过表达可能与肝癌形成有关。

在本实验中, 我们应用靶向作用于Plk1基因的siRNA转染肝癌细胞系BCL-7402细胞. RT-PCR的结果显示, 转染24 h后, Plk1 mRNA的表达明显下降, 转染48 h后, Plk1 mRNA表达的下降更为显著; 而Western blot的结果显示, Plk1蛋白水平在转染48 h后才出现明显下降, 这可能是与BCL-7402细胞中Plk1蛋白的表达量高及自身半衰期长短有关. 超过50%的人类癌症中包含编码p53基因的突变, 他是一个具有良好特征的肿瘤抑制基因<sup>[20,21]</sup>. Ando等<sup>[22]</sup>人的研究证实, 在哺乳动物培养细胞中Plk1实际上物理性的结合于肿瘤抑制基因P53的蛋白结合区域. 他们将外源性Plk1和P53导入P53缺失的肺癌H1299细胞中明显的降低P53与其顺式作用元件如p21WAF1、MDM2和BAX启动子区域的P53结合位点的结合, 从而抑制这些基因的表达; 然而激酶缺失的Plk1突变型失去降低P53转录活性的能力. Liu和Erikson<sup>[23]</sup>的研究中也证实的在Plk1缺失的细胞中P53的活性明显稳定, 提示Plk1与p53基因稳定性的调控从而调控其活性密切相关. 在本实验中我们发现, 随着Plk1基因表达的降低, p53基因的表达明显增高, 这与先前几项的研究结果相一致, 支持P53是Plk1其中一个关键的靶基因的论断. 最近的一项研究显示, 应用siRNA造成Plk1的缺失优先诱导P53缺失细胞系的细胞存活率的降低, 长期生存率的研究揭示P53促进Plk1缺失细胞的存活. 因此认为对Plk1的短期抑制可以杀伤肿瘤细胞同时允许正常细胞的存活<sup>[24-26]</sup>. Plk1介导的对P53的负性调节作用可能是Plk1在肿瘤形成中作用的根本的机制.

我们还应用流式细胞仪观察了抑制Plk1基因表达对肝癌细胞系BCL-7402细胞周期及凋亡的影响. 结果显示转染siRNA1仅24 h后, BCL-7402细胞周期已出现明显改变, G<sub>2</sub>期细胞明显增多, G<sub>1</sub>期细胞减少, S期细胞无变化, 但无明显的细胞凋亡出现; 转染48 h后则出现大量的凋亡细胞, 透射电镜下可见癌细胞表面出现绒毛样突起、细胞核畸形、核内异染色质凝聚并有部分边集及凋亡小体等细胞凋亡早、晚期形态学改变. Elez等<sup>[27]</sup>认为这种大量凋亡细胞的出现可能是由于肿瘤细胞失去正常G<sub>2</sub>/M检查点的调控, 不能长期维系在G<sub>2</sub>/M期而最终发生凋亡或死亡. 对于抑制Plk1基因表达诱导凋亡的机制, 我们认为可能部分的与Plk1表达抑制后出现的p53基因表达的上调有关. 抑制Plk1基因表达诱导肝癌细胞凋亡的途径有待进一步的研究.

在本实验中, 我们证明了应用靶向作用于Plk1的小干扰RNA抑制Plk1的表达可以促进体外培养肝癌细胞的凋亡. Lane和Nigg<sup>[1]</sup>的研究证实Plk1抗体的显微注射可诱导HeLa细胞有丝分裂的突变, 而在正常的人二倍体成纤维细胞Hs68中仅诱导细胞周期中G<sub>2</sub>期的短暂的停止. 这个结果支持抑制Plk1特异地靶向作用于癌细胞, 而无突变的有完整检测点途径的细胞很少受累. 此外, 通过腺病毒载体介导的显性负相Plk1(dnPlk1)的表达诱导到大多数肿瘤细胞的程序性死亡但不诱导正常人类乳腺上皮细胞(HMECs)的凋亡<sup>[28]</sup>. 应用靶向作用于Plk1的反义寡核苷酸(ASOs)在裸鼠A549异种移植瘤中显示了抗肿瘤活性, 而对原代细胞的生命力和生长无抑制作用<sup>[27,29]</sup>. 以上研究结果提示干扰Plk1的表达或功能似乎对肿瘤细胞比正常细胞更有害. 因此, 靶向作用于Plk1的治疗可能成为未来肝细胞肝癌基因治疗的一种重要手段.

#### 4 参考文献

- 1 Lane HA, Nigg EA. Antibody microinjection reveals an essential role for human polo-like kinase 1 (Plk1) in the functional maturation of mitotic centrosomes. *J Cell Biol* 1996; 135: 1701-1713
- 2 Hamanaka R, Smith MR, O'Connor PM, Maloid S, Mihalic K, Spivak JL, Longo DL, Ferris DK. Polo-like kinase is a cell cycle-regulated kinase activated during mitosis. *J Biol Chem* 1995; 270: 21086-21091
- 3 Lake RJ, Jelinek WR. Cell cycle- and terminal differentiation-associated regulation of the mouse mRNA encoding a conserved mitotic protein kinase. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 7793-7801
- 4 Wang XQ, Zhu YQ, Lui KS, Cai Q, Lu P, Poon RT. Aberrant Polo-like kinase 1-Cdc25A pathway in metastatic hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6813-6820
- 5 Degenhardt Y, Lampkin T. Targeting Polo-like kinase in cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 384-389
- 6 Smits VA, Klompmaker R, Arnaud L, Rijksen G, Nigg EA, Medema RH. Polo-like kinase-1 is a target of the DNA damage checkpoint. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 672-676
- 7 Studach L, Wang WH, Weber G, Tang J, Hullinger RL, Malbrue R, Liu X, Andrisani O. Polo-like kinase 1 activated by the hepatitis B virus X protein attenuates both the DNA damage checkpoint and DNA repair resulting in partial polyploidy. *J Biol Chem* 2010; 285: 30282-30293
- 8 Golsteyn RM, Schultz SJ, Bartek J, Ziemiecki A, Ried T, Nigg EA. Cell cycle analysis and chromosomal localization of human Plk1, a putative homologue of the mitotic kinases *Drosophila* polo and *Saccharomyces cerevisiae* Cdc5. *J Cell Sci* 1994; 107: 1509-1517
- 9 Barr FA, Silljé HH, Nigg EA. Polo-like kinases and the orchestration of cell division. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 429-440

- 10 Yim H, Erikson RL. Polo-like kinase 1 depletion induces DNA damage in early S prior to caspase activation. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 2609-2621
- 11 Zhou Q, Su Y, Bai M. Effect of antisense RNA targeting Polo-like kinase 1 on cell growth in A549 lung cancer cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2008; 28: 22-26
- 12 Feng YB, Lin DC, Shi ZZ, Wang XC, Shen XM, Zhang Y, Du XL, Luo ML, Xu X, Han YL, Cai Y, Zhang ZQ, Zhan QM, Wang MR. Overexpression of PLK1 is associated with poor survival by inhibiting apoptosis via enhancement of survivin level in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2009; 124: 578-588
- 13 Steinhäuser I, Langer K, Strebhardt K, Spänkuch B. Uptake of plasmid-loaded nanoparticles in breast cancer cells and effect on Plk1 expression. *J Drug Target* 2009; 17: 627-637
- 14 Rödel F, Keppner S, Capalbo G, Bashary R, Kaufmann M, Rödel C, Strebhardt K, Spänkuch B. Polo-like kinase 1 as predictive marker and therapeutic target for radiotherapy in rectal cancer. *Am J Pathol* 2010; 177: 918-929
- 15 Jimeno A, Rubio-Viqueira B, Rajeshkumar NV, Chan A, Solomon A, Hidalgo M. A fine-needle aspirate-based vulnerability assay identifies polo-like kinase 1 as a mediator of gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 311-318
- 16 Salvatore G, Nappi TC, Salerno P, Jiang Y, Garbi C, Ugolini C, Miccoli P, Basolo F, Castellone MD, Cira-fici AM, Melillo RM, Fusco A, Bittner ML, Santoro M. A cell proliferation and chromosomal instability signature in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10148-10158
- 17 Shi W, Alajez NM, Bastianutto C, Hui AB, Mocanu JD, Ito E, Busson P, Lo KW, Ng R, Waldron J, O'Sullivan B, Liu FF. Significance of Plk1 regulation by miR-100 in human nasopharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2010; 126: 2036-2048
- 18 Saxena M, Singh S, Negi MP, Srivastava AK, Trivedi R, Singh U, Pant MC, Bhatt ML. Expression profiling of G<sub>2</sub>/M phase regulatory proteins in normal, premalignant and malignant uterine cervix and their correlation with survival of patients. *J Cancer Res Ther* 2010; 6: 167-171
- 19 Reagan-Shaw S, Ahmad N. Polo-like kinase (Plk) 1 as a target for prostate cancer management. *IUBMB Life* 2005; 57: 677-682
- 20 Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88: 323-331
- 21 McKenzie L, King S, Marcar L, Nicol S, Dias SS, Schumm K, Robertson P, Bourdon JC, Perkins N, Fuller-Pace F, Meek DW. p53-dependent repression of polo-like kinase-1 (PLK1). *Cell Cycle* 2010; 9: 4200-4212
- 22 Ando K, Ozaki T, Yamamoto H, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Fukuzawa M, Nakagawara A. Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation. *J Biol Chem* 2004; 279: 25549-25561
- 23 Liu X, Erikson RL. Polo-like kinase (Plk)1 depletion induces apoptosis in cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5789-5794
- 24 Guan R, Tapang P, Levenson JD, Albert D, Giranda VL, Luo Y. Small interfering RNA-mediated Polo-like kinase 1 depletion preferentially reduces the survival of p53-defective, oncogenic transformed cells and inhibits tumor growth in animals. *Cancer Res* 2005; 65: 2698-2704
- 25 Tyagi S, Bhui K, Singh R, Singh M, Raisuddin S, Shukla Y. Polo-like kinase1 (Plk1) knockdown enhances cisplatin chemosensitivity via up-regulation of p73α in p53 mutant human epidermoid squamous carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 1326-1334
- 26 Ashihara E, Kawata E, Maekawa T. Future prospect of RNA interference for cancer therapies. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 345-360
- 27 Elez R, Piiper A, Giannini CD, Brendel M, Zeuzem S. Polo-like kinase1, a new target for antisense tumor therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 269: 352-356
- 28 Cogswell JP, Brown CE, Bisi JE, Neill SD. Dominant-negative polo-like kinase 1 induces mitotic catastrophe independent of cdc25C function. *Cell Growth Differ* 2000; 11: 615-623
- 29 Spänkuch-Schmitt B, Wolf G, Solbach C, Loibl S, Knecht R, Stegmüller M, von Minckwitz G, Kaufmann M, Strebhardt K. Downregulation of human polo-like kinase activity by antisense oligonucleotides induces growth inhibition in cancer cells. *Oncogene* 2002; 21: 3162-3171

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

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

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12400余种。本版还加大了专家评审力度, 5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

# 急性胆道梗阻肠黏膜屏障破坏与氯离子通道-2的关系

陈振勇, 王延刚, 杨鹏, 黄文广, 周有生, 冯贤松

陈振勇, 王延刚, 杨鹏, 黄文广, 周有生, 冯贤松, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科 湖北省武汉市 430022  
陈振勇, 硕士, 主治医师, 主要从事消化外科基础和临床研究.  
湖北省自然科学基金资助项目, No. 2010CDB08005  
作者贡献分布: 此课题由陈振勇、王延刚、杨鹏及黄文广设计, 周有生与冯贤松指导; 研究过程由陈振勇、王延刚及杨鹏操作完成; 数据分析由王延刚完成; 本论文写作由陈振勇与王延刚完成.  
通讯作者: 陈振勇, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科.  
xhczy@126.com  
电话: 027-85351530  
收稿日期: 2011-08-12 修回日期: 2011-09-08  
接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Relationship between CLC-2 and intestinal mucosal barrier in rats with obstructive jaundice

Zhen-Yong Chen, Yan-Gang Wang, Peng Yang, Wen-Guang Huang, You-Shen Zhou, Xian-Song Feng

Zhen-Yong Chen, Yan-Gang Wang, Peng Yang, Wen-Guang Huang, You-Shen Zhou, Xian-Song Feng. Department of General Surgery, Union Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China  
Supported by: the National Nature Science Foundation of Hubei Province, No. 2010CDB08005  
Correspondence to: Zhen-Yong Chen, Department of General Surgery, Union Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xhczy@126.com  
Received: 2011-08-12 Revised: 2011-09-08  
Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between chloride channel-2 (CLC-2) and intestinal mucosal barrier in rats with obstructive jaundice (OJ).

**METHODS:** Rats were randomly divided into five groups: sham operation group, OJ group, lu-biprostone (Lu) group, glucagon-like peptide-2 (GLP-2) group, and Lu + GLP group. Except for the sham operation group, OJ was induced by bile duct ligation in rats of other groups. The Lu group was subcutaneously injected with LU, and the GLP-2 group was injected with GLP-2. The Lu + GLP group was injected with both Lu and GLP-2. The animals were sacrificed 7 days after

treatment. The ratio of lactulose to mannitol (L/M) and plasma endotoxin levels were measured. Western blot was used to examine the changes in the expression tight junction proteins zonula occludens-1 (ZO-1) and CLC-2 in epithelial cells in the terminal ileum.

**RESULTS:** The ratio of L/M was significantly higher in all the experiment groups than in the sham operation group (all  $P = 0.00$ ), but was significantly lower in the Lu group, GLP-2 group and Lu + GLP group than in the OJ group ( $0.545 \pm 0.03$ ,  $0.512 \pm 0.03$ ,  $0.482 \pm 0.05$  vs  $0.656 \pm 0.04$ , all  $P = 0.00$ ). Plasma endotoxin levels increased in all the experiment groups, highest in the OJ group and decreasing somewhat in the Lu group, GLP-2 group and Lu + GLP group. The relative expression of ZO-1 in the Lu group ( $0.209 \pm 0.03$ ) was higher than that in the OJ group ( $0.178 \pm 0.03$ ) but lower than that in the sham operation group ( $P = 0.02$ ). The relative expression of ZO-1 in the Lu + GLP group was comparable to that in the sham operation group. The relative expression of CLC-2 descended more obviously in the OJ, GLP-2 and Lu + GLP groups than in the sham operation group ( $0.195 \pm 0.04$ ,  $0.217 \pm 0.05$ ,  $0.222 \pm 0.03$  vs  $0.267 \pm 0.04$ , all  $P = 0.00$ ).

**CONCLUSION:** CLC-2 and tight junction protein participate in the maintenance of intestinal mucosal barrier. Acute biliary obstruction-induced destruction of intestinal mucosa barrier is associated with CLC-2 in enterocytes. CLC-2 activation could activate tight junction protein and repair impaired intestinal mucosa barrier.

**Key Words:** Obstructive jaundice; Intestinal mucosal barrier; Tight junction protein; Chloride channel-2

Chen ZY, Wang YG, Yang P, Huang WG, Zhou YS, Feng XS. Relationship between CLC-2 and intestinal mucosal barrier in rats with obstructive jaundice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2829-2834

## 摘要

**目的:** 探讨急性胆道梗阻肠黏膜屏障破坏与

## ■背景资料

临床上阻塞性黄疸出现肠通透性增加、肠黏膜屏障破坏, 其中的原因不甚清楚. 阻塞性黄疸患者可以观察到血清电解质的变化及肠蠕动的改变. 这两者之间是否具有某种联系尚不得而知. 前期已经证实阻塞性黄疸后细胞内外的Cl<sup>-</sup>浓度变化, 因此本次研究以Cl<sup>-</sup>为代表, 探讨与Cl<sup>-</sup>直接相关的氯离子通道蛋白-2与肠上皮紧密连接间的关系.

## ■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院分子医学中心

## ■研究前沿

肠黏膜屏障中的研究重点是上皮细胞间的紧密连接,当然其他的屏障如生物屏障、免疫屏障均参与肠上皮对机体的保护。肠上皮细胞同时具有大量的分泌功能,阻塞性黄疸破坏肠黏膜屏障的同时也必然损伤其分泌功能。由于肠屏障功能的维持需要多种因素参加,本研究仅仅选取其中一个非常小的研究点,需要进一步研究阻塞性黄疸后其他离子的变化及其各自的生理功能。

肠上皮细胞氯离子通道-2(chloride channel-2, CLC-2)的关系。

**方法:** 建立急性胆道梗阻(阻塞性黄疸)大鼠动物模型,术后7 d连续注射Lubiprostone(Lu组)、类高血糖素多肽-2(GLP-2组)、两者共同使用(Lu+GLP组),以假手术组(Sham组)和阻塞性黄疸组(obstructive jaundice, OJ组)作为对照。分别检测实验动物乳果糖/甘露醇(L/M)比值、血浆内毒素水平,并用Western blots检测末端回肠紧密连接蛋白闭锁小带-1(zonula occludens-1, ZO-1)、CLC-2的表达,并利用图像分析系统对Western blots图像进行定量分析。

**结果:** 各实验组的L/M比值均高于Sham组( $P = 0.00$ ), Lu组( $0.545 \pm 0.03$ )、GLP组( $0.512 \pm 0.03$ )和Lu+GLP组( $0.482 \pm 0.05$ )的数据均低于OJ组( $0.656 \pm 0.04$ )(均 $P = 0.00$ )。手术后各组血浆内毒素均升高, OJ组最高, Lu组、GLP组和Lu+GLP组均有所下降。通过Western blots研究发现CLC-2蛋白的表达条带出现在90-100KD, ZO-1蛋白条带在200 kD左右。定量研究显示OJ组的ZO-1相对表达量( $0.178 \pm 0.03$ )明显下降, Lu组( $0.209 \pm 0.03$ )高于OJ组而低于Sham组( $P = 0.02$ ), 而Lu+GLP组接近于Sham组。CLC-2蛋白的表达量Sham组为( $0.267 \pm 0.04$ ), OJ组( $0.195 \pm 0.04$ )、GLP-2组( $0.217 \pm 0.05$ )和Lu+GLP组( $0.222 \pm 0.03$ )均下降明显(均 $P = 0.00$ )。

**结论:** CLC-2和紧密连接蛋白共同参与肠黏膜屏障的维护,急性胆道梗阻破坏肠黏膜屏障与肠上皮细胞的CLC-2有关,促进或激活CLC-2后能活化紧密连接蛋白,修复受损的肠黏膜屏障。

**关键词:** 阻塞性黄疸; 肠黏膜屏障; 紧密连接蛋白; 氯离子通道-2

陈振勇, 王延刚, 杨鹏, 黄文广, 周有生, 冯贤松. 急性胆道梗阻肠黏膜屏障破坏与氯离子通道-2的关系. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2829-2834

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/27/2829.asp>

## 0 引言

我们前期的研究发现急性胆道梗阻所致阻塞性黄疸(阻塞性黄疸)影响肠腔Cl<sup>-</sup>分泌,降低血清Cl<sup>-</sup>浓度,升高小肠上皮细胞内Cl<sup>-</sup>浓度,缩小上皮细胞内外氯离子浓度差,激活Cl<sup>-</sup>外向电流,并且此作用与细胞膜上氯离子通道蛋白-2(chloride channel-2, CLC-2)的表达降低有关。同时阻塞性

黄疸也可以改变肠上皮细胞顶侧的紧密连接蛋白的数量和分布,损伤肠黏膜屏障<sup>[1,2]</sup>。而紧密连接与CLC-2具有共同的分布区域<sup>[3,4]</sup>,因此有理由推测阻塞性黄疸破坏肠黏膜屏障与CLC-2和紧密连接蛋白均有关系。本项目的研究目的既是利用阻塞性黄疸动物模型,研究阻塞性黄疸对肠黏膜屏障和肠上皮细胞CLC-2的影响,以及紧密连接蛋白和CLC-2间的相互关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康Wistar大鼠50只,雌雄不限,体质量250-330 g,由同济医学院实验动物中心提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 按随机数字表法平均分为5组,每组10只。假手术组(Sham组): 采用10%水合氯醛(0.3 g/kg)腹腔注射麻醉,开腹分离胆总管而不结扎;阻塞性黄疸组(OJ组): 手术结扎切断胆总管后关腹,每日皮下注射生理盐水0.5 mL; Lubiprostone组(Lu组): 阻塞性黄疸动物皮下注射Lubiprostone(大连美仑生物技术公司)0.5 mL(0.2 mg/kg),连续7 d; 类高血糖素多肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)组: 模型动物腹腔注射GLP-2(美国多肽公司)0.5 mL 250[g/(kg·d)],连续7d; Lubiprostone + GLP-2(Lu+GLP组): 同样剂量的Lubiprostone和GLP-2同时使用7 d。

**1.2.2 乳果糖/甘露醇(L/M)比值检测:** 实验动物禁食8 h后自由进水,经胃管喂服2 mL/只检测溶液(含10%乳果糖100 mg和5%甘露醇50 mg, Sigma公司)。随后连续收集6 h尿液,混匀后取5 mL,加入1 mg硫柳汞作防腐剂,置于-20 °C冰箱保存。利用色谱仪分析尿中L/M比值。每只大鼠尿标本分3次各取5 mL,重复测量3次。

**1.2.3 血浆内毒素水平测定:** 测量完毕后拉脱法处死动物,腔静脉穿刺抽血2 mL,通过鲎试验动态浊度法测定(动态测定试剂盒,上海市医学化验所)各组动物血浆内毒素水平,按说明书并参考文献[5]进行操作: 取1 mL抗凝血10倍稀释于75 °C恒温水浴中加热10 min,离心10 min(4 000 r/min),取上清液加入酶反应主剂中,溶解后转移至标准反应管中,插入微生物快速动态检测系统中反应1 h,反应结束后自动计算出血浆内毒素含量(EU/mL)。

**1.2.4 肠上皮细胞CLC-2蛋白和紧密连接蛋白闭锁小带-1(ZO-1)表达的变化:** Western blot分析。无菌操作,取原手术切口,距回盲部10 cm处环形切取回肠,取1 mm×1 mm×1 mm大小的组



组织块, 加入1 mL裂解液和10 mL缓冲液, 组织粉碎、匀浆, 冰浴30 min; 4 °C离心, 取上清液, 采用BCA法用紫外可见分光光度计(Waters公司, 美国)测定蛋白浓度, 并用蒸馏水将各样本统一稀释为5 g/L, -70 °C保存。取各样本10 μL及5 μL的预染Marker, 加入上样缓冲液; 混合后100 °C煮沸蛋白变性5 min, 分别经7.5%和12% SDS-PAGE凝胶电泳分离1或2 h。电转30 min; 取出硝酸纤维素膜(美国Costar公司), 转移至染色液中染色1 min, 标记, 用含5%脱脂奶粉的TBS-T[20 mmol/L Tris-HCl(pH7.2), 150 mmol/L NaCl, 0.1% Tween 20]洗膜4次。浸入封闭液中封闭1 h。分别加一抗ZO-1(1:1 000稀释)或兔抗鼠CLC-2一抗蛋白(1:300稀释)(均属Sigma公司); 以β-actin(武汉博士德产品)为内参, 1:2 000稀释, 4 °C孵育过夜。加入1:2 000的二抗(四甲基异硫罗丹明(TRITC)-山羊抗兔IgG, 北京中山生物技术有限公司)室温下孵育1 h。将膜放入显色液中, 震荡孵育5-10 min, 暗室下胶片显影, 扫描。以β-actin蛋白进样对照。Olympus BX41图像采集系统(Image-Pro plus, version 4.5, USA)收集图片信息, Adobe Photoshop软件定量测量平均吸光度(A)值, 以样本A值/同一样本内β-actin蛋白A值来代表样本的相对表达量。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行分析。计量资料以mean±SD表示, 组间计量资料比较, 采用单因素方差分析及配对资料t检验, 检验水准α=0.05。

## 2 结果

**2.1 各组L/M比值的变化** L/M比值可以间接反映肠黏膜通透性。通过研究L/M比值的变化, 发现各实验组的数值均高于Sham组(均 $P=0.00$ ), 相比OJ组( $0.656\pm0.04$ ), Lu组( $0.545\pm0.03$ ), GLP-2组( $0.512\pm0.03$ )和Lu+GLP( $0.482\pm0.05$ )组均明显下降(均 $P=0.00$ ), 其中GLP-2组和Lu+GLP比较 $P=0.01$ (图1)。

**2.2 血浆内毒素的改变** 通过对血浆内毒素的比较, 各实验组的数值均明显高于Sham组( $0.279\pm0.02$  EU/mL)(均 $P=0.00$ ), 并且各组间相互比较差异有极显著性意义(均 $P=0.00$ , 图2)。

**2.3 Lubiprostone对紧密连接蛋白ZO-1的影响** Western blot研究显示ZO-1蛋白条带在200 kD左右(图3)。对表达条带的定量研究显示OJ组的ZO-1相对表达量( $0.178\pm0.03$ )明显下降, Lu组( $0.209\pm0.03$ )高于OJ组( $P=0.01$ )而低于Sham组

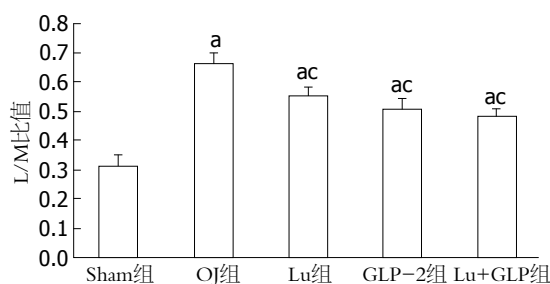


图1 各组L/M比值的变化。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs Sham组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs OJ组。

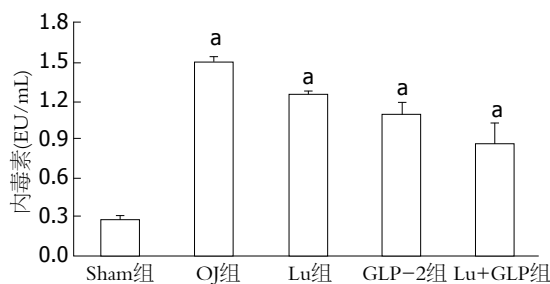


图2 各组血浆内毒素的变化。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs Sham组。

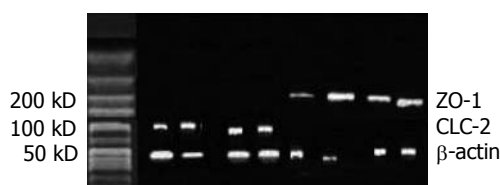


图3 CLC-2和ZO-1的Western blots表达。

( $P=0.02$ ), 而Lu+GLP组的作用与Lu组类似, 接近于Sham组( $P=0.19$ , 图4)。

**2.4 GLP-2对CLC-2表达的影响** Western blot图片显示CLC-2蛋白的表达条带出现在90-100 kD(图3)。通过对图片的定量分析发现CLC-2蛋白的相对灰度值Sham组为 $0.267\pm0.04$ , 而OJ组( $0.195\pm0.04$ )、GLP-2组( $0.217\pm0.05$ )和Lu+GLP组( $0.222\pm0.03$ )均下降明显(均 $P=0.00$ ), OJ组和GLP-2组、Lu+GLP组间没有差异( $P=0.17$ ,  $0.06$ , 图5)。

**2.5 阻塞性黄疸肠上皮细胞ZO-1和CLC-2蛋白的相关性分析** 用SPSS软件对阻塞性黄疸动物肠上皮细胞的ZO-1蛋白和CLC-2蛋白的相关性进行分析, 结果显示相关系数 $r=0.30$ ,  $P=0.11$ , 说明两者间的变化没有明显相关。

## 3 讨论

阻塞性黄疸对肠黏膜屏障损坏的机制复杂, 其中对肠上皮细胞间紧密连接及紧密连接蛋白

### ■创新盘点

CLC-2与紧密连接具有共同的分布区域, 由此推测二者有某种联系。本研究第一次将阻塞性黄疸肠黏膜屏障的破坏与肠上皮细胞离子分泌联系起来, 进一步探讨阻塞性黄疸肠黏膜屏障的破坏机制。

## ■应用要点

阻塞性黄疸黏膜屏障的破坏伴随肠腔离子的改变,通过纠正肠上皮细胞存在的电解质紊乱可以帮助恢复受损的肠黏膜屏障的作用。

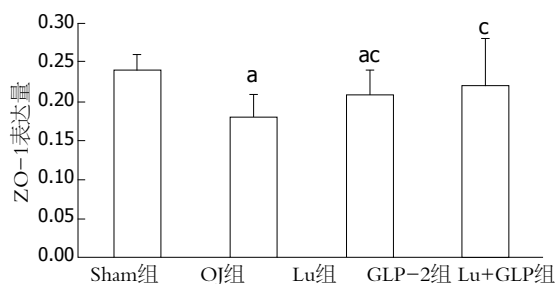


图4 添加Lubiprostone后ZO-1表达的变化。\* $P < 0.05$  vs Sham组; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs OJ组。

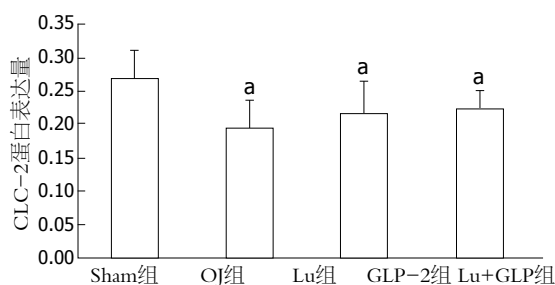


图5 CLC-2蛋白的表达量的变化。\* $P < 0.05$  vs Sham组。

如ZO-1的破坏起关键性作用<sup>[6,7]</sup>。阻塞性黄疸降低紧密连接蛋白的数量与分布,开放紧密连接通道<sup>[8]</sup>,出现细菌移位,形成所谓“肠源性脓毒症”,增加多器官功能衰竭的发生率和死亡率<sup>[9]</sup>。肠黏膜损伤后的修复涉及到两个主要事件<sup>[10]</sup>,上皮的重建和细胞旁区域及紧密连接的关闭。上皮的重建是最初的修复事件,包括绒毛收缩、上皮细胞迁移,从而迅速恢复上皮连续性。细胞旁区域的关闭涉及紧密连接蛋白的重新组装和屏障功能的恢复。研究表明CLC-2在缺血所造成的肠黏膜屏障损伤的恢复中扮演重要角色<sup>[11,12]</sup>,氯离子通道在阻塞性黄疸所导致的肠黏膜屏障损伤中的作用尚不清楚。临床上经常出现的水、电解质紊乱,其中也包括Cl<sup>-</sup>失衡<sup>[13]</sup>。可能的原因在于液体、营养物质摄入不足;合并感染导致呕吐或发热,液体丢失过多;内毒素血症和高胆红素血症致肾脏受损等<sup>[14]</sup>。肠腔液体分泌依靠细胞内外离子浓度差及肠上皮细胞的跨膜离子转运,氯离子的通透性受胞外氯离子浓度的影响<sup>[15]</sup>,许多阳离子如K<sup>+</sup>离子、Na<sup>+</sup>离子等也可通过氯通道<sup>[16]</sup>。

我们前期的研究发现在阻塞性黄疸动物模型上,肠腔氯离子分泌受抑制,肠上皮细胞内外的氯离子浓度差缩小,并随阻塞性黄疸程度的加深,对Cl<sup>-</sup>分泌的抑制更甚。此作用与细胞膜上CLC-2的表达降低有关。而CLC蛋白与紧密连接

蛋白有共同分布区域<sup>[3]</sup>,此次的研究目的是探讨阻塞性黄疸后受破坏的CLC蛋白与紧密连接蛋白间的相互关系。

我们首先发现阻塞性黄疸后反映肠黏膜通透性的L/M比值和血浆内毒素均增高,也再次印证阻塞性黄疸破坏肠黏膜屏障<sup>[17]</sup>,不论是单独使用CLC-2激动剂Lubiprostone或紧密连接保护剂GLP-2,抑或两者联合使用,均可以降低L/M比值和血浆内毒素,既对肠黏膜屏障有保护作用。说明促进或激活肠上皮细胞的CLC-2或紧密连接均可以恢复受损的肠黏膜屏障。

为进一步研究其中的机制,我们选择紧密连接蛋白的代表ZO-1作为研究对象。阻塞性黄疸降低ZO-1的表达,使用Lubiprostone激活CLC-2后,ZO-1表达增高,同时使用Lubiprostone和GLP-2则作用更强,接近于假手术组。说明激活CLC-2后能修复紧密连接蛋白,恢复肠黏膜屏障,也表明CLC-2和紧密连接蛋白共同参与肠黏膜屏障的维护。

阻塞性黄疸同时也降低了CLC-2蛋白的表达,我们从相反的角度通过促进ZO-1表达来研究紧密连接蛋白与CLC-2的相互影响。结果发现单用GLP-2不能恢复CLC-2表达,尽管GLP-2具有恢复肠黏膜屏障的作用,但从我们的实验中看出GLP-2的作用与CLC-2无关。联合使用GLP-2和Lubiprostone后CLC-2有所恢复,但此作用并不能排除Lubiprostone所为。这一点也可以从阻塞性黄疸肠上皮细胞ZO-1和CLC-2蛋白的相关性分析中得到证实,因为统计分析显示两者间的变化没有明显相关。结合前面的研究,反映出CLC-2和紧密连接蛋白间激活存在先后顺序,激活CLC-2后能活化紧密连接蛋白,相反恢复紧密连接蛋白并不能改变肠上皮氯离子通道CLC-2。也就是说抑制ZO-1后能降低CLC-2,相反,抑制CLC-2则并不能影响ZO-1表达。

CLC-2是广泛分布的Cl<sup>-</sup>通道之一,属于Cl<sup>-</sup>通道CLC家族。受电压和H<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>激活<sup>[18]</sup>。其多种生理活动,包括细胞内pH调节,维持膜电位,胞吐作用,上皮Cl<sup>-</sup>运输和液体分泌,器官渗透物的跨膜运输,以及细胞增生等<sup>[19]</sup>。已证实哺乳动物胃肠道上皮细胞内均含有CLC-2,定位于上皮细胞顶端,同时也证实基底外侧膜上也存在CLC-2通道,作为一个Cl<sup>-</sup>的出口,帮助细胞尖端和基底外侧区域离子流量相匹配<sup>[20]</sup>。

CLC-2与紧密连接具有共同的分布区域,两

者间具有某种联系<sup>[21]</sup>, 一种可能是CLC-2通过蛋白间相互作用, 作为一种促进各种通道和信号分子间相互调节的方式之一, 二是CLC-2通道介导穿过小肠上皮紧密连接的Cl<sup>-</sup>运输. 调节黏膜屏障功能伴随绒毛和上皮紧密连接结构的改变, 当然也有相反的结论, CLC-2敲除鼠小肠黏膜上皮细胞的尖端紧密连接的宽度明显减少, 既没有CLC-2存在时紧密连接结构更紧凑, 作用更显著<sup>[12]</sup>. 这种争议可以用CLC-2在不同细胞器膜表面分布来部分解释. 分布在不同细胞膜或细胞器上的CLC-2具有不同的作用. CLC-2并非固定于小肠上皮尖端质膜<sup>[22]</sup>, 细胞表面的CLC-2通道能迅速内陷并再循环. 此过程能解释细胞内膜结构中大量存在的CLC-2. 因此调节CLC-2运输至膜及其在膜内传动是调节CLC-2活性的方式之一<sup>[23]</sup>. 由此单独使用GLP-2并不能恢复有效的CLC通道.

#### 4 参考文献

- 1 陈振勇, 冯贤松, 杨鹏, 周有生. 梗阻性黄疸时脾切除对肠黏膜屏障影响的实验研究. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 309-312
- 2 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Zervoudakis G, Mylonas PG, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Bombesin and neurotensin reduce endotoxemia, intestinal oxidative stress, and apoptosis in experimental obstructive jaundice. *Ann Surg* 2005; 241: 159-167
- 3 Moeser AJ, Nighot PK, Engelke KJ, Ueno R, Blikslager AT. Recovery of mucosal barrier function in ischemic porcine ileum and colon is stimulated by a novel agonist of the ClC-2 chloride channel, lubiprostone. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G647-G656
- 4 Arrieta MC, Bistriz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut* 2006; 55: 1512-1520
- 5 姜宪, 姜旭, 申蓉硕, 张虎. 梗阻性黄疸大鼠血液中内毒素含量与组织形态学变化. *延边大学医学学报* 2006; 29: 16-19
- 6 Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Charonis AS, Alexandris IH, Spiliopoulou I, Thomopoulos KC, Nikolopoulou VN, Scopa CD. Experimental obstructive jaundice alters claudin-4 expression in intestinal mucosa: effect of bombesin and neurotensin. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3410-3415
- 7 Chen ML, Ge Z, Fox JG, Schauer DB. Disruption of tight junctions and induction of proinflammatory cytokine responses in colonic epithelial cells by *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 2006; 74: 6581-6589
- 8 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Vagianos CE. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6458-6464
- 9 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Charonis A, Spiliopoulou I, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Experimental obstructive jaundice disrupts intestinal mucosal barrier by altering occludin expression: beneficial effect of bombesin and neurotensin. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 748-757
- 10 Gookin JL, Galanko JA, Blikslager AT, Argenzio RA. PG-mediated closure of paracellular pathway and not restitution is the primary determinant of barrier recovery in acutely injured porcine ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G967-G979
- 11 Moeser AJ, Haskell MM, Shifflett DE, Little D, Schultz BD, Blikslager AT. ClC-2 chloride secretion mediates prostaglandin-induced recovery of barrier function in ischemia-injured porcine ileum. *Gastroenterology* 2004; 127: 802-815
- 12 Nighot PK, Blikslager AT. ClC-2 regulates mucosal barrier function associated with structural changes to the villus and epithelial tight junction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G449-G456
- 13 Assimakopoulos SF, Tsamandas AC, Louvros E, Vagianos CE, Nikolopoulou VN, Thomopoulos KC, Charonis A, Scopa CD. Intestinal epithelial cell proliferation, apoptosis and expression of tight junction proteins in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 117-125
- 14 Clarke DL, Pillay Y, Anderson F, Thomson SR. The current standard of care in the periprocedural management of the patient with obstructive jaundice. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88: 610-616
- 15 Bachmann O, Juric M, Seidler U, Manns MP, Yu H. Basolateral ion transporters involved in colonic epithelial electrolyte absorption, anion secretion and cellular homeostasis. *Acta Physiol (Oxf)* 2011; 201: 33-46
- 16 Sánchez-Rodríguez JE, De Santiago-Castillo JA, Arreola J. Permeant anions contribute to voltage dependence of ClC-2 chloride channel by interacting with the protopore gate. *J Physiol* 2010; 588: 2545-2556
- 17 Wang N, Yu H, Ma J, Wu W, Zhao D, Shi X, Tian H, Jiang H. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 191-199
- 18 Camilleri M, Bharucha AE, Ueno R, Burton D, Thomforde GM, Baxter K, McKinzie S, Zinsmeister AR. Effect of a selective chloride channel activator, lubiprostone, on gastrointestinal transit, gastric sensory, and motor functions in healthy volunteers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G942-G947
- 19 Nighot PK, Moeser AJ, Ryan KA, Ghashghaei T, Blikslager AT. ClC-2 is required for rapid restoration of epithelial tight junctions in ischemic-injured murine jejunum. *Exp Cell Res* 2009; 315: 110-118
- 20 Crowell MD, Harris LA, DiBaise JK, Olden KW. Activation of type-2 chloride channels: a novel therapeutic target for the treatment of chronic constipation. *Curr Opin Investig Drugs* 2007; 8: 66-70
- 21 Kirk KL. Chloride channels and tight junctions. Focus on "Expression of the chloride channel ClC-2 in the murine small intestine epithelium". *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C1675-C1676
- 22 Bijvelds MJ, Bot AG, Escher JC, De Jonge HR. Activation of intestinal Cl<sup>-</sup> secretion by lubiprostone requires the cystic fibrosis transmembrane

#### 同行评价

本研究能反映目前我国胃肠病学基础研究的水平。

- conductance regulator. *Gastroenterology* 2009; 137: 976-985
- 23 Cornejo I, Niemeyer MI, Zúñiga L, Yusef YR, Sepúlveda FV, Cid LP. Rapid recycling of CIC-2

chloride channels between plasma membrane and endosomes: role of a tyrosine endocytosis motif in surface retrieval. *J Cell Physiol* 2009; 221: 650-657

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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 (世界肝病学杂志)  
<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)

# IL-10基因转化的大肠杆菌对小鼠结肠炎的治疗作用

顾秋平, 谢俊锋, 陈江, 张翼, 洪凯, 白爱平

顾秋平, 陈江, 张翼, 洪凯, 白爱平, 南昌大学第一附属医院  
消化科 江西省南昌市 330006

谢俊锋, 赣州市人民医院消化科 江西省赣州市 341000

国家自然科学基金资助项目, No. 81070310; No. 30860108

江西省自然科学基金资助项目, No. 2007GZY1168

作者贡献分布: 本课题由白爱平与顾秋平设计; 研究操作过程由顾秋平、谢俊锋、陈江、张翼及洪凯完成; 论文写作由顾秋平与白爱平完成。

通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院消化内科. baiap@163.com

收稿日期: 2011-04-28 修回日期: 2011-06-17

接受日期: 2011-06-21 在线出版日期: 2011-09-28

## Treatment of murine colitis with IL-10-secreting *Escherichia coli*

Qiu-Ping Gu, Jun-Feng Xie, Jiang Chen, Yi Zhang, Kai Hong, Ai-Ping Bai

Qiu-Ping Gu, Jiang Chen, Yi Zhang, Kai Hong, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Jun-Feng Xie, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Ganzhou City, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070310 and 30860108; and the Natural Science Foundation of Jiangxi, China, No. 2007GZY1168

Correspondence to: Associate Professor Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com

Received: 2011-04-28 Revised: 2011-06-17

Accepted: 2011-06-21 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the therapeutic effect of interleukin-10 (IL-10)-secreting *Escherichia coli* (*E. coli*) on murine colitis.

**METHODS:** Sixty 6-8-wk-old female BALB/c mice were divided into six groups: normal control group, dextran sulfate sodium (DSS) group, empty plasmid-transformed *E. coli* (*E. coli*0) group, IL-10 gene-transformed *E. coli* (*E. coli*/mIL-10) group, DSS + *E. coli*0 group, and DSS + *E. coli*/mIL-10 group. The DSS, DSS + *E. coli*0, and DSS + *E. coli*/mIL-10 groups were fed 5 % DSS solution for 7 d to induce colitis, while the other groups were given normal tap water. The

*E. coli*0 and DSS + *E. coli*0 groups were intragastrically given *E. coli*0; the *E. coli*/mIL-10 and DSS + *E. coli*/mIL-10 groups were given recombinant *E. coli*/mIL-10; and the DSS and normal control groups were given LB (Luria-Bertain) medium. The treatment lasted for 8 days. Disease activity index (DAI) was recorded each day. The expression of TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65 and myeloperoxidase (MPO) in the colon was measured at the end of the experiment.

**RESULTS:** Mice in the DSS + *E. coli*/mIL-10 group showed a lower DAI than those in the DSS and DSS + *E. coli*0 groups from day 4 to the end of the experiment. The levels of TNF- $\alpha$  and MPO in the colon and the expression of NF- $\kappa$ B P65 in the nuclei of inflammatory cells were lower in the DSS + *E. coli*/mIL-10 group (172.46 pg/g  $\pm$  22.23 pg/g, 2.35 U/g  $\pm$  0.15 U/g) than in the DSS (237.85 pg/g  $\pm$  14.86 pg/g, 4.15 U/g  $\pm$  0.29 U/g) and DSS + *E. coli*0 groups (239.81 pg/g  $\pm$  50.38 pg/g, 3.5 U/g  $\pm$  1.23 U/g) at the end of experiment. No colonic injury was observed in mice in the normal control, *E. coli*/IL-10 and *E. coli*0 groups.

**CONCLUSION:** Local delivery of IL-10 gene-transformed *E. coli* ameliorates DSS-induced murine colitis possibly by decreasing proinflammatory cytokine production and inhibiting NF- $\kappa$ B activation. Gene therapy strategies using engineered *E. coli* encoding immunoregulatory cytokines may provide a potential approach for treatment of inflammatory bowel disease.

**Key Words:** Interleukin-10; *Escherichia coli*; Experimental colitis; Inflammatory bowel disease; Gene therapy

Gu QP, Xie JF, Cheng J, Zhang Y, Hong K, Bai AP. Treatment of murine colitis with IL-10 secreting *Escherichia coli*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2835-2840

## 摘要

**目的:** 观察白介素-10(interleukin-10, IL-10)基因转化大肠杆菌(*E. coli*/mIL-10)对葡聚糖硫酸

## ■背景资料

炎症性肠病(IBM)的发病被认为是基因的易感性与环境因素之间的相互作用后导致肠道异常免疫反应的结果。调节肠道免疫反应,减少促炎症细胞因子过量释放对肠黏膜的损伤是IBM治疗的主要措施之一。近年来大量的基础及前期临床研究发现,IL-10具有强有力的免疫调节作用,并证实其对IBM的肠道炎症具有较好的缓解作用。然而,不同的给药方式其疗效也截然不同,探索新型的给药方式并避免不良反应是目前IL-10在IBM相关生物治疗研究中的热点。

## ■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科



## ■研究前沿

IL-10相关的生物治疗是目前IBD治疗研究的热点之一,如何提高肠道局部IL-10浓度发挥更好的生物学效应也是目前面临的难点。

钠(DSS)诱导小鼠结肠炎的影响,并探讨其相关机制。

**方法:** 将小鼠IL-10基因序列转化至大肠杆菌(*E.coli*/mIL-10), 阴性组为空质粒转化大肠杆菌(*E.coli*0). 60只♀ balb/c小鼠随机分成6组: 正常组对照组, DSS组, DSS+*E.coli*/mIL-10组, DSS+*E.coli*0, *E.coli*/mIL-10组和*E.coli*0组. 建立小鼠急性DSS结肠炎模型. 自小鼠模型建立第1天开始, DSS+*E.coli*/mIL-10组和正常鼠+*E.coli*/mIL-10分别给予*E.coli*/mIL-10灌胃至实验结束, DSS+*E.coli*0组和*E.coli*0组分别给予*E.coli*0灌胃至实验结束( $1 \times 10^8$  cfu/天/只), 正常对照组以及DSS组给予同等培养基灌胃至实验结束. 每天观察各组疾病活动指数(DAI), 并在实验结束后检测各组小鼠炎症肠段肿瘤坏死因子(TNF)、髓过氧化物酶(MPO)和核因子(NF)- $\kappa$ B P65的表达。

**结果:** 自实验第4天开始DSS+*E.coli*/mIL-10组小鼠DAI明显低于DSS组和DSS+*E.coli*0组. 实验结束时DSS+*E.coli*/mIL-10组结肠组织中TNF( $172.46 \pm 66.71$  pg/g组织)、MPO活性( $2.35 \pm 0.39$  U/g组织)比DSS组和DSS+*E.coli*0组[( $237.85 \pm 47.01$ )和( $239.81 \pm 50.38$ ) pg/g组织]、[( $4.15 \pm 0.77$ )和( $3.5 \pm 1.23$ ) U/g组织]均明显降低; 结肠组织NF- $\kappa$ B阳性表达减少. 正常小鼠给予重组大肠杆菌灌胃后未出现结肠黏膜损伤。

**结论:** 利用经IL-10基因转化的大肠杆菌可以明显缓解DSS小鼠的结肠炎症损伤, 减低MPO活性、抑制炎症肠段炎症细胞NF- $\kappa$ B的活化及炎症细胞因子的分泌. 利用基因工程技术结合肠道共栖菌表达IL-10可以为IBD治疗提供一个新的方法。

**关键字:** 白介素-10; 大肠杆菌; 结肠炎; 炎症性肠病; 基因治疗

顾秋平, 谢俊锋, 陈江, 张翼, 洪凯, 白爱平. IL-10基因转化的大肠杆菌对小鼠结肠炎的治疗作用. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2835-2840  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2835.asp>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn disease, CD)两大类, 是一种以肠道异常免疫反应为主要特点的消化系疾病, 临床疾病特点是慢性、复发性肠道炎症损伤. 许

多研究已经证实, 利用IL-10基因缺陷小鼠可建立结肠炎小鼠模型<sup>[1]</sup>, IL-10受体编码基因突变或者缺陷导致IBD的发病<sup>[2]</sup>, IL-10可能参与了IBD的发病. 有研究发现<sup>[3]</sup>, 给予补充重组IL-10可以有限缓解IBD患者的临床症状. 然而, 全身给药的方式并不能达到理想的效果, 如静脉或皮下注射给药途径治疗效果欠佳, 究其原因考虑为IL-10在肠道局部的药物浓度不足和血清中的半衰期较短有关. IL-10基因敲除结肠炎小鼠经重组腺病毒-mIL-10(AdvmIL-10)灌肠后, 可以有效提高肠道局部的IL-10浓度, 缓解肠道炎症损伤, 避免了全身用药的不良反应<sup>[4]</sup>. 本实验中, 我们建立了病理学特征与人UC极为相似的小鼠葡聚糖硫酸钠(DSS)急性结肠炎模型, 观察口服IL-10基因转化大肠杆菌在肠道局部表达mIL-10对结肠炎的肠道炎症的抑制作用和可能机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DSS(葡聚糖硫酸钠): MP公司, 美国; 兔抗小鼠NF- $\kappa$ B p65IgG(一抗): SanatCurz公司, 美国; 二步法免疫组织化学检测试剂盒(PV-6002)、DAB显色增强剂: 购自北京中杉生物技术有限公司; 小鼠TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒: 上海森雄生物工程有限公司; 髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒: 南京建成生物工程研究所。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 按Cooper等<sup>[5]</sup>的方法建立小鼠急性DSS结肠炎模型. 小鼠自由饮用5%DSS, 每天根据前日小鼠的饮水量重新配制当天的饮水量; 自小鼠模型建立第1天开始, DSS+*E.coli*/mIL-10组和*E.coli*/mIL-10分别给予重组大肠杆菌灌胃至实验结束, DSS+*E.coli*0组和*E.coli*0组分别给予空质粒大肠杆菌灌胃至实验结束, 正常对照组以及DSS组给予同等培养基灌胃至实验结束, 每日口服细菌量为 $1 \times 10^8$  cfu/d. 实验的第8天处死小鼠。

**1.2.2 结肠炎疾病活动指数的评估:** 每日观察并记录小鼠体质量、大便的性状和大便出血(隐血或血便)等, 按Muran等<sup>[6]</sup>的评分方法, 将体质量下降、大便性状、大便出血等的评分相加, 计算每只小鼠的疾病活动指数(diseaseactivityindex, DAI), 评估结肠炎严重程度。

**1.2.3 结肠组织髓过氧化物酶(MyeloPeroxidase, MPO)活性测定:** 按试剂盒说明进行操作. 以生理盐水冲洗结肠组织, 取所留结肠组织并剪碎, 置入冷的生理盐水中制备5%的组织匀浆, 取5%的

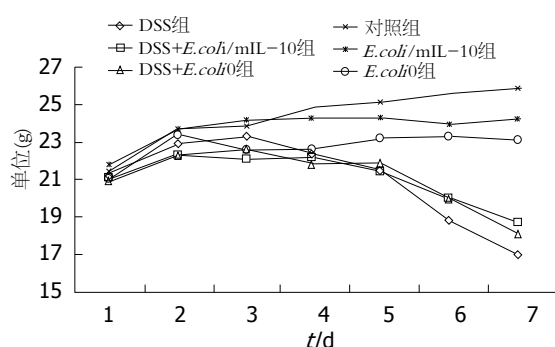


图1 实验各组小鼠平均体质量的变化。

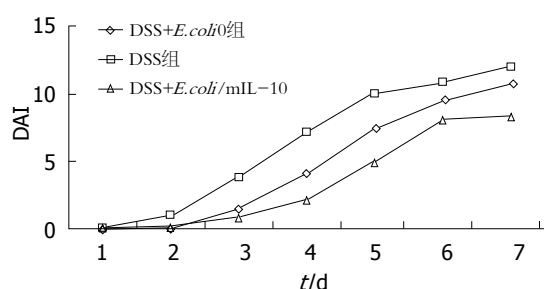


图2 实验各组小鼠DAI评分。

组织匀浆液0.9 mL并加入100  $\mu$ L 0.05%  $H_2O_2$ , 充分混匀, 37  $^{\circ}C$ 水浴15 min; 取上述混匀液0.2 mL加入3 mL含0.03%邻连茴香胺的5 mmol/L PBS液中, 混匀, 37  $^{\circ}C$ 水浴30 min; 加入50  $\mu$ L 2.0%叠氮钠混匀, 60  $^{\circ}C$ 水浴10 min后, 立即在460 nm处测各管A值。

**1.2.4 结肠组织细胞因子TNF的检测:** 酶联免疫吸附检测按试剂盒说明书进行操作。先根据试剂盒提供的标准品制作标准曲线。室温下将100  $\mu$ L小鼠结肠组织匀浆上清液加入每孔, 让待测抗原与包被的吸附抗体(羊抗小鼠TNF多克隆抗体)结合, 封板胶封住反应孔, 37  $^{\circ}C$ 孵育120 min。洗板4次, 加入生物素化抗体(生物素标记的兔抗小鼠TNF多克隆抗体)50  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}C$ 孵育60 min。洗板4次, 加入辣根过氧化物酶(horse-radish peroxidase, HRP)标记的亲合素100  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}C$ 孵育40 min。洗板4次, 加入显色剂100  $\mu$ L/孔, 37  $^{\circ}C$ 避光显色20 min。显色反应经酸终止后即492 nm测定A值。

**1.2.5 免疫组织化学检测结肠组织核因子NF- $\kappa$ B p65的表达:** 在距肛门4 cm处取0.4 cm $\times$ 0.5 cm大小的结肠组织块, 4%甲醛溶液固定, 石蜡包埋后切取4  $\mu$ m切片并置防脱的玻璃片上, 70  $^{\circ}C$ 烤箱内过夜。切片常规脱蜡至水, 双蒸水洗2次后, 用3%  $H_2O_2$ 室温下灭活内源性过氧化物酶15 min, 双蒸

水洗3次。将切片浸入0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH6.0)中, 电炉煮沸15 min, 自然冷却后以0.1 mol/L PBS洗3次。加入1:400兔抗小鼠NF- $\kappa$ B p65多克隆抗体, 4  $^{\circ}C$ 过夜, 0.1 mol/L PBS洗3次。加入生物素化山羊抗兔IgG工作液, 37  $^{\circ}C$ 孵育30 min, 0.1 mol/L PBS洗3次。加入辣根过氧化物酶标记工作液(HRP)37  $^{\circ}C$ 孵育40 min, 0.1 mol/L PBS洗4次。DAB显色, 苏木素复染, 1%盐酸酒精分化, 脱水透明, 封片, 显微镜下观察。实验中以PBS缓冲液代替P65抗体作为空白对照, 以已知P65免疫组织化学染色阳性的切片作为阳性对照。细胞浆、胞核都出现棕褐色颗粒的细胞为P65阳性细胞, 在400倍高倍镜下阳性细胞数, 并以百分比表示。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件, 所有的数据以mean $\pm$ SD形式表示, 进行组间方差分析, 方差不齐时采用秩和检验, 以 $P<0.05$ 为有显著性差异。

## 2 结果

**2.1 小鼠体质量的变化** 实验开始前各组小鼠体质量无明显差异。DSS组小鼠服在连续饮用DSS水的第2天后出现懒动、进食量减少等, 实验第7天DSS组以及DSS+E.coli0组小鼠的体质量下降明显, 全部的小鼠均出现血便, 而E.coli/mIL-10干预的DSS组小鼠出现大便潜血以及血便较另外两组DSS小鼠晚, 其体质量下降的幅度也相应较小。对照组、E.coli/mIL-10组以及E.coli0组的小鼠未出现明显的体质量下降、便血、少动等现象, 3组小鼠的体质量菌呈持续增加(图1)。

**2.2 DSS结肠炎DAI记分** DSS组小鼠服DSS的第4天, 6只小鼠出现大便松散、隐血阳性, 平均DAI评分为7.166, 第5天4只小鼠腹泻血水便, 第6天7只小鼠腹泻血水便, 第7天全部小鼠腹泻血水便, DAI评分为12.124 $\pm$ 0.13。E.coli/mIL-10组小鼠出现结肠炎症状如腹泻、便血等较DSS组晚, 症状明显低于DSS组( $P<0.05$ )。而DSS+E.coli0组小鼠出现大便形状改变、便血以及体质量下降与DSS组相似, 在实验第5-7天, 全部小鼠菌出现血便, 与DSS组无明显差异( $P>0.05$ )。对照组各组小鼠的DAI评分为0(图2)。

**2.3 小鼠DSS结肠炎的结肠组织学变化** 光镜下, 对照组小鼠结肠组织黏膜腺体排列整齐, 隐窝、表面上皮完整, 黏膜固有层有少许LPMC, 无炎性细胞浸润(图3D)。DSS组小鼠饮用5% DSS溶液7 d后, 光镜下观察小鼠距肛门4 cm处结肠组织学变化, 发现80% DSS组结肠的全部隐窝

## ■ 相关报道

Yao等IL-10基因转化双歧杆菌, 将其给DSS诱导结肠炎小鼠模型灌胃后, 可明显缓解小鼠急性结肠炎模型的肠道炎症反应。

### ■创新盘点

本研究通过将IL-10基因转化肠菌,使其基因分泌活性IL-10的能力,使其在肠道定植后表达IL-10并发挥免疫调节作用.这避免了以往研究将重组IL-10蛋白直接通过系统给药方式所带来的不良反应.

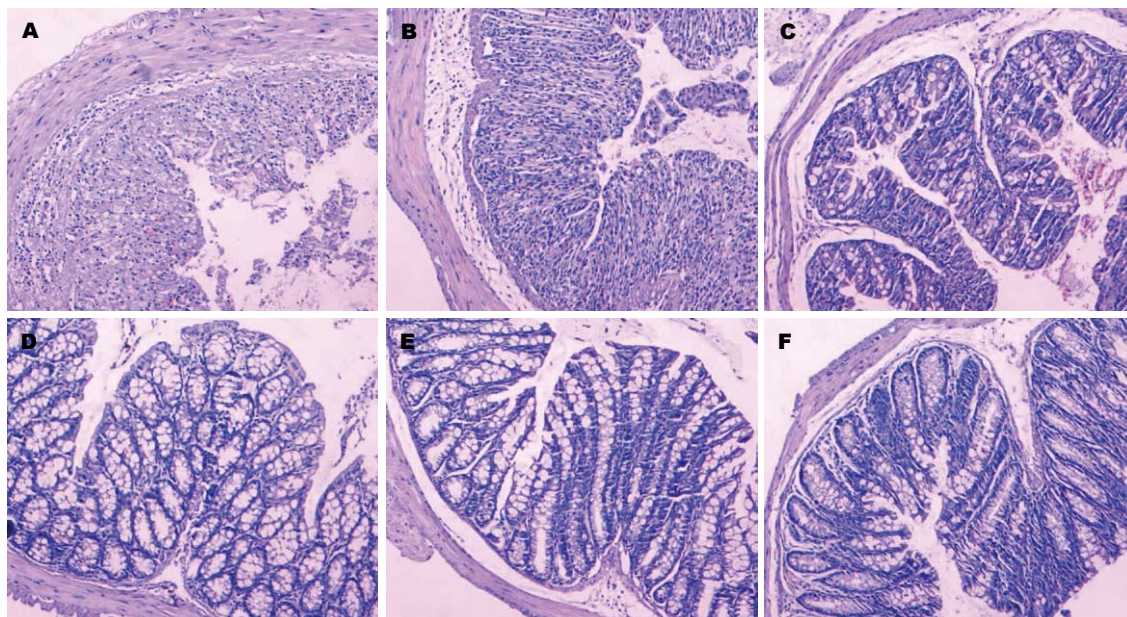


图3 各组小鼠的结肠组织(HE × 100). A: DSS组; B: DSS+*E.coli*0组; C: DSS+*E.coli*0/mIL-10; D: 对照组; E: *E.coli*0/mIL-10组; F: *E.coli*0组.

表1 各组小鼠结肠组织学损伤评分

分组	<i>n</i>	病理评分	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
DSS组	10	10.54 ± 4.15		
DSS- <i>E.coli</i> 0 IL-10组	9	6.22 ± 3.30 <sup>a</sup>	17.69	<0.05
DSS- <i>E.coli</i> 0组	9	10.0 ± 3.00		
对照组	9	0.88 ± 0.31		
<i>E.coli</i> 0/mIL-10组	9	1.22 ± 0.43		
<i>E.coli</i> 0组	9	1.0 ± 0.40		

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs DSS组和DSS+*E.coli*0组.

被破坏,仅残留少许肠上皮细胞,黏膜层、黏膜固有层有大量以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润,可见出血灶(图3A),DSS+*E.coli*0组结肠组织学变化与DSS组相似(图3B).DSS+*E.coli*0/mIL-10组小鼠结肠黏膜轻度破坏,腺体减少,隐窝仅有少量炎性细胞浸润(图3C);正常小鼠给予*E.coli*0或者*E.coli*0/mIL-10灌胃后,结肠未见明显炎症改变,其结肠组织学变化与正常小鼠无明显差异(图3E, F).*E.coli*0/mIL-10能减轻DSS造成的黏膜损伤,恢复腺体及绒毛排列,而空质粒工程菌无此效果;并且结果显示大肠杆菌灌胃后对小鼠结肠无明显毒性作用(表1).

2.4 各组结肠组织MPO活性 DSS+*E.coli*0/mIL-10组小鼠结肠MPO活性较DSS组以及DSS-*E.coli*0低(*P*<0.05),各组小鼠结肠组织中MPO活性(表2).

2.5 结肠组织中TNF-α表达的检测 将距肛门3 cm

处所取的结肠组织块用冷的生理盐水制备成10%的组织匀浆,检测组织中TNF-α的水平,结果见表2.

2.6 结肠组织中NF-κB表达 在距肛门4 cm处的结肠组织,正常小鼠的黏膜层中,少数隐窝底部上皮细胞和少量的LPMC为P65阳性细胞,但胞核着色很淡,黏膜下层细胞很少有P65阳性细胞.DSS组的黏膜层中,残存的腺体上皮细胞均为P65阳性细胞,黏膜层浸润的大部分炎性细胞胞核P65染色阳性,黏膜下层浸润的大量炎性细胞也是P65阳性细胞.DSS+*E.coli*0/mIL-10组小鼠结肠残存的腺体上皮细胞少量P65阳性细胞,黏膜层炎性细胞中P65阳性细胞数较DSS组明显减少(*P*<0.05).*E.coli*0组和*E.coli*0/mIL-10组结肠组织中P65的阳性表达与对照组相似,黏膜层以及基层仅少量表达,无统计学差异(*P*>0.05,表2).

### 3 讨论

IBD被认为是由于肠道黏膜Th1/Th2细胞因子失衡触发局部炎症并导致肠道黏膜异常免疫炎症反应的结果,然而,对于其明确的发病机制尚不清楚.目前,对于IBD的常规治疗仍首先选择氨基水杨酸(含柳氮磺胺吡啶和5-氨基水杨酸)、皮质激素、免疫抑制药物[硫唑嘌呤(AZA),6-巯基嘌呤(6-MP),甲氨蝶呤(MTX),环孢菌素A(CyA)],药物的选择取决于临床治疗的目标、病变的范围、对药物的依从性和出现并发症与否<sup>[7,8]</sup>.这些药物在临床使用中发挥着重要作用,



表 2 各组小鼠结肠组织中MPO活性及(U/g)

分组	MPO活性(U/g)	TNF- $\alpha$ 的含量(pg/g组织)	NF- $\kappa$ B阳性细胞数
DSS组	4.15 $\pm$ 0.77	237.85 $\pm$ 47.01	66 $\pm$ 10
DSS- <i>E.coli</i> /IL-10组	2.35 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	172.46 $\pm$ 66.71 <sup>a</sup>	38 $\pm$ 11 <sup>a</sup>
DSS- <i>E.coli</i> 0组	3.50 $\pm$ 1.23	239.81 $\pm$ 50.38	61 $\pm$ 12
对照组	0.67 $\pm$ 0.17	18.08 $\pm$ 19.60	5 $\pm$ 4
<i>E.coli</i> /IL-10组	0.80 $\pm$ 0.50	24.38 $\pm$ 16.08	7 $\pm$ 2
<i>E.coli</i> 0组	0.96 $\pm$ 1.04	46.96 $\pm$ 22.88	5 $\pm$ 3

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 其他各组.

但是长期服药带来的不良反应和给患者带来的巨大的经济压力仍亟待解决.

在众多异常炎症性疾病的研究中证实, 利用重组免疫细胞因子或特异性的单克隆抗体中和炎症介质是一种非常有效的方法<sup>[9,10]</sup>. 目前在IBD的临床试验和应用中显示出较好效果的生物制剂有很多, 包括抗炎细胞因子抗体制剂<sup>[11]</sup>、抗白细胞黏附分子制剂<sup>[12]</sup>、Th1细胞极化抑制剂以及重组人细胞因子等. 长期研究显示, IL-10参与了IBD的发病, 补充体内IL-10可以达到缓解肠道局部炎症的效果<sup>[13,14]</sup>. 然而, 系统用药显示IL-10的疗效十分有限的, 考虑为局部药物浓度不足<sup>[15]</sup>, 提高局部药物浓度可明显增加其生物学效应<sup>[16]</sup>. 本研究利用肠道共栖菌大肠杆菌作为一种生物治疗的载体, 经过基因修饰后使其具有表达活性mIL-10的能力, 经口服后能明显改善小鼠急性DSS结肠炎病情.

DSS诱导急性小鼠结肠炎的病理生理学特点与人类溃疡性结肠炎十分相似. 本研究中, 给予balb/c小鼠自由饮用5% DSS水7 d后, 出现腹泻、血便以及体质量下降等现象, 组织学改变与Cooper等<sup>[5]</sup>报道一致. 自实验开始第4天, DSS+*E.coli*/mIL-10组小鼠的DAI得分值明显低于DSS组和DSS+*E.coli*0组. 组织病理学改变显示, 给予*E.coli*/mIL-10灌胃后, 其黏膜炎症损伤较轻, 而给予正常小鼠口服重组大肠杆菌均未出现黏膜损伤.

研究显示, 肠道异常免疫反应导致过量炎症细胞因子产生在IBD发病中起着重要作用, CD和UC炎症肠黏膜都产生大量的IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-16和TNF, 这些细胞因子的产生是由一些转录因子所调控的, NF- $\kappa$ B是其中重要的转录因子之一<sup>[17,18]</sup>. 肠道在炎症状态下, 伴随着NF- $\kappa$ B的明显增高, 炎症细胞因子的产生也与此有密切关系<sup>[19,20]</sup>. TNF是肠道炎症细胞因子中最重

要的一个, 他不仅可以直接导致上皮细胞的损伤而且可以促进其他细胞因子的释放, 扩大肠道黏膜的损伤; 此外, TNF可增加肠道炎症损伤部位微血管的通透性, 导致微血栓形成造成微循环障碍, 加重肠黏膜损伤<sup>[21]</sup>. 利用抗TNF- $\alpha$ 抗体可以缓解结肠的炎症反应<sup>[22]</sup>. 本研究中, 我们检测了各组小鼠结肠TNF- $\alpha$ 的含量和NF- $\kappa$ B的活化程度, 结果显示给予*E.coli*/mIL-10口服后可降低结肠组织NF- $\kappa$ B的活化, 减少TNF的释放. 从对照组的各项检测中, 我们发现口服重组大肠杆菌未引起肠道局部炎症反应, 说明大肠杆菌是一种有效、安全的基因治疗载体.

IL-10重组大肠杆菌可以缓解肠道炎症反应, 但是仍面临许多问题, 如载体的选择、口服细菌的浓度和防止细菌过度增殖导致细菌移位等. 总之, IL-10的基因治疗是值得期待的, 他有可能为将来IBD的治疗提供新的方法.

#### 4 参考文献

- Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274
- Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F, Perro M, Diestelhorst J, Allroth A, Murugan D, Hätscher N, Pfeifer D, Sykora KW, Sauer M, Kreipe H, Lacher M, Nustede R, Woellner C, Baumann U, Salzer U, Koletzko S, Shah N, Segal AW, Sauerbrey A, Buderus S, Snapper SB, Grimbacher B, Klein C. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med* 2009; 361: 2033-2045
- Tilg H, van Montfrans C, van den Ende A, Kaser A, van Deventer SJ, Schreiber S, Gregor M, Ludwig O, Rutgeerts P, Gasche C, Koningsberger JC, Abreu L, Kuhn I, Cohard M, LeBeaut A, Grint P, Weiss G. Treatment of Crohn's disease with recombinant human interleukin 10 induces the proinflammatory cytokine interferon gamma. *Gut* 2002; 50: 191-195
- Lindsay JO, Ciesielski CJ, Scheinin T, Brennan FM, Hodgson HJ. Local delivery of adenoviral vectors encoding murine interleukin 10 induces colonic

#### ■应用要点

利用基因转化肠菌的方法, 很可能成为IL-10将来在IBD治疗上的突破口. 本实验显示短期内重组肠菌对正常肠黏膜无明显致病作用, 然而, 重组肠菌在肠道长期表达IL-10对机体的免疫影响仍需进一步研究证实.

## ■同行评价

本文设计合理, 内容新颖, 对炎症性肠病的理论研究和临床治疗有指导意义。

- interleukin 10 production and is therapeutic for murine colitis. *Gut* 2003; 52: 363-369
- 5 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69: 238-249
- 6 Murano M, Maemura K, Hirata I, Toshina K, Nishikawa T, Hamamoto N, Sasaki S, Saitoh O, Katsu K. Therapeutic effect of intracolonic administered nuclear factor kappa B (p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2000; 120: 51-58
- 7 Hanauer SB, Present DH. The state of the art in the management of inflammatory bowel disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2003; 3: 81-92
- 8 欧阳钦, Rakesh Tandon, KL Goh, 潘国宗, KM Fock, Claudio Fiocchi, SK Lam, 萧树东, 张虎, 梁红亮, 王玉芳. 亚太地区炎症性肠病处理共识意见(二). *胃肠病学* 2006; 5: 301-305
- 9 Fedorak RN, Gangl A, Elson CO, Rutgeerts P, Schreiber S, Wild G, Hanauer SB, Kilian A, Cohard M, LeBeaut A, Feagan B. Recombinant human interleukin 10 in the treatment of patients with mild to moderately active Crohn's disease. The Interleukin 10 Inflammatory Bowel Disease Cooperative Study Group. *Gastroenterology* 2000; 119: 1473-1482
- 10 Bai A, Peng Z. Biological therapies of inflammatory bowel disease. *Immunotherapy* 2010; 2: 727-742
- 11 Caviglia R, Ribolsi M, Rizzi M, Emerenziani S, Annunziata ML, Cicala M. Maintenance of remission with infliximab in inflammatory bowel disease: efficacy and safety long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5238-5244
- 12 Lanzarotto F, Carpani M, Chaudhary R, Ghosh S. Novel treatment options for inflammatory bowel disease: targeting alpha 4 integrin. *Drugs* 2006; 66: 1179-1189
- 13 Ribbons KA, Thompson JH, Liu X, Pennline K, Clark DA, Miller MJ. Anti-inflammatory properties of interleukin-10 administration in hapten-induced colitis. *Eur J Pharmacol* 1997; 323: 245-254
- 14 Arnott ID, McNeill G, Satsangi J. An analysis of factors influencing short-term and sustained response to infliximab treatment for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1451-1457
- 15 Schreiber S, Fedorak RN, Nielsen OH, Wild G, Williams CN, Nikolaus S, Jacyna M, Lashner BA, Gangl A, Rutgeerts P, Isaacs K, van Deventer SJ, Koningsberger JC, Cohard M, LeBeaut A, Hanauer SB. Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn's disease. Crohn's Disease IL-10 Cooperative Study Group. *Gastroenterology* 2000; 119: 1461-1472
- 16 Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, Remon JP, van Deventer SJ, Neirynck S, Peppelenbosch MP, Steidler L. A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 754-759
- 17 Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF-kappaB activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4145-4151
- 18 Bai A, Guo Y, Lu N. The effect of the cholinergic anti-inflammatory pathway on experimental colitis. *Scand J Immunol* 2007; 66: 538-545
- 19 Sbragia L, Schmidt AF, Moraes S, Bittencourt DG, Gonçalves FL, Pereira LA, Velloso LA. Inflammatory response in a rat model of gastroschisis is associated with an increase of NF-kappaB. *Braz J Med Biol Res* 2010; 43: 160-165
- 20 Andoh A, Yagi Y, Shioya M, Nishida A, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Mucosal cytokine network in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5154-5161
- 21 Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the extraintestinal thrombosis associated with colonic inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2010 Dec 16. [Epub ahead of print]
- 22 Vandenbroucke K, de Haard H, Beirnaert E, Dreier T, Lauwereys M, Huyck L, Van Huysse J, Demetter P, Steidler L, Remaut E, Cuvelier C, Rottiers P. Orally administered *L. lactis* secreting an anti-TNF Nanobody demonstrate efficacy in chronic colitis. *Mucosal Immunol* 2010; 3: 49-56

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利



# RhoC和IQGAP1蛋白在原发性肝细胞癌中的表达及意义

范玉梅, 张连峰, 赵媛, 陈莉莉

范玉梅, 张连峰, 赵媛, 陈莉莉, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

范玉梅, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由范玉梅与张连峰设计; 研究过程及统计分析由范玉梅与赵媛完成; 论文书写由范玉梅与陈莉莉完成.

通讯作者: 张连峰, 教授, 450052, 河南省郑州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科. lfzhang1999@126.com

电话: 0371-66295933

收稿日期: 2011-08-06 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-23 在线出版日期: 2011-09-28

## Significance of RhoC and IQGAP1 expression in hepatocellular carcinoma

Yu-Mei Fan, Lian-Feng Zhang, Yuan Zhao, Li-Li Chen

Yu-Mei Fan, Lian-Feng Zhang, Yuan Zhao, Li-Li Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Professor Lian-Feng Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lfzhang1999@126.com

Received: 2011-08-06 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-23 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of RhoC and IQGAP1 proteins in hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their clinicopathological significance.

**METHODS:** The expression of RhoC and IQGAP1 proteins was detected by immunohistochemistry in 56 HCC specimens and 15 normal liver specimens. The association of RhoC and IQGAP1 protein expression with clinicopathological parameters was analyzed.

**RESULTS:** The positive rates of RhoC and IQGAP1 expression were significantly higher in HCC than in normal liver tissue (66% vs 20%; 75% vs 13%, both  $P < 0.05$ ). The expression of RhoC and IQGAP1 proteins was related to tumor differentiation and invasion in HCC (both  $P < 0.05$ ). A positive correlation was noted between the expression of RhoC and that of IQGAP1 in HCC ( $r = 0.631$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** RhoC and IQGAP1 play significant roles in promoting the progression of HCC. Expression of RhoC and IQGAP1 can be used as useful parameters for clinical assessment of biological behavior and prognosis of HCC.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; RhoC; IQGAP1; Immunohistochemistry

Fan YM, Zhang LF, Zhao Y, Chen LL. Significance of RhoC and IQGAP1 expression in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2841-2845

## 摘要

**目的:** 探讨RhoC和IQGAP1蛋白在原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达及其临床病理意义.

**方法:** 采用免疫组织化学法分别检测56例原发性肝细胞癌和15例正常肝组织中RhoC及IQGAP1蛋白的表达, 并分析两者的相关性及其与临床病理因素的关系.

**结果:** RhoC和IQGAP1在原发性肝细胞癌组织中的表达明显高于正常组织(66% vs 20%; 75% vs 13%, 均 $P < 0.05$ ), 且两者的表达呈正相关( $r = 0.631$ ,  $P < 0.05$ ), 并与肿瘤组织的分化程度及门脉浸润等均密切相关(均 $P < 0.05$ ).

**结论:** RhoC及IQGAP1在原发性肝细胞癌的发生、发展中发挥重要的促进作用, 可考虑作为HCC临床评价肿瘤生物学行为及评估预后的指标.

**关键词:** 肝细胞癌; RhoC; IQGAP1; 免疫组织化学

范玉梅, 张连峰, 赵媛, 陈莉莉. RhoC和IQGAP1蛋白在原发性肝细胞癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2841-2845

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2841.asp>

## 0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国常见的恶性肿瘤之一, 因其早期诊断困

## ■背景资料

原发性肝细胞癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 尽管新的防治手段不断出现, 预后仍较差. 这是因为HCC早期诊断困难、易发生浸润转移. 因而, 寻找有效的预防及治疗手段极为重要.

## ■同行评议者

禄韶英, 副主任医师, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

### ■研发前沿

研究发现RhoC与IQGAP1与人类多种肿瘤的发生、发展密切相关,有可能作为判断恶性肿瘤进展和预后的新的指标。而两者在恶性肿瘤中的联合性研究极少报道。

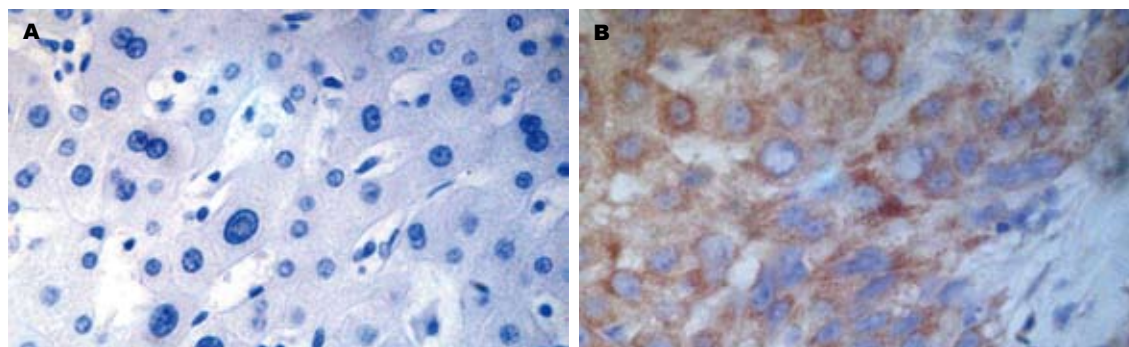


图1 RhoC蛋白的表达(SP×400)。A: 正常组织阴性; B: 肝癌组织强阳性。

难、易发生转移,并缺乏有效的治疗方法,预后极差。故探讨HCC的发生及转移机制,寻找有效预防及治疗的手段,是目前迫切需要解决的问题。RhoC(Ras homologous C)属于小分子G蛋白超家族中的Rho亚家族,是Rho信号转导通路的重要分子。文献报道,RhoC在肝癌、胃癌、结肠癌等多种肿瘤中高表达,并与肿瘤的浸润转移高度相关<sup>[1-3]</sup>。IQGAP1(IQ motif containing GTPase activating protein 1)是一种Ras鸟苷三磷酸酶活化蛋白,因其含有类似于Ras GAPs催化域的广泛序列和位于N端的4个可与钙调蛋白相互作用的IQ模体而被命名。研究表明,IQGAP1在肝癌、胃癌、结肠癌等多种肿瘤的复发转移中也发挥了显著的促进作用<sup>[4-6]</sup>,被认为是一种致癌基因<sup>[7]</sup>。目前,在肝癌中有关RhoC与IQGAP1的联合性研究尚无报道。本研究采用免疫组织化学法分别检测RhoC及IQGAP1蛋白在56例HCC和15例正常组织中的表达及与临床病理因素的关系,并探讨其相关性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 郑州大学第一附属医院2010-03/2011-03手术切除的56例肝癌标本,取15例同期肝血管癌旁病理证实为正常肝组织的组织为正常对照。肝癌患者中男48例,女8例,年龄34-65岁。术前均未接受化疗放疗及免疫治疗,病理学均确诊为原发性肝细胞癌,其中高分化癌14例,中分化癌22例,低分化癌20例;有门脉浸润14例,无浸润42例;HCC病理学分级参照Edmondson分级,I-II级17例,III~IV级39例;肿瘤大于或等于5 cm者22例,小于5 cm者34例。试剂RhoC山羊抗多克隆抗体为美国SantaCruz生物技术公司产品,IQGAP1兔抗人单克隆抗体为EPITMICS生物技术公司产品,SP检测试剂盒、DAB显色试剂盒,

均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.2 方法** 标本经甲醛固定石蜡包埋,连续4 μm切片。采用免疫组织化学染色PV-9000两步法。DAB显色,苏木素复染,操作步骤严格按照说明书进行。实验中以已知的阳性组织作阳性对照,PBS代替一抗作阴性对照。以细胞胞质和/或胞膜出现黄色颗粒为阳性细胞,随机选取5个高倍视野计数,以阳性细胞数和着色强度乘积判断结果。着色强度计分:0分为无色,1分为淡黄色,2分为棕黄色,3分为棕褐色。阳性细胞计分:0分为阴性,1分为阳性细胞≤10%,2分为11%-50%,3分为51%-75%,4分为>75%。两者得分乘积结果:≤3分者为(-);4-8分者为(+);>8分者为(++),+和++均视为阳性。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析,统计方法采用Kruskal-Wallis H检验及pearson相关分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 RhoC与IQGAP1在HCC及正常组织中的表达** RhoC蛋白染色阳性信号呈棕黄或棕褐色,主要位于肝癌细胞胞浆(图1)。在HCC组织中RhoC蛋白呈弥漫性或灶性分布,以弥漫性为主。RhoC蛋白在HCC组织及正常组织中的阳性表达率分别为:66%、20%,两者差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。IQGAP1蛋白染色阳性信号呈棕黄或棕褐色,位于肝癌细胞胞膜或胞浆(图2)。IQGAP1蛋白在HCC组织及正常组织中的阳性表达率分别为:75%、13%,两者差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.2 RhoC与IQGAP1在HCC组织中的表达与其临床病理参数间的关系** RhoC与IQGAP1蛋白在HCC组织中的表达与肿瘤大小、患者的性别、年龄均无关( $P > 0.05$ ),但均与肿瘤的TNM分级、分化程度及门脉浸润有关( $P < 0.05$ ,表1)。

**2.3 RhoC与IQGAP1在HCC组织中表达的相关分**

### ■相关报道

Wu等应用Western blotting技术对胃癌的研究发现,胃癌组织中的RhoC与IQGAP1蛋白水平明显升高,且两者呈正相关。

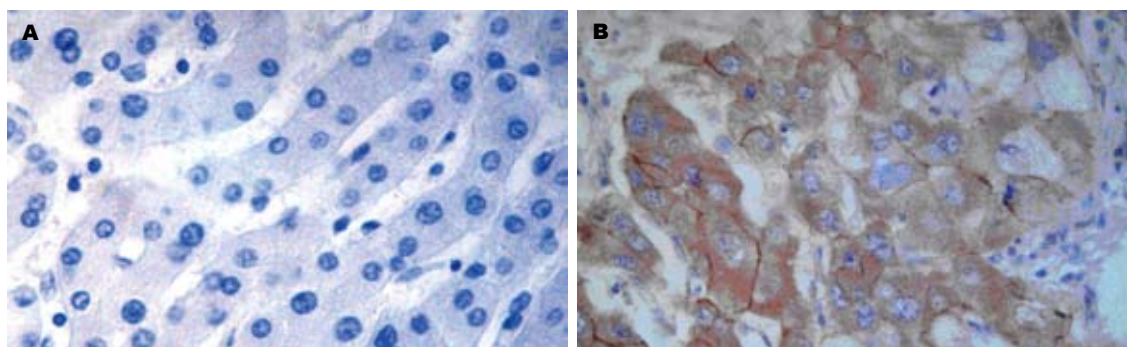


图2 IQGAP1蛋白的表达(SP×400). A: 正常组织阴性; B: 肝癌组织强阳性.

## ■创新盘点

本试验应用免疫组织化学法联合检测RhoC与IQGAP1蛋白在HCC及正常肝组织中的表达,从而在蛋白水平上探讨两者与HCC各项临床病理参数之间的关系,为RhoC与IQGAP1作为判断HCC生物学行为的重要参考指标提供理论依据.

表1 肝癌组织中RhoC、IQGAP1与临床病理参数的相关性

因素	n	RhoC蛋白表达					IQGAP1蛋白表达				
		-	+	++	阳性率(%)	P值	-	+	++	阳性率(%)	P值
性别											
男	48	17	18	13	64.6	0.285	14	18	16	70.8	0.134
女	8	2	2	4	75.0		0	4	4	100.0	
年龄(岁)											
<50	18	5	8	5	72.2	0.809	5	7	6	72.2	0.736
≥50	38	14	12	12	63.2		9	15	14	76.3	
分化程度											
高、中	36	18	11	7	50.0	0.001	13	14	9	63.9	0.005
低	20	1	9	10	95.0		1	8	11	95.0	
肿瘤大小(cm)											
≥5	22	9	6	7	59.1	0.669	7	8	7	68.2	0.421
<5	34	10	14	10	70.6		7	14	13	79.4	
TNM分级											
I-II	17	11	4	2	35.3	0.002	9	6	2	47.1	0.001
III-IV	39	8	16	15	79.5		5	16	18	87.2	
脉浸润											
有	14	1	6	7	92.9	0.013	0	5	9	100.0	0.003
无	42	18	14	10	57.1		14	17	11	66.7	

表2 RhoC与IQGAP1在HCC组织中表达的相关性

IQGAP1	RhoC		合计	χ <sup>2</sup> 值	P值
	(-)	(+)-(++)			
(-)	12	2	14		
(+)-(++)	7	35	42		
合计	19	37	56	0.631	0.000

性析 RhoC与IQGAP1在HCC组织中表达呈正相关( $r = 0.631, P < 0.05$ , 表2).

## 3 讨论

Ras同源基因(Rho)亚家族蛋白是一类与Ras同源的小GTP结合蛋白, 包括Rho(RhoA, RhoB, RhoC), Rac, Cdc42等家族成员, 它循环于活性

GTP结合型与失活性GDP结合型之间, 作为分子开关控制细胞信号转导途径, 产生多种生物学效应<sup>[8-10]</sup>. RhoC是Rho信号转导通路的重要分子, 通过破坏细胞极性、使细胞丧失黏附连接、提高细胞运动能力及重塑细胞外基质能力、增加血管生长因子以促进肿瘤血管形成和增加肿瘤细胞进入血液的可能性, 使肿瘤细胞具有浸润、转移的能力<sup>[11]</sup>. 本研究显示, RhoC在HCC组中的表达较正常组明显增高, 其表达水平与HCC组织的分化程度、TNM分级水平、血管的浸润密切相关, 这与Wang等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致. 提示RhoC过表达在HCC的侵袭转移过程中起着重要的促进作用. 我们由此推测RhoC高表达提示高转移、差预后, 其表达水平也许能为我们提供一个判断预后的标志.

## ■应用要点

本实验通过研究RhoC与IQGAP1蛋白在HCC中的表达及二者的相关性, 发现二者共同在HCC的发生、发展及转移中起了重要的促进作用. 联合监测两种蛋白的表达, 对HCC的诊断及预后判断具有重要的意义, 为HCC的防治提供新的思路和理论依据.



## ■同行评价

本文选题恰当, 有一定的新意, 具有较好的学术价值。

IQGAP1是一个分子量为189 kDa的细胞骨架结合蛋白, 含有类似于Ras-GAPs的催化域和4个可与钙调蛋白相互作用的IQ模体, IQGAP1的上述结构可与多种蛋白结合, 通过接收和发射各种信号调节细胞迁移、细胞间黏附、细胞极性、增殖等各种细胞功能, 促进细胞的增殖及迁移<sup>[13-16]</sup>。据报道, IQGAP1可直接与E-cadherin结合, 下调E-cadherin, 降低细胞间的黏附力<sup>[16,17]</sup>。在早期的研究中发现IQGAP1具有调节细胞骨架结构从而提高细胞运动能力的功能<sup>[18]</sup>, 在细胞黏附和迁移的信号网络中发挥关键作用。IQGAP1还能够通过调节有丝分裂原激活蛋白激酶途径, 可以影响细胞增殖和分化<sup>[19]</sup>。降低细胞间黏附力、增强细胞活动性, 促进增殖, 减少分化这些特征是恶性肿瘤复发转移的关键因素。本研究显示, IQGAP1蛋白在HCC组织中过表达, 且在低分化组中的表达显著高于高、中分化组, 表明IQGAP1与HCC的分化程度有关, 分化越低, 表达越高。此外, 在门脉浸润组表达的阳性率明显高于无门脉浸润组, 表明IQGAP1可能对HCC的浸润转移起促进作用。这与上面提到的IQGAP1的调节功能相一致, 支持IQGAP1是致癌基因的观点。

IQGAP1是Rho家族GTPases中Rac和Cdc42下游调控因子<sup>[20,21]</sup>, Rac/Cdc42与IQGAP1相互作用, 使后者与E-cadherin黏附复合体相互作用, 进而破坏细胞骨架与E-cadherin黏附复合体的连接, 从而利于肿瘤的侵入和转移<sup>[22]</sup>。本研究显示, RhoC与IQGAP1在HCC组织中的表达呈正相关, 且随着TNM分期及门脉浸润的增加, 两者的表达均升高, 提示RhoC和IQGAP1共同参与HCC的发生及浸润、转移等生物学行为。RhoC和IQGAP1相互作用的机制目前尚不清楚, 有待进一步研究。Wu等<sup>[23]</sup>报道, 通过siRNA抑制IQGAP1的表达可以阻碍激活的RhoC的转移作用, 而抑制RhoC的表达对激活的IQGAP1的转移作用无任何影响, 这为寻找可能的抑癌靶点带来了启示, 可能为HCC的治疗提供一种新的治疗策略。

RhoC与IQGAP1在HCC组织中的表达均明显高于正常组织, 且与HCC的浸润转移密切相关, 提示RhoC与IQGAP1高表达的HCC具有更强的侵袭能力, 两者可以作为评估HCC发生及浸润转移的有效指标。联合检测两者对HCC的诊断及预后判断具有重要的意义。另外, 本研究未能统计患者生存期, 无法比较其与临床病理因素的关系, 是本研究的不足之处, 还需进一步研究。

志谢: 感谢李惠详、宁寒冰及刘蔚在本试验中给予的大力帮助。

## 4 参考文献

- 1 Blockade of Rho/Rho-associated coiled coil-forming kinase signaling can prevent progression of hepatocellular carcinoma in matrix metalloproteinase-dependent manner. *Hepatol Res* 2008; 38: 810-817
- 2 Zhou J, Zhu Y, Zhang G, Liu N, Sun L, Liu M, Qiu M, Luo D, Tang Q, Liao Z, Zheng Y, Bi F. A distinct role of RhoB in gastric cancer suppression. *Int J Cancer* 2011; 128: 1057-1068
- 3 Wang H, Zhao G, Liu X, Sui A, Yang K, Yao R, Wang Z, Shi Q. Silencing of RhoA and RhoC expression by RNA interference suppresses human colorectal carcinoma growth in vivo. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 123
- 4 White CD, Khurana H, Gnatenko DV, Li Z, Odze RD, Sacks DB, Schmidt VA. IQGAP1 and IQGAP2 are reciprocally altered in hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 125
- 5 Morris LE, Bloom GS, Frierson HF, Powell SM. Nucleotide variants within the IQGAP1 gene in diffuse-type gastric cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 42: 280-286
- 6 Hayashi H, Nabeshima K, Aoki M, Hamasaki M, Enatsu S, Yamauchi Y, Yamashita Y, Iwasaki H. Overexpression of IQGAP1 in advanced colorectal cancer correlates with poor prognosis-critical role in tumor invasion. *Int J Cancer* 2010; 126: 2563-2574
- 7 Osman M. An emerging role for IQGAP1 in regulating protein traffic. *ScientificWorldJournal* 2010; 10: 944-953
- 8 The role of RhoC in the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. *Med Oncol* 2011 Jun 15. [Epub ahead of print]
- 9 Wang W, Wu F, Fang F, Tao Y, Yang L. Inhibition of invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma cells via targeting RhoC in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6804-6812
- 10 Clinical significance of Rho GDP dissociation inhibitor 2 in colorectal carcinoma. *Int J Clin Oncol* 2011 Jun 24. [Epub ahead of print]
- 11 Wang W, Wu F, Fang F, Tao Y, Yang L. RhoC is essential for angiogenesis induced by hepatocellular carcinoma cells via regulation of endothelial cell organization. *Cancer Sci* 2008; 99: 2012-2018
- 12 Wang W, Yang LY, Yang ZL, Huang GW, Lu WQ. Expression and significance of RhoC gene in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1950-1953
- 13 Kim H, White CD, Sacks DB. IQGAP1 in microbial pathogenesis: Targeting the actin cytoskeleton. *FEBS Lett* 2011; 585: 723-729
- 14 Johnson M, Sharma M, Henderson BR. IQGAP1 regulation and roles in cancer. *Cell Signal* 2009; 21: 1471-1478
- 15 Nakhaei-Nejad M, Zhang QX, Murray AG. Endothelial IQGAP1 regulates efficient lymphocyte transendothelial migration. *Eur J Immunol* 2010; 40: 204-213
- 16 Noritake J, Watanabe T, Sato K, Wang S, Kaibuchi K. IQGAP1: a key regulator of adhesion and migration. *J Cell Sci* 2005; 118: 2085-2092

- 17 White CD, Brown MD, Sacks DB. IQGAPs in cancer: a family of scaffold proteins underlying tumorigenesis. *FEBS Lett* 2009; 583: 1817-1824
- 18 Mataraza JM, Li Z, Jeong HW, Brown MD, Sacks DB. Multiple proteins mediate IQGAP1-stimulated cell migration. *Cell Signal* 2007; 19: 1857-1865
- 19 Brown MD, Sacks DB. IQGAP1 in cellular signaling: bridging the GAP. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 242-249
- 20 Wang JB, Sonn R, Tekletsadik YK, Samorodnitsky D, Osman MA. IQGAP1 regulates cell proliferation through a novel CDC42-mTOR pathway. *J Cell Sci* 2009; 122: 2024-2033
- 21 Bielak-Zmijewska A, Kolano A, Szczepanska K, Maleszewski M, Borsuk E. Cdc42 protein acts upstream of IQGAP1 and regulates cytokinesis in mouse oocytes and embryos. *Dev Biol* 2008; 322: 21-32
- 22 Hage B, Meinel K, Baum I, Giehl K, Menke A. Rac1 activation inhibits E-cadherin-mediated adherens junctions via binding to IQGAP1 in pancreatic carcinoma cells. *Cell Commun Signal* 2009; 7: 23
- 23 Wu Y, Chen YC, Sang JR, Xu WR. RhoC protein stimulates migration of gastric cancer cells through interaction with scaffold protein IQGAP1. *Mol Med Report* 2011; 4: 697-703

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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>1</sup> $P<0.05$ , <sup>2</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>3</sup> $P<0.05$ , <sup>4</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)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



# 骨髓干细胞治疗肝脏疾病的临床应用进展

孟云超, 姜海行, 张君红

## ■背景资料

骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病在近几年取得了很大进展, 因其本身的优势(费用低廉、取材方便、不存在免疫排斥反应等)而越来越多的应用于临床, 本文总结了其近年来的应用进展, 比较全面地概括了该领域的现状, 且提出了自我的看法及展望。

孟云超, 姜海行, 张君红, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

作者贡献分布: 文献检索, 资料分析及论文撰写由孟云超完成; 选题和审校由姜海行完成; 张君红对此文进行修改。

通讯作者: 姜海行, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学第一附属医院消化内科. jihaxi@263.net

电话: 0771-5356501 传真: 0771-5353668

收稿日期: 2011-06-14 修回日期: 2011-07-21

接受日期: 2011-09-01 在线出版日期: 2011-09-28

## Clinical applications of bone marrow stem cells to treat liver diseases: recent progress

Yun-Chao Meng, Hai-Xing Jiang, Jun-Hong Zhang

Yun-Chao Meng, Hai-Xing Jiang, Jun-Hong Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Professor Hai-Xing Jiang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. jihaxi@263.net

Received: 2011-06-14 Revised: 2011-07-21

Accepted: 2011-09-01 Published online: 2011-09-28

## Abstract

In recent years, great advances have been made in the treatment of liver diseases, such as fulminant and chronic hepatic failure, end-stage liver disease and inherited metabolic disorders, by bone marrow stem cell transplantation. Stem cell transplantation possesses advantages of low cost, easy obtainment of stem cells, and little or no immune rejection and therefore has good efficacy, safety and tolerability. Although liver transplantation is an effective way for the treatment of end-stage liver disease, it has limited clinical applications due to the shortage of organ donors, complicated operation procedure, severe complications, immunological rejection and high cost. Therefore, bone marrow stem cell transplantation has shed light on the treatment of end-stage liver diseases. In this article we review the clinical applications of bone marrow stem cell transplantation in the treatment of liver diseases.

Key Words: Bone marrow stem cells; Transplantation; Liver diseases

tion; Liver diseases

Meng YC, Jiang HX, Zhang JH. Clinical applications of bone marrow stem cells to treat liver diseases: recent progress. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2846-2851

## 摘要

近年来随着研究的不断深入, 骨髓干细胞移植在治疗急慢性肝功能衰竭、终末期肝病及遗传代谢性肝病等方面有了很大的进展, 其在近期疗效、安全性、耐受性等方面获得了肯定, 且因其本身的优势(如费用低廉、取材方便、不存在免疫排斥反应等)而越来越受到重视。虽然肝移植是治疗各种终末期肝病的有效方法, 但由于供肝来源不足、操作复杂、并发症多、移植后免疫排斥及治疗费用昂贵等原因, 限制了临床肝移植的发展。因此, 自开展干细胞研究以来, 骨髓干细胞移植为肝病患者带来了福音。本文就近年来骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的相关临床研究作一综述。

关键词: 骨髓干细胞; 移植; 肝脏疾病

孟云超, 姜海行, 张君红. 骨髓干细胞治疗肝脏疾病的临床应用进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2846-2851

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2846.asp>

## 0 引言

干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的原始细胞, 根据其生存阶段可以分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞具有全能性, 可分化为体内所有的组织细胞, 但是, 干细胞的定向分化是在细胞内外因素的共同作用下完成的, 细胞-细胞间的相互作用及某些生长因子可促使干细胞向某一方向分化, 因此, 在体内复杂的微环境中, 很难确保其向单一方向分化, 研究发现这种全能干细胞移植后有形成肿瘤(如畸胎瘤)的风险<sup>[1,2]</sup>, 同时又因为伦理问题, 限制了其在临床上的发展应用。成体干细胞具有多能性, 他包括间充质干细胞、造血干细胞、外周血干细胞、肝干细胞、神经干细胞、胰腺上皮干细

## ■同行评议者

唐世刚, 教授, 大连大学附属中山医院内科; 邹升, 副教授, 哈尔滨医科大学附属二院肝胆外科

胞等. 不同来源的干细胞可定向诱导分化为肝样细胞, 这种细胞具有正常肝细胞的形态和功能特点<sup>[3]</sup>, 可合成白蛋白、甲胎蛋白、尿素等. 虽然也有肝干细胞、脐血干细胞等应用于临床治疗肝脏疾病的报道<sup>[4,5]</sup>, 但目前临床上应用最多、最成熟的是自体骨髓干细胞(包括骨髓造血干细胞和骨髓间充质干细胞). 因此, 我们就近年来自体骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的临床应用作一综述, 以更好地评估其治疗肝脏疾病的疗效、安全性等方面.

## 1 骨髓干细胞治疗肝脏疾病的种类

目前, 骨髓干细胞主要用于治疗急慢性肝功能衰竭、终末期肝病和遗传代谢性肝病<sup>[6,7]</sup>(如Crigler-Najjar综合征、肝豆状核变性及原发性淀粉样变性等). 前两者可通过骨髓干细胞移植直接发挥治疗作用, 后者需要利用转基因技术, 将缺陷基因转入干细胞(即干细胞的基因修饰), 再筛选出阳性干细胞移植入患病肝脏, 从而纠正代谢机能障碍. 干细胞基因修饰后并不影响干细胞的特性, 且还可产生多种细胞因子<sup>[8,9]</sup>, 如肝细胞生长因子、白介素-3等, 从而更有效的达到治疗目的.

## 2 骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病

**2.1 患者的选择 纳入标准<sup>[10]</sup>:** 患者年龄一般在20-65岁; 确诊为急慢性肝功能衰竭或终末期肝病、遗传代谢性肝病; 存在肝功能异常(AST及ALT不超过正常上限值3倍)及其相应的症状、体征; 正在等着肝移植; 最近1 mo终末期肝病模型(model for end-stage liver disease score, MELD)评分 $\geq 16$ ; 按世界卫生组织评分标准, 患者体力状态 $\leq 2$ ; 若为妇女, 则已选择恰当及可靠的避孕措施; 预期寿命超过3 mo; 能知情同意并答应签署《知情同意书》.

**排除标准<sup>[11]</sup>:** 患者年龄小于20岁或超过65岁; 有肝脏恶性肿瘤或其他系统恶性肿瘤史; 最近2 mo发生肝性脑病或静脉曲张破裂出血、特发性细菌性腹膜炎; 血清肌酐 $\geq 2$  mg/dL, 或肾小球滤过率(GFR) $< 40$  mL/min, 血钠 $< 129$  mEq/L; 肝功能明显异常(AST或ALT超过正常上限值3倍); 自身免疫性肝病活动期(血清球蛋白大于正常值2倍, 转氨酶大于正常上限值3倍); 人免疫缺陷病毒或丙型肝炎病毒血清阳性; 乙型肝炎病毒表面抗原阳性病人的病毒DNA超过10 000拷贝/mL; 排除肝外胆道疾病(如原发性硬化性胆

管炎、活动期且未经治疗的传染性疾病等); 超声发现有肝内、肝门及脾静脉血栓形成; 存在严重的多种疾病(如严重的呼吸系统疾病及心脏病等); 酗酒史, 或在6 mo之前服用了肝毒性药物; 怀孕或哺乳期; 滥用活性物质; 缺乏家人支持; 拒绝签署《知情同意书》.

**2.2 术前准备** 患者入院后均行内科对症支持治疗, 包括保肝、利尿及必要时腹水超滤回输等, 所有治疗措施都在患者知情同意并签署《知情同意书》的情况下进行. 术前1 d行碘过敏试验, 双侧腹股沟去皮, 术前4 h禁水. 有的研究者还在干细胞输入前1 h, 通过静脉滴注1 g的万古霉素以预防感染<sup>[11]</sup>. 在移植当日对患者进行隔离, 骨髓穿刺术前5-10 h对房间进行消毒<sup>[12]</sup>.

骨髓干细胞移植前, 需观察患者存在的症状及体征(如纳差、乏力及腹胀等); 用生活质量问卷(short form-36, 即SF-36)评估患者的生活质量<sup>[11]</sup>; 并行实验室检查: 一般为全血细胞计数、凝血酶原时间及国际标准化比率(INR), 血清白蛋白、尿素、肌酐、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、血清碱性磷酸酶、血清总胆红素及直接胆红素、甲胎蛋白等; 肝功能Child-Pugh评分; 腹部B超、CT及内脏血管造影等; 有的还检测肝纤维化指标血清III型前胶原肽(PIIIP)、肝活检肝细胞增殖标志物甲胎蛋白及增殖细胞核抗原(PCNA)<sup>[11,13]</sup>等指标.

近年在啮齿类动物的研究中发现<sup>[14,15]</sup>, 应用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)能促进肝脏部分切除后啮齿类动物的骨髓细胞动员, 且还可以加速肝细胞的再生, 此试验为应用G-CSF治疗慢性肝病提供了理论基础. 因此, 为了验证G-CSF疗法的可行性及安全性, 国内外均有学者在骨髓干细胞移植前给予患者 G-CSF皮下注射以诱导骨髓动员, 并取得了良好的效果<sup>[16,17]</sup>. 但是, G-CSF的用量不等, 目前尚无统一的标准, 国内一般在移植前两天连续给予100-200  $\mu$ g的G-CSF<sup>[18]</sup>; 而国外一般按5 mcg/kg体质量计算, 每12 h皮下注射一次, 连续注射3 d<sup>[19]</sup>.

**2.3 骨髓干细胞的准备** 骨髓血的采集<sup>[20]</sup>: 一般在局麻无菌条件下, 以18号骨髓穿刺针在患者髂后上棘穿刺获得50-100 mL骨髓液, 并用4 000 U肝素抗凝; 或抽取约150-200 mL骨髓液, 用7 500 U肝素抗凝<sup>[12]</sup>.

骨髓干细胞的分离及纯化: 多采用密度梯度离心法对骨髓干细胞进行体外分离及纯化, 少数采用负筛选法; 前者将抽取的骨髓液经离

## ■研发前沿

骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的作用机制是近年来研究的热点与重点. 骨髓干细胞移植在临床应用中的具体问题(如所需的细胞数量、细胞种类、移植途径及移植后在体内的增殖、分化情况等)仍有待进一步研究.

## ■相关报道

Lin研究表明骨髓干细胞移植治疗慢性肝脏损伤,通过旁分泌肝细胞生长因子、神经生长因子等发挥促肝细胞增殖、诱导肝星状细胞凋亡及免疫调节等作用,改善肝功能、阻止肝纤维化。

心后去除脂肪层,用等量的DMEM培养液稀释骨髓,制成细胞悬液,再离心,吸取界面细胞层,用等渗盐水洗脱并混匀细胞,1 500 r/min离心3次,每次5 min,再用等渗盐水重悬细胞并计数,用流式细胞仪分选出CD34(+)或CD133(+)的单核细胞<sup>[21,22]</sup>,制成体积为10 mL的细胞悬液,置于37 °C二氧化碳孵箱待用。

骨髓干细胞的扩增:骨髓干细胞主要包含两大类细胞,一类是造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs),一类是间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs),骨髓中MSCs的含量非常低,约占0.001%-0.01%,所以,若要通过MSCs移植达到治疗目的,就必须有足够的细胞数量才能达到相应的临床效果,因此,需进行体外扩增,并通过流式细胞仪检测MSCs的表面标志物、RT-PCR检测MSCs可以分化为内胚层细胞及肝细胞等来检测MSCs的活性及功能<sup>[13]</sup>。

## 2.4 骨髓干细胞的输入

2.4.1 骨髓干细胞移植途径:目前,临床上骨髓干细胞移植主要经门静脉、肝动脉及外周静脉进行,少数经过肝动脉实行肝内注射,具体的移植途径应根据不同的疾病和治疗目的来选择<sup>[23]</sup>。在干细胞移植的临床应用中发现,肝内注射(即点注射)移植方式适用于局部病变的治疗,而血管注射适用于弥漫性病变的治疗。肝内注射虽实现了靶向性治疗的要求,避开了复杂、紊乱的组织,但干细胞除定植于肝组织外,还可能会进入中央静脉,增加肺栓塞的危险,因此这种移植方式很少采用。许多动物及人体研究表明<sup>[24-26]</sup>,经肝动脉移植骨髓干细胞在很大程度上可以改善肝功能,并延缓和改善肝纤维化程度。但Mohamadnejad等<sup>[11]</sup>研究发现,通过肝动脉移植自体骨髓造血干细胞治疗失代偿肝硬化患者,未能明显改善肝功能,且还有导致肾病和肝肾综合征发生的风险。因此,经肝动脉移植治疗的效果、安全性等问题尚需进一步观察研究。在急性肝衰竭或遗传代谢性肝病中,肝脏的结构完整,可以将MSCs直接输入门静脉,使其最大限度的停留在肝脏,为其发挥作用提供了充分的保障。但有文献报道<sup>[26]</sup>,终末期肝病的组织结构已发生变化,门静脉灌注干细胞可导致门静脉压力短暂(或持续)、明显的升高,重者可导致严重的肝损伤甚至广泛肝坏死及肺栓塞。因此,根据不同的疾病类型、病情和治疗目的选择合适的移植途径是至关重要的,他直接影响到移植后的疗效、安全性等。

2.4.2 骨髓干细胞的输入方法:经肝动脉输入是目前最常用的输入方式,常在DSA下采用Seldinger穿刺术行股动脉穿刺插管,置管于肝固有动脉进行造影,观察肝内血管情况及有无占位性病变,然后将待用的细胞悬液经左右肝动脉缓慢输入。经门静脉输入一般是在超声引导下,通过门静脉主干输入患者体内,若患者有门静脉血栓形成等而不能行门静脉输入的,可经外周静脉(如肘静脉)途径输入。

干细胞输入完毕后用10 mL等渗盐水冲洗管腔,术毕拔管,穿刺点加压包扎后返回病房,并告知患者髋关节呈伸直位制动24 h。术后可连用3 d抗生素以预防感染。

2.5 骨髓干细胞移植所需的细胞数量 理论上,不需要移植太多的干细胞就能发挥改善肝功能、促进肝再生和抗肝纤维化等作用,且目前也没有足够的证据证明移植干细胞的疗效呈剂量依赖性,但在临床实验中发现<sup>[27]</sup>,必须有足够数量的干细胞才能发挥治疗作用。在动物实验中,干细胞移植数量级别通常在 $10^6$ - $10^7$ ;在临床应用中,干细胞数量级别通常在 $10^6$ - $10^{11}$ <sup>[28]</sup>。

有动物实验及临床研究表明<sup>[29,30]</sup>,移植后的疗效与归巢的干细胞数量成正相关,然而在现有的细胞培养技术条件下,很难在短时间内获得大量高纯度、高活性的MSCs,且亦有研究发现<sup>[31]</sup>,归巢的骨髓干细胞数量与所移植的骨髓干细胞数量没有明显的依赖性。因此,在骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的临床应用,除保证所移植的骨髓干细胞具有较高级别数量外,还需通过提高骨髓干细胞归巢的数量来提高移植疗效,进而达到治疗目的。

2.6 骨髓干细胞移植后综合疗效判断标准 许多动物实验及临床研究表明<sup>[6,25,32-36]</sup>,骨髓干细胞移植治疗急慢性肝功能衰竭、终末期肝病及遗传代谢性肝病的近期疗效是肯定的,但远期疗效尚需进一步观察。目前国内外尚无统一的标准用于评价骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病后的临床综合疗效,但通常从三方面来评估:一是患者临床症状、体征;二是复查前述实验室指标;三是进行影像学检查,如腹部B超、CT等。有国外学者还通过检测胆红素清除率来评估肝脏血流以作为检测肝功能的指标<sup>[37]</sup>。干细胞移植后的疗效判断是在患者术后住院期间及出院后的观察期内(国内最长为12 wk,国外最长为1年)均未使用保肝药物及输注人血白蛋白等条件下进行的。有国内学者<sup>[11]</sup>根据患者的临床症状、体征、

实验室指标及影像学检查, 将临床综合疗效分为: (1)显效: 临床主要症状、体征(如腹胀、浮肿、乏力、纳差等)消失, 影像学检查提示胸、腹水消失,  $\text{Alb} \geq 35 \text{ g/L}$ ; (2)有效: 临床症状、体征消失或明显改善, 实验室指标好转; (3)无效: 临床症状和体征无改善或加重, 实验室指标无好转甚至恶化。

**2.7 骨髓干细胞移植后的不良反应及并发症** 骨髓干细胞移植后的不良反应及并发症主要从以下方面来评估: 有无发热、恶心或呕吐、过敏反应、是否出现肝区不适或疼痛及是否并发肾衰、肝肾综合征等。在既往的临床实验中<sup>[25,38-40]</sup>, 均未出现严重不良反应及并发症, 仅少数患者移植后出现低热或轻度恶心, 但多于24 h内自行缓解; 少数患者在移植过程中出现肝区不适, 但移植完毕拔管后症状自行消失。因应用骨髓干细胞移植治疗肝病时间不长、缺乏大量的临床队列研究, 且移植后患者的随访观察时间有限, 其远期疗效、安全性及并发症等尚不十分清楚, 还有待进一步研究。

### 3 结论

干细胞移植治疗肝脏疾病主要通过干细胞的分化增殖、分泌各种细胞因子和免疫调节等作用而逐渐修复损伤的肝组织<sup>[41-44]</sup>。尽管目前关于骨髓干细胞的研究已取得了较大的进展, 但在临床应用中尚有许多问题需要解决, 特别是一些临床前期实验结果与临床实验结果不一致的问题: (1)需进一步阐明骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的作用机制; (2)明确骨髓干细胞移植的最佳临床适应证、移植途径、输入方法、所需的细胞数量及细胞种类等; (3)骨髓干细胞培养诱导的许多细胞仍为类某种功能的细胞, 移植后是否真正发挥细胞及其功能替代作用; (4)需进一步明确移植的骨髓干细胞在宿主体内的存活、增殖、分化情况; (5)合理设计多中心双盲对照的临床实验研究, 并延长随访时间, 进一步了解骨髓干细胞移植可能存在的远期不良反应及并发症, 如致癌性、致免疫功能低下及多向分化等<sup>[45-47]</sup>。随着研究的进一步深入、上述问题的解决, 可能会为应用骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病带来更大的发展前景, 为肝病患者带来福音。

### 4 参考文献

- Cantiz T, Manns MP, Ott M. Stem cells in liver regeneration and therapy. *Cell Tissue Res* 2008; 331: 271-282
- Rubio D, Garcia-Castro J, Martín MC, de la Fuente R, Cigudosa JC, Lloyd AC, Bernad A. Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 2005; 65: 3035-3039
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49
- Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X, Achten R, Verslype C, Diehl AM. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol* 2003; 163: 1301-1311
- 唐晓鹏, 郑宣鹤, 杨旭. 脐血输注合并血浆置换治疗慢性重型肝炎的疗效初探. *湖南医科大学学报* 2002; 27: 323-325.
- Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941
- Lin H, Xu R, Zhang Z, Chen L, Shi M, Wang FS. Implications of the immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in the treatment of human liver diseases. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 19-22
- Yu Y, Yao AH, Chen N, Pu LY, Fan Y, Lv L, Sun BC, Li GQ, Wang XH. Mesenchymal stem cells over-expressing hepatocyte growth factor improve small-for-size liver grafts regeneration. *Mol Ther* 2007; 15: 1382-1389
- Nakamura T, Sakai K, Nakamura T, Matsumoto K. Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 188-202
- Gordon MY, Levicar N, Pai M, Bachellier P, Dimarakis I, Al-Allaf F, M'Hamdi H, Thalji T, Welsh JP, Marley SB, Davies J, Dazzi F, Marelli-Berg F, Tait P, Playford R, Jiao L, Jensen S, Nicholls JP, Ayav A, Nohandani M, Farzaneh F, Gaken J, Dodge R, Alison M, Apperley JF, Lechler R, Habib NA. Characterization and clinical application of human CD34+ stem/progenitor cell populations mobilized into the blood by granulocyte colony-stimulating factor. *Stem Cells* 2006; 24: 1822-1830
- Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanaati H, Baharvand H, Ghavamzadeh A, Malekzadeh R. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med* 2007; 10: 459-466
- 刘黎, 周健, 李多云, 黄丽雯. 自体骨髓干细胞移植治疗乙型肝炎肝硬化失偿期患者41例临床分析. *中西医结合肝病杂志* 2010; 20: 215-217
- Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, Yokoyama Y, Uchida K, Yamasaki T, Fujii Y, Okita K, Sakaida I. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24: 2292-2298
- Dan YY, Yeoh GC. Liver stem cells: a scientific and clinical perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 687-698
- Piscaglia AC, Shupe TD, Oh SH, Gasbarrini A, Petersen BE. Granulocyte-colony stimulating factor

### ■创新盘点

本文从骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的患者选择、术前准备、干细胞输入途径、干细胞数量、不良反应及并发症等方面展开论述。

## ■应用要点

本文从骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的实际应用出发,较全面地概括了该领域的现状,为临床应用提供参考。

- promotes liver repair and induces oval cell migration and proliferation in rats. *Gastroenterology* 2007; 133: 619-631
- 16 Liu F, Pan X, Chen G, Jiang D, Cong X, Fei R, Wei L. Hematopoietic stem cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor partly contribute to liver graft regeneration after partial orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 1129-1137
- 17 王迪, 郭晓钟, 刘峰, 赵佳军, 邵晓冬, 李宏宇, 崔忠敏. 经肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化40例. 现代消化及介入诊疗 2008; 13: 258-261
- 18 刘晓天. 自体骨髓干细胞移植介入治疗肝硬化的临床研究. 齐齐哈尔医学院学报 2010; 31: 1539-1540
- 19 Gaia S, Smedile A, Omedè P, Olivero A, Sanavio F, Balzola F, Ottobrelli A, Abate ML, Marzano A, Rizzetto M, Tarella C. Feasibility and safety of G-CSF administration to induce bone marrow-derived cells mobilization in patients with end stage liver disease. *J Hepatol* 2006; 45: 13-19
- 20 姚鹏, 王帅, 胡大荣, 闻炜, 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
- 21 刘卫, 王教学, 王丽娟, 张厚安, 朱斌. 自体骨髓干细胞移植治疗失代偿肝硬化. 中华消化外科杂志 2010; 9: 361-363
- 22 am Esch JS, Knoefel WT, Klein M, Ghodsizad A, Fuerst G, Poll LW, Piechaczek C, Burchardt ER, Feifel N, Stoldt V, Stockschröder M, Stoecklein N, Tustas RY, Eisenberger CF, Peiper M, Häussinger D, Hosch SB. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* 2005; 23: 463-470
- 23 姚鹏, 胡大荣, 王帅, 闻炜, 周一鸣, 龚丽娟. 人自体骨髓干细胞移植治疗慢性肝功能衰竭的研究. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 941-942
- 24 Taniguchi E, Kin M, Torimura T, Nakamura T, Kumemura H, Hanada S, Hisamoto T, Yoshida T, Kawaguchi T, Baba S, Maeyama M, Koga H, Harada M, Kumashiro R, Ueno T, Mizuno S, Ikeda H, Imaizumi T, Murohara T, Sata M. Endothelial progenitor cell transplantation improves the survival following liver injury in mice. *Gastroenterology* 2006; 130: 521-531
- 25 Kharaziha P, Hellström PM, Noorinayer B, Farzaneh F, Aghajani K, Jafari F, Telkabadi M, Atashi A, Honardoost M, Zali MR, Soleimani M. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1199-1205
- 26 Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H, Zare Mehrjardi N, Kazemi Ashtiani S, Malekzadeh R, Baharvand H. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3359-3363
- 27 Schrepfer S, Deuse T, Reichenspurner H, Fischbein MP, Robbins RC, Pelletier MP. Stem cell transplantation: the lung barrier. *Transplant Proc* 2007; 39: 573-576
- 28 Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, Oyamada A, Nakamori S, Nishimura H, Sadamoto K, Horii M, Matsumoto T, Murasawa S, Shibata T, Suehiro S, Asahara T. Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation* 2006; 113: 1311-1325
- 29 di Bonzo LV, Ferrero I, Cravanzola C, Mareschi K, Rustichelli D, Novo E, Sanavio F, Cannito S, Zamara E, Bertero M, Davit A, Francica S, Novelli F, Colombatto S, Fagioli F, Parola M. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential. *Gut* 2008; 57: 223-231
- 30 Xiang GA, Zhang GQ, Fang CH, Gao P, Chen KY. [A preliminary study of the homing capacity of allograft mesenchymal stem cells to rat liver]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2005; 25: 994-997
- 31 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kawamata M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008; 26: 2705-2712
- 32 Hashemi SM, Ghods S, Kolodgie FD, Parcham-Azad K, Keane M, Hamamdizic D, Young R, Rippey MK, Virmani R, Litt H, Wilensky RL. A placebo controlled, dose-ranging, safety study of allogenic mesenchymal stem cells injected by endomyocardial delivery after an acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2008; 29: 251-259
- 33 Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Osaki M, Kato T, Okochi H, Ochiya T. Rapid hepatic fate specification of adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 70-77
- 34 Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, Chen CT, Shih YR, Fang SC, Yang VW, Lee OK. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 2111-2121, 2121. e1-3. Epub 2008 Mar 12
- 35 Miranda PS, Bosma PJ. Towards liver-directed gene therapy for Crigler-Najjar syndrome. *Curr Gene Ther* 2009; 9: 72-82
- 36 Lin N, Hu K, Chen S, Xie S, Tang Z, Lin J, Xu R. Nerve growth factor-mediated paracrine regulation of hepatic stellate cells by multipotent mesenchymal stromal cells. *Life Sci* 2009; 85: 291-295
- 37 Hsieh CB, Chen CJ, Chen TW, Yu JC, Shen KL, Chang TM, Liu YC. Accuracy of indocyanine green pulse spectrophotometry clearance test for liver function prediction in transplanted patients. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2394-2396
- 38 Nikeghbalian S, Pournasr B, Aghdami N, Rasekhi A, Geramizadeh B, Hosseini Asl SM, Ramzi M, Kakaei F, Namiri M, Malekzadeh R, Vosough Dizaj A, Malek-Hosseini SA, Baharvand H. Autologous transplantation of bone marrow-derived mononuclear and CD133(+) cells in patients with decompensated cirrhosis. *Arch Iran Med* 2011; 14: 12-17
- 39 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
- 40 Pai M, Zacharoulis D, Milicevic MN, Helmy S, Jiao LR, Levicar N, Tait P, Scott M, Marley SB, Jestice K,



- Glibetic M, Bansil D, Khan SA, Kyriakou D, Rountas C, Thillainayagam A, Nicholls JP, Jensen S, Apperley JF, Gordon MY, Habib NA. Autologous infusion of expanded mobilized adult bone marrow-derived CD34+ cells into patients with alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1952-1958
- 41 Zhou P, Hohm S, Olusanya Y, Hess DA, Nolte J. Human progenitor cells with high aldehyde dehydrogenase activity efficiently engraft into damaged liver in a novel model. *Hepatology* 2009; 49: 1992-2000
- 42 Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007; 110: 3499-3506
- 43 Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI, Zhao RC, Shi Y. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 141-150
- 44 陈国忠, 姜海行, 陆正峰, 肖健, 梁梓宇, 覃山羽. 骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和RohA表达的调控. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1643-1649
- 45 Russo FP, Alison MR, Bigger BW, Amofah E, Florou A, Amin F, Bou-Gharios G, Jeffery R, Iredale JP, Forbes SJ. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1807-1821
- 46 Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, Brenner DA. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol* 2006; 45: 429-438
- 47 Kisseleva T, Brenner DA. Hepatic stellate cells and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21 Suppl 3: S84-S87

#### ■同行评价

该文总结了近年骨髓干细胞移植治疗肝脏疾病的临床应用进展, 比较全面地概括了该领域的现状。

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。(编辑部主任: 李军亮 2010-11-28)

# 多排螺旋CT三维重建技术在肝癌切除术中的应用

席江伟, 梅铭惠

## ■背景资料

外科手术是肝癌最佳的治疗手段, 目前精准肝脏外科时代在完全切除病灶的同时, 需确保残肝解剖结构完整和功能体积最大化, 并最大限度控制术中出血, 从而使手术患者获得最佳康复效果。

席江伟, 梅铭惠, 桂林医学院附属医院肝胆胰外科 广西壮族自治区桂林市 541001

作者贡献分布: 本文综述由席江伟完成; 梅铭惠审校。

通讯作者: 梅铭惠, 教授, 主任医师, 541001, 广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院附属医院肝胆胰外科。

mhmei616@yahoo.com.cn

电话: 0773-2824373

收稿日期: 2011-07-28 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-19 在线出版日期: 2011-09-28

## Application of multi-slice spiral CT three-dimensional reconstruction technique in liver resection for hepatic carcinoma

Jiang-Wei Xi, Ming-Hui Mei

Jiang-Wei Xi, Ming-Hui Mei, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Correspondence to: Professor Ming-Hui Mei, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. mhmei616@yahoo.com.cn

Received: 2011-07-28 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-19 Published online: 2011-09-28

## Abstract

Hepatic carcinoma is a very common disease across the world, and hepatic resection is still the best treatment. As the liver has complex anatomy and frequent vascular variations, it is of great importance to obtain some preoperative data, such as the position of liver cancer and its relationship with liver vessels and adjacent structures. Now, three-dimensional reconstruction technique allows to clearly show the relationship of the hepatic artery, portal vein, hepatic vein and tumor with surrounding structures and accurately calculate the remnant liver volume, providing valuable preoperative imaging data for liver resection. This article will give an overview of three-dimensional reconstruction technique and discuss its ability to display liver vascularity, show the relationship between tumors and liver blood vessels, and predict liver resection volume.

## ■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院 肝胆外科; 黄志勇, 教授, 华中科技大学同济医学院普外科; 金山, 副主任医师, 内蒙古医学院附属医院普外科

**Key Words:** Three-dimensional reconstruction; Hepatic carcinoma; Liver vascularity; Liver volume

Xi JW, Mei MH. Application of multi-slice spiral CT three-dimensional reconstruction technique in liver resection for hepatic carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2852-2856

## 摘要

肝癌发病率较高, 目前外科手术切除仍是其最佳的治疗手段, 但肝内解剖结构复杂, 血管变异较多, 故术前了解肝内肿瘤及其侵犯的部位, 以及肿瘤与肝内血管的毗邻关系对肝肿瘤切除具有重要意义。如今随着CT三维成像技术的应用术前可清楚直观地显示肝动脉、肝门静脉、肝静脉的解剖结构和病灶与周围组织的解剖毗邻关系以及精确计算残肝体积, 为肝肿瘤切除的安全性和可行性提供有价值的影像学资料。本文就三维重建技术的常用方法及其在显示肝脏内血管、肝脏肿瘤与周边血管解剖关系、肝脏体积测定等方面的能力作一详细介绍。

**关键词:** 三维重建; 肝癌; 肝脏血管; 肝脏体积

席江伟, 梅铭惠. 多排螺旋CT三维重建技术在肝癌切除术中的应用. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2852-2856

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2852.asp>

## 0 引言

外科手术是肝癌最佳的治疗手段, 目前精准肝脏外科时代在完全切除病灶的同时, 需确保残肝解剖结构完整和功能体积最大化, 并最大限度控制术中出血, 从而使手术患者获得最佳康复效果<sup>[1]</sup>。因此术前了解肝内肿瘤及其侵犯的部位以及肿瘤与肝内血管的毗邻关系对肝癌切除具有重要意义。本文就CT三维重建技术在肝癌手术中的应用进行综述。

## 1 三维重建技术

三维重建技术是指在螺旋CT扫描的原始二维图像基础上利用其3D工作站提供的图像后处理

技术重建出的立体图像。目前在肝脏外科最常使用的方法有多层面重组(multi-planar reformation, MPR)、最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)、表面遮盖显示(shaded surface display, SSD)和容积再现技术(volume rendering, VR)。(1)MPR以横断面图像为基础,可快速重建任何平面图像,清晰显示该平面内血管走行及器官实质和病灶的信息,但所选平面之外组织皆不能重建,故不利于呈现弯曲血管的全部走行<sup>[2-4]</sup>;(2)MIP是根据不同角度方向上投射射线通过容积图像后将各条射线上最大像素通过图像重建后形成的投影图。他重建的血管空间感强,可直观显示血管的狭窄和中断、但因重组时大量信息的丢失不利于血管腔内病变的显示,且不能在一张图像上清晰地显示血管和肿瘤的解剖关系<sup>[2-4]</sup>;(3)SSD通过阈值设定重组表面图像,可很好地显示血管和癌灶的解剖关系,直观空间感强,尤其能更好地显示血管互相交叠或弯曲的复杂解剖部位,但影像信息与操作员重建图像时设定的阈值关系密切,高阈值可使重建图像血管腔产生假性狭窄、相反低阈值则血管腔显示增宽,并且较小血管易出现逼真的狭窄或堵塞的伪像<sup>[2-4]</sup>;(4)VR可综合利用物体的每一个像素,沿着某一特定投射射线对全部像素总合后利用容积数据处理后显示图像信息。他可将肝脏、肿瘤和血管重建于同一图像上,显示多个层面内组织间的全面解剖关系,重建图像逼真、层面丰富,微小结构亦可清楚地呈现<sup>[2-4]</sup>。

## 2 三维重建技术对肝脏血管显示能力的研究

三维重建图像均可清晰地显示肝总动脉和门静脉主干及他们的细小分支。卓水清等<sup>[5]</sup>研究认为MIP、VR、SSD均可清楚地呈现肝动脉和门静脉4级以上的细小分支,有的可达7级。MIP显示肝动脉的能力较强,而三者中SSD显示肝动脉的能力相对较弱;门静脉显示能力MIP和VR无显著差异,均强于SSD;而对于血管和周边结构空间关系的显示,SSD和VR无显著差异,但二者均优于MIP。Byun等<sup>[6]</sup>研究表明MIP发现肝动脉解剖变异的灵敏度和特异性分别是89.5%和92.7%,而VR是57.9%和87.8%。国内学者<sup>[7-9]</sup>研究发现64排螺旋CT三维重建可清楚直观地显示肝动脉和肝门静脉的6-8级分支,重建血管影像可全方位多角度地显示肝动脉、肝门静脉和肝静脉的正常解剖和异常走行以及他们在肝内错综复杂的空间关系,对于活体肝血管的研究、临床应用

和教学等有重要的意义。林志东等<sup>[10]</sup>研究表明64排螺旋CT动脉血管三维重建与血管造影效果一致、可为肝癌患者介入术前了解肿瘤供血血管的走行和起源以及术中血管栓塞范围和部位作出确切的评估、介入治疗时亦可减少血管造影次数和对比剂用量及医患辐射剂量。

Savastano等<sup>[11]</sup>利用VR和MIP在描述内脏动脉解剖上的正确率分别为71.9%和94.6%,研究表明CT三维血管重建大多数情况下可取代有创的血管造影术。Stemmler等<sup>[12]</sup>对43例肝癌患者行肝动脉三维重建后,有40人肝动脉术前影像评估与术中探查相符合,存在差异的3名患者术中探查存在有细小的左副肝动脉未被三维影像识别,而二维图像这些细小的副肝动脉均被显示,表明在显示细小动脉图像上二维影像优于三维影像,但在显示血管的空间结构上不及三维影像。

因此,在肝脏肿瘤中,螺旋CT薄层扫描所获得的动静脉双期影像资料,利用三维重建的方式可清楚地显示肝动脉、门静脉和肝静脉的解剖结构,为肝肿瘤切除的安全性和可行性提供有价值的影像学资料<sup>[13]</sup>。而我认为三维成像技术各具优势,临床诊治中应相互结合,可为术前全面评估血管走行情况及其与肿瘤的空间关系提供更多、更可靠的影像学信息。

## 3 三维重建技术显示肝癌与肝内血管解剖关系的研究

目前多排螺旋CT三维重建技术可进行任意平面和多种方式的图像重建,提供肝脏相关血管清晰的三维空间图像且可任意角度旋转,从不同的方向对某一血管的走形、肿瘤与毗邻血管系统的解剖关系进行多方位、多角度的观察<sup>[14-17]</sup>。

Sahani等<sup>[18]</sup>研究提示一半的肝癌患者存在肝动脉的解剖变异,而门静脉的异常走行会使肝癌的切除复杂化,如少数患者门静脉的右前支起源于门静脉的左支;或者较粗大的肝静脉引流第Ⅷ段肝血流至肝中静脉;一条或多条副肝静脉引流V、VI段直接汇入下腔静脉的情况亦不少见,所有这些静脉系统的变异如果术者在术前没有充分了解,手术均有可能导致严重的并发症。三维重建技术可清晰地显示肿瘤与肝内血管的毗邻关系,并且肿瘤的供血血管和引流肿瘤区域的肝静脉亦可清楚地显示,还可以观察肿瘤有无血管浸润和转移,用以指导手术治疗<sup>[19,20]</sup>。聂世琨等<sup>[21]</sup>研究发现64排螺旋CT三维成像可以很好的显示肿瘤的边界和累及范围,

### ■研发前沿

Kinoshita等在小儿外科中应用三维重建图像与有创血管造影术比较同样可清晰地显示异常及变异的血管分支,并且可提供高质量的肿瘤与血管的空间关系图像,但选择适当的造影剂量和增强作用的时限仍有待解决。

## ■相关报道

林志东等研究表明64排螺旋CT动脉血管三维重建与血管造影效果一致、可为肝癌患者介入术前了解肿瘤供血血管的走行和起源以及术中血管栓塞范围和部位作出确切的评估、介入治疗时亦可减少血管造影次数和对对比剂用量及医患辐射剂量。

特别能精确判断肿瘤与肝脏血管的关系,充分了解肝脏血管变异情况,重建结果对病变程度估计及指导外科治疗抉择有重要价值。

三维重建可为外科医生提供清晰的、直观的肝脏空间图像,在准确定位肿瘤的空间位置及精确制定手术计划上均优于二维图像<sup>[22,23]</sup>。Kamiyama等<sup>[24]</sup>研究表明三维重建能够清晰地显示肝动脉和门静脉的3级分支及其与肿瘤的空间关系,还可以了解血管受肿瘤侵犯或压迫的程度,并可将肝动脉、门静脉、肝静脉分别或一并与肿瘤成像在同一图像上。Endo等<sup>[25]</sup>应用三维重建技术评估门静脉和肝动脉受肝门部胆管癌侵犯的灵敏度、特异性、准确率分别为100%、80%、87%和75%、91%、87%,并可准确提供肝门部肿瘤与邻近门静脉和肝动脉及其分支的空间关系。Kinoshita等<sup>[26]</sup>在小儿外科中应用三维重建图像与有创血管造影术比较同样可清晰地显示异常及变异的血管分支,并且可提供高质量的肿瘤与血管的空间关系图像,但选择适当的造影剂量和增强作用的时限仍有待解决。

目前多数学者<sup>[20,27,28]</sup>将三维重建图像资料输入计算机特殊软件系统后可以在术前直观地模拟演示手术过程,通过虚拟手术可制定最佳的手术切线,有效地指导术中完整的切除肝肿瘤,避免术中过度切除肝实质细胞,本项研究表明虚拟肿瘤切除术与临床手术探查结果及过程可完全符合。何强等<sup>[29,30]</sup>研究认为手术时间和术中出血量与术后肝功能衰竭密切相关。多数学者<sup>[31-34]</sup>研究认为三维重建能够直观清晰地显示肝脏血管、胆道的正常结构和变异情况以及他们与肿瘤的空间毗邻关系,术前可精确了解肝脏手术区域错综复杂的解剖关系,为术中设计安全的手术路线提供依据,避免术中重要血管和胆道的损伤。因此我认为术前三维重建了解肿瘤与肝内血管的解剖关系,有着十分重要的临床意义。

## 4 三维重建技术在测量肝脏体积中的研究

目前多数学者已将肝脏体积的精确测量视为与Child-Pugh分级相同重要的肝储备功能指标<sup>[35-37]</sup>。研究发现<sup>[38,39]</sup>没有肝硬化的患者,余肝体积大于术前全肝体积的26%是安全的,反之余肝量小于25%术后发生肝衰竭的风险将明显增加。Rau等<sup>[40]</sup>回顾性研究570例肝切除患者的相关资料,结果显示肝切除体积率小于20%者术后仅3%发生肝衰竭,且均可治愈;而肝切除体积率大于70%者术后50%可发生不可治愈的肝衰竭。多数

学者认为<sup>[37,39,41]</sup>残余肝脏体积(RLV)和残肝分数(%RLV = 残肝体积/功能性肝体积)是术后发生肝衰竭的重要因素,而术后肝衰竭的预测%RLV比RLV更敏感,%RLV的临界值为26.6%。Shirabe等<sup>[42]</sup>发现标准残肝体积(standard remnant liver volume, SRLV = 残肝体积/患者体表面积)与术后肝功能障碍的发生密切相关,SRLV < 250 mL/m<sup>2</sup>者术后出现肝衰竭的机率为7/20,而>250 mL/m<sup>2</sup>者无肝衰竭发生。在我国,肝癌常合并肝硬化,陈熙等<sup>[43]</sup>研究认为肝硬化肝癌患者SRLV的临界值为416 mL/m<sup>2</sup>。我认为术后余肝体积决定于肝储备功能的状况,肝功能好时,手术切除肝脏较多也是相对安全的,反之则术后发生肝衰竭的风险增加。

三维重建法测量肝脏体积是利用三维重建软件将CT薄层扫描的断层肝脏影像进行三维重建后利用体素的原理从而计算出各个目标肝脏区域的体积<sup>[44-46]</sup>。且任选方法的三维后处理技术不仅能精确测量出全肝体积,还能准确测定出肝脏切除比例及剩余肝体积,提供一种能准确估计肝切除量的有效方法<sup>[47,48]</sup>。Schiano等<sup>[35]</sup>对大样本( $n = 579$ )肝脏移植患者的研究显示CT测量肝脏体积与术后测得实际肝脏体积的平均比值为1.03。近些年来国外学者<sup>[34,49,50]</sup>利用计算机三维重建技术能够较精确的计算肝脏体积,其平均误差范围小于30 mL。Yamanaka等<sup>[51]</sup>利用计算机三维重建软件系统术前计算切除肝脏体积与术后实际切除体积比较显示其相关系数 $R = 0.96$ ,平均误差9.3 mL。我认为多排螺旋CT三维重建可以准确测量肝脏体积和肿瘤体积,对于肿瘤较大需行半肝甚至更多肝段切除的病人,术前通过三维重建测量残肝体积,可有效的减少术后发生肝衰竭的风险。

## 5 结论

目前随着肝脏外科技术的不断发展,对术前影像学资料的评估提出了更高的要求,三维成像技术可为肝脏疾病的临床诊治提供更丰富更高质量的影像学信息,从而为评估手术的可实施性及完善手术计划提供重要依据,必将成为临床的一项常规技术,促进肝脏外科的进一步发展。

## 6 参考文献

- 1 董家鸿,郑树森,陈孝平,窦科峰,樊嘉,别平,耿小平,吕文平. 肝切除术术前肝储备功能评估的专家共识. 中华消化外科杂志 2011; 10: 20-25

- 2 王俊. EBCT三维重建技术的应用. 医疗设备信息仪器原理及使用 2003; 18: 25-29
- 3 路涛, 周翔平. 多层螺旋CT肝血管三维重建及临床应用. 中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 233-236
- 4 Shin HO, Falck TK, Galanski M. Low-contrast detectability in volume rendering: a phantom study on multidetector-row spiral CT data. *Eur Radiol* 2004; 14: 341-349
- 5 卓水清, 吕衍春, 吴沛宏, 刘立志, 陈林, 陈勇新, 王琰. 16排螺旋CT对肝动脉、门静脉血管三维成像的应用研究. 影像诊断与介入放射学 2006; 15: 178-181
- 6 Byun JH, Kim TK, Lee SS, Lee JK, Ha HK, Kim AY, Kim PN, Lee MG, Lee SG. Evaluation of the hepatic artery in potential donors for living donor liver transplantation by computed tomography angiography using multidetector-row computed tomography: comparison of volume rendering and maximum intensity projection techniques. *J Comput Assist Tomogr* 2003; 27: 125-131
- 7 王剑华, 周庭永, 吕发金, 张琳, 张本斯, 李琦, 陆云峰. 64层螺旋CT肝血管三维重建研究及其意义. 中国临床解剖学杂志 2008; 26: 291-194
- 8 杨新文, 王剑华, 周庭永, 吕发金, 洪永华. 64层螺旋CT三维重建活体肝静脉的研究及其临床意义. 中国临床解剖学杂志 2009; 27: 408-411
- 9 王剑华, 周庭永, 杨文新, 吕发金, 张本斯, 张琳, 杜赵康. 64层螺旋CT三维重建活体肝动脉的研究. 中国临床解剖学杂志 2009; 27: 690-693.
- 10 林志东, 文宪佩, 符孔, 王邦浩. 肝癌肝外血管多层螺旋CT三维重建的临床应用. 介入放射学杂志 2010; 19: 607-609
- 11 Savastano S, Teso S, Corrà S, Fantozzi O, Miotto D. Multislice CT angiography of the celiac and superior mesenteric arteries: comparison with arteriographic findings. *Radiol Med* 2002; 103: 456-463
- 12 Stemmler BJ, Paulson EK, Thornton FJ, Winters SR, Nelson RC, Clary BM. Dual-phase 3D MDCT angiography for evaluation of the liver before hepatic resection. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 1551-1557
- 13 Atasoy C, Akyar S. Multidetector CT: contributions in liver imaging. *Eur J Radiol* 2004; 52: 2-17
- 14 Schoepf UJ, Becker CR, Ohnesorge BM, Yucel EK. CT of coronary artery disease. *Radiology* 2004; 232: 18-37
- 15 Catalano C, Fraioli F, Laghi A, Napoli A, Bezzi M, Pediconi F, Danti M, Nofroni I, Passariello R. Infra-renal aortic and lower-extremity arterial disease: diagnostic performance of multi-detector row CT angiography. *Radiology* 2004; 231: 555-563
- 16 Segmentation and reconstruction of hepatic veins and intrahepatic portal vein based on the coronal sectional anatomic dataset. *Surg Radiol Anat* 2009 May 29. [Epub ahead of print]
- 17 Shin DS, Chung MS, Lee JW, Park JS, Chung J, Lee SB, Lee SH. Advanced surface reconstruction technique to build detailed surface models of the liver and neighboring structures from the Visible Korean Human. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 375-383
- 18 Sahani D, Saini S, Pena C, Nichols S, Prasad SR, Hahn PF, Halpern EF, Tanabe KK, Mueller PR. Using multidetector CT for preoperative vascular evaluation of liver neoplasms: technique and results. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 53-59
- 19 Ryu M, Cho A. [Usefulness of image-navigated surgery in liver surgery]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 2008; 109: 71-76
- 20 Fang CH, Lu CM, Huang YP, Li XF, Fan YF, Yang J, Xiang N, Pan JH. [Study on the application of value of digital medical technology in the operation on primary liver cancer]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2009; 47: 523-526
- 21 聂世琨, 方驰华, 杨剑, 范应方, 全显跃, 梁文, 项楠, 唐海亮. 64排螺旋CT诊断肝癌临床价值研究. 中华实用外科杂志 2007; 9: 720-722
- 22 Herfarth C, Lamadé W, Fischer L, Chiu P, Cardenas C, Thorn M, Vetter M, Grenacher L, Meinzer HP. The effect of virtual reality and training on liver operation planning. *Swiss Surg* 2002; 8: 67-73
- 23 Jurgaitis J, Paskonis M, Pivoriūnas J, Martinaityte I, Juska A, Jurgaitiene R, Samuilis A, Volf I, Schöbinger M, Schemmer P, Kraus TW, Strupas K. The comparison of 2-dimensional with 3-dimensional hepatic visualization in the clinical hepatic anatomy education. *Medicina (Kaunas)* 2008; 44: 428-438
- 24 Kamiyama T, Nakagawa T, Nakanishi K, Kamachi H, Onodera Y, Matsushita M, Todo S. Preoperative evaluation of hepatic vasculature by three-dimensional computed tomography in patients undergoing hepatectomy. *World J Surg* 2006; 30: 400-409
- 25 Endo I, Shimada H, Sugita M, Fujii Y, Morioka D, Takeda K, Sugae S, Tanaka K, Togo S, Bourquain H, Peitgen HO. Role of three-dimensional imaging in operative planning for hilar cholangiocarcinoma. *Surgery* 2007; 142: 666-675
- 26 Kinoshita Y, Souzaki R, Tajiri T, Ieiri S, Hashizume M, Taguchi T. A preoperative evaluation for neo-infantile liver tumors using a three-dimensional reconstruction of multidetector row CT. *Oncol Rep* 2009; 21: 881-886
- 27 Lin KC, Liu JF, Zeng JH, Chi MH, Zeng YY, Luo SF, Huang AM. [Study on virtual liver surgery planning applied to hepatic resection]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2010; 48: 185-188
- 28 Hansen C, Zidowitz S, Hindennach M, Schenk A, Hahn H, Peitgen HO. Interactive determination of robust safety margins for oncologic liver surgery. *Int J Comput Assist Radiol Surg* 2009; 4: 469-474
- 29 何强, 梁力建, 彭宝岗, 殷晓煜, 黄洁夫. 大肝癌手术切除的风险性分析. 中华普通外科杂志 2004; 19: 197-199.
- 30 何强, 彭宝岗, 梁力建. 肝癌合并肝硬化大块肝切除的手术风险. 中国现代医学杂志 2006; 16: 1-4
- 31 Uchida M, Ishibashi M, Sakoda J, Azuma S, Nagata S, Hayabuchi N. CT image fusion for 3D depiction of anatomic abnormalities of the hepatic hilum. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: W184-W191
- 32 Dong Q, Xu W, Jiang B, Lu Y, Hao X, Zhang H, Jiang Z, Lu H, Yang C, Cheng Y, Yang X, Hao D. Clinical applications of computerized tomography 3-D reconstruction imaging for diagnosis and surgery in children with large liver tumors or tumors at the hepatic hilum. *Pediatr Surg Int* 2007; 23: 1045-1050
- 33 Endo I, Shimada H, Takeda K, Fujii Y, Yoshida K, Morioka D, Sadatoshi S, Togo S, Bourquain H, Peitgen HO. Successful duct-to-duct biliary reconstruction after right hemihepatectomy. Operative planning using virtual 3D reconstructed images. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 666-670
- 34 Chen G, Li XC, Wu GQ, Wang Y, Fang B, Xiong XF, Yang RG, Tan LW, Zhang SX, Dong JH. The use of virtual reality for the functional simulation of hepatic tumors (case control study). *Int J Surg* 2010; 8: 72-78
- 35 Schiano TD, Bodian C, Schwartz ME, Glajchen N, Min AD. Accuracy and significance of computed tomographic scan assessment of hepatic volume in patients undergoing liver transplantation. *Trans-*

## 应用要点

三维成像技术可为肝脏疾病的临床诊治提供更丰富更高质量的影像学信息, 从而为评估手术的可实施性及完善手术计划提供重要依据, 必将成为临床的一项常规技术, 促进肝脏外科的进一步发展。



## ■同行评价

本综述内容基本反映该领域的最新进展,具有一定的科学价值。

- plantation 2000; 69: 545-550
- 36 Mullin EJ, Metcalfe MS, Maddern GJ. How much liver resection is too much? *Am J Surg* 2005; 190: 87-97
- 37 Wakabayashi H, Ishimura K, Izuishi K, Karasawa Y, Maeta H. Evaluation of liver function for hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the liver with damaged parenchyma. *J Surg Res* 2004; 116: 248-252
- 38 Vauthey JN, Chaoui A, Do KA, Bilimoria MM, Fenstermacher MJ, Charnsangavej C, Hicks M, Alsfasser G, Lauwers G, Hawkins IF, Caridi J. Standardized measurement of the future liver remnant prior to extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000; 127: 512-519
- 39 Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, Tuorto S, Blumgart LH, Fong Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 325-330
- 40 Rau HG, Schauer R, Helmberger T, Holzkecht N, von Rückmann B, Meyer L, Buttler E, Kessler M, Zahlmann G, Schuhmann D, Schildberg FW. Impact of virtual reality imaging on hepatic liver tumor resection: calculation of risk. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 162-170
- 41 Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005; 54: 289-296
- 42 Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, Sugimachi K. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *J Am Coll Surg* 1999; 188: 304-309
- 43 陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫. 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1829-1833
- 44 van den Broek MA, Olde Damink SW, Dejong CH, Lang H, Malagó M, Jalan R, Saner FH. Liver failure after partial hepatic resection: definition, pathophysiology, risk factors and treatment. *Liver Int* 2008; 28: 767-780
- 45 Garcea G, Ong SL, Maddern GJ. Predicting liver failure following major hepatectomy. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 798-806
- 46 Nakayama Y, Li Q, Katsuragawa S, Ikeda R, Hiai Y, Awai K, Kusunoki S, Yamashita Y, Okajima H, Inomata Y, Doi K. Automated hepatic volumetry for living related liver transplantation at multisection CT. *Radiology* 2006; 240: 743-748
- 47 Abdalla EK, Denys A, Chevalier P, Nemr RA, Vauthey JN. Total and segmental liver volume variations: implications for liver surgery. *Surgery* 2004; 135: 404-410
- 48 Wigmore SJ, Redhead DN, Yan XJ, Casey J, Madhavan K, Dejong CH, Currie EJ, Garden OJ. Virtual hepatic resection using three-dimensional reconstruction of helical computed tomography angioportograms. *Ann Surg* 2001; 233: 221-226
- 49 Saito S, Yamanaka J, Miura K, Nakao N, Nagao T, Sugimoto T, Hirano T, Kuroda N, Iimuro Y, Fujimoto J. A novel 3D hepatectomy simulation based on liver circulation: application to liver resection and transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1297-1304
- 50 Yamanaka J, Saito S, Iimuro Y, Hirano T, Okada T, Kuroda N, Sugimoto T, Fujimoto J. The impact of 3-D virtual hepatectomy simulation in living-donor liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 363-369
- 51 Yamanaka J, Saito S, Fujimoto J. Impact of preoperative planning using virtual segmental volumetry on liver resection for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 2007; 31: 1249-1255

编辑 李军亮 电编 闫晋利

# 维甲酸的免疫调节与炎症性肠病

方年富, 李弼民, 冷芳

方年富, 李弼民, 冷芳, 南昌大学第一附属医院消化科 江西省南昌市 330006

方年富, 景德镇市第二医院消化科 江西省景德镇市 333000

作者贡献分布: 本综述写作由方年富, 李弼民及冷芳完成.

通讯作者: 李弼民, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院消化科. lbmjx@163.com

电话: 0791-8692505

收稿日期: 2011-08-06 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Role of retinoic acid in immune regulation: implications in the treatment of inflammatory bowel disease

Nian-Fu Fang, Bi-Min Li, Fang Len

Nian-Fu Fang, Bi-Min Li, Fang Len, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Nian-Fu Fang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Jingdezhen City, Jingdezhen 333000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Professor Bi-Min Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lbmjx@163.com

Received: 2011-08-06 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

Retinoic acid, a derivative of vitamin A, can regulate cell proliferation, differentiation, maturation and plays important roles in the body's normal development and a variety of physiological activities. Retinoic acid is not only a differentiation inducer but also an immunomodulator. On one hand, retinoic acid can balance the Th1/Th2 ratio by reducing the secretion of INF- $\gamma$  and promoting the secretion of IL-4; on the other hand, it can regulate Th17/Treg balance by promoting the differentiation of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells. In this way, retinoic acid can regulate the body's disturbed immune system and help restore normal immune function. Thus, treatment with retinoic acid may affect the process of inflammatory bowel disease (IBD) and represent a new method for the therapy of IBD.

Key Words: Retinoic acid; Immune regulation; In-

flammatory bowel disease

Fang NF, Li BM, Len F. Role of retinoic acid in immune regulation: implications in the treatment of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2857-2862

## 摘要

维甲酸(retinoic acid, RA)是维生素A的衍生物, 可以调节细胞的增殖、分化、成熟, 是机体正常发育和各种生理活动必不可少的重要因子. RA是一种诱导分化剂, 但同时也是一种免疫调节剂. 一方面, 可降低Th1细胞INF- $\gamma$ 的分泌, 促进Th2细胞IL-4的分泌, 平衡Th1/Th2的比率; 另一方面, 促进CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的分化, 调控Th17/Treg之间的平衡, 发挥调节体内紊乱的免疫系统, 协助恢复正常的免疫功能. RA可能影响炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的进程, 成为治疗IBD的新方法.

关键词: 维甲酸; 免疫调节; 炎症性肠病

方年富, 李弼民, 冷芳. 维甲酸的免疫调节与炎症性肠病. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2857-2862

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2857.asp>

## 0 引言

由维生素A衍生而来的化合物总称为维甲酸(retinoic acid, RA)类化合物, 包括各种天然与人工合成的衍生物. 目前RA类化合物已成为诱导分化剂中最为重要并用于临床治疗的一类药物, 包括全反式RA(all-trans-retinoic acid, ATRA)、13-顺RA(13-cisRA)和9-顺RA(9-cisRA)及多种顺反异构体等. 在调控多种细胞的形态发生、增殖分化及凋亡代谢等方面具有广泛的生物学活性<sup>[1,2]</sup>. 一方面, 可降低Th1细胞INF- $\gamma$ 的分泌, 促进Th2细胞IL-4的分泌, 平衡Th1/Th2的比率; 另一方面, 促进CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的分化, 调控Th17/Treg之间的平衡, 发挥调节体内紊乱的免疫系统, 协助恢复正常的免疫功能. 目前RA与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的关系研究较少, 本文就RA的免疫调节与IBD的关

## ■背景资料

炎症性肠病(IBD)在病因、发病机制尚不十分清楚, 可能与感染、免疫异常、遗传及精神等多种因素有关. 目前的研究称, 免疫学因素在其发病过程中起至关重要的作用, 免疫调节紊乱是发病的关键因素.

## ■同行评议者

陈治水, 主任医师, 解放军第二一医院中医科

## ■研发前沿

维甲酸(RA)是维生素A的衍生物,可以调节细胞的增殖、分化、成熟,是机体正常发育和各种生理活动必不可少的重要因子。维甲酸是一种诱导分化剂,但同时也是一种免疫调节剂。一方面,可降低Th1细胞INF- $\gamma$ 的分泌,促进Th2细胞IL-4的分泌,平衡Th1/Th2的比率;另一方面,促进CD4+CD25+ Treg细胞的分化,调控Th17/Treg之间的平衡,发挥调节体内紊乱的免疫系统,协助恢复正常的免疫功能。维甲酸可能影响IBD的进程,成为治疗IBD的新方法。

系作一综述。

## 1 RA及受体概况

1.1 RA及衍生物 RA, 又称视黄酸或维生素A酸, 是维生素A代谢及化学合成衍生物, 维生素A(视黄醇)进入人体后, CH<sub>2</sub>OH被羧基取代则形成RA。RA由环乙烯、侧链及极性基团3部分组成, 按化学结构排序的不同衍生出多种同分异构体。目前RA类物质可以分为3类: (1)包含天然维生素A前体、维生素A以及RA前体, 这类物质不能与RA核受体结合, 但有转化为RA的潜力; (2)包括天然RA, 如ATRA、13-cisRA、9-cisRA等; (3)包括人工合成的RA, 这类可以结合一个或多个RAR和(或)RXR的异构体, 发挥激动剂或拮抗剂的作用。另有合成的维胺酸、第二代的阿维A脂以及第三代的芳香类RA类等, 其中ATRA构型最为稳定。RA在体内和体外实验表明, 其具有调节上皮细胞生长和分化的作用。在体内, 主要通过RA结合蛋白(cellular retinoic acid binding protein, CRABP)及核内RA受体的活化来调节细胞内RA分布、代谢及发挥其生物活性。

1.2 RA受体 RA发挥其广泛而复杂的生物学效应是通过其受体来实现的。RA受体是一配体活性转录因子, 包括可以结合ATRA、9-cisRA的RA受体(retinoid acid receptor RARs)和只能结合9-cisRA的维甲类X受体(retinoid x receptor RXRs)<sup>[3]</sup>。RAR和RXR属于类固醇和甲状腺激素受体超家族成员, 是一类核受体。RARs和RXRs分别有三种亚型 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 共6种受体蛋白。每个家族又可以根据氨基酸的排列不同分为I型及II型, 如RAR $\alpha$ 1和RAR $\alpha$ 2。

1.3 RA的作用机制 RAR和RXR组成异二聚体后, 首先RAR和RA结合, 二聚体发生构型转变, 消除空间位阻后, 然后RXRs才能和配体结合。当异二聚体中两受体都和配体结合时, 可以协同结合到靶基因调控区的RA应答元(retinoic acid response element, RARE)上, 选择性的激活和抑制转录, 从而调节细胞的增值和分化, 发挥包括抗肿瘤在内的一系列生物学效应<sup>[4,5]</sup>。

此外, RXR在其配体如9-cisRA的存在下, 还可以形成同源二聚体(RXR/RXR)而结合到DNA序列上, 由此介导维生素A不同的应答途径。RXR不仅与RAR形成异二聚体, 还与维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)、甲状腺素受体(TR)、过氧化物增值激活受体(PPAR $\gamma$ )、癌基因蛋白(V-erbA等)、孤儿受体等其他核受体形成

异二聚体, 激活相应的信号传导。RAR与其他核受体竞争同RXR形成异二聚体, 竞争力取决于各自的表达水平及与RXR的亲合力<sup>[6]</sup>。

RA信号的功能最终是通过基因转录调控来实现的, 如生长因子、细胞因子及其受体、激素、转录因子、激酶及磷酸酶、细胞内酶和效应因子等, 都受RA的调节<sup>[7]</sup>。许多基因已经被确定为RA直接作用的靶基因, 在他们的启动子中一般包含有RA反应元件RARE, 还有许多的基因受到RA间接的影响, 这些基因组成了RA多样效应的分子基础。

## 2 RA的免疫调节作用

RA对免疫细胞的调节作用十分复杂, 作用与RA的类型、剂量及靶细胞的微环境有十分密切的关系。他可从细胞核内RA受体、细胞增殖周期、免疫细胞表面的功能分子的表达、细胞因子的分泌等多个层次调节各类免疫细胞。

2.1 NK细胞 对人类NK92细胞系的研究表明<sup>[8]</sup>, ATRA不影响NK细胞增殖, 但呈剂量依赖性抑制其杀伤活性, 途径之一是通过抑制NKp46基因的表达, 使NK细胞表面NKp46(一种NK细胞毒受体)表达下降。ATRA还可阻断I $\kappa$ B $\alpha$ 降解, 抑制NF- $\kappa$ B信号传导通路, 进而减少IFN- $\gamma$ 和颗粒酶B的分泌, 通过上述两条途径ATRA抑制NK细胞的细胞毒作用。

2.2 树突状细胞 成熟的树突状细胞是诱导初次免疫反应的关键, RA对树突状细胞的成熟呈现两种不同的作用。在无炎症信号分子存在他通过RAR/RXR形成的异二聚体呈剂量依赖性地介导并促进未成熟者凋亡; 而存在TNF- $\alpha$ 时, 他通过诱导NF- $\kappa$ B结合相应的DNA反应元件, 促进未成熟者发育成熟参与抗原提呈<sup>[9]</sup>。脐血单核细胞为研究对象发现ATRA抑制其分化成树突细胞, 同时, 促进IL-10、IL-4分泌, 抑制IL-12和IFN- $\gamma$ 分泌, 从而诱导Th2型反应。Ro41-5253(RAR $\alpha$ 拮抗剂)可逆转ATRA的这种作用, 提示ATRA通过RAR $\alpha$ 发挥上述作用<sup>[10]</sup>。Feng等<sup>[11]</sup>研究显示C57BL/6小鼠的骨髓细胞在RA作用下分化成树突状细胞, 并通过抑制细胞因子信号传导抑制因子3的表达及增强STAT3的活性来生成具有生物活性TGF- $\beta$ 。

2.3 T细胞 RA是人类胸腺来源T细胞的协同刺激子, 可以从多方面影响T淋巴细胞活性, 如免疫细胞的增殖、活化信号的传导、凋亡基因和蛋白的产生、细胞因子的分泌, 有些作用甚至是

双向。

**2.3.1 RA对T淋巴细胞增殖的影响:** Ertesvag等<sup>[12]</sup>研究发现, ATRA在 $10^{-10}$  mol/L就可以刺激正常人外周血T淋巴细胞的增殖, 呈时间-剂量依赖性, 他通过RAR $\alpha$ 参与的途径增强IL-2分泌, 促进pRB磷酸化过程, 提高细胞周期蛋白D3、E、A和降低P27<sup>kip1</sup>的表达而增加细胞周期依赖性激酶CDK2的活性, 细胞发生增殖。Engedal等<sup>[13]</sup>进一步研究中发现ATRA通过增强与RAR $\alpha$ 结合依赖于IL-2诱导的Janus激酶(JAK)的活性来促进细胞周期蛋白D3的表达, 但他不影响转录激活因子Stat3和Stat5磷酸化, 机制可能是激活RAR/RXR异二聚体, 从头合成新的蛋白质, 干扰IL-2信号通路或与IL-2促进细胞周期蛋白D3的表达, 其效应发挥在Stat信号通路下游区或非JAK-Stat信号通路。Ludanyi等<sup>[14]</sup>的研究表明, 9-cisRA( $10^{-9}$ - $10^{-5}$  mol/L)抑制正常人外周血T淋巴细胞的增殖, 呈剂量依赖性, 与连接RAR $\gamma$ 受体, 下调JAK3蛋白表达有关。JAK蛋白为一种蛋白酪氨酸激酶, 高活性的蛋白酪氨酸激酶与某些增生性疾病, 如银屑病、肿瘤和白血病有关。RAR $\alpha$ 和RAR $\gamma$ 两种受体在调节人外周血T细胞增殖方面起着相反的作用, RAR $\alpha$ 激动剂促进增殖, RAR $\gamma$ 激动剂抑制增殖。各种RA对T细胞增殖的效应取决于与不同受体亲和力的相对强度, 如弱亲和RAR $\alpha$ 、强亲和RAR $\gamma$ 的CD437具有强烈的抑制增殖作用; 9-cisRA对RAR $\gamma$ 的亲和力比RAR $\alpha$ 强, 他通过抑制IL-2诱导的JAK3分子的上调及Stat5的磷酸化发挥抑制增殖的效应。值得提出的是浓度增加到毫摩尔范围时, RAR $\alpha$ 激动剂亦可激活RAR $\gamma$ , 表现出抑制增殖的效应。

**2.3.2 RA对T淋巴细胞凋亡的影响:** CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞通过T细胞受体介导的Fas/FasL途径诱导细胞凋亡, 与上调细胞核孤儿受体(orphan nuclear receptor)转录因子7的表达有关。Tóth等<sup>[15]</sup>用不同的RA衍生物处理Jurkat细胞株(来源于人T淋巴细胞白血病)和IP-12-7细胞株(来源于大鼠的CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞杂交瘤), RAR $\alpha$ 受体激动剂抑制细胞凋亡, 而RAR $\gamma$ 受体激动剂促进细胞凋亡。RA的这两种受体对T淋巴细胞的凋亡起相反的作用, 当两种受体都激动时, RXR受体的协同刺激作用将促进RAR $\alpha$ 抑制细胞凋亡的效应, 这些受体都与细胞核孤儿受体转录因子7的转录活性有关, 从而诱导或抑制细胞表达FasL。Tóth等<sup>[16]</sup>研究指出RAR $\gamma$ 的选择性连接能诱导活化的T细胞表达nur77(一种孤儿受体)及Fas配体, 诱导其

自发凋亡, 而RAR $\alpha$ 的效应与之相反。Rasooly等<sup>[17]</sup>用RXR受体激动剂(9-cisRA、AGN194204)处理DO11.10小鼠的幼稚T淋巴细胞, 发现小鼠初始T细胞内抗凋亡基因bcl-2a1的表达增加, 从而抑制初始T细胞凋亡。ATRA、9-cisRA通过RAR介导增强IL-2分泌, 抑制缺乏协同刺激信号的T细胞的自发凋亡行为<sup>[18]</sup>。

**2.3.3 RA对Treg细胞的影响:** 来源于胸腺的天然CD 4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg细胞, 在维持机体自身外周免疫耐受和免疫应答稳态方面具有重要的作用, 约占人外周血细胞CD4<sup>+</sup> T细胞的5%-10%, 主要通过直接的细胞接触方式和间接的分泌TGF- $\beta$ 1、IL-10细胞因子途径发挥抑制效应T细胞的功能。但发挥上述免疫抑制功能的主要为其中的持续高表达CD25的CD4<sup>+</sup>细胞, 约占人外周血CD4<sup>+</sup> T细胞的1%-2%<sup>[19]</sup>。Treg细胞是T细胞中重要的一群, 效应T细胞对免疫反应的启动和Treg细胞对免疫反应的下调之间一旦失衡, 可导致慢性炎症或自身免疫疾病。ATRA可能通过刺激TGF- $\beta$ 1的产生, 间接地诱导原始T细胞向Treg细胞分化<sup>[20]</sup>, 并通过减弱共刺激信号的抑制作用增强调节性T细胞表面Foxp3<sup>+</sup>表达及其向肠道淋巴组织归巢的能力<sup>[21]</sup>。

**2.3.4 RA对Th1/Th2极化的影响:** CD4<sup>+</sup> T细胞根据细胞因子的分泌模式可分为Th1和Th2亚群, 他们来自一个共同的前体细胞Th0, 分别介导细胞免疫与体液免疫。正常机体状态下Th1/Th2保持生理性平衡, 维持机体内在免疫系统的稳定。Th1细胞所分泌的细胞因子主要为IL-2、IFN- $\gamma$ ; Th2细胞所分泌的细胞因子主要为IL-4。Th1/Th2所分泌的细胞因子相互抑制而保持生理性平衡。ATRA可降低Th1细胞INF- $\gamma$ 的分泌, 促进Th2细胞IL-4的分泌<sup>[20,22,23]</sup>。

Iwata等<sup>[24]</sup>研究证实, ATRA和9-cisRA在 $10^{-9}$  mol/L浓度就可以抑制Th1类细胞, 且呈时间依赖性, 这种作用主要由RAR介导。Dawson等<sup>[20]</sup>利用固定抗CD3抗体标记的外周血单个核细胞进行培养, 培养液加入不同浓度的ATRA和9-cisRA, 结果发现, IL-4, IL-5及IL-13 mRNA表达能力提高, 蛋白合成增加; IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12和TNF $\alpha$ 水平减低, 所有效应呈剂量依赖性变化。实时PCR分析表明, ATRA刺激后的细胞表达Th1相关基因T-bet下降, 而Th2相关基因如GATA-3、c-MAF和STAT6 mRNA表达呈时间依赖性升高。而Stephensen等<sup>[25]</sup>研究认为, 9-cisRA和AGN194204(RXR选择性激动剂)通过RXR

#### ■相关报道

Klopčič等研究证实RA可以减轻TNBS小鼠的结肠炎症反应及纤维化, 可能是通过分泌富含半胱氨酸的酸性蛋白来调节细胞外基质。还有实验对RA和RAR $\alpha$ 在人类和小鼠结肠炎免疫应答中的作用机制进行了研究, 结果表明RA可以诱导FOXP3表达, 下调IL-17表达, 通过调控Th17/Treg来维持体内免疫稳态的平衡。

### ■创新盘点

Th17/Treg平衡转化紊乱是IBD发病的主要因素,而RA具有调控Th17/Treg之间平衡作用,因此推测可用于IBD的治疗。此观点乃是本文的重要创新点。

介导明显增加Th2类细胞,并且Th2类细胞因子IL-4, TL-5蛋白和mRNA的表达大量增加,而RAR受体激动剂无这种作用。因此, RAR激动剂是治疗Th1型自体免疫性疾病中的有效药物<sup>[26]</sup>,而RXR拮抗剂则可用于治疗特应性皮炎和过敏性哮喘等Th2类疾病<sup>[27]</sup>。

**2.4 B细胞** B细胞是体液免疫中的主要细胞,接受抗原提呈细胞提呈的抗原后,增殖活化为浆细胞,分泌抗体实现体液免疫应答。生理水平的ATRA可阻断pRB磷酸化,上调周期蛋白激酶抑制子p21<sup>cipl</sup>表达,抑制细胞周期蛋白E表达,使细胞周期蛋白依赖性激酶2活性下降,抑制G期向S期的转变,从而抑制外周血B细胞及B细胞前体的增殖<sup>[15,28,29]</sup>。除了影响增殖外, 9-cisRA、ATRA可能通过RARs抑制记忆B细胞发生凋亡<sup>[18]</sup>。ATRA是调节免疫球蛋白类别转换的重要因子,使B细胞发育为特定的浆细胞<sup>[28]</sup>。Chen等<sup>[30]</sup>用ATRT治疗C57BL/6小鼠,其脾脏和骨髓中CD19+细胞系显著的升高,然而淋巴前体细胞总数是减少的,从而提出ATRA在抑制祖细胞扩增的同时,通过RARa介导加速了他们进一步分化为B系淋巴细胞。除此之外, Chen等<sup>[31]</sup>提出, RA通过提高细胞表面sIgG1和CD138的表达加速B细胞的成熟,从而提高机体的体液免疫功能。

### 3 RA与IBD

目前, IBD在病因、发病机制尚不十分清楚,可能与感染、免疫异常、遗传及精神等多种因素有关<sup>[32]</sup>。目前的研究称<sup>[33]</sup>,免疫学因素在其发病过程中起至关重要的作用,免疫调节紊乱是发病的关键因素。

传统观念认为, UC患者肠道黏膜炎症主要是由IL-4和IL-13促进分化的Th2细胞占优势<sup>[34]</sup>;而CD患者主要是IL-12促进分化的Th1细胞占优势<sup>[35]</sup>。Th17细胞、Treg细胞及Th17/Treg失衡的发现拓宽了对IBD形成机制的认识,有助于解释Th1/Th2轴中异常现象发生的原因。

一项研究<sup>[36]</sup>发现活动性CD患者中IL-17细胞数是正常对照组的20倍,是非活动性CD患者的4倍。而活动性UC患者中IL-17/IL-17A的平均浓度明显高于疾病缓解的UC患者<sup>[37]</sup>,提示Th17细胞参与了IBD的发病<sup>[38]</sup>。Maul等<sup>[12]</sup>采用流式细胞术和实时定量PCR分析cD4+CD25+ Treg、Foxp3表达水平,结果表明IBD患者外周血中CD4+CD25+ Treg保持了他们的抑制活性,疾病活动期CD4+CD25+和Foxp3下降,但疾病缓解期

和对照组比率上升;另有研究认为Treg细胞依赖IL-10、TGF- $\beta$ 抑制先天或获得性免疫诱导的肠黏膜炎症反应, CD4+CD25+ Treg细胞数量的减少或功能异常可能是导致IBD发病的主要因素<sup>[39,40]</sup>。

Th17和Treg是CD4+ T细胞的亚型,二者存在相互转化关系。TGF- $\beta$ 诱导幼稚T细胞转化为Treg抑制自身免疫。在IL-6存在的情况下, TGF- $\beta$ 则促进幼稚T淋巴细胞分化为Th17细胞<sup>[41]</sup>,分泌前炎症因子IL-17,促进自身免疫和炎症的发生。虽然Treg可有效的修复IBD患者黏膜炎症,但是在炎症部位出现IL-6和/或IL-23时, Treg则分化为致病性Th17<sup>[42]</sup>。因此, Th17/Treg平衡转化关系的变化在IBD形成过程中起重要作用。

调控Th17/Treg之间的平衡,可能成为治疗IBD的新方法。ATRA可调控前炎症和抗炎免疫。研究表明,只有在TGF- $\beta$ 和RA存在的条件下,肠系膜淋巴结树突状细胞CD103+才可以诱导FOXP3+ Tregs<sup>[43,44]</sup>。还有实验<sup>[45]</sup>对RA和RAR $\alpha$ 在人类和小鼠结肠炎免疫应答中的作用机制进行了研究,结果表明RA可以诱导FOXP3表达,下调IL-17表达。一些学者提出RA可以通过调控Th17/Treg来维持体内免疫稳态的平衡<sup>[46]</sup>。因此, RA可能通过对Th17/Treg的调控,继而影响IBD的进程。

### 4 结论

结直肠等组织中含有较多的RARs,而RARa在胃肠道中最丰富。正常结直肠组织细胞核内RAR含量平均2.64 fmol/ $\mu$ g DNA, KD值为2.11 nmol/L;而在结直肠锯齿状腺瘤<sup>[47]</sup>及结直肠癌<sup>[48]</sup>组织RAR含量明显减少。在IBD中RARa含量减少<sup>[45]</sup>,而其他亚型的含量的变化不甚明确。RA在IBD治疗作用研究较少, Klopick等<sup>[49]</sup>研究证实RA可以减轻TNBS小鼠的结肠炎症反应及纤维化,可能是通过分泌富含半胱氨酸的酸性蛋白来调节细胞外基质。当然, RA在IBD中治疗机制及价值仍需进一步研究。

### 5 参考文献

- 1 Pino-Lagos K, Guo Y, Noelle RJ. Retinoic acid: a key player in immunity. *Biofactors* 2010; 36: 430-436
- 2 Poon MM, Chen L. Retinoic acid-gated sequence-specific translational control by RAR $\alpha$ . *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 20303-20308
- 3 Osanai M, Nishikiori N, Murata M, Chiba H, Kojima T, Sawada N. Cellular retinoic acid bioavailability determines epithelial integrity: Role of retinoic acid receptor  $\alpha$  agonists in colitis. *Mol Pharmacol* 2007; 71: 250-258



- 4 Parisotto M, Brodeur H, Bhat PV, Mader S. [Retinoid metabolism and cancer]. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 1101-1106
- 5 Chang Q, Chen Z, You J, McNutt MA, Zhang T, Han Z, Zhang X, Gong E, Gu J. All-trans-retinoic acid induces cell growth arrest in a human medulloblastoma cell line. *J Neurooncol* 2007; 84: 263-267
- 6 Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996; 10: 940-954
- 7 Evans TR, Kaye SB. Retinoids: present role and future potential. *Br J Cancer* 1999; 80: 1-8
- 8 Li A, He M, Wang H, Qiao B, Chen P, Gu H, Zhang M, He S. All-trans retinoic acid negatively regulates cytotoxic activities of nature killer cell line 92. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352: 42-47
- 9 Geissmann F, Revy P, Brousse N, Lepelletier Y, Folli C, Durandy A, Chambon P, Dy M. Retinoids regulate survival and antigen presentation by immature dendritic cells. *J Exp Med* 2003; 198: 623-634
- 10 Tao Y, Yang Y, Wang W. Effect of all-trans-retinoic acid on the differentiation, maturation and functions of dendritic cells derived from cord blood monocytes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 47: 444-450
- 11 Feng T, Cong Y, Qin H, Benveniste EN, Elson CO. Generation of mucosal dendritic cells from bone marrow reveals a critical role of retinoic acid. *J Immunol* 2010; 185: 5915-5925
- 12 Ertesvag A, Engedal N, Naderi S, Blomhoff HK. Retinoic acid stimulates the cell cycle machinery in normal T cells: involvement of retinoic acid receptor-mediated IL-2 secretion. *J Immunol* 2002; 169: 5555-5563
- 13 Engedal N, Gjevik T, Blomhoff R, Blomhoff HK. All-trans retinoic acid stimulates IL-2-mediated proliferation of human T lymphocytes: early induction of cyclin D3. *J Immunol* 2006; 177: 2851-2861
- 14 Ludányi K, Nagy ZS, Alexa M, Reichert U, Michel S, Fésüs L, Szondy Z. Ligation of RARgamma inhibits proliferation of phytohaemagglutinin-stimulated T-cells via down-regulating JAK3 protein levels. *Immunol Lett* 2005; 98: 103-113
- 15 Tóth R, Szegezdi E, Reichert U, Bernardon JM, Michel S, Ancian P, Kis-Tóth K, Macsári Z, Fésüs L, Szondy Z. Activation-induced apoptosis and cell surface expression of Fas (CD95) ligand are reciprocally regulated by retinoic acid receptor alpha and gamma and involve nur77 in T cells. *Eur J Immunol* 2001; 31: 1382-1391
- 16 Tóth B, Ludányi K, Kiss I, Reichert U, Michel S, Fésüs L, Szondy Z. Retinoids induce Fas(CD95) ligand cell surface expression via RARgamma and nur77 in T cells. *Eur J Immunol* 2004; 34: 827-836
- 17 Rasooly R, Schuster GU, Gregg JP, Xiao JH, Chandraratna RA, Stephensen CB. Retinoid x receptor agonists increase bcl2a1 expression and decrease apoptosis of naive T lymphocytes. *J Immunol* 2005; 175: 7916-7929
- 18 Blomhoff HK. Vitamin A regulates proliferation and apoptosis of human T- and B-cells. *Biochem Soc Trans* 2004; 32: 982-984
- 19 Wing K, Larsson P, Sandström K, Lundin SB, Suri-Payer E, Rudin A. CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cells from human thymus and cord blood suppress antigen-specific T cell responses. *Immunology* 2005; 115: 516-525
- 20 Dawson HD, Collins G, Pyle R, Key M, Weeraratna A, Deep-Dixit V, Nadal CN, Taub DD. Direct and indirect effects of retinoic acid on human Th2 cytokine and chemokine expression by human T lymphocytes. *BMC Immunol* 2006; 7: 27
- 21 Benson MJ, Pino-Lagos K, Roseblatt M, Noelle RJ. All-trans retinoic acid mediates enhanced T reg cell growth, differentiation, and gut homing in the face of high levels of co-stimulation. *J Exp Med* 2007; 204: 1765-1774
- 22 Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, Cheroutre H. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science* 2007; 317: 256-260
- 23 Nozaki Y, Tamaki C, Yamagata T, Sugiyama M, Ikoma S, Kinoshita K, Funauchi M. All-trans-retinoic acid suppresses interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha; a possible therapeutic agent for rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2006; 26: 810-817
- 24 Iwata M, Eshima Y, Kagechika H. Retinoic acids exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development via retinoic acid receptors. *Int Immunol* 2003; 15: 1017-1025
- 25 Stephensen CB, Rasooly R, Jiang X, Ceddia MA, Weaver CT, Chandraratna RA, Bucy RP. Vitamin A enhances in vitro Th2 development via retinoid X receptor pathway. *J Immunol* 2002; 168: 4495-4503
- 26 Fukasawa H, Kagechika H, Shudo K. [Retinoid therapy for autoimmune diseases]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2006; 29: 114-126
- 27 Grenningloh R, Gho A, di Lucia P, Klaus M, Bollag W, Ho IC, Sinigaglia F, Panina-Bordignon P. Cutting Edge: Inhibition of the retinoid X receptor (RXR) blocks T helper 2 differentiation and prevents allergic lung inflammation. *J Immunol* 2006; 176: 5161-5166
- 28 Chen Q, Ross AC. Vitamin A and immune function: retinoic acid modulates population dynamics in antigen receptor and CD38-stimulated splenic B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 14142-14149
- 29 Kupumbati TS, Cattoretti G, Marzan C, Farias EF, Taneja R, Mira-y-Lopez R. Dominant negative retinoic acid receptor initiates tumor formation in mice. *Mol Cancer* 2006; 5: 12
- 30 Chen X, Esplin BL, Garrett KP, Welner RS, Webb CF, Kincade PW. Retinoids accelerate B lineage lymphoid differentiation. *J Immunol* 2008; 180: 138-145
- 31 Chen Q, Ross AC. Retinoic acid promotes mouse splenic B cell surface IgG expression and maturation stimulated by CD40 and IL-4. *Cell Immunol* 2007; 249: 37-45
- 32 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434
- 33 Rakoff-Nahoum S, Bousvaros A. Innate and adaptive immune connections in inflammatory bowel diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 572-577
- 34 Isolauri E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 1142S-1146S
- 35 Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357
- 36 Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, Kitazume MT, Nakazawa A, Sugita A, Koganei K, Isobe K, Hibi T. IL23 differen-

# ■同行评价

本文对于开发IBD的治疗新途径或新药有重要参考价值。

- tially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 2008; 57: 1682-1689
- 37 Ajduković J, Tonkić A, Salamunić I, Hozo I, Simunić M, Bonacin D. Interleukins IL-33 and IL-17/IL-17A in patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 1442-1444
- 38 Liu ZJ, Yadav PK, Su JL, Wang JS, Fei K. Potential role of Th17 cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5784-5788
- 39 Powrie F. Immune regulation in the intestine: a balancing act between effector and regulatory T cell responses. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 132-141
- 40 Takahashi M, Nakamura K, Honda K, Kitamura Y, Mizutani T, Araki Y, Kabemura T, Chijiwa Y, Harada N, Nawata H. An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 677-686
- 41 Hovhannisyan Z, Treatman J, Littman DR, Mayer L. Characterization of interleukin-17-producing regulatory T cells in inflamed intestinal mucosa from patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 957-965
- 42 Kitani A, Xu L. Regulatory T cells and the induction of IL-17. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S43-S46
- 43 Sun CM, Hall JA, Blank RB, Bouladoux N, Oukka M, Mora JR, Belkaid Y. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J Exp Med* 2007; 204: 1775-1785
- 44 Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Carcamo CV, Hall J, Sun CM, Belkaid Y, Powrie F. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med* 2007; 204: 1757-1764
- 45 Bai A, Lu N, Guo Y, Liu Z, Chen J, Peng Z. All-trans retinoic acid down-regulates inflammatory responses by shifting the Treg/Th17 profile in human ulcerative and murine colitis. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 959-969
- 46 Shale M, Ghosh S. Beyond TNF, Th1 and Th2 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2008; 57: 1349-1351
- 47 Kim K, Park U, Wang J, Lee J, Park S, Kim S, Choi D, Kim C, Park J. Gene profiling of colonic serrated adenomas by using oligonucleotide microarray. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 569-580
- 48 樊卫, 卫洪波, 韩晓燕. 肠癌组织RA受体的测定和RA对其表达的影响. 现代临床医学生物工程杂志 2001; 7: 92-93
- 49 Klopčič B, Appelbee A, Raye W, Lloyd F, Jooste JC, Forrest CH, Lawrance IC. Indomethacin and retinoic acid modify mouse intestinal inflammation and fibrosis: a role for SPARC. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1553-1563

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology (WJG)* 被 Science Citation Index Expanded (SCIE) 和 MEDLINE 等国际重要检索系统收录, 在国际上享有较高声誉和影响力. *WJG* 在 PubMed Central (PMC) 统计, 单月独立 IP 地址访问 58 257 次, 全文网络版 (HTML Full Text) 下载 94 888 次, 全文 PDF 下载 59 694 次. 另外根据基本科学指标库 (essential science indicators) 统计, 2000-01-01/2010-12-31, SCIE 检索的临床医学 (clinical medicine) 期刊有 1 105 种, 总被引频次排名, *WJG* 位于第 174 名. (2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

# 模拟失重对大鼠实验性胃溃疡愈合的影响

张雯, 李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 杨春敏

张雯, 杨春敏, 安徽医科大学中国人民解放军空军总医院临床学院 北京市 100142

李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 中国人民解放军空军总医院东楼消化科 北京市 100142

中国人民解放军全军十一五科技攻关基金资助项目, No. 08G045

作者贡献分布: 张雯与杨春敏对此文所作贡献均等; 此课题由杨春敏与张雯设计; 研究过程由张雯操作完成; 研究所用新试剂及工具由李静、韩全利及陈英提供; 数据分析由张雯、唐合兰及杜斌完成; 本论文写作由张雯完成。

通讯作者: 杨春敏, 主任医师, 100142, 北京市, 安徽医科大学中国人民解放军空军总医院临床学院. chunmyang@sina.com

电话: 010-66928142

收稿日期: 2011-07-22 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-22 在线出版日期: 2011-09-28

## Effect of simulated weightlessness on the healing of experimental gastric ulcer in rats

Wen Zhang, Jing Li, Quan-Li Han, Ying Chen, He-Lan Tang, Bin Du, Chun-Min Yang

Wen Zhang, Chun-min Yang, Anhui Medical University Affiliated General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Jing Li, Quan-Li Han, Ying Chen, He-Lan Tang, Bin Du, Department of Gastroenterology, East Building, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China

Supported by: the Eleventh Five-military Scientific and Technological Projects, No. 08G045

Correspondence to: Professor Chun-Min Yang, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China. chunmyang@sina.com

Received: 2011-07-22 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-22 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of simulated weightlessness on the healing of acetic acid-induced experimental gastric ulcer in rats and to explore the potential mechanisms involved.

**METHODS:** Thirty-two SD rats were randomly and equally divided into four groups: 7 d tail suspension group, 7 d control group, 14 d tail suspension, and 14 d control group. Gastric ulcer was induced in rats with acetic acid. Tail suspension was used to simulate the weightlessness condition 3 days after ulcer induction. The gastric ulcer area was measured with a vernier

caliper. The ultrastructure of regenerative mucosa was observed by electronic microscopy. Epidermal growth factor (EGF) level in gastric juice was determined by radioimmunoassay (RIA). The staging of ulcer healing was performed.

**RESULTS:** Compared to the 7 d control group, the ulcer area significantly increased ( $6.0 \text{ mm}^2 \pm 1.7 \text{ mm}^2$  vs  $2.2 \text{ mm}^2 \pm 0.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 5.661$ ,  $P < 0.01$ ) and the stage of ulcer significantly decreased ( $\chi^2 = 12.771$ ,  $P < 0.01$ ) in the 7d suspension group. Compared to the 14 d control group, the ulcer area and EGF level increased ( $3.0 \text{ mm}^2 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $1.1 \text{ mm}^2 \pm 0.4 \text{ mm}^2$ ,  $t = 4.233$ ,  $P < 0.01$ ;  $0.155 \text{ ng/mL} \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.103 \text{ ng/mL} \pm 0.019 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 2.635$ ,  $P < 0.05$ ) in the 14 d suspension group. Compared to the 7 d suspension group, the ulcer area, EGF level and stage of ulcer significantly decreased ( $3.0 \text{ mm}^2 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $6.0 \text{ mm}^2 \pm 1.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 3.805$ ,  $P < 0.01$ ;  $0.155 \text{ ng/mL} \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.434 \text{ ng/mL} \pm 0.137 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 5.657$ ,  $P < 0.01$ ;  $\chi^2 = 12.953$ ,  $P < 0.01$ ) in the 14 d suspension group. The ultrastructural restoration and histological maturity of healed ulcer in the 7 d and 14 d suspension groups were inferior to those in the 7 d and 14 d control groups.

**CONCLUSION:** Simulated weightlessness may depress the structure of regenerative gastric mucosa, delay the healing of ulcer, and increase EGF level in gastric juice.

**Key Words:** Simulated weightlessness; Experimental gastric ulcer; Tail suspension; Ultrastructure; Epidermal growth factor

Zhang W, Li J, Han QL, Chen Y, Tang HL, Du B, Yang CM. Effect of simulated weightlessness on the healing of experimental gastric ulcer in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2863-2868

## 摘要

**目的:** 探讨模拟失重对乙酸诱导的大鼠实验性胃溃疡愈合的影响及可能机制。

**方法:** 32只SD大鼠随机分为4组, 即尾部悬吊7 d组、尾部悬吊14 d组和相应的同步对照组。采

## ■背景资料

失重作为航天环境中的重要因素, 对人体的各个生理系统都有明显的影响, 一直以来大部分的研究都集中于骨骼、肌肉、心血管、呼吸、神经、免疫等系统。人体在失重应激状态下, 有发生溃疡的危险, 而有关失重或模拟失重对消化性溃疡方面的研究甚少。

## ■同行评议者

袁红霞, 教授, 天津中医药大学消化科; 张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

## ■研究前沿

EGF在维持胃肠道黏膜的完整性和促进黏膜增殖修复中起重要作用, 溃疡愈合初期EGF含量可代偿性增加促进溃疡愈合.

用乙酸烧灼法制备大鼠慢性胃溃疡模型, 造模后第3天悬吊组大鼠采用尾悬吊法建立模拟失重动物模型. 游标卡尺检测胃溃疡面积, 电镜下观察再生黏膜结构, 放免法检测胃液EGF含量, 观察大鼠胃溃疡愈合分期.

**结果:** 与对照7 d组相比, 悬吊7 d组大鼠溃疡面积明显增大( $6.0 \text{ mm}^2 \pm 1.7 \text{ mm}^2$  vs  $2.2 \text{ mm}^2 \pm 0.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 5.661$ ,  $P < 0.01$ ), 溃疡分期明显降低( $\chi^2 = 12.771$ ,  $P < 0.01$ ); 与对照14 d组相比, 悬吊14 d组溃疡面积明显增大( $3.0 \text{ mm}^2 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $1.1 \text{ mm}^2 \pm 0.4 \text{ mm}^2$ ,  $t = 4.233$ ,  $P < 0.01$ ), 胃液EGF含量明显增高( $0.155 \text{ ng/mL} \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.103 \text{ ng/mL} \pm 0.019 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 2.635$ ,  $P < 0.05$ ); 与悬吊7 d组比较, 悬吊14 d组溃疡面积明显减小( $3.0 \text{ mm}^2 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $6.0 \text{ mm}^2 \pm 1.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 3.805$ ,  $P < 0.01$ ), 胃液EGF含量明显降低( $0.155 \text{ ng/mL} \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.434 \text{ ng/mL} \pm 0.137 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 5.657$ ,  $P < 0.01$ ), 溃疡分期明显降低( $\chi^2 = 12.953$ ,  $P < 0.01$ ). 与对照7 d组、14 d组相比, 悬吊7 d组、14 d组再生黏膜结构的恢复差, 组织学成熟度降低.

**结论:** 模拟失重可降低再生黏膜结构, 延迟溃疡愈合, 胃液EGF含量可出现代偿性增加.

**关键词:** 模拟失重; 实验性胃溃疡; 尾部悬吊; 再生黏膜; 表皮生长因子

张雯, 李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 杨春敏. 模拟失重大鼠实验性胃溃疡愈合的影响. 世界华人消化杂志. 2011; 19(27): 2863-2868  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2863.asp>

## 0 引言

失重是航天航空活动中持续作用的重要环境因素, 一直以来大部分的研究都集中于失重或模拟失重对骨骼、肌肉、心血管、呼吸、神经、免疫等<sup>[1-3]</sup>系统的影响. 随着研究范围的推广, 有关模拟失重与消化系统的研究也日渐增多<sup>[4-6]</sup>, 但针对失重对消化性溃疡(peptic ulcer, PU)影响的研究却一直很少. 因此, 本实验通过尾悬吊法建立大鼠模拟失重模型, 观察大鼠实验性胃溃疡(gastric ulcer, GU)的愈合情况, 探讨模拟失重对溃疡愈合造成的影响及其可能机制, 为航天员胃肠疾病的防治提供理论依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康♂ Sprague-Dawley大鼠32只, SPF级, 体质量200-230 g, 购自北京维通利

华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2006-0009. 模拟失重模型专用鼠笼(由航天医学工程研究所提供), 动物手术器械, 游标卡尺, ECLTPSE801日本尼康生物显微镜; EGF放射免疫分析盒购自南京建成生物工程研究所; 戊巴比妥钠, sigma公司, 生产批号P3761; 庆大霉素, 广州白云山天心制药股份有限公司, 批号101130; 100%乙酸, 国药集团化学试剂有限公司, 生产批号T2c100331; 160g/L甲醛溶液, 北京益利精细化学品有限公司, 生产批号201010 27; 9 g/L氯化钠注射液, 湖南康元制药有限公司, 生产批号10070902B 05; 碘伏消毒液, 北京四环卫生药械厂有限公司, 生产批号20100801.

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** SD大鼠32只, 随机分为模拟失重7 d组、14 d组和相应的同步对照组, 每组8只. 大鼠适应性饲养1 w后开始实验, 每组大鼠均单笼饲养, 自由饮食及水, 动物室室温维持在 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 12 h循环光照.

**1.2.2 大鼠慢性胃溃疡模型制备:** 参照 Okabe方法<sup>[7]</sup>造模, 大鼠造模前24 h禁食不禁水, 2%戊巴比妥钠2.3 mL/kg腹腔麻醉. 腹部剃毛、消毒, 于剑突下腹正中线打开腹腔, 手术切口长约2 cm, 暴露出胃, 将内径约5 mm, 长约30 mm的硅胶管紧贴在胃前壁浆膜面胃小弯角切迹下方约5 mm处(避开血管), 向管内注入100%的冰醋酸0.1 mL, 1 min后迅速吸去残存的冰醋酸, 用生理盐水冲洗受冰醋酸侵蚀的胃壁, 将大网膜缝在冰醋酸涂抹处表面, 缝合腹壁.

**1.2.3 大鼠模拟失重模型制备:** 造模后第3天悬吊组大鼠开始尾部悬吊. 参照陈杰等<sup>[8]</sup>的方法采用尾悬吊法建立模拟失重模型. 每只吊笼内1只大鼠, 尾部悬于笼顶, 使大鼠前肢踏于笼底的塑料棒上, 后肢悬空, 身体纵轴与水平面成30度, 自由采食和饮水. 对照组除不悬吊外, 其他条件与模拟失重组相同.

**1.2.4 标本处理:** 溃疡面积的测定: 悬吊组大鼠分别悬吊7 d和14 d后, 禁食24 h, 2%戊巴比妥钠2.3 mL/kg腹腔麻醉, 剖开腹壁, 结扎贲门、幽门, 注入2%福尔马林溶液10 mL, 取出全胃, 拭去表面附着物, 置8 g/L甲醛溶液中. 30 min后, 沿大弯剪开展平, 生理盐水冲去胃内容物. 用游标卡尺(精确度0.02 mm)测量通过溃疡中心的最大纵径和横径, 分别记为 $D_1$ 、 $D_2$ . 根据公式, 溃疡面积 $S = \pi \times (D_1/2) \times (D_2/2)$ ,  $\pi$ 取3.14, 计算溃疡面积. 以溃疡瘢痕平行于胃长轴方向的最长径为中心取

材,沿溃疡周围切下约1 cm×1 cm胃组织,若无溃疡,则在相同部位(胃小弯角切迹下方约5 mm处)切取同样大小的胃组织,40 g/L甲醛溶液固定,按照常规梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,5 μm厚度连续切片,HE染色,光镜观察并摄片。

1.2.5 胃液EGF含量的测定:收集胃液,低温离心机4℃ 12 000 r/min离心15 min,留取上清胃液,置EP管中,于-20℃冰箱内保存,采用放免法测定EGF含量,具体操作步骤按放免试剂盒说明书进行。

1.2.6 溃疡分期的评价:根据内镜下溃疡分期,从重到轻分为三期,每期又分为两期,分别用A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>; H<sub>1</sub>、H<sub>2</sub>; S<sub>1</sub>、S<sub>2</sub>来代表。(1)急性期(A期): A<sub>1</sub>期:溃疡表面坏死,覆盖较厚的白苔或黄白苔,周边明显充血、水肿。A<sub>2</sub>期:溃疡表面坏死,覆盖的苔变薄,周边仍有较明显的充血、水肿;(2)愈合期(H期): H<sub>1</sub>期:溃疡表面无坏死,白苔消失或变得很薄,仍有糜烂,溃疡周围的充血、水肿减轻或基本消失,并可见再生的上皮。H<sub>2</sub>期:糜烂消失,溃疡周边轻度充血或充血、水肿消失,可见明显的再生上皮及轻度的黏膜集中;(3)瘢痕期(S期): S<sub>1</sub>期:亦称红色瘢痕期,此时溃疡已愈合,形成红色瘢痕,周边无充血、水肿,可见再生上皮及黏膜集中象。S<sub>2</sub>期:亦称白色瘢痕期,此时溃疡部位形成白色瘢痕,黏膜集中象明显。

**统计学处理** 实验数据采用SPSS13.0统计软件分析处理,计量资料以mean±SD表示,计量资料组间比较采用 $t$ 检验,计数资料行 $\chi^2$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况观察 悬吊组大鼠食欲减低、消化不良、活动减少、四肢无力、被毛蓬松;对照组大鼠于溃疡造模术后第1-3天亦出现食欲下降、活动减少、被毛蓬松,但术后第3-4天症状逐渐缓解,饮食活动量增加,被毛恢复光泽。悬吊7 d、14 d结束后,悬吊组大鼠较对照组体重明显减轻,后肢无力明显,腹部切口愈合减慢,打开腹腔可见组织粘连明显,胃肠胀气,浆膜面充血水肿,胃肠道内残留较多食物残渣及粪便;对照组也可见类似表现,但较悬吊组为轻。

2.2 尾部悬吊大鼠GU溃疡面积的变化 与对照7 d组比较,悬吊7 d组溃疡面积明显增大( $6.0 \pm 1.7 \text{ mm}^2$  vs  $2.2 \pm 0.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 5.661$ ,  $P<0.01$ );与对照14 d组比较,悬吊14 d组溃疡面积明显增大( $3.0 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $1.1 \pm 0.4 \text{ mm}^2$ ,  $t = 4.233$ ,

表1 各组大鼠溃疡面积和血清中EGF水平的比较 (mean ± SD,  $n = 8$ )

分组	$n$	溃疡面积(mm <sup>2</sup> )	血清EGF水平(ng/mL)
对照组			
7 d	8	$2.2 \pm 0.7$	$0.363 \pm 0.117$
14 d	8	$1.1 \pm 0.4$	$0.103 \pm 0.019$
悬吊组			
7 d	8	$6.0 \pm 1.7^b$	$0.434 \pm 0.137$
14 d	8	$3.0 \pm 1.2^{df}$	$0.155 \pm 0.052^{cf}$

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照7 d组; <sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 对照14 d组; <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 悬吊7 d组

表2 各组大鼠溃疡愈合分期的比较 ( $n = 8$ )

分组	A <sub>1</sub> 期	A <sub>2</sub> 期	H <sub>1</sub> 期	H <sub>2</sub> 期	S <sub>1</sub> 期	$\chi^2$ 值	$P$ 值
对照组						24.225	0.001
7 d	0	1	3	4	0		
14 d	0	1	2	3	2		
悬吊组							
7 d	6	2	0	0	0		
14 d	0	1	5	2	0		

$P<0.01$ );与悬吊7 d组比较,悬吊14 d组溃疡面积明显减小( $3.0 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs  $6.0 \pm 1.7 \text{ mm}^2$ ,  $t = 3.805$ ,  $P<0.01$ ),但仍较对照7 d组大(表1)。

2.3 悬吊大鼠胃溃疡再生黏膜组织结构 与对照7 d组、14 d组比较,悬吊7 d组、14 d组再生黏膜结构差,再生黏膜内腺体数量少,腺体囊状扩张明显,新生血管少,炎症细胞浸润程度严重,说明悬吊组再生黏膜组织学成熟度较对照组明显降低(图1)。

2.4 尾部悬吊大鼠胃液EGF含量的变化 与对照14 d组比较,悬吊14 d组EGF含量明显增高( $0.155 \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.103 \pm 0.019 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 2.635$ ,  $P<0.05$ );与悬吊7 d组比较,悬吊14 d组EGF含量明显降低( $0.155 \pm 0.052 \text{ ng/mL}$  vs  $0.434 \pm 0.137 \text{ ng/mL}$ ,  $t = 5.657$ ,  $P<0.01$ )(表1)。

2.5 悬吊大鼠各组溃疡愈合分期 四组大鼠溃疡愈合分期均有差别( $\chi^2 = 24.225$ ,  $P<0.01$ )。与对照7 d组比较,悬吊7 d组溃疡分期明显降低( $\chi^2 = 12.771$ ,  $P<0.01$ );与悬吊7 d组比较,悬吊14 d组溃疡分期明显降低( $\chi^2 = 12.953$ ,  $P<0.01$ )(表2)。

## 3 讨论

在宇宙飞行环境中,微重力可引起机体发生诸多变化,如体液的改变、空间运动病、肌肉萎

## ■相关报道

研究模拟失重大鼠实验性胃溃疡影响的特点并探讨其机制,国内外尚未见类似报道。



## ■创新盘点

以往未见对失重或模拟失重状态下胃溃疡愈合的研究.本研究结果提示尾吊模拟失重能延迟溃疡愈合.

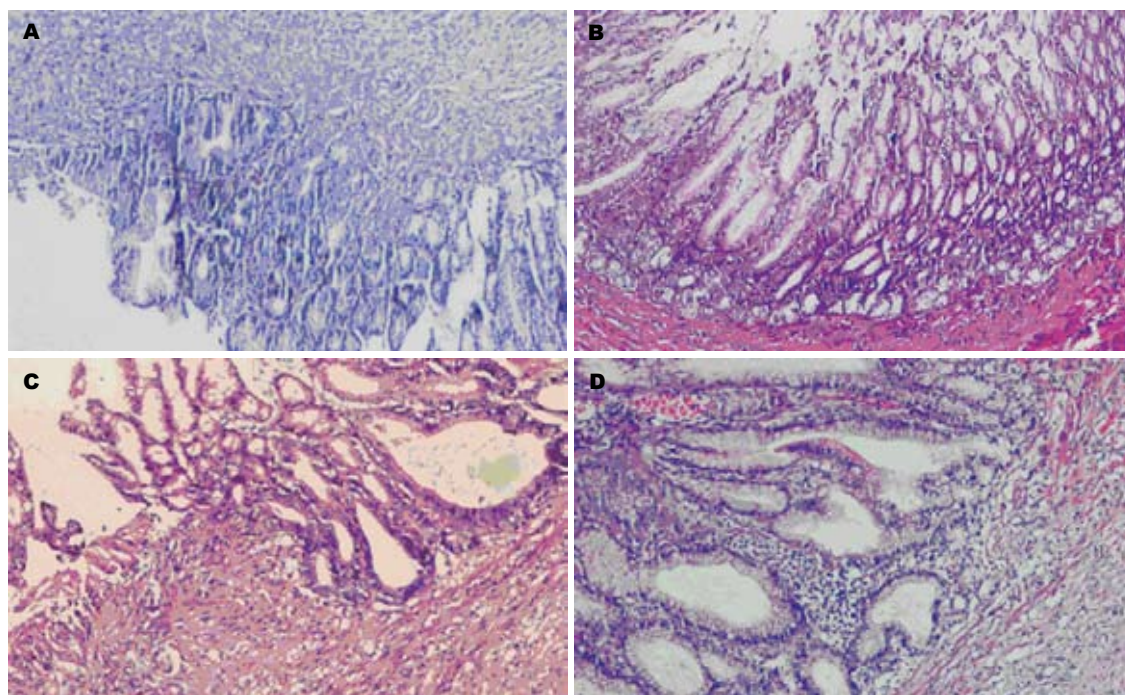


图1 光镜下再生黏膜组织 (HE染色 $\times 100$ ). A: 对照7 d组; B: 对照14 d组; C: 悬吊7 d组; D: 悬吊14 d组.

缩、骨质去矿化、社会心理影响、免疫失调<sup>[9]</sup>.在消化系统方面,已有的资料表明,失重或模拟失重能使胃动力下降<sup>[10]</sup>,胃排空延缓,胃肠道蠕动缓慢,菌群移位产生内毒素血症<sup>[11]</sup>,黏膜屏障发生障碍,胃肠道通透性增加<sup>[12]</sup>等.消化性溃疡是典型的心身疾病,发病率高,与环境改变、压力、心理因素等有明显的关系<sup>[13,14]</sup>.航天飞行中的人体处于一种应激环境<sup>[15]</sup>,有发生溃疡的危险,而关于失重与消化性溃疡愈合方面的研究很少.目前主要有四种动物实验性慢性胃溃疡模型,其中大鼠乙酸诱导的溃疡模型不但复制方法简单可靠,而且在病理特征和愈合过程上与人类溃疡极其相似,愈合的溃疡可自然的复发.因而被广泛使用,发展成用来观察溃疡愈合过程、筛选抗溃疡药以及更好的评价各种抗炎药对胃十二指肠黏膜的不良反应的实验模型<sup>[16]</sup>.

本实验研究显示,悬吊组大鼠溃疡面积明显大于相应对照组,溃疡愈合分期及再生黏膜组织学成熟度亦较对照组明显降低,说明模拟失重使大鼠溃疡愈合延迟,并且随着模拟失重时间的延长,可能使溃疡愈合的延迟化加重.溃疡愈合是一个程序性的修复过程,包括炎症反应、细胞增殖、肉芽组织形成和血管形成.失重使全身血流重新分布,消化道黏膜供血减少,溃疡周围的血流量减少,不利于黏膜下肉芽组织的形成和微血管的再生,影响氧和营养物质

的提供,降低溃疡修复的速度.此外,失重作为一种应激可以引起多种细胞因子的增高,胃胃酸分泌性的改变<sup>[17]</sup>,导致细胞因子过度表达,使溃疡愈合延迟.

胃黏膜损伤的修复是多种细胞和分子相互作用的复杂过程,EGF在损伤修复过程中起着重要作用. EGF是一种53个氨基酸的多肽,主要由唾液腺、肾脏、十二指肠Brunner's腺、胰腺和泌乳腺合成分泌. EGF能促进黏膜DNA、RNA合成和胃黏膜上皮细胞增殖,增加胃黏膜黏液糖蛋白的合成和分泌,增加胃黏膜血流量,是胃、十二指肠黏膜损伤愈合过程中起着重要作用的保护性因子. 正常情况下EGF呈低水平表达,在抑制胃酸分泌和保证胃肠道黏膜完整性方面起重要作用. 给予灌注外源性EGF后可预防实验性胃溃疡的发生或促进溃疡愈合,腹膜内或者灌胃给予EGF溶液后,溃疡评分明显地减少<sup>[18]</sup>. 口服EGF、重组人EGF能促进大鼠十二指肠、胃溃疡愈合<sup>[19,20]</sup>. 本实验研究结果显示,在溃疡形成后的初始阶段,不论是悬吊组还是对照组,7 d组大鼠胃液EGF含量均较14 d组高,考虑可能是机体对胃黏膜损伤的适应性反应,随着溃疡的逐渐修复其含量逐渐下降,而悬吊14组EGF的含量明显高于对照14 d组,考虑可能是胃黏膜在模拟失重这种应激状态下机体的产生的一种自我保护作用,EGF代偿性增加,加

速溃疡愈合。国内外许多实验研究有着类似报道,胃溃疡患者胃液EGF含量较正常胃黏膜组明显降低,当溃疡愈合时,其胃液EGF含量亦明显增高,EGF与胃溃疡愈合、黏膜组织修复密切相关<sup>[21]</sup>。溃疡形成后48-72小时溃疡底部的肉芽组织开始形成,中间反应基因如EGF在6 h-2 d被激活<sup>[22]</sup>。大鼠急性溃疡自愈过程中胃液EGF含量明显增高<sup>[23]</sup>。胃黏膜细胞受损伤后,EGF及其受体表达均增强<sup>[24]</sup>。愈合期GU患者胃液中EGF含量明显高于活动期GU患者,EGF可能通过聚集在溃疡部位的渗出液而促进溃疡愈合<sup>[25]</sup>。当上皮细胞更新时,EGFR表达增加,促进了胃黏膜上皮细胞的增殖,而当创伤被修复或上皮细胞的更新完成后,其表达明显降低,当溃疡表面得以初步修复后,EGFR的表达通过一定的机制回落到正常生理状态时的水平<sup>[26]</sup>。本实验中,悬吊14 d组EGF含量较悬吊7 d组明显降低,提示悬吊时间延长EGF代偿性作用减弱,EGF的代偿性升高不足以抵抗模拟失重所造成的损伤,悬吊组溃疡愈合仍较对照组慢。此外,也有可能是因为失重使胃动力下降,胃排空延缓,胃液蓄积,使胃液中EGF浓度升高。

总之,通过本实验的研究表明,失重可抑制溃疡愈合,使溃疡愈合明显延缓,其作用机制可能是多方面的,机体可能代偿性增加EGF减缓失重应激,但这种代偿并不能完全抵抗失重对溃疡愈合的损伤作用。失重多长时间EGF的代偿功能出现下降,有关这一方面的研究还需进一步深入。EGF能够抑制胃酸分泌、促进胃上皮细胞的分裂、维持胃黏膜的完整性以及促进胃肠黏膜增殖、发育和修复<sup>[27]</sup>。加用促进血清EGF和胃黏膜EGF的表达的药物,能增强胃黏膜保护作用,提高溃疡愈合<sup>[28-30]</sup>。本实验结果对失重条件下胃黏膜的保护、溃疡病的防治及减少溃疡复发具有重要的实际意义,为航天员消化性溃疡病的防治提供理论依据。

#### 4 参考文献

- Rai B, Kaur J, Catalina M. Bone mineral density, bone mineral content, gingival crevicular fluid (matrix metalloproteinases, cathepsin K, osteocalcin), and salivary and serum osteocalcin levels in human mandible and alveolar bone under conditions of simulated microgravity. *J Oral Sci* 2010; 52: 385-390
- Koriak IuA. [Neuromuscular responses of the triceps surae muscle to prolonged passive stretch of the foot extensor muscles under conditions of simulated microgravity]. *Fiziol Zh* 2010; 56: 62-76
- Limper U, Gauger P, Beck LE. Upright cardiac output measurements in the transition to weightlessness during parabolic flights. *Aviat Space Environ Med* 2011; 82: 448-454
- 朱鸣, 吴本俨, 聂捷琳, 李莹辉. 回转器模拟失重对SGC-7901和HFE-145细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2491-2494
- 李成林, 张铭, 周金莲, 崔彦, 余佩武. 模拟失重大鼠肠黏膜NF- $\kappa$ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3328-3331
- 崔彦, 董家鸿, 张铭, 周金莲, 刘子沛, 王平, 李成林, 张建中. 模拟失重大鼠肝组织中NF- $\kappa$ B的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3480-3484
- Okabe S, Pfeiffer CJ. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. *Am J Dig Dis* 1972; 17: 619-629
- 陈杰, 马进, 丁兆平, 张立藩. 一种模拟长期失重影响的大鼠尾部悬吊模型. *空间科学学报* 1993; 2: 159-162
- Williams D, Kuipers A, Mukai C, Thirsk R. Acclimation during space flight: effects on human physiology. *CMAJ* 2009; 180: 1317-1323
- 冯金升, 白延强, 李勇枝, 王林杰, 李成林, 曹艳菊, 王华, 杨春敏. 30d-6°头低位头低位卧床前后人体胃电和胃肠激素的变化. *航天医学与医学工程* 2010; 23: 356-358
- Rivera CA, Tchamitchi MH, Mendoza L, Smith CW. Endotoxemia and hepatic injury in a rodent model of hindlimb unloading. *J Appl Physiol* 2003; 95: 1656-1663
- Ying C, Chunmin Y, Qingsen L, Mingzhou G, Yunsheng Y, Gaoping M, Ping W. Effects of simulated weightlessness on tight junction protein occludin and Zonula Occluden-1 expression levels in the intestinal mucosa of rats. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2011; 31: 26-32
- 张玲霞, 张沥, 张欣, 韩坤, 陶梅, 左利平, 庄坤. 个性及心理因素与消化性溃疡发病的关系. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 226-227
- 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 韦连明, 陈业强, 刘耀利, 李勇杰. 疏肝理气法对夹尾应激大鼠行为学及胃组织学的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 299-302
- Eckberg DL, Halliwill JR, Beightol LA, Brown TE, Taylor JA, Goble R. Human vagal baroreflex mechanisms in space. *J Physiol* 2010; 588: 1129-1138
- Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models--the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 1321-1341
- Afonin BV, Goncharova NP, Karamyshev IuA. [The functional status of the human stomach in the course of the experiment with antiorthostatic hypokinesia of 4 months duration]. *Aviakosm Ekolog Med* 2007; 41: 37-43
- Kim H, Hwan Kim K. Role of nitric oxide and mucus in ischemia/reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. *Pharmacology* 2001; 62: 200-207
- Chao JC, Liu KY, Chen SH, Fang CL, Tsao CW. Effect of oral epidermal growth factor on mucosal healing in rats with duodenal ulcer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2261-2265
- Elliott SN, Wallace JL, McKnight W, Gall DG, Hardin JA, Olson M, Buret A. Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278: G105-G112
- 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋. 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1768-1770
- Syam AF, Sadikin M, Wanandi SI, Rani AA. Molecular mechanism on healing process of peptic ulcer.

#### ■应用要点

本研究为进一步探讨失重和模拟失重对消化性溃疡影响奠定基础,为航天员消化性溃疡病的防治提供理论基础。

## ■同行评价

该论文采用乙酸烧灼法制备大鼠慢性胃溃疡模型,发现失重条件下胃黏膜的保护、溃疡病的防治及减少溃疡复发具有重要的实际意义,论文立意新颖、行文流畅,统计方法得当,结论可信并具有指导价值。

- 23 徐俊,宋于刚,桑显富,鲍光欣,李旭,陈东升,武刚.大鼠应激性溃疡自愈过程中胃肠激素的变化.中国误诊学杂志 2006; 6: 604-606
- 24 秦咏梅,周力.胃黏膜适应性细胞保护研究进展.胃肠病学和肝病杂志 2006; 15: 88-91
- 25 谢誓宏,方向明,熊碧芳,黄经.胃溃疡发生和愈合中胃液表皮生长因子含量变化.中华核医学杂志 1996; 16: 255
- 26 王健,谭庆华,曾青.抑酸对胃黏膜损伤修复时CTGF、EGFR水平的影响.世界华人消化杂志 2010; 18: 2852-2857
- 27 魏以召,张燕,杨拯,孟玲,张晓.消化性溃疡相关基因研究进展.世界华人消化杂志 2008; 16: 1548-1553
- 28 林寿宁,韦维,黄贵华.复方中药安胃汤提高大鼠胃溃疡愈合质量的机制.世界华人消化杂志 2006; 14: 1771-1774
- 29 朱国琴,施瑞华,沈健,周清清,郝波.荆花胃康胶丸对大鼠胃黏膜的保护机制.世界华人消化杂志 2007; 15: 505-508
- 30 时昭红,张介眉,周慧芳,杨海芳,陈洲,冯云霞.促愈颗粒对大鼠乙酸胃溃疡愈合质量的影响.世界华人消化杂志 2007; 15: 1713-1718

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

# 术前联合放化疗与单纯手术治疗食管癌疗效的Meta分析

金海林, 韩树堂, 李文杰, 吴大鹏

金海林, 韩树堂, 李文杰, 吴大鹏, 江苏省中医院消化内镜中心 江苏省南京市 210029

作者贡献分布: 该课题由金海林与韩树堂共同设计; 研究过程由金海林、李文杰及吴大鹏在韩树堂指导下完成; 数据分析及论文写作由金海林完成。

通讯作者: 韩树堂, 教授, 210029, 江苏省南京市汉中中路155号, 江苏省中医院消化内镜中心. shutangh@yahoo.com.cn  
电话: 025-86617141-70101

收稿日期: 2011-06-25 修回日期: 2011-08-22

接受日期: 2011-08-28 在线出版日期: 2011-09-28

## Efficacy of preoperative chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for resectable esophageal carcinoma: a meta-analysis

Hai-Lin Jin, Shu-Tang Han, Wen-Jie Li, Da-Peng Wu

Hai-Lin Jin, Shu-Tang Han, Wen-Jie Li, Da-Peng Wu, Gastrointestinal Endoscopy Center, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Professor Shu-Tang Han, Gastrointestinal Endoscopy Center, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. shutangh@yahoo.com.cn

Received: 2011-06-25 Revised: 2011-08-22

Accepted: 2011-08-28 Published online: 2011-09-28

### Abstract

**AIM:** To compare the efficacy of preoperative chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for resectable esophageal carcinoma.

**METHODS:** We searched Pubmed and EMBASE databases to identify eligible studies, and manual searches were done to ensure that no studies were missed.

**RESULTS:** Twelve randomized controlled trials that included 1 544 patients were included. Preoperative chemoradiotherapy plus surgery significantly improved 1-, 3- and 5-year survival rates [odds ratio (OR) = 1.28, 95% confidence interval (CI), 1.01-1.64,  $P = 0.05$ ; OR = 1.84, 95% CI, 1.29-2.63,  $P = 0.00$ ; OR = 1.53, 95% CI, 1.17-2.00,  $P = 0.00$ ] compared to surgery alone. Postoperative mortality increased in patients treated by preoperative chemoradiotherapy (OR = 1.68, 95% CI, 1.03-2.73,  $P = 0.04$ ), but the incidence of postop-

erative complications was similar between the two groups (OR = 1.15, 95% CI, 0.89-1.49,  $P = 0.28$ ). Preoperative chemoradiotherapy reduced incidence of local-regional cancer recurrence (OR = 0.64, 95% CI, 0.41-0.99,  $P = 0.04$ ), but incidence of distant cancer recurrence was similar between the two groups (OR = 0.94, 95% CI, 0.68-1.31,  $P = 0.73$ ).

**CONCLUSION:** Preoperative chemoradiotherapy can remarkably improve the survival of patients with resectable esophageal carcinoma.

**Key Words:** Esophageal carcinoma; Preoperative chemoradiotherapy; Randomized controlled trials; Meta-analysis

Jin HL, Han ST, Li WJ, Wu DP. Efficacy of preoperative chemoradiotherapy plus surgery and surgery alone for resectable esophageal carcinoma: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2869-2875

### 摘要

**目的:** 比较术前联合放化疗联合手术与单纯手术对可切除食管癌患者的影响。

**方法:** 使用计算机及手工检索两种方法在Pubmed和Embase中搜索相关随机对照实验, 以确保无文献遗漏。

**结果:** 共纳入包含1 544名患者的12篇文献。术前联合放化疗较单纯手术明显提高了患者的1年、3年和5年生存率, 其OR(95%CI,  $P$ 值)分别为1.28(1.01-1.64,  $P = 0.05$ ); 1.84(1.29-2.63,  $P = 0.00$ ); 1.53(1.17-2.00,  $P = 0.00$ )。术前放化疗增加了术后死亡率, 但并不增加术后的并发症发生率, 其OR(95%CI;  $P$ 值)分别为1.71(1.06-2.76,  $P = 0.03$ )和1.15(0.89-1.49,  $P = 0.28$ )。术前放化疗降低了肿瘤局部复发率, 但对远处转移无影响, 其对应的OR (95%CI,  $P$ 值)分别为0.64(0.41-0.99,  $P = 0.04$ )和0.94(0.58-1.31,  $P = 0.73$ )。

**结论:** 术前放化疗联合手术可显著改善食管癌患者的生存率, 值得临床应用推广。

### ■背景资料

食管癌是中国发病率较高的消化系统肿瘤之一, 国外文献报道食管癌的术后中位生存期不超过18 mo。近年来, 术前放化疗联合手术治疗成为研究的热点, 对于该方法的治疗效果, 国内外报道一直未能达成一致意见。

### ■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



## ■ 研究前沿

术前放化疗联合手术治疗食管癌与单纯手术治疗相比, 是否会提高患者的生存率? 其术后死亡率及并发症发生率是否高于单纯手术治疗? 是本研究关注的中心问题。

**关键词:** 食管癌; 新辅助化疗; 随机对照试验; 荟萃分析

金海林, 韩树堂, 李文杰, 吴大鹏. 术前联合放化疗与单纯手术治疗食管癌疗效的Meta分析. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2869-2875

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2869.asp>

## 0 引言

食管癌是消化系统常见肿瘤, 在全球范围内它是引起肿瘤相关死亡的第六位原因<sup>[1]</sup>. 食管癌的治疗有多种方法, 如手术、化疗、放疗以及多种方法联合的综合治疗等. 临床上常常根据食管癌患者的疾病分期决定治疗方法. 外科手术一直被认为是治疗食管癌的基石, 但研究表明接受单纯手术治疗的食管癌患者的中位生存期不超过18 mo<sup>[2]</sup>. 术前放化疗联合手术(亦称为新辅助治疗)是目前食管癌治疗的研究热点. 然而, 食管癌患者究竟能否从术前放化疗中获益仍存在争议. 本研究旨在通过多个随机对照试验, 对术前放化疗联合手术以及单一手术治疗食管癌的疗效做一个荟萃分析.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 行系统检索, 并获得全文, 截止日期为2011-06. 英文检索关键字包括esophageal neoplasm、surgery、radiotherapy、chemotherapy、chemoradiotherapy并以RCT(或 randomized, and clinical trial)限制. 中文检索关键字包括食管癌、放疗、化疗、放化疗、新辅助.

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** 纳入荟萃分析的文献必须满足下列标准: (1)比较术前放化疗联合手术与单纯手术治疗食管癌疗效的前瞻性随机对照试验; (2)文献必须包含生存率相关的数据; (3)入组患者要求为无远处转移的可切除的经组织学证实的食管鳞癌或腺癌; (4)术前放化疗组与单纯手术组患者的信息必须经证实无统计学差异; (5)语种为英文和中文.

**1.2.2 排除标准:** 研究对象为曾接受单独化疗或单独放疗的食管癌患者; 剔除重复报道、信息太少以及数据描述不详的文献.

**1.2.3 数据提取:** 所有数据均由3位不同的研究者提取, 分歧通过协商解决.

**统计学处理** 本文分析了1年、3年、5年生存率以及术后死亡率, 术后并发症发生率, 术后首次治疗失败的局部复发率与远处转移率. 治

疗效果(生存率和首次治疗失败的局部复发率与远处转移率)的评价是以入组患者的人数计算的. 而术后死亡率、并发症发生率按接受手术的实际人数计算. 应用RevMan4.2.8软件, 以Q检验分析文献异质性. Q检验 $P < 0.05$ 为各研究间存在异质性, 采用随机效应模型; 反之若无异质性, 采用固定效应模型. 计算OR值及其95%CI,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 文献特征** 共获得12篇相关文献<sup>[3-14]</sup>, 均为已发表的文献, 不含摘要. 研究涉及9个国家, 中国、日本、韩国、泰国、美国、法国、挪威、爱尔兰、澳大利亚. 文章发表时间1992-2009, 各研究进行时间1983-2002. 其中8篇是以食管鳞癌患者为研究对象, 3篇研究包括鳞癌和腺癌, 仅1篇研究受试对象全部为腺癌. 入组患者的标准基本相同: 经病理证实的未治疗过的可切除的食管癌(鳞癌或腺癌), 而且对患者的肝肾心肺进行评估, 确认患者能耐受手术, 并且没有其他影响患者寿命的伴发疾病. 12篇文献中共有1 544人纳入了研究, 其中777例患者纳入了联合治疗组, 而767例患者纳入了单纯的手术治疗组. 单纯手术组几乎所有患者都接受了手术, 而联合治疗组却有部分因为各种原因未能完成预期的治疗计划. 入组时的肿瘤分期, 大部分患者都在II-III期(1987UICC), 而Natsugoe的研究中有更高病理分期(II-IV, 但所有M1均为远处淋巴结转移), 其中, Le Prise使用的AJC的标准(I-II), 而WALSH未说明病理分期. 联合治疗方案见表1.

**2.2 术前放化疗对食管癌患者生存率的影响** 研究显示无论1年、3年还是5年生存率, 联合治疗组都显示出了优势(图1-3). 1年、3年和5年生存率的OR(95%CI,  $P$ 值)分别为1.28 (1.01-1.64,  $P = 0.05$ )、1.84(1.29-2.63,  $P = 0.00$ )和1.53(1.17-2.00,  $P = 0.00$ ). 因3年生存率的异质性检验 $P = 0.04$ , 故应用了随机效应模式, 而1年和5年生存率异质性检验的 $P$ 值分别为0.62和0.46, 故应用固定效应模式.

**2.3 术前放化疗对术后死亡率和术后并发症发生率的影响** 术后死亡率在联合治疗组为0%-23.5%, 在单纯手术组为0%-14.7%, 联合治疗组术后死亡率最高的在Nygaard的研究中, 而单纯手术组死亡率最高在Apinop的研究中. 另外, 在2000年之前的研究中术后死亡率明显高于2000年之后发表的文献. Meta分析的结果



表 1 纳入文献的相关资料

国家	第一作者	发表时间	鳞癌或腺癌	放疗方案	化疗方案	同步或序贯	手术时间
挪威	Nygaard	1992	SCC	35 Gy 1.75 Gy/d 5 d/wk × 4 wk	Cisplatin: 20 mg/m <sup>2</sup> D1-5, D15-19 Bleomycin: 10 mg/m <sup>2</sup> D1-5, D15-19	序贯	Not Report
泰国	Apinop	1994	SCC	40 Gy 2 Gy/d 5 d/wk × 4 wk	Cisplatin: 100 mg/m <sup>2</sup> D1, 29 FU: 1000 mg/m <sup>2</sup> D1-4, D29-32	同步	化疗后4 wk
法国	Le Prise	1994	SCC	20 Gy 2 Gy/d D8-19	Cisplatin: 100 mg/m <sup>2</sup> D1, 21 FU: 600 mg/m <sup>2</sup> D2-5, D22-25	序贯	第42d
爱尔兰	Walsh	1996	AC	40 Gy 2.67 Gy/d D1-5, 8-12, 15-19	Cisplatin: 75 mg/m <sup>2</sup> D7 FU: 15 mg/kg D1-5 week1和week 6	同步	放化疗结束后 8 wk
法国	Bosset	1997	SCC	37 Gy 3.7 Gy/d 5 d/wk × 2 wk	Cisplatin: 80 mg/m <sup>2</sup> D0-2	序贯	放化疗结束后 2-4 wk
美国	Urba	2001	SCC和AC	45 Gy 1.5 Gy bid D1-5, 8-12, 15-19	Cisplatin: 20 mg/(m <sup>2</sup> · d) D1-5, 17-21 FU: 300/(m <sup>2</sup> · d) D1-21 Vinblastine: 1 mg/m <sup>2</sup> D1-4, 17-20	同步	第42 d
中国	AN FS	2003	SCC	36 Gy 3 Gy/d D21-24, 28-31, 35-38	Cisplatin: 25 mg/m <sup>2</sup> D2-5 D22-25 FU: 1000 mg/m <sup>2</sup> D1-5 500 mg/m <sup>2</sup> D21-25	序贯	放化疗结束后 3 wk
韩国	Lee	2004	SCC	45.6 Gy 1.2 Gy bid D1-28	Cisplatin: 60 mg/m <sup>2</sup> D1, 21 FU: 1000 mg/m <sup>2</sup> D2-5	同步	放疗后3-4 wk
澳大利亚	Burmeister	2005	SCC和AC	35 Gy 2.33 Gy/d 5d/wk × 3wk	Cisplatin 80 mg/m <sup>2</sup> D1 FU 800 mg/m <sup>2</sup> D2-5	同步	放疗后3-6 wk
日本	Natsugoe	2006	SCC	40 Gy 2 Gy/d 5 d/wk × 4wk	Cisplatin: 7 mg FU: 350 mg 5 d/wk for 4-6 wk	同步	放化疗结束后 35-40 d
美国	Tepper	2008	SCC和AC	50.4 Gy 1.8 Gy/d 5d/w*5.5w	Cisplatin: 100 mg/m <sup>2</sup> D1, 29 FU: 1 000 mg/(m <sup>2</sup> · d) D1-4, D29-32	同步	放化疗结束后 3-8 wk
中国	Cao XF	2009	SCC	40 Gy 2 Gy/d D1-5, 8-12, 15-19, 22-26	Cisplatin 20 mg/ (m <sup>2</sup> · d) D1-5, 8-12 FU, 500 mg/(m <sup>2</sup> · d) D1-5, 8-12 MMC, 10 mg/(m <sup>2</sup> · d) D1	同步	放化疗结束后 4-5 wk

## ■相关报道

Val Gebski等认为术前放化疗对食管鳞癌和腺癌患者均有益,但目前尚无足够证据能支持术前放化疗联合手术治疗食管鳞癌较之单纯手术能提高患者的生存率.明确的结论尚需完成更大样本含量的多中心随机对照试验.

SCC: 鳞状细胞癌; AC: 腺癌.

## ■创新亮点

本文提示术前放化疗可以提高食管癌患者的术后生存率, 并且随着技术的发展, 术前放化疗联合手术并不会增加食管癌患者的术后死亡率。

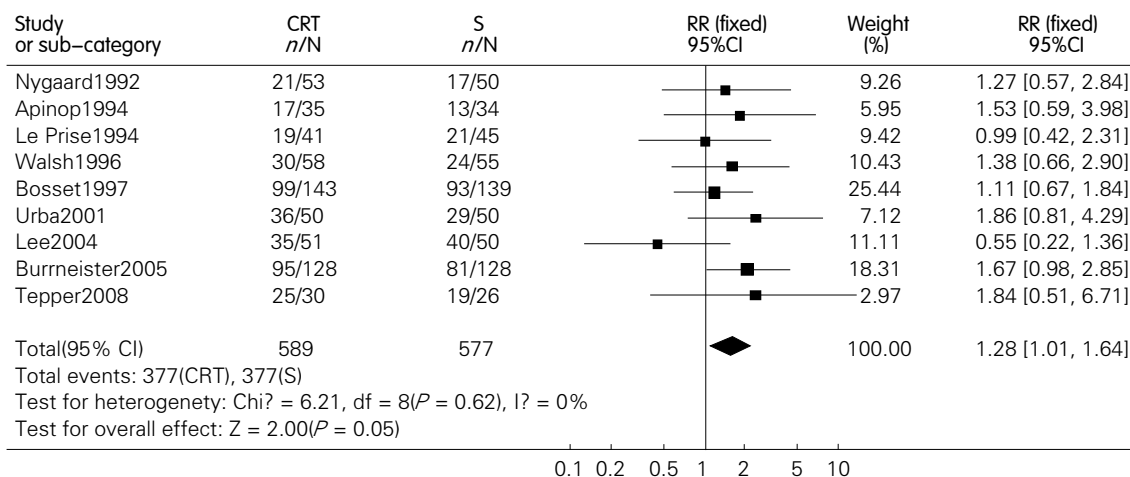


图 1 联合治疗组与单纯手术组术后1年生存率的比较。

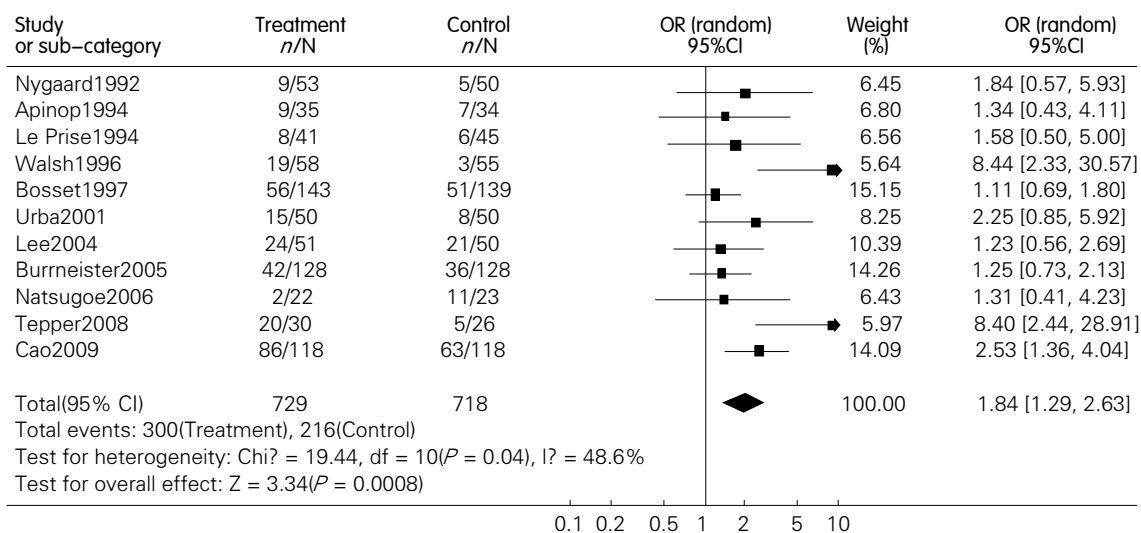


图 2 联合治疗组与单纯手术组术后3年生存率的比较。

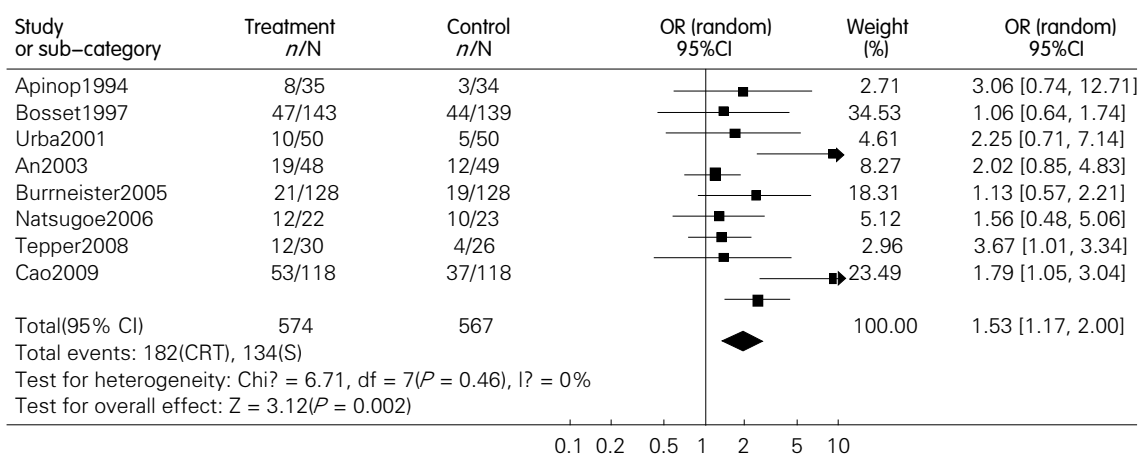
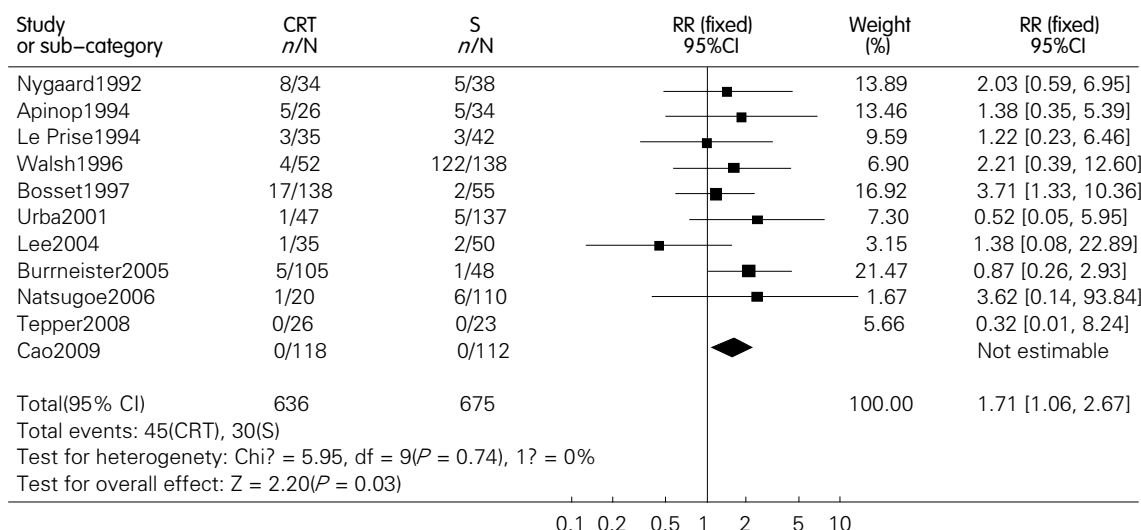


图 3 联合治疗组与单纯手术组术后5年生存率的比较。

提示联合治疗组术后死亡率高于单纯手术组, OR(95%CI,  $P$ 值)为1.71(1.06~2.76,  $P = 0.03$ )(图4)。敏感性分析分别去除Nygaard和Bosset的研究

后, 2组死亡率无统计学差异, OR(95%CI,  $P$ 值)分别为1.66(0.99-2.79,  $P = 0.06$ )和1.30(0.75-2.28,  $P = 0.35$ )。术后并发症在我们的研究中包括了



## ■应用要点

尽管Meta分析提示术前放化疗可以提高食管癌患者的术后生存率, 但亚组分析提示食管鳞癌患者并不能从中获益, 间接提示食管腺癌患者可能为术前放化疗的真正受益者。

图4 联合治疗组与单纯手术组术后死亡率的比较。

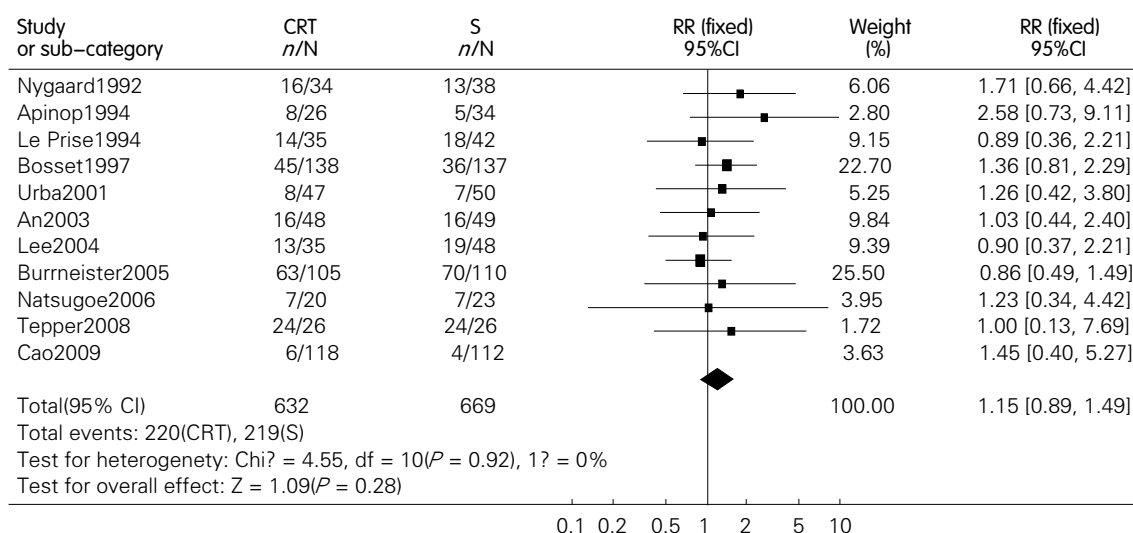


图5 联合治疗组与单纯手术组术后并发症发生率的比较。

普通并发症和致死性并发症, 而且是以实际接受手术的人数来计算的。结果显示两组术后并发症并无统计学差异, 其OR(95%CI,  $P$ 值)为1.15(0.89-1.49,  $P = 0.28$ )(图5)。

**2.4 首次治疗失败局部复发率和远处转移率** 首次治疗失败定义为第1次有证据证明肿瘤局部复发, 远处转移或两者并存。共有7篇文献提供了有关的数据。结果显示局部复发率联合治疗组低于单纯手术组, 而2组间的远处转移率无统计学差异, 其对应的OR(95%CI,  $P$ 值)分别为0.64(0.41-0.99,  $P = 0.04$ )(图6)和0.94(0.58-1.31,  $P = 0.73$ )(图7)。

### 3 讨论

我们对各个RCT进行Meta分析的结果显示, 术前放化疗联合手术治疗食管癌较单纯手术治疗在生存率上有优势, 无论1年、3年还是5年生存率。

但亚组分析提示食管鳞癌患者并无这种生存的获益。Fiorica等认为术前放化疗联合手术治疗食管癌较之单纯手术能降低患者的3年死亡率, 但若去除其中包含有食管腺癌的研究, 其结果亦无统计学差异。另外, 在Val Gebski等人的研究中, 术前放化疗联合手术治疗食管鳞癌和腺癌较之单纯手术治疗均有统计学差异, 其OR(95%CI,  $P$ 值)分别为0.84 (0.71-0.99,  $P = 0.04$ )和0.75 (0.59-0.95;  $P = 0.02$ )。因为前者 $P$ 值接近0.05, 故下结论尚需谨慎。因此, 目前尚无足够证据能支持术前放化疗联合手术治疗食管鳞癌较之单纯手术能提高患者的生存率。明确的结论尚需更大样本含量的多中心随机对照试验来支持。

尽管在生存率上联合治疗组显示出了优势, 但术前放化疗组手术相关死亡率较单纯手术组升高, 而且有部分患者在术前就死亡了或是病情

## ■同行评价

本文选题明确, 归纳总结了该领域的研究热点问题, 探讨的问题具有临床实际意义, 有一定的借鉴参考价值.

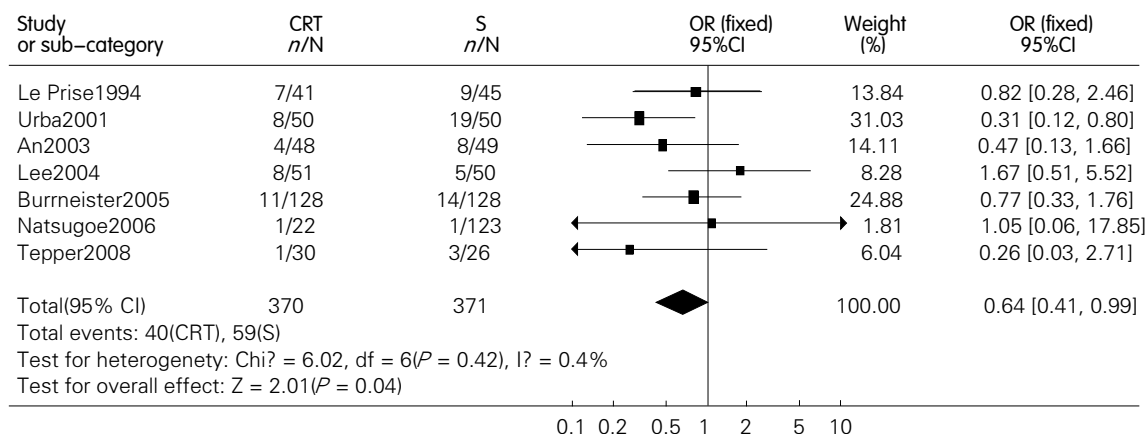


图 6 联合治疗组与单纯手术组术后局部复发率的比较.

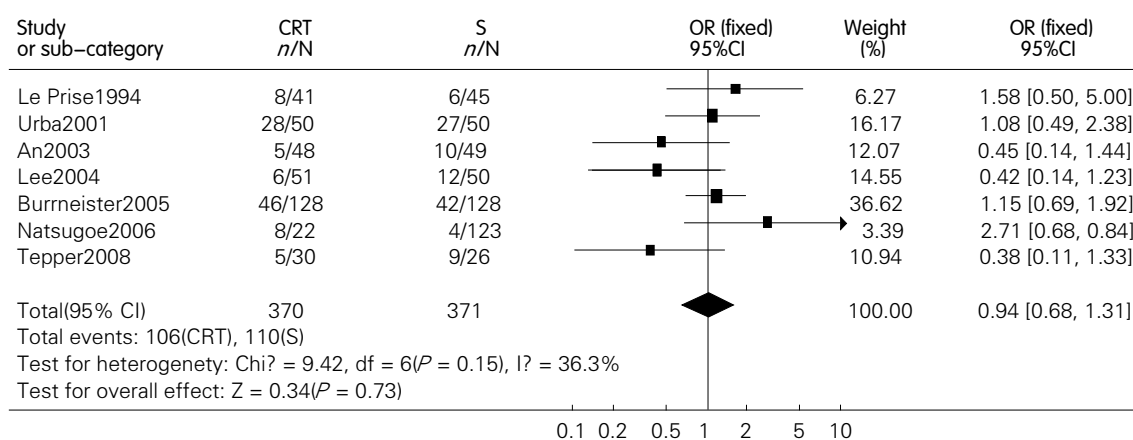


图 7 联合治疗组与单纯手术组术后远处转移率的比较.

恶化而失去了手术机会. 这可能与术前放疗导致局部组织变化(质地变硬变脆, 解剖不清楚), 手术难度增加, 术后致死性并发症(如吻合口瘘, 肺部并发症)增多有关. 然而, 去除Nygaard的研究进行敏感性分析后, 两组死亡率无统计学差异. Nygaard的研究是所有研究中最早的(1983-1988), 或许限于当时的医疗水平, 对于术后严重并发症的治疗缺乏有效的措施. 因此, 在目前医疗水平下, 在改进手术方法和优化化放疗方案后, 联合治疗组手术相关死亡率或许有望下降到与单纯手术组无统计学差异的水平. 另外, 在各种并发症(包括致死性并发症)的发生率上, 术前放化疗组较单纯手术组无统计学差异.

有报道在肺癌治疗中序贯化放疗优于同步化放疗<sup>[15]</sup>, 如果不考虑食管癌的病理类型这一混杂因素, 那么新辅助治疗中化放疗同时进行, 患者的生存率较单纯手术组高, 而当化放疗序贯进行时, 则两组患者生存率无统计学意义. 这可能与顺铂的放疗增敏作用有关, 具体机制尚需进一步研究.

有资料表明<sup>[16-18]</sup>即使临床或手术认定为局限性癌肿者( $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ )也有40%~75%已发生亚临床转移或邻近器官受累. 因此, 我们要利用各种检查做好肿瘤的分期, 严格把握新辅助治疗联合手术治疗的适应证. 内镜下超声(endoscopic ultrasonography, EUS)是目前T分期和N分期最精确的方法<sup>[19]</sup>, 而常规胸腹部对比增强CT对远处转移的敏感性超过了90%. 但由于食管癌黏膜及黏膜下有着丰富的淋巴管网络, 其有早期扩散和转移的倾向, 普通CT也可能会对一些微小转移灶不敏感. 超声内镜引导下细针穿刺抽吸术(endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration, EUS-FNA) 和FDG-PET可以弥补前者的缺憾<sup>[20]</sup>. 一些研究中的入组患者伴有远处淋巴结的转移, 这些患者TNM分期应属于IV期, 但有研究证明这些患者也能从手术治疗获益, 因为这些淋巴结可以手术清除, 而且放疗时可以纳入照射野.

另外, 本研究存在如下的不足: (1)一些研究样本含量较小, 降低了检验的功效, 增加了

二型错误的几率; (2)少数研究中肿瘤的分期不明确(WALSH和Urba), 而且入组患者的TNM分期的评估所使用的方法不同. 由于条件的限制, 对T分期尤为重要的内镜下超声不能普遍的使用, 而Le Prise的研究中CT亦不能作为常规检查; (3)食管腺癌在美国及欧洲的发病率正在上升, 而本Meta分析纳入的研究中对腺癌的研究偏少; (4)纳入的RCTs时间跨度大, 最早的研究是Nygaard等在1983-1988完成的, 由于医学不断的进步, 对当年这些研究数据的参考价值要有中肯的评价.

总之, 本Meta分析的结果提示: (1)术前放化疗联合手术治疗食管癌较单纯手术能改善患者的生存率, 但食管鳞癌患者似乎并不能从中获益, 更多以腺癌为研究对象的随机对照实验有待完成. 事实上, 在美国这样一个腺癌高发的国家, 术前放化疗已成为常规; (2)术前放化疗联合手术与单纯手术, 两种方法的术后并发症无统计学差异, 甚至有可能前者并未增加患者的术后死亡率.

#### 4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Khushalani N. Cancer of the esophagus and stomach. *Mayo Clin Proc* 2008; 83: 712-722
- 3 Lee JL, Park SI, Kim SB, Jung HY, Lee GH, Kim JH, Song HY, Cho KJ, Kim WK, Lee JS, Kim SH, Min YI. A single institutional phase III trial of preoperative chemotherapy with hyperfractionation radiotherapy plus surgery versus surgery alone for resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Oncol* 2004; 15: 947-954
- 4 Tepper J, Krasna MJ, Niedzwiecki D, Hollis D, Reed CE, Goldberg R, Kiel K, Willett C, Sugarbaker D, Mayer R. Phase III trial of trimodality therapy with cisplatin, fluorouracil, radiotherapy, and surgery compared with surgery alone for esophageal cancer: CALGB 9781. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1086-1092
- 5 Urba SG, Orringer MB, Turrisi A, Iannettoni M, Forastiere A, Strawderman M. Randomized trial of preoperative chemoradiation versus surgery alone in patients with locoregional esophageal carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 305-313
- 6 Burmeister BH, Smithers BM, GebSKI V, Fitzgerald L, Simes RJ, Devitt P, Ackland S, Gotley DC, Joseph D, Millar J, North J, Walpole ET, Denham JW. Surgery alone versus chemoradiotherapy followed by surgery for resectable cancer of the oesophagus: a randomised controlled phase III trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 659-668
- 7 Natsugoe S, Okumura H, Matsumoto M, Uchikado Y, Setoyama T, Yokomakura N, Ishigami S, Owaki T, Aikou T. Randomized controlled study on preoperative chemoradiotherapy followed by surgery versus surgery alone for esophageal squamous cell cancer in a single institution. *Dis Esophagus* 2006; 19: 468-472
- 8 An FS, Huang JQ, Xie YT, Chen SH, Rong TH. [A prospective study of combined chemoradiotherapy followed by surgery in the treatment of esophageal carcinoma]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2003; 25: 376-379
- 9 Nygaard K, Hagen S, Hansen HS, Hatlevoll R, Hultborn R, Jakobsen A, Mäntylä M, Modig H, Munck-Wikland E, Rosengren B. Pre-operative radiotherapy prolongs survival in operable esophageal carcinoma: a randomized, multicenter study of pre-operative radiotherapy and chemotherapy. The second Scandinavian trial in esophageal cancer. *World J Surg* 1992; 16: 1104-1119; discussion 1110
- 10 Apinop C, Puttisak P, Preecha N. A prospective study of combined therapy in esophageal cancer. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 391-393
- 11 Le Prise E, Etienne PL, Meunier B, Maddern G, Ben Hassel M, Gedouin D, Boutin D, Campion JP, Launois B. A randomized study of chemotherapy, radiation therapy, and surgery versus surgery for localized squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1994; 73: 1779-1784
- 12 Walsh TN, Noonan N, Hollywood D, Kelly A, Keeling N, Hennessy TP. A comparison of multimodal therapy and surgery for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1996; 335: 462-467
- 13 Bosset JF, Gignoux M, Triboulet JP, Tiet E, Mantion G, Elias D, Lozach P, Ollier JC, Pavy JJ, Mercier M, Sahmoud T. Chemoradiotherapy followed by surgery compared with surgery alone in squamous-cell cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1997; 337: 161-167
- 14 Cao XF, He XT, Ji L, Xiao J, Lv J. Effects of neoadjuvant radiochemotherapy on pathological staging and prognosis for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2009; 22: 477-481
- 15 Dillman RO, Herndon J, Seagren SL, Eaton WL, Green MR. Improved survival in stage III non-small-cell lung cancer: seven-year follow-up of cancer and leukemia group B (CALGB) 8433 trial. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1210-1215
- 16 Diehl LF. Radiation and chemotherapy in the treatment of esophageal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 765-774
- 17 Katlic MR, Wilkins EW, Grillo HC. Three decades of treatment of esophageal squamous carcinoma at the Massachusetts General Hospital. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 99: 929-938
- 18 Kelsen D. Multimodality therapy for adenocarcinoma of the esophagus. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; 26: 635-645
- 19 Meyenberger C, Fantin AC. Esophageal carcinoma: current staging strategies. *Recent Results Cancer Res* 2000; 155: 63-72
- 20 Romagnuolo J, Scott J, Hawes RH, Hoffman BJ, Reed CE, Aithal GP, Breslin NP, Chen RY, Gumustop B, Hennessey W, Van Velse A, Wallace MB. Helical CT versus EUS with fine needle aspiration for celiac nodal assessment in patients with esophageal cancer. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 648-654



# 肝癌根治术后肝内复发合并肝外转移积极手术治疗10例

刘 煌, 陈达丰, 李冉冉, 陈文有, 柯恩明, 张文华, 刘 静

## ■背景资料

原发性肝癌(简称肝癌)主要指肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 是居我国第二位的肿瘤死亡原因。肝切除术仍是目前HCC治疗中最实用、最有效的方法。然而肝切除术后高复发及转移率是影响其疗效的主要因素。

刘煌, 陈达丰, 李冉冉, 陈文有, 柯恩明, 张文华, 刘静, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科福建省漳州市 363000

作者贡献分布: 刘煌与刘静对此文所作贡献均等; 此课题由刘静、刘煌及陈达丰设计; 研究过程由刘静、陈达丰、李冉冉、陈文有、柯恩明、张文华及刘煌操作完成; 数据收集、整理、分析由刘煌与陈达丰完成; 本论文写作由刘煌完成; 刘静校审。

通讯作者: 刘静, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 363000, 福建省漳州市华中路269号, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科。ljdoctor@hotmail.com

收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-08-30

接受日期: 2011-09-25 在线出版日期: 2011-09-28

## Aggressive management of patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma: an analysis of 10 cases

Huang Liu, Da-Feng Chen, Ran-Ran Li, Wen-You Chen, En-Ming Ke, Wen-Hua Zhang, Jing Liu

Huang Liu, Da-Feng Chen, Ran-Ran Li, Wen-You Chen, En-Ming Ke, Wen-Hua Zhang, Jing Liu, Department of General Surgery, the 175th Hospital of Chinese PLA (Southeast Hospital Affiliated to Xiamen University), Zhangzhou 363000, Fujian Province, China

Correspondence to: Jing Liu, Department of General Surgery, the 175th Hospital of Chinese PLA (Southeast Hospital Affiliated to Xiamen University), Zhangzhou 363000, Fujian Province, China. ljdoctor@hotmail.com

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-08-30

Accepted: 2011-09-25 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of combined resection and locoregional therapy in the management of selected patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma.

**METHODS:** The clinical data for 10 patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma who underwent resection of extrahepatic recurrence and re-resection or locoregional therapy for intrahepatic recurrence were analyzed retrospectively. The survival of these 10 patients was compared with other 48 patients whose extrahepatic and intrahepatic recurrences were treated by non-surgical means.

**RESULTS:** The median survival after recurrences in 10 patients undergoing surgical treatment was significantly higher than that in the other 48 patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences treated by nonsurgical means ( $45.0 \text{ mo} \pm 5.1 \text{ mo}$  vs  $12.0 \text{ mo} \pm 2.1 \text{ mo}$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Combined resection of isolated extrahepatic recurrence and re-resection or locoregional therapy for intrahepatic recurrences may offer long-term survival in patients who develop both intrahepatic and extrahepatic recurrences after hepatectomy for HCC.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Recurrence; Surgical therapy

Liu H, Chen DF, Li RR, Chen WY, Ke EM, Zhang WeH, Liu J. Aggressive management of patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma: an analysis of 10 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2876-2880

## 摘要

**目的:** 探讨对严格选择的肝癌根治术后肝内复发并肝外转移患者采取积极外科治疗策略的临床价值。

**方法:** 回顾性分析10例肝癌根治术后肝内复发伴肝外孤立转移灶病例的外科治疗情况。并与行保守治疗的肝癌根治术后肝内复发伴肝外转移的48例患者的生存情况进行比较。

**结果:** Kaplan-Meier生存分析显示积极外科治疗组复发后中位生存时间为 $45.0 \text{ mo} \pm 5.1 \text{ mo}$ , 保守治疗组复发后中位生存时间仅为 $12.0 \text{ mo} \pm 2.1 \text{ mo}$ 。Log-rank检验对两组生存时间比较, 发现积极手术治疗组生存时间显著长于保守治疗组( $P < 0.01$ )。

**结论:** 对于严格选择的病例采取肝外孤立转移灶切除联合肝内复发灶切除或局部治疗的积极外科治疗策略能够显著提高患者生存时间。

**关键词:** 肝细胞癌; 复发; 手术治疗

## ■同行评议者

英卫东, 教授, 安徽省立医院肝胆外科

刘煌, 陈达丰, 李冉冉, 陈文有, 柯恩明, 张文华, 刘静. 肝癌根治术后肝内复发合并肝外转移积极手术治疗10例. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2876-2880

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2876.asp>

## 0 引言

原发性肝癌(简称肝癌)主要指肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 是居我国第二位的肿瘤死亡原因. 肝切除术仍是目前HCC治疗中最实用、最有效的方法. 然而肝切除术后高复发及转移率是影响其疗效的主要因素<sup>[1,2]</sup>. 现已证明对于HCC根治术后肝内复发灶采取积极的治疗策略如: 再手术切除、经导管动脉内化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、经皮无水酒精瘤内注射术(percutaneous ethanol injection, PEI)、射频消融(radiofrequency ablation RFA)等可有效延长患者生存时间<sup>[3-6]</sup>; 对肝外孤立转移灶切除亦对患者有益<sup>[7,8]</sup>. 但对于肝内复发伴肝外转移病例(同时或异时)常常被认为太晚期而多采取全身化疗联合或不联合局部治疗的策略, 是否采取积极手术治疗尚存一定争议<sup>[9]</sup>. 随着近年来影像学检查方法和外科观念、技术、围手术期处理的改进, 现多主张根据病变复发的部位、大小以及全身情况选择恰当的治疗方法, 可提高复发性肝癌的治疗效果, 决不能视为晚期而消极对待<sup>[10]</sup>. 我们选择性的对肝内复发伴肝外孤立转移的10例患者采取肝内复发灶切除或局部治疗联合肝外孤立转移灶切除的积极手术治疗策略, 并与同期行非手术方法治疗(肝内复发灶局部治疗联合全身化疗)的此类患者进行比较, 取得良好疗效, 报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析2000-01/2010-12厦门大学附属东南医院共收治的肝癌根治术后肝内复发伴肝外转移(同时或异时)患者58例, 男42例, 女16例, 年龄22-71岁. 合并肝硬化29例, HBsAg阳性39例. 首次术前肝功能均为ChildA级, 无黄疸. 经CT或核磁共振, E-CT, SPECT/CT等检查均未发现远处转移. 诊断按TNM分期为I期12例, II期46例. 于外院手术者18例, 我院手术者40例. 术后病理证实均为根治性切除, 切除范围为距肿瘤边缘 $\geq 2$  cm, 断端及余肝无残癌存留, 病理诊断均为肝细胞肝癌.

**1.2 方法** 将58例患者根据全身状况及肝内复发

和远处转移情况分为积极手术组和保守治疗组.

**1.2.1 积极手术治疗组:** 10例, 男9例, 女1例, 年龄27-65岁. 合并肝硬化3例, HBsAg阳性5例. 身体状况良好, 肝功能储备良好. 术前B超及CT或核磁共振检查示肿瘤大小直径为3-13 cm, 单个结节者6例, 2个结节者3例, 3个结节者1例, 均未发现门静脉及肝静脉主干被侵及; 肝外均为孤立转移灶, 包括肺转移4例、肾上腺转移2例、腹壁切口转移1例、隔膜转移2例、胆总管转移1例. 术前诊断按TNM分期均为IV期. 肝内复发同时肝外转移5例, 肝内复发后肝外转移3例, 肝外转移后肝内复发2例. 均行肝外孤立转移灶切除联合肝内复发灶切除或局部治疗的积极手术治疗策略(具体情况见表1). 所有10位患者无手术相关死亡, 术后均经保肝等治疗, 1例出现右侧中等量胸腔积液, 行胸腔穿刺后治愈, 无1例出现术后肝肾功能衰竭、腹腔内大出血及感染等严重并发症, 均以临床治愈或好转出院. 肝外癌灶术后病例证实均为HCC转移. 肝外转移灶切除术后辅助全身化疗5例, 其余5例未予辅助治疗. 肝内复发灶采用TACE6例, TACE+PEI2例, 肝再切除术+TACE2例, TACE平均5次(2-13次). 肝内复发灶联合肝外转移灶同时切除2例.

**1.2.2 保守治疗组:** 48例, 男33例, 女15例, 年龄22-71, 合并肝硬化26例, HBsAg阳性34例. 行为状态差或肝功能不良. 术前B超及CT或核磁共振检查示肿瘤大小直径为3-17 cm, 单个结节者27例, 2个结节者13例, 3个结节者或以上者8例, 其中15例同时伴有门静脉癌栓形成; 其中肺转移17例、腹部淋巴结转移12、骨转移7例、脑转移4例、腹腔种植转移4例、切口转移4例. TNM分期均为IV期. 肝内复发同时肝外转移28例, 肝内复发后肝外转移18例, 肝外转移后肝内复发2例. 根据病情采用保守治疗方法, 即: 肝内复发灶采取局部治疗(TACE或PEI)联合或不联合肝外多发转移灶全身化疗的方法. 局部治疗12例, 全身化疗16例, 局部治疗联合全身化疗20例. 出现发热、上腹不适、恶心等表现时经对症处理3-7天缓解, 转氨酶一过性升高多数1 wk后缓解. 2例全身化疗联合局部化疗患者由于出现严重的骨髓抑制死亡. 对两组患者的复发后生存时间进行比较.

**统计学处理** 采用SPSS16.0软件. Kaplan-Meier进行生存分析, log-rank检验进行组间比较.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## ■ 研究前沿

随着近年来影像学检查方法和外科观念、技术、围手术期处理的改进, 现多主张根据病变复发的部位、大小以及全身情况选择恰当的治疗方法, 可提高复发性肝癌的治疗效果.

## ■ 相关报道

罗祥基等对11例肝内复发联合肝外转移患者行再切除术获得了满意效果, 中位生存时间在43 mo. 认为肝癌术后一经出现肝外转移, 不因放弃手术切除的机会, 及时切除单发的肝外转移灶, 甚至当复发性肝癌涉及邻近脏器如结肠、胃、膈肌等, 连同累及脏器做整块切除, 均有益于提高患者生存时间.

## ■创新盘点

本文回顾性分析10例肝癌根治术后肝内复发伴肝外孤立转移灶病例的外科治疗情况,并与行保守治疗的肝癌根治术后肝内复发伴肝外转移的48例患者的生存情况进行比较,认为对严格选择的病例采取积极手术治疗策略能够达到延长患者生存时间的目的。

表 1 积极手术治疗组10位患者临床资料

患者序号	性别	年龄(岁)	首次手术方式	无病生存时间(mo)	肝内复发/肝外转移顺序	肝外转移部位	肝外复发治疗方法	肝内复发治疗方法	复发后生存时间(mo)	结果
1	男	61	左半肝切除术	4.0	同时	膈膜	转移灶切除术	TACE+PEI	18.0	死亡
2	男	47	右半肝切除术	9.0	肝外转移后肝内复发	左肾上腺	左肾上腺切除术	TACE	75.0	死亡
3	男	43	左半肝切除术	1.0	同时	肺脏	肺叶切除术	TACE	40.0	死亡
4	男	57	肝V段+左外叶切除术	7.0	肝内复发后肝外转移	肝总管	转移灶切除+肝管空肠吻合术	TACE	45.0	死亡
5	女	37	左三叶切除术	5.0	肝内复发后肝外转移	腹壁	腹壁转移灶切除术	TACE+PEI	60.0	死亡
6	男	65	右后叶肝切除	4.0	肝内复发后肝外转移	左肾上腺	做肾上腺切除术	TACE+肝再切除术	50.0	死亡
7	男	48	左三叶切除术	25.0	肝内复发后肝外转移	膈膜	转移灶切除术	TACE	43.0	死亡
8	男	45	左三叶切除术	3.0	肝内复发后肝外转移	肺脏	肺叶切除术	TACE	90.0	死亡
9	男	27	右半肝切除术	10.0	肝外转移后肝内复发	肺脏	肺叶切除术	TACE	27.0	死亡
10	男	40	肝部分切除术	18.0	同时	肺脏	肺楔形切除术	TACE+肝再切除术	29.0	存活

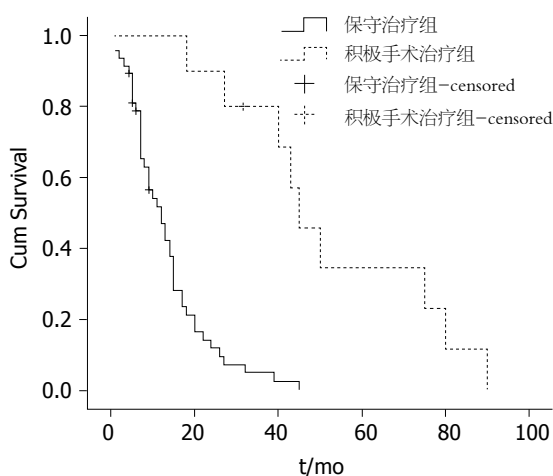


图 1 积极手术治疗组和保守治疗组复发后生存曲线(K-M法)

## 2 结果

两组患者均获随访。积极手术治疗组10例,患者1年内无死亡,3年内3人因肿瘤再次复发死亡,现生存1例,生存时间为18.0-90.0 mo。保守治疗组48例患者在1年内死亡28人,3年内死亡46人(其中包括1年内死亡人数),现仍生存者4例,生存时间为1-45 mo。行Kaplan-Meier生存分析显示积极手术治疗组复发后中位生存时间为45.0 mo  $\pm$  5.1 mo,保守治疗组复发后中位生存时间为

12.0 mo  $\pm$  2.1 mo,采用Log-rank检验对两组生存时间进行比较,发现积极手术治疗组的生存时间显著长于保守治疗组( $P < 0.01$ )。积极手术治疗组复发后生存率(1年100%, 3年79%, 5年34%)显著好于保守治疗组(1年52%, 3年5%, 5年0%)(图1)。

## 3 讨论

外科手术是治疗原发性肝癌首选方法,但肝癌根治术后的低复发率阻碍了患者的长期生存。目前,尚无稳定有效的辅助治疗来预防HCC切除术后复发<sup>[11,12]</sup>。所以,就现阶段而言,HCC根治术后复发的积极治疗是延长患者复发后生存时间的一可行办法。对于肝内局部复发灶,肝癌再次手术切除被广泛认可。有报道其5年生存率可达60%-70%<sup>[13]</sup>,局部治疗(TACE、PEI、RFA等)亦具有一定疗效,其5年生存率可达为20%-30%<sup>[14-16]</sup>。近年来许多研究已经证实,对严格选择的患者采取切除孤立远处转移灶(肺、肾上腺、腹膜腔、腹壁)的积极的治疗方法可有效延长其生存时间<sup>[17]</sup>。然而,当面对肝内复发同时或异时伴有肝外转移的患者时,目前临床上仍多采取TACE、全身化疗、细胞生物治疗等非手术方法,甚至有部分作者认为肝内复发合并

肝外转移是任何治疗的禁忌症。随着近年来影像学检查方法以及外科观念、技术、围手术期处理的改进,越来越多的学者认为对严格选择的患者采取肝外孤立转移灶切除联合肝内转移灶切除或局部治疗的积极治疗策略是一可行的方法。

本实验证实对于严格选择的病例采取积极手术治疗策略,不管肝内肝外转移是同时还是异时,都可延长患者生存时间。所有10例患者无手术相关死亡,术后除1例患者出现右侧中等量胸腔积液,行胸腔穿刺后治愈,未出现术后肝肾功能衰竭、腹腔内大出血及腹腔感染等严重并发症,均以临床治愈或好转出院。分析其原因可能与术前积极手术治疗组患者的严格选择有关,该组10例患者术前全身情况良好,均为Child A级,残肝内复发灶在3个以下者占9/10例,前次手术均未发现门静脉癌栓,且远隔脏器的转移复发灶均能一次性切除。而采取非手术方法的48例患者由于行为状态差或肝功能不良,治疗的依从性欠佳,中位生存时间仅12.0 mo $\pm$ 2.1 mo,复发后3年生存率为5%,5年生存率为0%。

虽然本实验显示采取积极手术治疗策略较保守治疗组能明显提高生存时间(复发后中位生存时间为45.0 mo $\pm$ 5.1 mo vs 12.0 mo $\pm$ 2.1 mo),但非手术治疗组有着更广泛的肝外转移或更差的肝功能。所以两组之间无直接可比性。而且第一组好的结果毋庸置疑反映了在肿瘤载量与生物活性上的选择偏倚,即那些肝外孤立转移灶的患者很可能肿瘤生物活性更趋于好的方面和有更好的预后。但是保守治疗组普遍差的预后和严格选择患者积极治疗后长的生存时间仍然提示积极手术治疗策略的有效性。本研究10位患者入院前原发肿瘤平均直径为10 cm,肿瘤TNM分期均为晚期的(IV期)。积极治疗后的中位生存时间为45.0 mo $\pm$ 5.1 mo,1、3、5年生存率分别为100%、79%、34%,取得良好疗效。但其结论尚需进一步的随机对照实验来证明。为了能够对以上患者实施积极治疗,肝癌根治术后规律随访早期发现肝癌转移至关重要,当发现孤立转移灶后全面的影像学检查可以排除其他远处转移。本课题的10例患者均通过CT来达到此目的。近来有研究证明正电子发射断层扫描(PET)可以发现被CT遗漏的转移病灶。综合以上分析,我们认为对于严格选择的病例采取肝外孤立转移灶切除联合肝内复发灶切除或局部治疗的积极手术治疗策略能够达到延长患者生存

时间的目的。

#### 4 参考文献

- Shah SA, Greig PD, Gallinger S, Cattral MS, Dixon E, Kim RD, Taylor BR, Grant DR, Vollmer CM. Factors associated with early recurrence after resection for hepatocellular carcinoma and outcomes. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 275-283
- Cha C, Fong Y, Jarnagin WR, Blumgart LH, DeMatteo RP. Predictors and patterns of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 753-758
- Itamoto T, Nakahara H, Amano H, Kohashi T, Ohdan H, Tashiro H, Asahara T. Repeat hepatectomy for recurrent hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2007; 141: 589-597
- Hirokawa F, Hayashi M, Miyamoto Y, Asakuma M, Shimizu T, Komeda K, Inoue Y, Tanigawa N. Appropriate treatment strategy for intrahepatic recurrence after curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 1182-1187
- Okuwaki Y, Nakazawa T, Kokubu S, Hidaka H, Tanaka Y, Takada J, Watanabe M, Shibuya A, Minamino T, Saigenji K. Repeat radiofrequency ablation provides survival benefit in patients with intrahepatic distant recurrence of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2747-2753
- Eguchi S, Matsumoto S, Hamasaki K, Takatsuki M, Hidaka M, Tajima Y, Sakamoto I, Kanematsu T. Re-evaluation of lipiodolized transarterial chemoembolization therapy for intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 627-633
- Exploring the role of resection of extrahepatic metastases from hepatocellular carcinoma. *Surg Oncol* 2011 Mar 10. [Epub ahead of print]
- Ueda J, Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Mineta S, Yoshioka M, Hirakata A, Kawano Y, Kanda T, Uchida E. Resection of hepatocellular carcinoma recurring in the diaphragm after right hepatic lobectomy. *J Nihon Med Sch* 2011; 78: 30-33
- Aramaki M, Kawano K, Kai T, Yokoyama H, Morii Y, Sasaki A, Yoshida T, Kitano S. Treatment for extrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma following successful hepatic resection. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2931-2934
- 罗祥基, 陈汉, 吴孟超, 姜小清, 曲增强, 胡雷. 原发性肝癌术后肝内复发与肝外转移再手术切除疗效分析. *中国肿瘤* 2005; 14: 158-160
- Thomas MB. Systemic therapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer J* 2008; 14: 123-127
- Sun HC, Tang ZY. Preventive treatments for recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma--a literature review of randomized control trials. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 635-640
- Ochiai T, Sonoyama T, Kikuchi S, Konishi H, Kitagawa M, Okayama T, Ichikawa D, Ueda Y, Otsuji E, Yamagishi H. Results of repeated hepatectomy for recurrent hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 858-861
- Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Yoo BC, Paik SW, Joh JW, Park CK. Percutaneous radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy: long-term results and prognostic factors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2319-2329
- Iwata K, Sohda T, Nishizawa S, Nakane H, Yoshi-

#### ■应用要点

本文从肝外转移的程度入手,选择肝癌根治术后肝内复发同时或异时伴肝外孤立转移灶的患者,采取肝内复发灶的切除或局部治疗联合肝外孤立灶的手术治疗,取得良好的手术效果,为肝癌根治术后肝内复发同时或异时伴肝外孤立转移灶的患者带来一种新的治疗理念。

## ■同行评价

本研究设计尚合理,研究方法新颖,有一定的临床指导意义.

kane M, Koyama Y, Morihara D, Takeyama Y, Uehara Y, Kitamura Y, Irie M, Syakadou S, Yokoyama M, Kamimura S, Watanabe H, Sakisaka S. Postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma: Comparison between percutaneous ethanol injection and radiofrequency ablation. *Hepatol Res* 2006; 36: 143-148

16 Chen XH, Zhang BH, Qiu SJ, Fan J, Ren ZG, Xia JL, Wang YH, Gan YH, Yin X, Ye SL. [Effect of postoperative adjuvant transarterial chemoembolization on late recurrence of hepatocellular carcinoma after radical resection]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2010; 18: 599-603

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## ● 消息 ●

## 招聘生物医学编辑部主任

**本刊讯** 百世登出版集团(Baishideng Publishing Group Co., Limited, BPG)已经为各位编辑部主任搭建好整体架构,希望培养出对编辑与出版行业真正感兴趣甚至愿意将其作为终身事业的专业人才,成为BPG的核心人物.欢迎应届毕业生加盟BPG团队,请将您的简历E-mail发至: j.l.li@wjgnet.com

## ■ 工作职责

- 1 贯彻执行员工手册、编辑手册、编委手册和作者手册.
- 2 根据作者指南及学科发展动向和读者的需求,制订期刊的总体发展规划,负责编辑、出版、发行和经营管理.
- 3 策划年度编委会成员的社论和专题亮点等栏目约稿,并按照计划负责监督落实.
- 4 负责期刊同行评议和定稿会,按期编排、加工,发排稿件,发排后参与校对或审核校样、核红、签字付印.
- 5 组织期刊印刷版或网络版出版后审读,发现问题及时修改.

## ■ 职位要求

硕士及以上学历,具有生物医学专业学科背景及丰富的写作和发表生物医学文章者优先录用.

## ■ 薪资待遇面议

## ■ 培训流程

第一步学习手册;第二步编务;第三步排版制作;第四步编辑;第五步投稿办公系统操作;第六步期刊网络系统学习;第七步期刊管理培训;第八步BPG管理委员会考核;第九步考核通过后正式签订劳动合同,并颁发编辑部主任聘任书.



# 上海松江地区胆囊良性疾病的流行病学调查30 901例

孙晓敏, 徐萍, 马志红, 程晓松, 朱佳莉, 何桂钧, 任大宾

孙晓敏, 徐萍, 朱佳莉, 何桂钧, 任大宾, 上海交通大学附属  
第一人民医院松江分院消化科 上海市 201600  
马志红, 程晓松, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院  
体检中心 上海市 201600

作者贡献分布: 孙晓敏为主要贡献者; 此课题由孙晓敏设计; 研  
究过程由徐萍、马志红、程晓松、朱佳莉、何桂钧及任大宾协  
助完成; 数据分析和论文撰写由孙晓敏完成。

通讯作者: 孙晓敏, 副教授, 副主任医师, 201600, 上海市, 上海  
交通大学附属第一人民医院松江分院消化科。

电话: 021-67720451

收稿日期: 2011-07-26 修回日期: 2011-09-15

接受日期: 2011-09-25 在线出版日期: 2011-09-28

## An epidemiological survey of benign gallbladder disease in Songjiang District of Shanghai, China

Xiao-Min Sun, Ping Xu, Zhi-Hong Ma,  
Xiao-Song Cheng, Jia-Li Zhu, Gui-Jun He, Da-Bin Ren

Xiao-Min Sun, Ping Xu, Jia-Li Zhu, Gui-Jun He, Da-Bin  
Ren, Department of Gastroenterology, Songjiang Branch of  
the Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong  
University, Shanghai 201600, China

Zhi-Hong Ma, Xiao-Song Cheng, Department of Physical  
Examination, Songjiang Branch of the Affiliated First Peo-  
ple's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai  
201600, China

Correspondence to: Associate Professor Xiao-Min Sun,  
Department of Gastroenterology, Songjiang Branch of the  
Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong Uni-  
versity, Shanghai 201600, China. sxmgclcy@163.com.

Received: 2011-07-26 Revised: 2011-09-15

Accepted: 2011-09-25 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the epidemiological charac-  
teristics of benign gallbladder disease in Songji-  
ang District of Shanghai, China.

**METHODS:** The clinical data for 30 901 patients  
with benign gallbladder disease who underwent  
physical examination at our hospital in 2009  
were retrospectively analyzed. The relationship  
of cholelithiasis with obesity, blood sugar, blood  
lipid was analyzed.

**RESULTS:** The incidence of benign gallblad-  
der disease was 15.87%, increasing with the age.  
The male/female ratio was 1.252. Gallbladder  
stones, polypoid lesions of gallbladder (PLG)

and cholecystitis were common benign gallblad-  
der disease, with an incidence of 5.94%, 5.23%  
and 3.91%, respectively. The sex ratio of patients  
with these three diseases were 0.998 : 1, 1.678 : 1  
and 1.518 : 1, respectively. The incidence of gall-  
bladder stone increased with age, while that of  
PLG decreased with age. Both diseases had little  
relationship with sex. The percentages of pa-  
tients with cholelithiasis who had obesity, high  
blood sugar, high triglycerides and low high-  
density lipoprotein were 10.73%, 21.73%, 19.66%  
and 2.07%, respectively, while the percentages  
for non-gallstone patients were 7.04%, 13.37%,  
16.56% and 1.45%, with significant differences  
between the two groups (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The prevalence of benign gall-  
bladder disease in Songjiang District increases  
with age. Gallstones and PLG are common be-  
nign gallbladder disease. Obesity, high blood  
sugar, high triglycerides, low high-density  
lipoprotein are risk factors for gallstones. Cho-  
lesterol has no significant correlation with the  
incidence of cholelithiasis.

**Key Words:** Gallbladder disease; Cholelithiasis;  
Metabolic factors

Sun XM, Xu P, Ma ZH, Cheng XS, Zhu JL, He GJ, Ren DB.  
An epidemiological survey of benign gallbladder disease  
in Songjiang District of Shanghai, China. *Shijie Huaren  
Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2881-2885

## 摘要

**目的:** 研究上海松江地区胆囊良性疾病的流  
行病学特点。

**方法:** 回顾性分析2009年全年在我院经腹部B  
超检查、血液生化检测的30 901例体检人群,  
对胆囊良性疾病进行分析, 并对胆石症与肥  
胖、血糖、血脂间的关系进行探讨。

**结果:** 胆囊良性疾病患病率为15.87%, 男女之  
比为1.252 : 1, 其中胆囊结石、胆囊息肉样病  
变、胆囊炎最为常见, 患病率分别为5.94%、  
5.23%、3.91%, 男女之比分别为0.998 : 1、

## ■背景资料

随着人们生活水  
平的不断提高、  
饮食结构的改变,  
胆囊疾病发病率  
不断增加。不同国  
家、一个国家不  
同地区胆囊疾病  
发病率一直差异  
较大。本研究资料  
显示上海松江地  
区胆囊良性疾病  
发病的流行病学  
特点。

## ■同行评议者

宋振顺, 教授, 中  
国人民解放军第  
四军医大学西京  
医院肝胆外科; 韩  
天权, 教授, 上海  
交通大学医学院  
附属瑞金医院外  
科、上海消化外  
科研究所

## ■研究前沿

进行胆囊良性疾病流行病学研究,进一步探讨其流行病学特征,针对性地提供胆囊疾病防治所需相关流行病学资料,已成为当前胆囊疾病研究的重要课题。

1.678:1、1.518:1。胆囊良性疾病患病率随年龄增长而上升,其中胆囊结石患病率随年龄增长而增加,胆囊息肉样病变患病率随年龄增长而减少,均与性别关系不大。胆石症患者中肥胖、高血糖、高三酰甘油以及高密度脂蛋白偏低分别占10.73%、21.73%、19.66%和2.07%,而在非胆石症患者中则分别占7.04%、13.37%、16.56%和1.45%,差异有显著性( $P<0.05$ )。

**结论:**上海松江地区胆囊良性疾病患病率随年龄增长而增加,男性患病率略高于女性。其中,胆囊结石和胆囊息肉样病变所占比例最高,前者患病率随年龄增长而增加,后者则相反。肥胖、高血糖、高三酰甘油、低高密度脂蛋白是胆石症的危险因素,而胆固醇与胆石症的发生无明显相关性。

**关键词:** 胆囊疾病; 胆石症; 代谢因素

孙晓敏, 徐萍, 马志红, 程晓松, 朱佳莉, 何桂钧, 任大宾。上海松江地区胆囊良性疾病流行病学调查30 901例。世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2881-2885

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2881.asp>

## 0 引言

胆囊良性疾病主要指胆囊先天性异常、胆囊息肉样病变及各类胆囊炎、胆囊结石,是消化系统常见病。胆结石可引起剧烈的胆绞痛,严重者可发生胆囊化脓、穿孔、黄疸、胰腺炎等,甚至发生败血症、休克、死亡,严重危害人类的健康。胆囊息肉样病变部分为癌前病变,甚至已癌变,需及时诊治。因此,进行胆囊良性疾病流行病学研究,进一步探讨其流行病学特征,针对性地提供胆囊疾病防治所需相关流行病学资料,已成为当前胆囊疾病研究的重要课题。本课题拟通过对上海松江地区年度体检资料进行回顾性分析,调查胆囊良性疾病的发生情况以及胆石症的代谢危险因素,以期对松江地区胆囊疾患防治工作提供科学依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2010-01-01/12-31, 我院对上海松江地区离退休干部、机关工作人员、国营企业职工、学校和医院职工等群体进行体检,对彩色多普勒B超检查出胆囊良性疾病者进行回顾性分析,同时对血液生化检测进行分析。

**1.2 方法** 体检人数共30 901人,其中男15 864人,女15 037人,年龄21-94(中位年龄46-47)岁。按

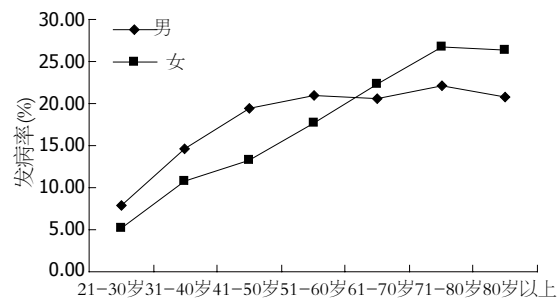


图1 胆囊良性疾病患病率和年龄的关系。

每10岁为一龄组,分别统计胆囊良性疾病:胆囊结石、胆囊炎、胆囊息肉样病变的发病情况,并进行相关分析。

**统计学处理** 统计数据采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

**2.1 胆囊良性疾病在体检人群不同年龄组的发病情况** 胆囊良性疾病患病率为15.87%,其中胆囊结石患病率为5.94%,男女之比为0.998:1;胆囊息肉样病变患病率5.23%,男女之比为1.678:1(表1, 2)。胆囊结石、胆囊息肉样病变、胆囊炎为最常见的3种胆囊良性疾病。女性中,胆囊结石在胆囊良性疾病中比例最高,占42.57%;胆囊息肉样病变次之,占27.65%。男性中,胆囊息肉样病变在胆囊良性疾病中比例最高,占37.03%;胆囊结石次之,占33.58%。

**2.2 胆囊良性疾病患病率与性别、年龄的关系** 本研究发现胆囊良性疾病患病率为15.87%,男女之比为1.252:1,其中胆囊结石、胆囊炎、胆囊息肉样最为常见,患病率分别为5.94%、3.91%、5.23%,男女之比分别为0.998:1、1.518:1、1.678:1。胆囊结石发病率男女差别不大,胆囊息肉样病变、胆囊炎发病率则为男性高于女性(表3, 图1, 2)。胆囊良性疾病患病率随年龄增长而上升,其中胆囊结石患病率随年龄增加而增加,胆囊息肉样病变患病率随年龄增加而减少,均与性别关系不大。胆囊炎患病率与年龄、性别均无关。

**2.3 胆石症与肥胖、血脂、血糖等代谢因素的关系** 体质指数(body mass index, BMI)大于28为肥胖。胆石症患者中肥胖者、高血糖者、高三酰甘油以及高密度脂蛋白偏低者分别占10.73%、21.73%、19.66%和2.07%,而在非胆石症患者中则分别占7.04%、13.37%、16.56%和1.45%,差异有显著性( $P<0.05$ , 表4)。

表 1 胆囊良性疾病在男性体检人群各年龄组的发病情况

年龄组(岁)	体检(n)	胆囊良性疾病n(%)	胆囊结石n(1/% <sup>2</sup> )	胆囊炎n(1/% <sup>2</sup> )	胆囊息肉样病变n(1/% <sup>2</sup> )
21-30	2 057	163(7.92)	20(12.27/0.97)	36(22.08/1.75)	107(65.64/5.20)
31-40	2 935	430(14.65)	79(18.37/2.69)	90(20.93/3.07)	261(60.70/8.89)
41-50	3 304	604(19.37)	180(29.80/5.45)	142(23.51/4.30)	282(46.69/8.54)
51-60	2 993	629(21.02)	219(34.82/7.32)	282(44.83/9.42)	174(27.66/5.81)
61-70	3 074	634(20.62)	274(43.22/8.91)	98(15.46/3.19)	159(25.08/5.17)
71-80	1 304	289(22.16)	138(47.75/10.58)	91(31.49/6.98)	47(16.26/3.60)
>81	197	41(20.81)	27(65.85/13.71)	5(12.20/2.54)	3(7.32/1.52)
合计	15 864	2 790(17.59)	937(33.58/5.91)	744(26.67/4.69)	1 033(37.03/6.51)

<sup>1</sup>: 占胆囊良性患者数的百分比; <sup>2</sup>: 占体检人数的百分比。

表 2 胆囊良性疾病在女性体检人群各年龄组的发病情况

年龄组(岁)	体检(n)	胆囊良性疾病n(%)	胆囊结石n(1/% <sup>2</sup> )	胆囊炎n(1/% <sup>2</sup> )	胆囊息肉样病变n(1/% <sup>2</sup> )
21-30	3 029	160(5.28)	42(26.25/1.39)	27(16.88/0.89)	86(53.75/2.84)
31-40	3 800	409(10.76)	99(24.21/2.61)	62(15.16/1.63)	182(44.50/4.79)
41-50	2 517	335(13.31)	118(35.22/4.69)	103(31.04/4.09)	111(33.13/4.41)
51-60	2 539	457(17.62)	216(47.26/8.33)	121(26.48/4.77)	114(24.95/4.49)
61-70	2 021	450(22.27)	226(50.27/11.18)	106(23.56/5.24)	72(16.00/3.56)
71-80	934	249(26.66)	163(65.46/17.45)	31(12.45/3.32)	16(6.43/1.71)
>81	197	52(26.40)	35(67.31/17.77)	14(26.92/7.11)	3(5.77/1.52)
合计	15 037	2 112(14.05)	899(42.57/5.98)	464(21.97/3.09)	584(27.65/3.88)

<sup>1</sup>: 占胆囊良性患者数的百分比; <sup>2</sup>: 体检人数的百分比。

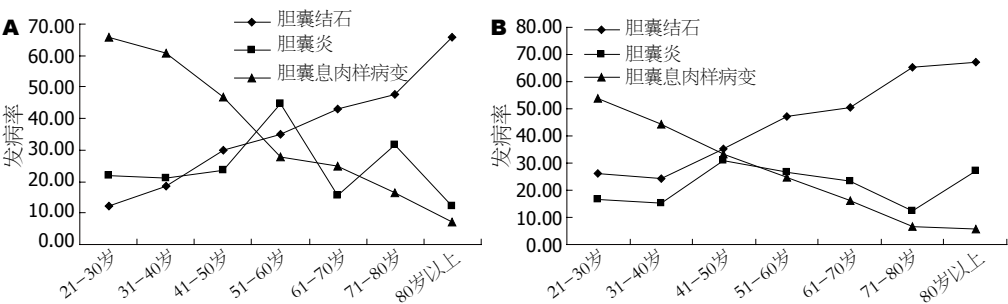


图 2 男女性3种胆囊良性疾病患病率与年龄的关系. A: 男性; B: 女性。

### 3 讨论

随着人们生活水平的不断提高、饮食结构的改变, 胆囊疾病发病率不断增加<sup>[1-4]</sup>。不同国家、一个国家不同地区胆囊疾病发病率一直差异较大。本研究资料显示上海松江地区胆囊良性疾病发病的流行病学特点。

流行病学研究表明, 近年胆石症患者急剧增加, 每十年增加约2倍。美国胆石症患者2 260万人, 占全国总人口的10%; 德国胆石症患者占10%-15%。我国调查资料显示, 胆石症的总检出

率为6.6%, 不同地区的检出率在3%-11%之间<sup>[5]</sup>。既往资料还表明胆囊结石在女性多见, 这可能与女性的经产次数、肥胖等因素有关<sup>[6-8]</sup>。但随着饮食结构的改变, 男性胆固醇结石发生率上升, 而女性因经产次数的明显减少和主动减肥, 胆结石发生率相对减少, 所以胆囊结石男女性别差异已不大。本研究结果显示, 胆囊结石患病率为5.94%, 男女之比为0.998:1, 无明显性别差异。

尽管胆囊结石的形成机制复杂而多样, 但胆囊的运动功能受损在胆结石的发病中起关键作

#### ■ 相关报道

有文献报道, 血脂与胆石症的关系密切, 胆石症患者的总胆固醇和低密度脂蛋白浓度较低, 而高密度脂蛋白、三酰甘油浓度与健康者无差异。

### ■同行评价

本文报道并分析了上海市松江地区的胆囊良性疾病流行病学状况,对进一步阐明我国近年来的疾病谱变化有积极意义,对指导卫生行政管理部门进行资源配置和医院提高相应的服务水平均有一定的指导意义。

表 3 胆囊良性疾病患病率与性别和年龄的关系

	患病率(%)	男:女	男	女
胆囊良性疾病	15.87	1.252: 1	随年龄增加而上升	随年龄增加而上升
胆结石	5.94	0.998: 1	随年龄增加而上升	随年龄增加而上升
胆囊炎	3.91	1.518: 1	51-60岁最高	61-70岁最高
胆囊息肉样病变	5.23	1.678: 1	随年龄增长而下降	随年龄增长而下降

表 4 胆石症与肥胖、血脂、血糖等代谢因素的关系  $n(\%)$

	胆石症( $n = 1\ 836$ )	非胆石症( $n = 29\ 065$ )	$\chi^2$ 值	$P$ 值
肥胖	197(10.73)	2\ 044(7.03)	34.990	<0.01
高血糖	399(21.73)	3\ 882(13.36)	101.510	<0.01
高胆固醇	721(39.27)	11\ 441(39.36)	0.006	>0.05
高三酰甘油	361(19.66)	4\ 813(16.56)	11.830	<0.01
高密度脂蛋白偏低	38(2.07)	421(1.45)	4.520	<0.05
低密度脂蛋白偏高	30(1.63)	420(1.45)	0.440	>0.05

用<sup>[9]</sup>。随着年龄的增长,胆囊功能减退,尤其是运动功能减退。本资料显示胆囊结石患病率随年龄增加而增加,或许与此有关。国外研究也有类似报道<sup>[10]</sup>。

胆囊息肉为最主要的胆囊息肉样病变(polypoid lesion of gallbladder, PLG),文献报道PLG发病率差别很大,大宗资料统计的人群发病率多为5%以上,且男性居多。国内大宗流行病学报告在常规体检人群中PLG的检出率为0.9%<sup>[11]</sup>。我们的资料显示胆囊息肉样病变患病率为5.23%,男女之比1.518:1,与文献报道大致一致。在胆囊息肉样病变中胆固醇性息肉所占比例最多,但尚未见有大宗的流行病学统计资料报道,需进一步调查研究。对于经病理证实的胆固醇性息肉,迄今尚未见癌变报道。胆囊炎症增生性息肉并非真正意义上的肿瘤,属于假瘤,无癌变记载。胆囊腺肌症国外发病率为0.8%-33.4%,国内报道为2.5%-2.8%,有恶变报道,被认为是一种癌前病变,手术治疗应持积极态度。腺瘤样息肉是PLG最重要的病变,为癌前病变,癌变率为1.5%,一旦发现应立即手术治疗。

BMI是反应肥胖的一个常用指标,一般BMI $\geq 28$ 定义为肥胖,肥胖与胆石症的关系比较明确,肥胖者胆囊的收缩性发生改变是导致危险性增加的主要因素<sup>[12]</sup>。我们的统计分析结果表明,肥胖者中胆石症发病率较高,说明肥胖为胆石症的危险因素。

糖尿患者的胆石患病率也明显高于非糖尿病患者群,食用高脂饮食或直接灌注缩胆囊素

后,糖尿病患者胆汁的排出量减少,认为糖尿病患者胆囊张力低,使胆囊空腹容量较大,收缩力降低,从而促使胆石的形成<sup>[13]</sup>。本研究资料表明胆石症患者中高血糖比例增高,说明高血糖为胆石症的危险因素。

有文献报道,血脂与胆石症的关系密切,胆石症患者的总胆固醇和低密度脂蛋白浓度较低,而高密度脂蛋白、三酰甘油浓度与健康者无差异<sup>[14-17]</sup>。而我们的资料发现三酰甘油升高和高密度脂蛋白降低与胆石症发生有关( $P<0.05$ ),提示高三酰甘油和高密度脂蛋白降低为胆石症的危险因素。

总之,上海松江地区胆囊良性疾病患病率随年龄增长而增加,其中胆囊结石和胆囊息肉样病变所占比例最高,前者女性多发,发病率随年龄增长而上升;后者则男性多发,发病率随年龄增长而下降。肥胖、高血糖、高三酰甘油、低高密度脂蛋白是胆石症的危险因素,而胆固醇与胆石症的发生无明显相关性。上述流行病学特点需引起重视,以提高对本地区胆囊良性疾病认识,有针对性地做好本地区胆石症的临床防治工作。同时研究还发现我国胆囊良性疾病,尤其是非结石性胆囊良性疾病的研究现状存在明显不足:命名、分类缺乏统一标准,缺乏大规模的临床流行病学资料,分子生物学及遗传学研究落后于其他疾病,相关内容陈旧,诊治缺乏公认的标准。这些均需进一步的研究。



## 4 参考文献

- 1 庄勋, 李立明. 胆石症危险因素的流行病学研究. 中华流行病学杂志 1999; 20: 181-183
- 2 方东生, 李李, 熊奇如. 膳食因素与胆囊结石症关联的研究. 疾病控制杂志 2000; 4: 337-339
- 3 汪继东. 97例胆结石危险因素的病例对照研究. 疾病控制杂志 2000; 4: 150-151
- 4 施健, 刘苏, 谢渭芬. 我国胆石症发病危险因素的Meta分析. 胃肠病学 2005; 10: 217-222
- 5 黄志强, 祝学光. 我国胆石症十年来的变迁. 中华外科杂志 1995; 1: 7-9
- 6 张冬梅, 唐根富, 童清平. 胆石症危险因素的病例对照研究. 疾病控制杂志 2002; 6: 233-235
- 7 庄勋, 李立明. 太仓农村地区女性胆囊结石危险因素病例对照研究. 中华流行病学杂志 2000; 21: 44-47
- 8 陈怡, 许晓红. 合肥地区女性胆石症高危因素病例对照研究. 安徽预防医学杂志 2000; 6: 246-247
- 9 Everson GT. Gallbladder function in gallstone disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 85-110
- 10 Festi D, Dormi A, Capodicasa S, Staniscia T, Attili AF, Loria P, Pazzi P, Mazzella G, Sama C, Roda E, Colecchia A. Incidence of gallstone disease in Italy: results from a multicenter, population-based Italian study (the MICOL project). *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5282-5289
- 11 周连锁, 石景森, 郝秀原, 卢云, 刘刚, 韩文胜. 胆囊息肉样病变612例临床分析. 世界华人消化杂志 1998; 6: 260-262
- 12 谈永飞, 杨松, 喻荣彬, 彭俊, 周家仪, 沈靖, 姚才良. 胆石病环境病因的临床流行病学研究. 中华流行病学杂志 1999; 20: 381-384
- 13 黄道林, 张长乐, 邹卫龙, 张亚. 2型糖尿病合并胆石症与血糖胰岛素和脂类代谢的关系. 中国医师杂志 2002; 4: 1220-1221
- 14 刘嘉林, 肖路加, 林琦远. 低密度脂蛋白受体基因Fh-II多态性与胆囊结石病关系研究. 中华医学遗传学杂志 2001; 18: 155-157
- 15 梁西, 梁艺华, 李清福, 朱玲, 杨清华. 高脂血症与胆石症关系的相关性调查. 临床肝胆病杂志 2002; 18: 377-378
- 16 程中应, 马增煌, 骆明波. 胆石症患者血脂含量测定及其临床意义. 中华中西医杂志 2003; 4: 1872
- 17 Shaffer EA. Epidemiology and risk factors for gallstone disease: has the paradigm changed in the 21st century? *Curr Gastroenterol Rep* 2005; 7: 132-140

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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



## 云南省慢性胰腺炎430例

耿琼梅, 张海蓉, 段丽平

### ■背景资料

慢性胰腺炎(CP)病因复杂, 随着人民生活方式的改变, CP的致病因素在不断变更, 不同国家和地区, 其致病因素与发病率均有较大的差异。云南省属多民族高原地区, 亦有其特点。

耿琼梅, 张海蓉, 段丽平, 昆明医学院第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

昆明医学院研究生创新基金资助项目, No. 2011N06

作者贡献分布: 张海蓉、段丽平及耿琼梅对此文贡献均等; 此课题由张海蓉、段丽平及耿琼梅设计; 研究过程由张海蓉、段丽平及耿琼梅操作完成; 数据分析由张海蓉与耿琼梅完成; 本论文写作由耿琼梅完成。

通讯作者: 张海蓉, 教授, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院消化内科。zhr919@sina.com  
电话: 0871-5324888-2532

收稿日期: 2011-06-16 修回日期: 2011-09-16

接受日期: 2011-09-20 在线出版日期: 2011-09-28

### Etiology of chronic pancreatitis: an analysis of 430 cases in Yunnan Province

Qiong-Mei Geng, Hai-Rong Zhang, Li-Ping Duan

Qiong-Mei Geng, Hai-Rong Zhang, Li-Ping Duan, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: the Graduate Student Innovation Foundation of Kunming Medical College, No. 2011N06

Correspondence to: Professor Hai-Rong Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zhr919@sina.com

Received: 2011-06-16 Revised: 2011-09-16

Accepted: 2011-09-20 Published online: 2011-09-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the etiology of chronic pancreatitis (CP) in Yunnan Province.

**METHODS:** The clinical data for 430 patients with CP who were treated in six provincial and municipal general hospitals in Yunnan Province between January 1, 2003 and December 31 were retrospectively analyzed to analyze etiological factors for this disease.

**RESULTS:** Of all patients, 37.2% suffered from biliary diseases, 42.1% were drinkers, 29.5% had pancreatic stone disease, 22.8% had acute pancreatitis, 30.2% had undergone abdominal surgery, and 66.0% had multiple etiological factors. The ratio of the number of patients with CP in the first four years to that in the second four years was 1 : 1.59. The percentages of patients

suffering from biliary diseases and drinkers accounted for 39.8% and 36.1% in the first four years and 35.6% and 45.8% in the second four years. The male to female ratio was 2.9 : 1. In male patients, alcohol is the main etiological factor (56.3%), while in females, biliary disease is the main etiological factor (32.7%).

**CONCLUSION:** Biliary disease and alcohol factor are the main etiological factors for CP in Yunnan Province. In recent years, alcohol has replaced biliary disease to become the major etiological factor for CP.

**Key Words:** Yunnan Province; Chronic pancreatitis; Etiology

Geng QM, Zhang HR, Duan LP. Etiology of chronic pancreatitis: an analysis of 430 cases in Yunnan Province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2886-2889

### 摘要

**目的:** 研究云南省慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)的病因。

**方法:** 回顾性分析云南省6所省市级综合医院(2003-01-01/2010-12-31)8年间确诊为CP的430例患者的病因构成及其随时间的变化, 以及性别间的差异。

**结果:** 430例CP患者的病因中, 胆系疾病占37.2%, 酒精占42.1%, 胰石症占29.5%, 急性胰腺炎占22.8%, 腹部手术史者占30.2%, 多因素致病者占66.0%。前4年与后4年CP患者之比为1 : 1.59, 其中患胆系疾病和饮精者分别占39.8%、36.1%; 35.6%、45.8%。男女之比为2.9 : 1, 男性患者以酒精为主, 占56.3%; 女性患者以胆道疾病为主, 占32.7%。

**结论:** 我省CP的病因中以胆系疾病和酒精因素为主。近年来酒精已取代胆道疾病成为CP的第一致病因素。胰石症、急性胰腺炎、腹部手术史所占比重亦大, 半数以上患者由多因素共同致病。

### ■同行评议者

谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院

**关键词:** 云南省, 慢性胰腺炎, 病因学

耿琼梅, 张海蓉, 段丽平. 云南省慢性胰腺炎430例. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2886-2889

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2886.asp>

**0 引言**

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)是胰腺内、外分泌功能进行性减退, 伴有难治性疼痛症状的疾病. CP的发病率地区间差别很大<sup>[1]</sup>, 欧美国家发病率较高, 我国发病率较低, 目前尚无准确完整的统计学资料. 从世界范围看, CP的发病率呈上升趋势<sup>[2]</sup>, 严重影响人们的生活和工作. 钱家鸣<sup>[3]</sup>总结了我国2001-2006年报道的与CP相关的文献, 得出与1990-2000年相比, 2001-2006年北京协和医院的CP患者增加了约1.66倍. CP病因复杂, 包括胆道疾病、酒精中毒、胰管梗阻、吸烟、遗传、自身免疫、营养不良、高钙、高脂、急性胰腺炎等. 云南省属多民族高原地区, 多年来未做过CP的任何流行病学调查, 亦无相关统计学资料及文献, 本研究旨在调查分析云南省近8年来6所省市级综合医院确诊为CP的430例患者的致病相关因素, 总结云南省多民族高原地区CP流行病学特征.

**1 材料和方法**

**1.1 材料** 2003-01-01/2010-12-31 8年间昆明医学院第一附属医院、昆明医学院第二附属医院、云南省第一人民医院、云南省第二人民医院(红会医院)、昆明市第一人民医院、延安医院6所省市级综合医院确诊为CP的住院患者.

**1.2 方法**

**1.2.1 入选标准:** 参照中华医学会消化病学分会慢性胰腺炎诊治指南(2005, 南京)CP的诊断标准入选: 在排除胰腺癌的基础上, 将下述4项作为CP的主要诊断依据: (1)典型的临床表现(腹痛、胰腺外分泌功能不全症状); (2)病理学检查; (3)影像学上有CP的胰胆改变征象; (4)实验室检查有胰腺外分泌功能不全依据. (1)为诊断所必须, (2)阳性可确诊, (1)+(3)可基本确诊, (1)+(4)为疑似患者.

**1.2.2 调查项目:** 根据国内外公认的CP病因相关因素设计调查表, 调查主要内容包括: 患者年龄、性别、吸烟、饮酒、胆系疾病、急性胰腺炎、胰石症、高钙血症、高脂血症、自身免疫性疾病、腹部手术史和胰腺外伤史.

**统计学处理** 计算各致病相关因素占全部

**表 1 男性CP患者年龄频数分布表**

年龄(岁)	<i>n</i>	频率(%)	累计频率(%)
7.00	7	2.2	2.2
15.00	22	6.9	9.1
30.00	66	20.6	29.7
40.00	92	28.8	58.4
50.00	55	17.2	75.6
60.00	49	15.3	90.9
70.00	29	9.1	100.0
合计	320	100.0	

**表 2 女性CP患者年龄频数分布表**

年龄(岁)	<i>n</i>	频率(%)	累计频率(%)
10.00	5	4.5	4.5
15.00	21	19.1	23.6
30.00	14	12.7	36.4
40.00	14	12.7	49.1
50.00	23	20.9	70.0
60.00	15	13.6	83.6
70.00	18	16.4	100.0
合计	110	100.0	

病例的比例. 用SPSS软件包进行统计分析, 相对数用率、比表示, 资料间的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 认为差异有统计学意义.

**2 结果**

**2.1 430例慢性胰腺炎患者的年龄分布特点** 男性患者420例, 以40-50岁为最多, 占28.8%; 其次为30-40岁、50-60岁、60-70岁, 分别占20.6%、17.2%、15.3%; 30岁以下、70岁以上较少. 女性患者110例, 以50-60岁为最多, 占20.9%; 其次为15-30岁、70岁以上, 分别占19.1%、16.4%; 15岁以下最少(表1, 2).

**2.2 慢性胰腺炎致病相关因素比例分析** 430例CP患者, 患胆系疾病者160例, 占37.2%; 饮酒者81例, 占42.1%; 胰石症者127例, 占29.5%; 急性胰腺炎者98例, 占22.8%; 腹部手术史者130例, 占30.2%; 吸烟者217例, 占50.5%; 原因不明者27例, 占6.3%; 多因素共同存在者占66%; 患高钙血症、自身免疫性疾病和胰胆管先天异常者均为0人(表3).

**2.3 不同时间慢性胰腺炎主要致病因素的变化** 以2006-12为界将时间分为前后两个阶段(各4年), 分析主要致病相关因素的变化. 前4年(2003-01-01/2006-12-31)病例数166例, 男117例,

**■研究前沿**

目前胆道疾病和酒精因素仍为CP的主要致病因素, 急性胰腺炎、胰石症、腹部手术史、遗传等所占比例参差不齐, 逐渐成为研究热点, 促进对CP发病机制的认识.

**■相关报道**

Takeyama等研究显示急性胰腺炎转变成CP频繁发生于酒精性胰腺炎患者, 他与起病初期存在的胰腺坏死成负相关. 提示酒精因素在CP病因中占有重要地位.

## ■应用要点

本研究发现云南省酒精性CP患者比例逐渐上升, 胰石症、急性胰腺炎、腹部手术史患者不容忽视, 有利于CP的诊断、治疗及预后, 同时为云南省和全国CP的流行病学研究提供资料。

表 3 430例CP患者致病相关因素分析表

致病相关因素	n	%
吸烟史	217	50.5
胆系疾病	160	37.2
酒精	181	42.1
胰石症	127	29.5
急性胰腺炎	98	22.8
高钙血症	0	0.0
高脂血症	42	9.8
腹部手术	130	30.2
胰腺外伤	21	2.6
自身免疫性疾病	0	0.0
胰胆管先天异常因素	0	0.0
原因不明	27	6.3
多因素	284	66.0

表 4 前后4年胆道疾病和酒精因素在CP病因中的变化 (n)

年限	胆道疾病		合计	酒精因素		合计
	有	无		有	无	
前4年	66	100	166	60	106	166
后4年	94	170	264	121	143	264
合计	160	270	430	181	249	430

女49例; 后4年(2007-01-01/2010-12-31)病例数264例, 男203例, 女61例。后4年确诊为CP的住院病例数与前4年之比为1.59:1, 主要表现为有饮酒史的病例数和构成比明显增加( $\chi^2 = 3.925$ ,  $P < 0.05$ ), 患胆系疾病者变化不大( $\chi^2 = 0.752$ ,  $P > 0.05$ ), 但构成比降低。前4年患胆系疾病者占39.8%, 饮酒者占36.1%, 胰石症者31.3%, 急性胰腺炎者25.9%。后4年胆系疾病者占35.6%, 饮酒者45.8%, 胰石症28.4%, 急性胰腺炎20.8%。

2.4 不同性别慢性胰腺炎主要致病因素的变化  
430例CP患者, 男320例, 女110例, 男女病例数之比为2.91:1。男性患者以酒精因素为主(56.3%), 其次为胆系疾病(38.8%)、胰石症(31.9%)、急性胰腺炎(23.8%)。女性患者以胆系疾病为主(32.7%), 其次为胰石症(22.7%)、急性胰腺炎(20.0%)、饮酒者最少(0.9%)。

## 3 讨论

CP是由于各种不同致病因素引起胰腺组织和功能的持续性损害, 其病理特征为胰腺纤维化。不同的国家和地区, 因受地理环境、经济状况和生活习惯等诸多因素的综合影响, 其致病因素与发病率均有较大的差异<sup>[4]</sup>。西方国家以酒精中

表 5 不同性别CP患者主要致病因素变化表

致病相关因素	男		女	
	n	%	n	%
胆系疾病	124	38.8	36	32.7
酒精	180	56.3	1	0.9
胰石症	102	31.9	25	22.7
急性胰腺炎	76	23.8	22	20.0

毒为主要病因, 占60%-90%<sup>[5]</sup>。我国CP的主要病因是胆道系统疾病, 其次才是酒精中毒<sup>[6]</sup>。各种胆系疾病损伤胰腺机制可能与各种炎症感染和结石致胆总管开口或胰胆管交界部狭窄与梗阻有关。有报道胆道阻塞引起的肝网状内皮系统功能障碍在胰腺病理过程中可能是协同因素<sup>[7]</sup>。酒精致CP主要是通过代谢产物的毒性作用、乙醇致敏作用、遗传易感性和胰腺星形细胞等途径<sup>[8]</sup>。

随着诊断技术的提高和人民生活方式的日益改变, CP患者日益增多。不同地区的相关研究显示近年来CP的病因学构成产生了变化。Fruiloni等<sup>[9]</sup>调查显示意大利2000-2005年酒精性CP不足50%。印度一个全国性研究显示特发性CP占60.2%, 酒精性CP占38.7%, 而热带性胰腺炎仅占3.8%<sup>[10]</sup>。研究显示酒精因素仍然是CP的主要致病因素<sup>[11]</sup>。由于各国饮酒人数增多, 酒精性CP已在世界范围内不断增加<sup>[12]</sup>。日本1994年进行的流行病学调查中CP发病率为5.4/10万人口<sup>[13]</sup>, 而2002的一个全国性的调查显示CP的发病率升为14.4/10万人, 其中男女之比为3.5:1<sup>[14]</sup>。在博洛尼亚, 酒精因素占CP致病因素80.4%<sup>[15]</sup>。2007年全国多中心慢性胰腺炎流行病学调查提示, 我国酒精因素已经替代胆道系统疾病成为慢性胰腺炎的第一致病因素<sup>[16]</sup>。酒精性CP与饮酒量和饮酒时间密切相关。本研究以2006年为界将430例CP患者平均分成2个阶段, 后4年的CP患者数是前4年的1.59倍, 主要表现为有饮酒史的病例数和构成比明显增加( $P < 0.05$ ), 但患胆系疾病者变化不大( $P > 0.05$ ), 构成比降低。其中饮酒者181例, 每日饮酒量 $\geq 50$  g者138例, 饮酒时间 $\geq 10$ 年者113例, 占62.4%。孙刚等<sup>[17]</sup>将321例CP住院患者以1992-06为界将时间平均分为前后二段(各9年7 mo), 分析主要致病因素(胆系疾病和酒精)的变化, 1992年6月后确诊CP的住院患者数较之前增加近1倍, 主要表现为有饮酒史的患者数和构成比明显增加( $\chi^2 = 13.06$ ,  $P < 0.005$ ), 患胆系疾病者变化不大, 但构成比明显降低( $\chi^2 = 17.37$ ,  $P < 0.005$ )。曹家月等<sup>[18]</sup>回顾性分析中国人

民解放军第451医院的400例CP患者, 研究显示CP患者中合并胆道系统疾病和饮酒史者分别占40.05%、38.0%, 其中同时存在以上2种病因者占32.50%。本次研究显示430例CP患者中合并胆道系统疾病和饮酒史者分别占37.2%、42.1%, 同时存在2种以上病因者占66.0%。

吸烟是CP的独立危险因素<sup>[19]</sup>, 其导致CP的发病机制尚不明确。吸烟者发生CP的几率比不吸烟者高7.8-17.3倍<sup>[20]</sup>。本次研究中217例吸烟者, 每天抽烟 $\geq 10$ 支者191例, 占88.0%; 抽烟时间 $\geq 10$ 年者178例, 占82.0%。我国CP患者中存在急性胰腺炎者占2.3%-30.3%<sup>[20,21]</sup>, 本次研究中有急性胰腺炎病史者占22.8%。遗传性CP属于染色体显性遗传病, 具有一定的家族集聚性<sup>[22]</sup>。自身免疫性CP可以是孤立的, 偶尔也可和其他免疫调节紊乱的疾病如干燥综合征等相伴发生。CP与高脂血症和甲状旁腺功能亢进引起的高钙血症也有密切关系, 且得到国内外的承认<sup>[23]</sup>。1 700例CP患者中17例患者发病前患有类风湿关节炎史, 6例患克罗恩病, 10例患溃疡性结肠炎, 10例患系统性红斑狼疮, 221例为特发性CP(13%)<sup>[24]</sup>。本次研究中未统计到遗传性CP患者、自身免疫性CP患者以及高钙血症患者, 可能与患者未实行较全面的检查、我省相关的基因检测等检测技术未推广有关。

#### 4 参考文献

- Garg PK, Tandon RK. Survey on chronic pancreatitis in the Asia-Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 998-1004
- 陆星华. 慢性胰腺炎. 2009南方消化论坛暨第五届全国肠道疾病学术大会 2009: 83-87
- 钱家鸣. 急、慢性胰腺炎的临床流行病学研究与变迁. 第七次全国消化病学学术会议论文汇编 2007: 420-422
- 徐海, 贺长林, 杨康, 周晏林, 罗德富. 慢性胰腺炎182例临床分析. *现代医药卫生* 2010; 26: 3216-3217
- Strate T, Knoefel WT, Yekebas E, Izbicki JR. Chronic pancreatitis: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 97-106
- 张兆红. 慢性胰腺炎75例病因学分析. *临床医学工程* 2009; 16: 47-49
- Schleicher C, Baas JC, Elser H, Senninger N. Reticuloendothelial system blockade promotes progression from mild to severe acute pancreatitis in the opossum. *Ann Surg* 2001; 233: 528-536
- 秦仁义. 慢性胰腺炎的病因和发病机制探讨. *临床外科杂志* 2007; 15: 807-809
- Frulloni L, Gabbriellini A, Pezzilli R, Zerbi A, Cavestro GM, Marotta F, Falconi M, Gaia E, Uomo G, Maringhini A, Mutignani M, Maisonneuve P, Di Carlo V, Cavallini G. Chronic pancreatitis: report from a multicenter Italian survey (PanCroInfAISP) on 893 patients. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 311-317
- Balakrishnan V, Unnikrishnan AG, Thomas V, Choudhuri G, Veeraraju P, Singh SP, Garg P, Pai CG, Devi RN, Bhasin D, Jayanthi V, Premalatha N, Chacko A, Kar P, Rai RR, Rajan R, Subhalal N, Mehta R, Mishra SP, Dwivedi M, Vinayakumar KR, Jain AK, Biswas K, Mathai S, Varghese J, Ramesh H, Alexander T, Philip J, Raj VV, Vinodkumar A, Mukevar S, Sawant P, Nair P, Kumar H, Sudhindran S, Dhar P, Sudheer OV, Sundaram KR, Tantri BV, Singh D, Nath TR. Chronic pancreatitis. A prospective nationwide study of 1,086 subjects from India. *JOP* 2008; 9: 593-600
- Pezzilli R. Etiology of chronic pancreatitis: has it changed in the last decade? *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4737-4740
- Jupp J, Fine D, Johnson CD. The epidemiology and socioeconomic impact of chronic pancreatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 219-231
- Lin Y, Tamakoshi A, Matsuno S, Takeda K, Hayakawa T, Kitagawa M, Naruse S, Kawamura T, Wakai K, Aoki R, Kojima M, Ohno Y. Nationwide epidemiological survey of chronic pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2000; 35: 136-141
- Otsuki M, Tashiro M. 4. Chronic pancreatitis and pancreatic cancer, lifestyle-related diseases. *Intern Med* 2007; 46: 109-113
- Pezzilli R, Morselli-Labate AM, Fantini L, Campana D, Corinaldesi R. Assessment of the quality of life in chronic pancreatitis using Sf-12 and EORTC QLQ-C30 questionnaires. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 1077-1086
- 王洛伟, 李兆申, 李淑德, 陈浮. 慢性胰腺炎全国多中心流行病学调查. *胰腺病学* 2007; 7: 125
- 孙钢, 宁晓红, 钱家鸣. 慢性胰腺炎321例致病因素分析. *中国医刊* 2002; 37: 30-32
- 曹家月, 郭梅. 慢性胰腺炎400例病因分析及临床诊治. *陕西医学杂志* 2010; 39: 1094-1095
- Yadav D, Hawes RH, Brand RE, Anderson MA, Money ME, Banks PA, Bishop MD, Baillie J, Sherman S, DiSario J, Burton FR, Gardner TB, Amann ST, Gelrud A, Lawrence C, Elinoff B, Greer JB, O'Connell M, Barmada MM, Slivka A, Whitcomb DC. Alcohol consumption, cigarette smoking, and the risk of recurrent acute and chronic pancreatitis. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1035-1045
- Talamini G, Bassi C, Falconi M, Sartori N, Salvia R, Rigo L, Castagnini A, Di Francesco V, Frulloni L, Bovo P, Vaona B, Angelini G, Vantini I, Cavallini G, Pederzoli P. Alcohol and smoking as risk factors in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1303-1311
- 钱家鸣, 李景南, 田自力, 吕红, 陶丽萍. 215例慢性胰腺炎病因学分析. *胃肠病学* 2001; 6: 153-155
- Rosendahl J, Bödeker H, Mössner J, Teich N. Hereditary chronic pancreatitis. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2: 1
- Otsuki M. Chronic pancreatitis in Japan: epidemiology, prognosis, diagnostic criteria, and future problems. *J Gastroenterol* 2003; 38: 315-326
- 陈浮. 慢性胰腺炎的病因学及临床诊治研究. 上海: 第二军医大学, 2005: 21

#### ■同行评价

本研究设计较为严谨、合理, 数据可靠, 结论明确, 对于了解慢性胰腺炎病因构成的变化及随着时间的变化以及性别间的差异具有理论和临床指导意义, 有一定的学术价值。

编辑 何基才 电编 何基才



# Yes相关蛋白在结直肠癌组织中的表达及其临床意义

陈志山, 洪黎清, 杨昌毅, 林再全

## ■背景资料

Yes相关蛋白是一种具有多种功能的细胞内连接蛋白和转录共激活因子, 其表达增高以及活性增强可促进肿瘤的发生和发展, 提示其潜在的致癌性。结直肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 对结直肠癌组织中Yes相关蛋白进行研究有助于结直肠癌的诊断并明确结直肠癌的发病机制。

陈志山, 洪黎清, 杨昌毅, 林再全, 福建省南安市医院外一科  
福建省南安市 362300

泉州市科技计划课题基金资助项目, No. 2010Z75

作者贡献分布: 此课题由陈志山、洪黎清、杨昌毅及林再全设计; 研究过程由陈志山完成, 数据分析由陈志山与洪黎清完成, 论文完成由陈志山完成。

通讯作者: 陈志山, 医师, 362300, 福建省南安市, 福建省泉州市南安溪美街道新华街330号南安市医院外一科。

chenzhishan\_nn@163.com

收稿日期: 2011-07-06 修回日期: 2011-09-07

接受日期: 2011-09-22 在线出版日期: 2011-09-28

## Clinical significance of expression of Yes-associated protein in colorectal carcinoma

Zhi-Shan Chen, Li-Qing Hong, Chang-Yi Yang,  
Zai-Quan Lin

Zhi-Shan Chen, Li-Qing Hong, Chang-Yi Yang, Zai-Quan Lin, Department of Surgery (Division I), the Hospital of Nan'an City, Nan'an 362300, Fujian Province, China  
Supported by: the Science and Technology Program of Quanzhou City, No. 2010Z75

Correspondence to: Zhi-Shan Chen, Department of Surgery (Division I), the Hospital of Nan'an City, Nan'an 362300, Fujian Province,

China. chenzhishan\_nn@163.com

Received: 2011-07-06 Revised: 2011-09-07

Accepted: 2011-09-22 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of Yes-associated protein (YAP) in colorectal carcinoma and to analyze its clinical significance.

**METHODS:** The expression of YAP protein and mRNA was detected by immunohistochemistry and *in situ* hybridization in 80 colorectal carcinoma specimens taken from patients who were treated at the Hospital of Nan'an City of Fujian Province and the First affiliated Hospital of Fujian Medical University from March 2010 to March 2011. The expression of Yes-associated protein and mRNA was also detected in pericancerous tissue and normal colorectal tissue specimens taken from 20 patients.

**RESULTS:** The positive rates of YAP protein and mRNA expression were 66.25% and 68.75%

in colorectal carcinoma, 20.0% and 25.0% in pericancerous tissue, and 10.0% and 15.0% in normal colorectal tissue. The positive rates of Yes-associated protein and mRNA expression were significantly higher in colorectal carcinoma than in pericancerous tissue and normal colorectal tissue (all  $P < 0.01$ ) but showed no significant differences between pericancerous tissue and normal colorectal tissue (both  $P > 0.05$ ). YAP protein and mRNA expression were not significantly associated with age, gender or tumor site, but were significantly correlated with tumor differentiation and stage (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** YAP expression is related to the occurrence and progression of human colorectal carcinoma and may be used as an accessory parameter for diagnosis of colorectal carcinoma.

**Key Words:** Yes-associated protein; mRNA; Colorectal carcinoma; *In situ* hybridization; Immunohistochemistry

Chen ZS, Hong LQ, Yang CY, Lin ZQ. Clinical significance of expression of Yes-associated protein in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2890-2894

## 摘要

**目的:** 研究结直肠癌变组织中Yes相关蛋白及mRNA的表达, 探讨其临床意义。

**方法:** 收集2010-03/2011-03福建省南安市医院普外科及福建医科大学附属第一医院普外科80例结直肠癌患者术中切除的癌组织, 同时收集20例癌旁组织和正常结直肠组织, 应用免疫组织化学S-P法和原位杂交方法检测结直肠癌组织、癌旁组织和正常组织中Yes相关蛋白及mRNA的表达。原位杂交法和免疫组织化学S-P法均严格按照试剂盒说明操作。

**结果:** 结直肠癌组织中Yes相关蛋白及mRNA的阳性表达率分别为66.25%和68.75%, 癌旁组织中Yes相关蛋白及mRNA

## ■同行评议者

郝立强, 副教授,  
上海长海医院普  
外科



的阳性表达率分别为20.0%和25.0%和正常结直肠黏膜组织Yes相关蛋白及mRNA的阳性表达率分别为10.0%和15.0%。结直肠癌组织中Yes相关蛋白及mRNA的阳性表达率明显高于癌旁组织和正常结直肠黏膜组织( $P<0.01$ )，癌旁组织与正常结直肠黏膜组织中Yes相关蛋白及mRNA阳性表达率比较差别无统计学意义。Yes相关蛋白及mRNA阳性表达率与年龄、性别、肿瘤部位之间比较差异无统计学意义，但与肿瘤分化程度和肿瘤分期等之间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $0.01$ )。

**结论：**Yes相关蛋白和mRNA表达与结直肠癌的发生与发展相关，可作为诊断结直肠癌的辅助检查。

**关键词：**Yes相关蛋白；mRNA；结直肠癌；原位杂交；免疫组织化学

陈志山, 洪黎清, 杨昌毅, 林再全. Yes相关蛋白在结直肠癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(27): 2890-2894  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2890.asp>

## 0 引言

Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)是一种具有多种功能的细胞内连接蛋白和转录共激活因子，最早由Sudol发现<sup>[1]</sup>。近年研究发现，Yes相关蛋白的表达增高以及活性增强可促进肿瘤的发生和发展，提示其潜在的致癌性<sup>[2]</sup>。据文献报道，Yes相关蛋白在肝癌、胃癌等肿瘤组织中表达水平增高、活性增强<sup>[3,4]</sup>。本实验通过免疫组织化学方法和原位杂交方法对结直肠癌变组织中Yes相关蛋白及其mRNA的表达进行研究，探讨Yes相关蛋白及其mRNA与结直肠癌的临床相关性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-03/2011-03福建省南安市医院普外科及福建医科大学附属第一医院普外科80例结直肠癌患者，临床分期采用Dukes法：A期13例，B期26例，C期29例，D期12例。其中男53例，女27例；年龄34-79(平均年龄 $58.4 \pm 14.3$ )岁；结肠癌34例，直肠癌46例，全部患者术前未经过化疗，取术中切除的癌组织。同时收集20例癌旁组织(距癌组织约0.5 cm)、20例正常结直肠组织。取标本后分别放置于PBS溶液中，立即进行

后续的处理。所有标本染色后经病理专家证实。兔抗人Yes相关蛋白多克隆抗体和Yes相关蛋白mRNA原位杂交试剂盒，均由Santa Cruz Biotechnology提供；焦炭酸二乙酯，由美国Fluka公司提供；辣根过氧化物酶标记的抗兔IgG抗体、二氨基联苯胺酶底物显色试剂盒由福州迈新生物公司提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 原位杂交：**原位杂交严格按照试剂盒说明进行操作。切片脱蜡、水化；经PBS漂洗漂洗后用3%过氧化氢溶液室温孵育5-10 min；用3%柠檬酸配制的胃蛋白酶于37℃的恒温箱孵育30 min；滴加20 μL预杂交液于42℃预杂交4 h后，加杂交液于42℃湿盒内杂交过夜；0.2×柠檬酸盐洗涤后滴加封闭液于37℃孵育30 min；滴加碱性磷酸酶标记的地高辛抗体后于37℃孵育60 min；滴加SABC-AP后37℃放置30 min；加入硝基四氮唑蓝/5-溴-4-氯-3-吲哚基磷酸盐显色。同时以不含探针的标本做阴性对照。

**1.2.2 免疫组织化学：**采用免疫组织化学S-P法，严格按照试剂盒操作说明进行。切片脱蜡、水化；经PBS漂洗漂洗后用3%过氧化氢溶液室温孵育5-10 min；用抗原修复液修复抗原后用山羊非免疫血清工作液封闭；滴加一抗工作液后于4℃过夜；PBS漂洗后二抗工作液以及链酶卵白素工作液；二氨基联苯胺显色后苏木素复染细胞核。

**1.2.3 结果判断：**Yes相关蛋白mRNA以细胞质内有特异性紫蓝色颗粒为阳性表达。Yes相关蛋白表达以细胞质和/或细胞膜有特异性黄色颗粒为阳性表达。首先按染色强度进行评分：未染色为0分，淡黄色为1分，棕黄色为2分，深棕黄色为3分；然后以阳性细胞比例进行评分：阴性细胞为0分，阳性细胞 $<10\%$ 为1分，11%-50%为2分，51%-75%为3分， $>75\%$ 为4分。免疫组织化学染色结果以染色强度评分与阳性细胞比例评分乘积表示， $>3$ 为阳性表达。

**统计学处理** 采用SPSS10.0软件行统计学分析。计数资料进行 $\chi^2$ 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同结直肠组织中Yes相关蛋白及其mRNA的表达** 正常组织和癌旁组织中Yes相关蛋白及mRNA的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。癌变组织

### ■研发前沿

Yes相关蛋白是Hippo信号转导通道的下游转录激活因子，但是Yes相关蛋白的确切作用机制还不是非常明确。

### ■相关报道

Lam-Himlin研究显示，Yes相关蛋白在肝癌中呈高表达，并且与血清AFP的表达以及肿瘤的分化相关。Xu研究显示，肝癌及前列腺癌中Yes相关蛋白阳性表达率显著高于正常组织。达春丽等研究显示，Yes相关蛋白在胃癌中的表达水平显著高于其在正常胃黏膜中的表达水平。

## ■创新盘点

应用免疫组织化学S-P法和原位杂交方法检测结肠癌组织、癌旁组织和正常组织中Yes相关蛋白及mRNA的表达进行研究. 其中原位杂交法对Yes相关蛋白mRNA在结肠癌中的检测为国内首次报道.

表 1 结肠不同组织Yes相关蛋白及mRNA的表达  $n(\%)$ 

分组	$n$	Yes相关蛋白mRNA		Yes相关蛋白	
		-	+	-	+
癌变组织	80	25(31.25)	55(68.75)	27(33.75)	53(66.25)
癌旁组织	20	15(75.0) <sup>b</sup>	5(25.0) <sup>b</sup>	16(80.0) <sup>*</sup>	4(20.0) <sup>b</sup>
正常组织	20	17(85.0) <sup>b</sup>	3(15.0) <sup>b</sup>	18(90.0) <sup>*</sup>	2(10.0) <sup>b</sup>
$\chi^2$ 值		25.8145		28.4246	

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 癌变组织.

表 2 Yes相关蛋白及mRNA表达与结肠直肠癌临床病理参数之间的关系

分组	$n$	Yes相关蛋白 mRNA			Yes相关蛋白		
		+ $n(\%)$	$\chi^2$ 值	$P$ 值	+ $n(\%)$	$\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄(岁)							
≥60	46	33 (71.7)	0.1823	>0.05	31 (67.4)	0.0001	>0.05
≤60	34	22 (64.7)			22 (64.7)		
性别							
男	53	37 (69.8)	0.0010	>0.05	36 (67.9)	0.0375	>0.05
女	27	18 (66.7)			17 (63.0)		
肿瘤部位							
结肠	34	24 (70.6)	0.0037	>0.05	22 (64.7)	0.0001	>0.05
直肠	46	31 (67.4)			31 (67.4)		
分化程度							
低	19	18 (94.7)	9.3097	<0.01	18 (94.7)	12.4339	<0.01
中	36	24 (66.7)			24 (66.7)		
高	25	13 (52.0)			11 (44.0)		
肿瘤分期							
A	13	6 (46.2)	9.0079	<0.05	5 (38.5)	10.0066	<0.05
B	26	15 (57.6)			15 (57.6)		
C	29	23 (79.3)			22 (75.8)		
D	12	11 (91.7)			11 (91.7)		

与癌旁组织的Yes相关蛋白及mRNA差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 癌变组织与正常组织Yes相关蛋白及mRNA的差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). mRNA表达阳性率略高于蛋白表达阳性率, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表1).

2.2 Yes相关蛋白及mRNA的表达与结肠直肠癌临床病理参数的关系 Yes相关蛋白及mRNA表达与年龄、性别、肿瘤部位之间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 但是与肿瘤分化程度与肿瘤分期之间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $0.01$ , 表2).

### 3 讨论

结肠直肠癌包括结肠癌和直肠癌, 是消化系统常见的恶性肿瘤. 近年来随着人们生活水平的提高和膳食结构的改变, 结肠直肠癌发生率呈逐年

上升的趋势, 并且表现年轻化<sup>[4,5]</sup>. 全世界范围内结肠直肠癌发病率处于恶性肿瘤第3位, 其发病率及死亡率迅速提高, 但是治疗至今未有突破性进展, 其5年生存率徘徊在25%-50%之间<sup>[6]</sup>. 结肠直肠癌发病率在我国占第4位, 死亡率占第三位<sup>[7]</sup>. 结肠直肠癌的治疗是以手术为主, 化疗对于减少复发与转移、提高其疗效是非常重要的, 癌症的早期发现对于其治疗和预后具有重要的影响<sup>[8]</sup>.

细胞增殖和凋零的平衡为维持组织正常生长和发挥功能的必不可少的条件. 细胞过度凋亡可打破此平衡而导致组织的过度丧失并伴随功能的丧失<sup>[9]</sup>; 然而细胞凋亡不足并伴随不可控制的细胞增殖则会导致肿瘤发生<sup>[10]</sup>. Hippo信号转导通路通过多种肿瘤抑制因子(Hpo、Sav、Wts)组成的激酶链, 磷酸化其靶因子YkiS168位

点而抑制其转录共激活活性, 维持细胞增生和凋亡间的平衡, 该通路发生异常和/或Yki基因突变, 导致Yki的活化、细胞增生和凋亡间平衡失调及肿瘤发生<sup>[11]</sup>. Hippo信号通路参与器官的发育, 并通过促进细胞凋亡和限制细胞增殖调控器官大小. Yes相关蛋白是一种多功能的细胞内连接蛋白和转录共激活因子, 于1994年首次发现其绑定于非受体酪氨酸蛋白激酶Src家族成员c-Yes的SH3基序, 将其命名为Yes相关蛋白<sup>[12]</sup>. Yes相关蛋白是Hippo信号转导通道的下游转录激活因子, 因与非受体酪氨酸激酶c-Yes相结合而最早被克隆<sup>[13]</sup>. 虽然Yes相关蛋白的确切作用机制还不是非常明确, 但是Yes相关蛋白有可能提供一种有助于抑制凋亡和促进基因不稳定性的微环境, 加快细胞增殖, 并向恶性转化<sup>[11]</sup>. 因此对Yes相关蛋白进行研究可能有助于诊断肿瘤并明确肿瘤的发病机制.

已有研究发现Yes相关蛋白在肝癌中呈高表达, 并且与血清AFP的表达以及肿瘤的分化相关, 是肝癌患者的OS和DFS一个独立的预后指标<sup>[14]</sup>; 肝癌及前列腺癌中Yes相关蛋白阳性表达率显著高于正常组织, Yes相关蛋白在胃癌中的表达水平显著高于其在正常胃黏膜中的表达水平<sup>[1,15]</sup>. 本研究对结直肠癌变组织中Yes相关蛋白及mRNA的表达进行检测, 以探讨其临床意义.

原位杂交试验结果和免疫组化试验结果显示, 结直肠癌变组织Yes相关蛋白和mRNA的阳性表达显著高于癌旁组织和正常粘膜组织( $P<0.01$ ), 与文献报道一致<sup>[14-16]</sup>. 癌变组织Yes相关蛋白和mRNA在癌变组织的高表达, 说明Yes相关蛋白和mRNA与结直肠癌的发生和发展密切相关. Yes相关蛋白mRNA阳性表达率略高于Yes相关蛋白阳性表达率, 可能与原位杂交检测的灵敏度高于免疫组织化学有关.

同时试验结果显示, Yes相关蛋白和mRNA的产生和发展与年龄、性别无关, 与文献报道吻合<sup>[16]</sup>, 此外本研究还发现Yes相关蛋白和mRNA的表达与肿瘤部位无关. 但是与肿瘤分化程度有关, 随着肿瘤程度分化程度的增强, Yes相关蛋白和mRNA表达的阳性率随之增加, 与文献报道一致<sup>[15,16]</sup>. 同时, Yes相关蛋白和mRNA的产生和发展与肿瘤的Dukes有关, 随着Dukes分期的加重, Yes相关蛋白和mRNA表达的阳性率随

之增加. 因此, 随之结直肠癌病情恶化, Yes相关蛋白和mRNA表达的阳性率增加. 但是此结果与文献报道不一致<sup>[16]</sup>, 可能与所采用的比较方法不同有关: 本试验将Dukes分期A、B、C和D期分别进行比较, 而文献采用Dukes分期A、B期与C、D期进行比较.

总之, 本研究结果提示, Yes相关蛋白和mRNA表达与结直肠癌的发生与发展相关, 可作为诊断结直肠癌的辅助检查.

#### 4 参考文献

- 1 达春丽, 辛彦, 赵晶, 罗祥东. 胃癌及其癌前病变组织Yes相关蛋白和Survivin的表达及其意义. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 406-410
- 2 Overholtzer M, Zhang J, Smolen GA, Muir B, Li W, Sgroi DC, Deng CX, Brugge JS, Haber DA. Transforming properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12405-12410
- 3 Zhao B, Wei X, Li W, Udan RS, Yang Q, Kim J, Xie J, Ikenoue T, Yu J, Li L, Zheng P, Ye K, Chinnaiyan A, Halder G, Lai ZC, Guan KL. Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes Dev* 2007; 21: 2747-2761
- 4 Lam-Himlin DM, Daniels JA, Gayyed MF, Dong J, Maitra A, Pan D, Montgomery EA, Anders RA. The hippo pathway in human upper gastrointestinal dysplasia and carcinoma: a novel oncogenic pathway. *Int J Gastrointest Cancer* 2006; 37: 103-109
- 5 梁冀望, 王振宁, 宋永喜, 徐惠绵. 结直肠癌旁肿瘤沉积的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3620-3622
- 6 王浩斌, 张才全, 王崇树, 赵明才, 谢贤雍, 侯华芳. 大肠癌患者腹腔冲洗液CEA、GCC 和CD44v6 mRNA的检测及其临床意义. 第三军医大学学报 2010; 32: 36-40
- 7 侯彦强, 姜加陶, 彭亮, 周琳, 倪健, 孔宪涛, 仲人前. 结直肠癌组织中ECM1基因水平的测定及临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1960-1964
- 8 饶敏, 林从尧, 冯茂辉, 李春光, 吴洲清. 结直肠癌P170蛋白表达的检测及意义. 武汉大学学报(医学版) 2010; 31: 58-61
- 9 Song JM, Kelton G, Wang JL. 结直肠癌常用筛查方法综述. 中国全科医学 2008; 11: 1115-1120
- 10 Brunner T, Mueller C. Apoptosis in disease: about shortage and excess. *Essays Biochem* 2003; 39: 119-130
- 11 Steinhardt AA, Gayyed MF, Klein AP, Dong J, Maitra A, Pan D, Montgomery EA, Anders RA. Expression of Yes-associated protein in common solid tumors. *Hum Pathol* 2008; 39: 1582-1589
- 12 Dong J, Feldmann G, Huang J, Wu S, Zhang N, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan D. Elucidation of a universal size-control mechanism in Drosophila and mammals. *Cell* 2007; 130: 1120-1133
- 13 Pan D. Hippo signaling in organ size control. *Genes Dev* 2007; 21: 886-897
- 14 Sudol M. Yes-associated protein (YAP65) is a proline-rich phosphoprotein that binds to the SH3 domain of the Yes proto-oncogene product. *Oncogene*

#### ■应用要点

结直肠癌组织中Yes相关蛋白及mRNA的阳性表达率明显高于癌旁组织和正常结直肠黏膜组织, 可作为诊断结直肠癌的辅助检查.

## ■同行评价

本文主题明确, 实验方法科学合理, 结果可靠, 论述详细, 有一定的科学应用价值.

- 1994; 9: 2145-2152
- 15 Xu MZ, Yao TJ, Lee NP, Ng IO, Chan YT, Zender L, Lowe SW, Poon RT, Luk JM. Yes-associated protein is an independent prognostic marker in hepatocel-

- lular carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 4576-4585
- 16 刘丛丛, 梁建芳, 郑绘霞, 肖虹, 李宁, 程彩霞, 王宏坤, 武丽娜, 张民, 赵玉泽. YAP在结直肠腺癌组织中的表达及意义. *中国药物与临床*, 2011; 11: 23-28

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)所有作者均审阅过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

### 3 版权

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

# 米氮平治疗严重功能性消化不良22例

宋军民, 郝庆, 李岩, 李卉, 彭淼

宋军民, 郝庆, 李岩, 李卉, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

彭淼, 中国医科大学附属盛京医院心理门诊 辽宁省沈阳市 110004

作者贡献分布: 本研究由宋军民与李岩共同设计; 研究过程由宋军民与郝庆操作完成; 数据分析由宋军民与李卉完成; 论文写作由宋军民、李岩及彭淼共同完成。

通讯作者: 李岩, 教授, 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。

yanli0227@126.com

电话: 024-96615-26111

收稿日期: 2011-08-01 修回日期: 2011-09-03

接受日期: 2011-09-26 在线出版日期: 2011-09-28

## Efficacy assessment of mirtazapine in the treatment of severe functional dyspepsia: an analysis of 22 cases

Jun-Min Song, Qing Hao, Yan Li, Hui Li, Miao Peng

Jun-Min Song, Qing Hao, Yan Li, Hui Li, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China  
Miao Peng, Clinic of Psychology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Yan Li, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Sanhao Street 36, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. yanli0227@126.com

Received: 2011-08-01 Revised: 2011-09-03

Accepted: 2011-09-26 Published online: 2011-09-28

## Abstract

**AIM:** To assess the efficacy of mirtazapine in the treatment of severe functional dyspepsia (FD).

**METHODS:** Forty-four patients with severe FD were randomly and equally assigned into two groups and treated by conventional therapy and conventional therapy in combination with mirtazapine, respectively. Symptom scoring and depression/anxiety tests were performed before and after the treatment, and the treatment response was evaluated.

**RESULTS:** Mirtazapine significantly decreased FD-associated symptom scores (EPS and PDS: both  $P < 0.01$ ; FD patients with anxiety or depression:  $P < 0.001$ ) and depression/anxiety

scores (HAMD:  $P < 0.001$ ; HAMA:  $P < 0.05$ ). The response rate was significantly higher in patients treated by conventional therapy in combination with mirtazapine than in those treated by conventional therapy alone (81.8% vs 13.6%,  $P < 0.001$ ). Mild side effects occurred in four patients treated with mirtazapine, and the incidence was 18.2%.

**CONCLUSION:** Mirtazapine has good efficacy and few side effects in the treatment of severe FD.

**Key Words:** Functional dyspepsia; Mirtazapine; Efficacy assessment

Song JM, Hao Q, Li Y, Li H, Peng M. Efficacy assessment of mirtazapine in the treatment of severe functional dyspepsia: an analysis of 22 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(27): 2895-2899

## 摘要

**目的:** 评价米氮平治疗严重功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 的疗效。

**方法:** 44例严重FD患者随机分成2组(每组22例), 分别接受常规治疗和常规治疗+米氮平; 所有患者治疗前后均进行FD症状评分和抑郁/焦虑测试(HAMD和HAMA评分), 并分析治疗后的改善情况。

**结果:** 米氮平能显著改善FD患者的症状评分 (EPS和PDS亚型:  $P < 0.01$ , FD伴焦虑或抑郁组:  $P < 0.001$ ) 和抑郁/焦虑评分 (HAMD评分:  $P < 0.001$ , HAMA评分:  $P < 0.05$ ), 常规治疗+米氮平和常规治疗对严重FD的显效率分别为81.8%和13.6%, 两者差异显著 ( $P < 0.001$ ); 米氮平组4例患者发生轻度不良反应, 发生率为18.2%。

**结论:** 米氮平治疗严重FD的疗效良好, 不良反应较轻, 可作为治疗用药之一。

**关键词:** 功能性消化不良; 米氮平; 疗效分析

宋军民, 郝庆, 李岩, 李卉, 彭淼. 米氮平治疗严重功能性消化不良22例. *世界华人消化杂志* 2011; 19(27): 2895-2899

## ■背景资料

功能性消化不良 (FD) 是一种常见疾病, 常规治疗包括抑酸和促进胃肠动力等, 但疗效并不理想。近年来的研究表明, 抗抑郁药可用于FD的治疗, 但其确切疗效仍需进一步评价。

## ■同行评议者

邵先玉, 主任医师, 泰山医学院附属医院消化内科



## ■研发前沿

近年来临床上开展了应用抗抑郁药治疗FD的试验,但其疗效存在差异。米氮平是一种新型的抗抑郁药物,其机制为5-羟色胺能和去甲肾上腺素能双重作用。米氮平治疗FD可能具有良好的疗效,但相关临床研究很少。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2895.asp>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的胃和十二指肠功能紊乱的症候群,国外一份系统评价显示人群中FD的患病率为11.5%-14.7%,国内调查的结果为23.5%。临床上主要表现为上腹痛、餐后饱胀、早饱、上腹灼热感和恶心呕吐等症状,各种生化及内镜检查无明显异常。根据罗马III诊断标准,该病可分为上腹痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)和餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)。部分患者上述症状反复发作,对常规药物反应较差,严重影响了患者的工作和生活。近年来的研究表明,抗抑郁药物对FD可能具有良好的疗效,现将我科应用米氮平治疗严重FD的资料总结如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取我科2008-03/2010-03门诊和病房诊断的严重FD患者44例,年龄为23-54周岁,病程为1.5-8.0年,随机分成常规治疗组和常规治疗+米氮平组(每组各22例)。所有患者诊断前均进行胃镜和上腹超声检查,FD诊断符合罗马III标准;对FD患者的8个症状:上腹痛、餐后饱胀、上腹灼热感、早饱、恶心、呕吐、嗝气、上腹胀,按照强度进行分级(评分),0级(0分):无症状;1级(1分):轻度,症状存在但并不令人受窘;2级(2分):中度,症状令人受窘,但并不影响日常活动;3级(3分):严重,是指症状干扰日常活动,本研究患者入选条件为至少一项症状评分为3级(3分),且症状总分 $\geq 12$ 分。44例患者中EPS亚型和PDS亚型各22例;治疗前均进行汉密尔顿抑郁量表(HAMD, 17项; $\geq 17$ 分诊断为抑郁)和汉密尔顿焦虑量表(HAMA, 14项; $\geq 14$ 分诊断为焦虑)测试;两组的构成情况无明显差异(表1)。

**1.2 方法** 常规治疗组包括兰索拉唑片(30 mg 每日1次口服)、伊托必利片(50 mg 每日3次口服);常规治疗+米氮平组在常规治疗的基础上增加米氮平片口服(从15 mg/d起量3 d后达到30 mg/d治疗剂量)。治疗后每2 wk门诊复诊1次,记录症状缓解情况和不良反应等情况,疗程为8 wk。疗程结束后重新进行症状积分评价(症状积分的改善值 = 治疗前积分-治疗后积分;症状积分改善率 = 症状积分改善值/治疗前积分;治疗结局:改善率 $\geq 75\%$ 为治愈,50%

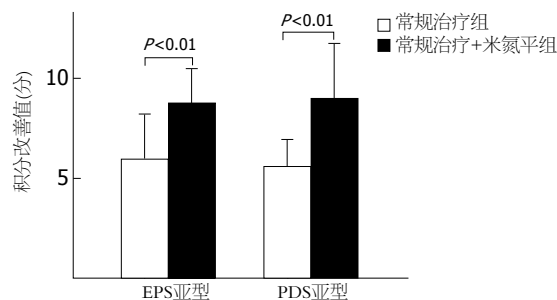


图1 常规治疗组和常规治疗+米氮平组EPS和PDS亚型治疗后症状积分的改善值。

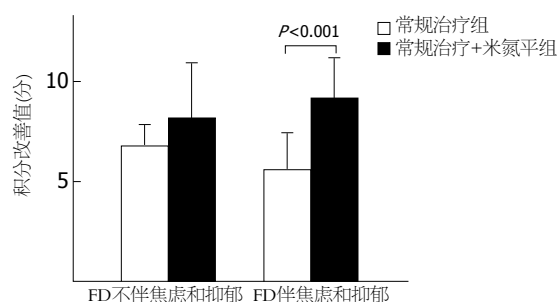


图2 常规治疗组和常规治疗+米氮平组伴和不伴焦虑/抑郁治疗后症状积分的改善值。

$\leq$ 改善率 $<75\%$ 为有效,  $25\% \leq$ 改善率 $<50\%$ 为缓解, $<25\%$ 为无效,显效率 = [治愈+有效]/总例数 $\times 100\%$ )和抑郁/焦虑测试,并检查血常规、肝功能和肾功能。

**统计学处理** 计量资料表示为mean $\pm$ SD, 统计分析采用SPSS13.0软件,计数资料比较采用Mann-Whitney U检验,计量资料比较采用卡方检验或Fisher确切概率法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 8 wk疗程结束后常规治疗组和常规治疗+米氮平组患者FD症状积分的改善** 8 wk疗程结束后,常规治疗组症状积分减少( $5.6 \pm 1.8$ )分,常规治疗+米氮平组症状积分减少( $8.7 \pm 2.3$ )分,两者差异显著( $P < 0.001$ )。FD患者中EPS亚型:常规治疗组症状积分减少( $5.8 \pm 2.2$ )分,常规治疗+米氮平组症状积分减少( $8.7 \pm 1.6$ )分,两者差异显著( $P < 0.01$ );PDS亚型:常规治疗组症状积分减少( $5.4 \pm 1.3$ )分,常规治疗+米氮平组症状积分减少( $8.8 \pm 2.8$ )分,两者差异显著( $P < 0.01$ ,图1)。FD不伴焦虑和抑郁:常规治疗组症状积分减少( $6.5 \pm 1.0$ )分,常规治疗+米氮平组症状积分减少( $8.0 \pm 2.9$ )分,两者差异不显著( $P > 0.05$ );FD伴焦虑和/或抑郁:常规治疗组症状积分减少( $5.4 \pm 1.9$ )分,

表 1 两组患者治疗前的一般资料 ( $n = 22$ )

分组	男/女( $n$ )	年龄(岁)	EPS( $n$ )	PDS( $n$ )	抑郁和/或焦虑( $n$ )	FD症状评分(分)
常规治疗组	10/12	37.2 ± 8.3	12	10	18	15.5 ± 1.7
常规治疗+米氮平组	8/14	35.4 ± 8.2	10	12	15	15.0 ± 2.1

表 2 两组患者的治疗结局 ( $n = 22$ )

治疗结局	常规治疗组					常规治疗+米氮平组				
	治愈	有效	缓解	无效	显效率(%)	治愈	有效	缓解	无效	显效率(%)
临床亚型										
EPS	0	3	7	2	25.0	1	8	1	0	90.0 <sup>b</sup>
PDS	0	0	10	0	0.0	1	8	2	1	75.0 <sup>b</sup>
抑郁和/或焦虑										
无	0	0	4	0	0.0	0	5	1	1	71.4 <sup>a</sup>
有	0	3	13	2	16.7	2	11	2	0	86.7 <sup>b</sup>
总计	0	3	17	2	13.6	2	16	3	1	81.8 <sup>b</sup>

Fisher确切概率法, <sup>a</sup> $P = 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.001$ .

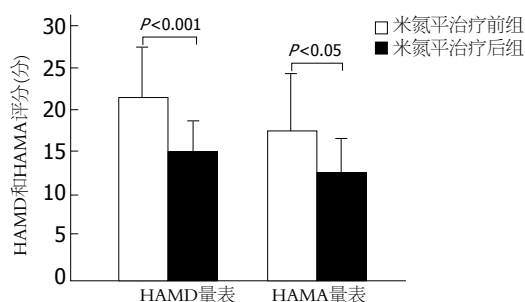


图 3 FD伴抑郁和/或焦虑的患者经米氮平治疗后HAMD和HAMA评分的变化。

常规治疗+米氮平组症状积分减少( $9.1 \pm 1.9$ )分, 两者差异显著( $P < 0.001$ , 图2)。

2.2 8 wk疗程结束后常规治疗组和常规治疗+米氮平组的治疗结局 常规治疗+米氮平和常规治疗对严重FD的总显效率分别为81.8%和13.6%, 两者差异显著( $P < 0.001$ ); 常规治疗+米氮平和常规治疗对严重FD伴焦虑和/或抑郁的显效率分别为86.7%和16.7%, 两者差异显著( $P < 0.001$ ); 常规治疗+米氮平和常规治疗对EPS的显效率分别为90%和25%, 两者差异显著( $P < 0.001$ ), 常规治疗+米氮平和常规治疗对PDS的显效率分别为75%和0%, 两者差异显著( $P < 0.001$ )。

常规治疗+米氮平和常规治疗对严重FD不伴焦虑和抑郁的显效率分别为71.4%和0%, 两者差异不显著( $P = 0.05$ )。常规治疗组和常规治疗+米氮平组内部各临床亚型以及伴和不伴抑郁/焦虑之间显效率无显著差异( $P > 0.05$ , 表2)。

## ■ 相关报道

抗抑郁药治疗FD的疗效存在差异, van Kerkhoven LA等临床试验表明, 文拉法辛治疗FD的疗效并不优于安慰剂组; Van Oudenhove等认为, 米氮平具有“胃肠道友好”的不良反, 对FD可能具有良好的疗效, 但尚未得到临床试验的证实。

2.3 米氮平对于严重FD伴抑郁和/或焦虑的改善 本研究中常规治疗+米氮平组15例患者合并抑郁和/或焦虑, HAMD评分: 米氮平治疗前为( $21.8 \pm 5.8$ )分, 米氮平治疗后为( $15.2 \pm 3.7$ )分, 两者差异显著( $P < 0.001$ ); HAMA评分: 米氮平治疗前为( $17.5 \pm 7.1$ )分, 米氮平治疗后为( $12.8 \pm 3.9$ )分, 两者差异显著( $P < 0.05$ , 图3)。

2.4 药物不良反应 常规治疗+米氮平组22例患者, 4例于治疗第2-3周出现不良反应, 发生率为18.2%; 表现为头晕、头痛、嗜睡、口干、食欲增加等, 症状为轻度, 不影响治疗。常规治疗组无不良反应发生。疗程结束后, 所有患者的血常规、肝功能和肾功能均无异常。

## 3 讨论

部分FD与肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)重叠, 提示与IBS有相似发病机制<sup>[1]</sup>。FD的发病机制尚不清楚, 以往研究认为与胃十二指肠动力障碍<sup>[2]</sup>、内脏过度敏感<sup>[3]</sup>、胃底的容受性下降<sup>[4]</sup>、幽门螺杆菌感染<sup>[5]</sup>等因素有关, 近年来, 精神心理因素与FD关系的研究备受重视。FD患者中抑郁、焦虑、睡眠紊乱等情绪障碍的发生率明显增高, 且这些因素常常共同存在, 互相影响<sup>[6-8]</sup>; 本研究中, 75%的FD患者伴有焦虑和/或抑郁, 比以往报道的患病率略高<sup>[6,9]</sup>, 可能与本研究患者的纳入标准较严有关。研究表明, 肠道神经系统与中枢神经系统能够相互传递信息、双向调节, 焦虑和抑郁等心理因素能通过脑-肠

### ■创新盘点

本研究应用米氮平治疗严重FD, 并按FD亚型以及有无焦虑/抑郁分组, 观察不同分组的治疗反应, 系统全面的评价了米氮平对严重FD的疗效。

轴作用于胃肠道, 引起迷走神经兴奋性降低, 继而通过胃肠动力减弱、内脏敏感性增加等机制引起消化不良症状的发生<sup>[10,11]</sup>。

FD的常规治疗包括抑酸、促进胃肠动力等, 但其疗效并不理想, 本研究中常规治疗组的显效率仅为13.6%, 大多数患者症状反复发作。基于抗抑郁药能降低心理症状(尤其是焦虑和抑郁)的严重程度, 具有中枢止痛作用以及上消化系统局部药理作用, 临床上开展了应用抗抑郁药治疗FD的试验, 取得了较好的疗效, 但证据有限<sup>[12-14]</sup>; 而且有研究证实, 某些抗抑郁药如文拉法辛, 对FD并无良好的疗效<sup>[15]</sup>, 这可能与不同临床试验应用的药物和受试者的构成情况(对应不同的发病机制)不同有关, 其确切疗效仍需进一步评价。Van Oudenhove等<sup>[16]</sup>认为, 米氮平具有对“胃肠道友好”的不良反应, 治疗FD可能具有良好的疗效, 但目前相关临床研究很少。米氮平片剂是一种新型的抗抑郁药物, 他对抑郁和焦虑具有显著的缓解作用<sup>[17]</sup>, 在本研究中亦得到证实。米氮平的机制为5-羟色胺能和去甲肾上腺素能双重作用, 研究发现中枢5-羟色胺和去甲肾上腺素受体参与胃肠道的动力、感觉和分泌等活动, 与FD的发病密切相关<sup>[18]</sup>。本研究中常规治疗+米氮平对EPS和PDS两个FD亚型以及FD伴焦虑和/或抑郁患者症状积分的改善情况和显效率均明显优于常规治疗组, 这些结果提示米氮平治疗严重FD具有良好的疗效, 同时也说明焦虑和抑郁在FD发病中的重要作用。在FD不伴有焦虑和抑郁的患者中, 常规治疗+米氮平能减少FD症状积分, 虽无显著性差异( $P>0.05$ ), 但显效率明显高于常规治疗组( $P=0.05$ ), 其原因可能为样本过小。Hashash等<sup>[19]</sup>的研究发现, 抗抑郁药物氟哌噻吨(flupenthixol)和美利曲辛(melitracen)对不伴有抑郁和焦虑的FD患者也同样有效, 其原因可能为抗抑郁药能提高中枢对内脏刺激的阈值。米氮平的安全性优于其他抗抑郁药物<sup>[20]</sup>, 本研究中4例患者出现嗜睡、头晕、口干、食欲增加等症状, 且症状较轻, 一般不影响治疗; 而且8 wk疗程结束后血常规、肝功能和肾功能均无异常。

总之, 本研究提示, FD常伴有焦虑和/或抑郁, 抗抑郁药米氮平对于FD具有疗效良好, 不良反应少等特点, 因而可以作为严重FD的治疗用药之一。更大的试验样本、远期疗效的观察以及米氮平治疗FD的具体机制尚需做进一步研究。

### 4 参考文献

- Cremonini F, Talley NJ. Review article: the overlap between functional dyspepsia and irritable bowel syndrome -- a tale of one or two disorders? *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 7: 40-49
- Mizuta Y, Shikuwa S, Isomoto H, Mishima R, Akazawa Y, Masuda J, Omagari K, Takeshima F, Kohno S. Recent insights into digestive motility in functional dyspepsia. *J Gastroenterol* 2006; 41: 1025-1040
- Keohane J, Quigley EM. Functional dyspepsia: the role of visceral hypersensitivity in its pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2672-2676
- 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
- Ruiz García A, Gordillo López FJ, Hermosa Hernán JC, Arranz Martínez E, Villares Rodríguez JE. [Effect of the Helicobacter pylori eradication in patients with functional dyspepsia: randomised placebo-controlled trial]. *Med Clin (Barc)* 2005; 124: 401-405
- Li Y, Nie Y, Sha W, Su H. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 1082-1084
- Lacy BE, Everhart K, Crowell MD. Functional dyspepsia is associated with sleep disorders. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 410-414
- De la Roca-Chiapas JM, Solís-Ortiz S, Fajardo-Araujo M, Sosa M, Córdova-Fraga T, Rosa-Zarate A. Stress profile, coping style, anxiety, depression, and gastric emptying as predictors of functional dyspepsia: a case-control study. *J Psychosom Res* 2010; 68: 73-81
- Magni G, di Mario F, Bernasconi G, Mastropaolo G. DSM-III diagnoses associated with dyspepsia of unknown cause. *Am J Psychiatry* 1987; 144: 1222-1223
- Mayer EA, Tillisch K, Bradesi S. Review article: modulation of the brain-gut axis as a therapeutic approach in gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 919-933
- Chua AS. Reassessment of functional dyspepsia: a topic review. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2656-2659
- Talley NJ, Herrick L, Locke GR. Antidepressants in functional dyspepsia. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 4: 5-8
- Hojo M, Miwa H, Yokoyama T, Ohkusa T, Naga-hara A, Kawabe M, Asaoka D, Izumi Y, Sato N. Treatment of functional dyspepsia with antianxiety or antidepressive agents: systematic review. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1036-1042
- Barry S, Dinan TG. Functional dyspepsia: are psychosocial factors of relevance? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2701-2707
- van Kerkhoven LA, Laheij RJ, Aparicio N, De Boer WA, Van den Hazel S, Tan AC, Witteman BJ, Jansen JB. Effect of the antidepressant venlafaxine in functional dyspepsia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 746-752; quiz 718
- Van Oudenhove L, Tack J. Is the antidepressant venlafaxine effective for the treatment of functional dyspepsia? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 74-75
- Anttila SA, Leinonen EV. A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. *CNS Drug Rev* 2001; 7: 249-264
- O'Mahony S, Dinan TG, Keeling PW, Chua AS.

- Central serotonergic and noradrenergic receptors in functional dyspepsia. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2681-2687
- 19 Hashash JG, Abdul-Baki H, Azar C, Elhajj II, El Zahabi L, Chaar HF, Sharara AI. Clinical trial: a randomized controlled cross-over study of flupenthixol + melitracen in functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 1148-1155
- 20 Watanabe N, Omori IM, Nakagawa A, Cipriani A, Barbui C, McGuire H, Churchill R, Furukawa TA. Safety reporting and adverse-event profile of mirtazapine described in randomized controlled trials in comparison with other classes of antidepressants in the acute-phase treatment of adults with depression: systematic review and meta-analysis. *CNS Drugs* 2010; 24: 35-53

#### ■同行评价

本研究系统全面地分析了米氮平治疗严重FD的疗效, 对临床治疗具有指导作用。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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496位胃肠病学和肝病学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学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学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。

# 《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56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCES权威、核心期刊排行榜与指南》和

中国知识资源总库收录。2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 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<sub>1/2</sub>, Vmax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字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% 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.

《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, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) $t$ 检验用小写 $t$ ; (2) $F$ 检验用英文大写 $F$ ; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (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 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  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

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:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 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

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版. 北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262.

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

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。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

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

### 4.2 研究原著写作格式实例

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

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

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

### 4.4 文献综述写作格式实例

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

### 4.5 研究快报写作格式实例

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

### 4.6 临床经验写作格式实例

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

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](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>

## 2011年国内国际会议预告

2011-08-20/22

第十五次全国中西医结合儿科学术会议

会议地点: 兰州市

联系方式: zxyek@sina.com

2011-08-26/27

第四届福瑞肝纤维化论坛

会议地点: 上海市

联系方式: bstract@cosoman.com

2011-08-31/09-02

腹腔间室综合征的护理进展

会议地点: 延吉市

联系方式: qiyan68@126.com

2011-09

中华医学会超声医学分会第十一次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: <http://www.nccsum.org/>

2011-09-14/17

第六届全国疑难及重症肝病大会

会议地点: 兰州市

联系方式: office@cnsld.org

2011-09-14/18

第十四届全国临床肿瘤学大会暨2011年CSCO学术年会

会议地点: 福州市

联系方式: 010-67726451

2011-09-16/18

第七届全国消化系统中晚期恶性肿瘤学术年会

会议地点: 济南市

联系方式: xiaohuahuiyi@126.com

2011-09-24

2011中国消化病学大会

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-09-25/26

2011北京消化内镜节

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-10-07/09

第八届亚太肝病学会主题会议

会议地点: 北京市

联系方式: info@apaslstc.org

2011-10-13/16

2011年亚太地区国际肿瘤生物学和医学学术会议

会议地点: 上海市

联系方式: clinimmunchina@yahoo.com

2011-10-14/16

中华医学会第五次全国艾滋病、病毒性丙型肝炎暨全国热带病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: www.nccsid.org

2011-10-21/23

中华医学会病理学分会第十七次学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: leighdai@cma.org.cn

2011-10-22/26

第19届欧洲肠胃病学联合组织(UEG)会议周

会议地点: 斯德哥尔摩

联系方式: uegw2011@cpo-hanser.de

2011-10-28/11-02

2011美国胃肠病学会年度科学会议

会议地点: 华盛顿

联系方式: annualmeeting@acg.gi.org

2011-11-04/08

第62届美国肝病研究学会(AASLD)年会

会议地点: 旧金山

联系方式: medical\_conference@263.net

2011-11-18/23

第十一届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会暨2011全  
国内镜/介入/放疗新技术国际论坛

会议地点: 北京市

联系方式: doctor302@163.com

2011-11-25/27

2011年全国消化道静脉曲张及其伴发消化疾病内镜诊治  
研讨会

会议地点: 西安市

联系方式: 2011varices@sina.com

2011-12-08/11

第11次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: csgdabstract@126.com

2011-12-09/11

江苏省第四次胃肠外科学术会议

会议地点: 南京市

联系方式: jswwk@yahoo.com.cn



## 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!

李军祥 教授

复旦大学附属华山医院外科

袁红霞 教授

天津中医药大学消化科

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

吕宾 教授

浙江中医学院附属医院消化科

刘连新 教授

哈尔滨医科大学第一临床医学院普通外科

刘改芳 主任医师

河北医科大学第三医院消化内科

刘海林 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

高润平 教授

吉林大学第一医院肝病科

黄颖秋 教授

本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

倪润洲 教授

南通大学附属医院消化内科

王娅兰 教授

重庆医科大学基础医学院病理教研室

李瑜元 教授

广州市第一人民医院内科

葛海燕 教授

同济大学附属东方医院普通外科

何晓顺 教授

中山大学附属第一医院器官移植科

牛英才 副研究员

齐齐哈尔医学院医药科学研究所

王振宁 教授

中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

冯志杰 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

张必翔 主任医师

华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科

汪思应 教授

安徽医科大学实验动物中心病理生理学专业

李淑德 主任医师

中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

樊红 教授

东南大学医学院发育与疾病相关基因教育部重点实验室

江学良 主任医师

中国人民解放军济南军区总医院消化科

樊晓明 主任医师

复旦大学附属金山医院消化科

王蒙 副教授

中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

施瑞华 教授

南京医科大学第一附属医院消化科

夏冰 教授

武汉大学中南医院消化内科

李国威 教授

西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

杨柏霖 副主任医师

南京中医药大学附属医院结直肠外科

李华 副教授

中山大学附属第三医院肝脏外科