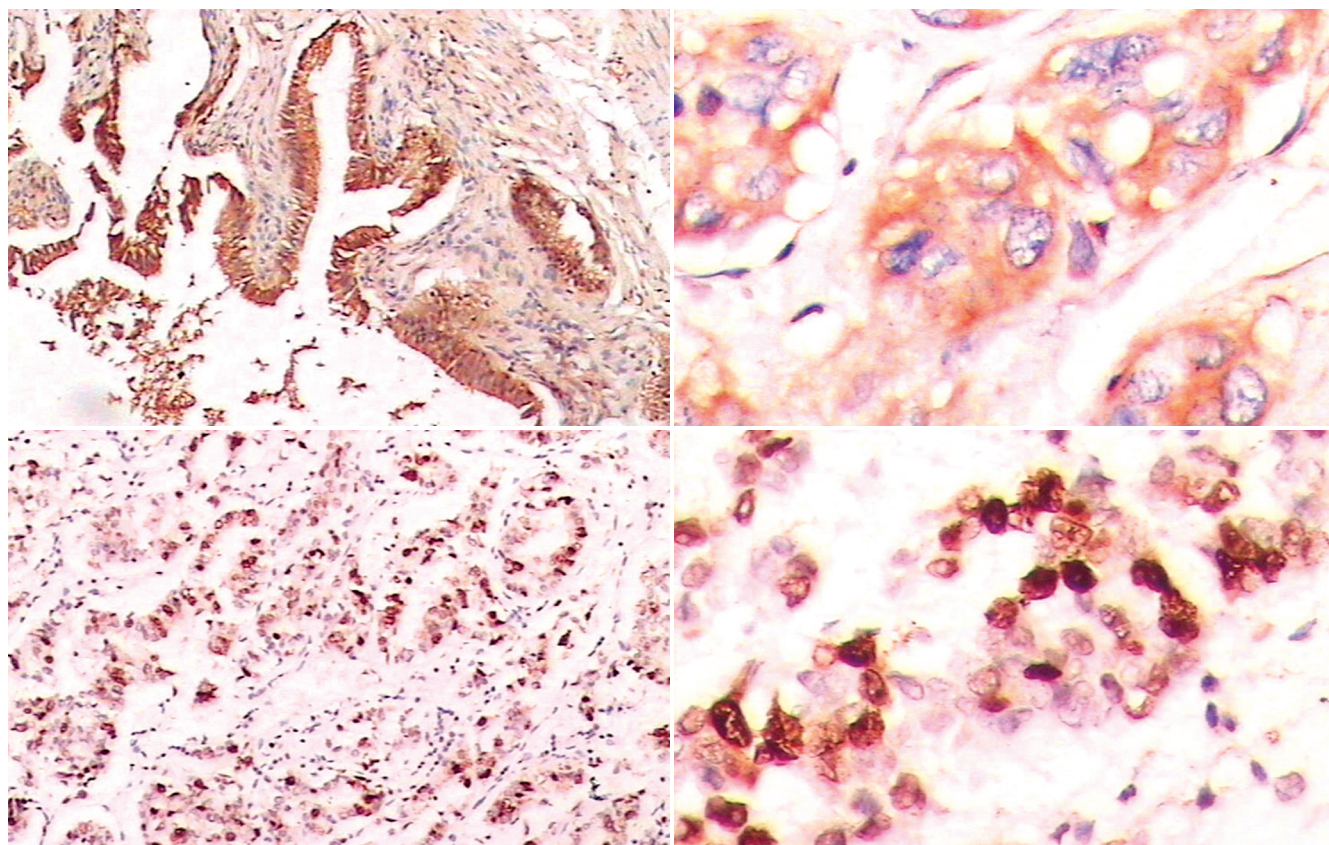


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2006 年 12 月 18 日 第 14 卷 第 35 期 (Volume 14 Number 35)



35 / 2006

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》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》，俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2006-01-01/2008-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授	北京
黄象谦教授	天津
黄志强教授	北京
裘法祖教授	武汉
王宝恩教授	北京
危北海研究员	北京
吴孟超教授	上海
杨春波教授	福州
周殿元教授	广州

名誉总编辑

潘伯荣教授	西安
-------	----

社长/总编辑

马连生教授	北京
-------	----

副总编辑

陈士葆教授	上海
房殿春教授	重庆
姜洪池教授	哈尔滨
王苑本教授	天津
吴云林教授	上海
徐克成教授	广州
杨思凤教授	吉林
姚希贤教授	石家庄
岳茂兴教授	北京
张万岱教授	广州
周学文教授	沈阳

常务编委

程英升副教授	上海
高毅主任医师	广州
江学良主任医师	上海
李岩教授	沈阳
刘连新教授	哈尔滨
吕宾教授	杭州
罗和生教授	武汉
聂青和副教授	西安
王小众教授	福州

编委

白爱平主治医师	广州
别平教授	重庆
白文元教授	石家庄
白玉贤教授	哈尔滨
蔡淦教授	上海
蔡开琳副教授	武汉
曹浩副教授	上海
曹志成院士	香港
陈海龙教授	大连

陈红松副研究员	北京
陈积圣教授	广州
陈建荣副教授	南通
陈立波副教授	武汉
陈凇教授	北京
陈其奎教授	广州
陈强谱教授	滨州
陈仕珠主任医师	西安
陈卫昌教授	苏州
陈耀凯副教授	重庆
陈贻胜教授	福州
陈知水教授	武汉
陈治水主任医师	哈尔滨
陈祖林副教授	重庆
程爱国教授	唐山
程红岩教授	上海
程树群副教授	上海
迟宝荣教授	长春
崔云甫教授	哈尔滨
代文杰教授	哈尔滨
戴冬秋教授	沈阳
党双锁副教授	西安
邓长生教授	武汉
董蕾教授	西安
杜群副研究员	广州
樊红副教授	南京
范建高教授	上海
范志宁主任医师	南京
房静远教授	上海
傅春彬主任医师	吉林
高成新教授	上海
高春芳研究员	上海
高峰教授	西安
高润平教授	长春
戈之铮教授	上海
龚国忠教授	长沙
龚建平教授	重庆
巩鹏副教授	大连
谷俊朝主任医师	北京
关玉盘教授	北京
管冬元副教授	上海
郭克建教授	沈阳
郭晓钟教授	沈阳
郭新宁教授	银川
韩天权教授	上海
郝春秋副教授	西安
郝俊鸣副主任医师	北京
何超教授	杭州
何裕隆教授	广州
何振平教授	重庆
洪天配教授	北京

侯晓华教授	武汉
黄恒青主任医师	福州
黄金华副教授	广州
黄晓东副主任医师	武汉
黄颖秋教授	本溪
黄裕新教授	西安
黄志勇副教授	武汉
季国忠副教授	南京
季加孚教授	北京
姜慧卿教授	石家庄
蒋龙元副教授	广州
金瑞教授	北京
匡安仁教授	成都
兰平教授	广州
蓝宇教授	北京
劳绍贤教授	广州
李定国教授	上海
李东辉教授	厦门
李方儒教授	天津
李国威教授	西安
李继强教授	上海
李靖副教授	重庆
李军祥教授	北京
李奇林教授	广州
李胜研究员	济南
李涛主治医师	北京
李晓宇主任医师	北京
李旭副教授	广州
李延青教授	济南
李永哲副研究员	北京
李瑗教授	南宁
李玉民教授	兰州
李增山副教授	西安
李兆申教授	上海
李志霞教授	北京
李宗芳教授	西安
梁力建教授	广州
林胜璋副教授	温州
林勇讲师	上海
刘宝瑞教授	南京
刘彬彬副研究员	上海
刘冰熔教授	哈尔滨
刘成海研究员	上海
刘平教授	上海
刘杞教授	重庆
刘铁夫教授	哈尔滨
刘颖斌副教授	杭州
刘占举教授	郑州
刘正稳教授	西安
刘作金副教授	重庆
龙致贤教授	北京

世界华人消化杂志®

编辑委员会

鲁华玉研究员	北京	唐采白副教授	徐州	严律南教授	成都
陆才德教授	宁波	唐芙爱教授	郑州	阎晓初副教授	重庆
陆伦根教授	上海	唐霓副研究员	重庆	杨冬华教授	广州
陆云飞教授	南宁	唐文富主治医师	成都	杨广顺教授	上海
禄韶英主治医师	西安	唐文皓副主任医师	上海	杨建勇教授	广州
吕明德教授	广州	唐旭东主任医师	北京	杨林副研究员	广州
吕宁主任医师	北京	汤展宏副教授	南宁	杨维良教授	哈尔滨
吕云福教授	海口	唐志鹏副研究员	上海	杨希山教授	广州
马大烈教授	上海	田素礼教授	哈尔滨	杨永生教授	北京
茅爱武主任医师	上海	屠红副研究员	上海	姚登福教授	南通
梅林教授	北京	万军教授	北京	姚树坤教授	石家庄
孟庆华教授	北京	汪波副主任医师	北京	伊力亚尔·夏合丁教授	乌鲁木齐
宁琴教授	武汉	汪思应教授	合肥	阴赅宏研究员	北京
牛建昭教授	北京	王承党副教授	福州	于红刚副教授	武汉
欧希龙副教授	南京	王春友教授	武汉	余宏宇教授	上海
潘林娜教授	哈尔滨	王广义教授	长春	于健春教授	北京
潘兴华副主任医师	昆明	王吉耀教授	上海	于颖彦教授	上海
潘秀珍教授	福州	王健生副教授	西安	郁宝铭教授	上海
彭波副教授	西安	王鲁副教授	上海	喻荣彬副教授	南京
彭吉润主任医师	北京	王效民教授	厦门	展玉涛副主任医师	北京
彭曦副研究员	重庆	王晓艳副教授	长沙	张柏和教授	上海
彭心宇教授	石河子	王新月教授	北京	张方信主任医师	兰州
彭志海教授	上海	王学美研究员	北京	张吉翔教授	南昌
秦波教授	重庆	王正康教授	北京	张锦生教授	上海
秦成勇教授	济南	王志刚副主任医师	上海	张军教授	西安
秦环龙教授	上海	王忠裕教授	大连	张青云研究员	北京
钱建民教授	上海	卫洪波教授	广州	张群华教授	上海
秦仁义教授	武汉	魏经国教授	西安	张水军教授	郑州
卿三华教授	广州	魏来教授	北京	张绪清副教授	重庆
邱双健副教授	上海	闻勤生教授	西安	张学教授	北京
邱伟华副主任医师	上海	吴德全教授	哈尔滨	张宗明教授	北京
任超世研究员	天津	吴建国教授	武汉	赵桂珍教授	沈阳
任建安教授	南京	吴君主任医师	贵阳	赵景民教授	北京
任建林教授	厦门	吴萍主任医师	徐州	赵连三教授	成都
邵成浩讲师	上海	吴志勇教授	上海	赵平副教授	上海
邵先玉教授	泰安	席启主任医师	大同	郑民华教授	上海
邵永孚教授	北京	夏建川研究员	广州	郑鹏远教授	郑州
沈洪教授	南京	向德兵讲师	重庆	智发朝教授	广州
沈琳副教授	北京	肖恩华教授	长沙	周伯平教授	深圳
沈薇教授	重庆	谢晓华副教授	广州	周丁华主任医师	北京
施诚仁教授	上海	徐爱民副教授	上海	周国雄主任医师	南通
施瑞华教授	南京	徐迎新研究员	北京	周士胜教授	大连
石统东副教授	重庆	许春舫主任医师	苏州	周霞秋教授	上海
宋世兵主任医师	北京	徐存拴教授	新乡	周晓东研究员	广州
宋振顺教授	西安	徐大华副主任医师	北京	庄林主任医师	昆明
孙诚谊教授	贵阳	徐德忠教授	西安	朱传武副主任医师	苏州
孙殿兴主任医师	石家庄	徐列明教授	上海	朱春兰主任医师	哈尔滨
孙家邦教授	北京	徐小元教授	北京	朱立元教授	深圳
孙秀发教授	武汉	许玲副教授	上海	朱人敏教授	南京
孙学英教授	哈尔滨	许文燮教授	上海	邹小明教授	哈尔滨
邵升副教授	哈尔滨	许亚平副教授	镇江	左国营副主任药师	昆明
谭学瑞教授	汕头	闫惠平研究员	北京		

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2006 年 12 月 18 日 第 14 卷 第 35 期 (总第187期)

述 评	3341 CD14与酒精性肝病 吴涛, 季光, 郑培永
基础 研究	3348 磁性纳米控释紫杉醇对食管癌Eca109细胞株生长的影响 陈萍, 施瑞华, 凌亭生 3353 重组Canstatin蛋白联合氟尿嘧啶治疗胰腺癌 何小平, 朱人敏, 王震凯, 汪芳裕, 张晓华, 刘炯, 王琳
临床 研究	3358 通腑颗粒治疗MODS胃肠功能障碍140例 董军, 张淑文, 段美丽, 王宝恩, 王红, 阴赅宏, 文艳 3363 江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查 徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅 3371 P-gp, ToPo II 和GST- π 在胃癌组织中的表达及与预后的关系 关云艳, 欧希龙, 郭庆明, 颜芳 3377 高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效及其影响因素 薛净, 沙卫红, 聂玉强, 李瑜元, 张亚历, 周殿元 3382 原发性胆囊癌组织中脆性组氨酸三联体基因和Ki-67的表达及临床意义 刘会春, 吴斌全
文 献 综 述	3387 胃食管反流病的食管外表现及其临床进展 梁小燕, 高青 3391 前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用 丁岩冰, 肖炜明, 王学浩 3397 肝硬化与睾酮、雌二醇相互作用关系研究现状 洪美珠, 陈国良
诊 疗 指 南	3402 广州管圆线虫病诊疗方案 阴赅宏, 甘绍伯, 刘建, 韩小茜, 冯曼玲, 纪爱萍, 郭增柱, 王非, 栗绍刚, 吴赵永
研 究 快 报	3405 艾灸足三里和梁门穴诱导热休克蛋白70抗大鼠胃黏膜氧化损伤作用 常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁 3409 反义Snail转录因子抑制肝癌转移 刘海, 王志强 3414 表皮生长因子受体反义寡聚核苷酸抑制人结肠癌细胞的增殖 曲炯, 陈杰
临 床 经 验	3417 老年反流性食管炎患者固体胃排空状况及其心理因素 李军, 蔡昌豪, 吴本俨, 李园, 张建军, 王金海 3421 门脉CT血管造影成像和胃镜在门脉高压诊断中的价值 陈丽娜, 瞿晴, 孙波, 王蕾, 慎睿哲, 程时丹, 靳勇, 吴云林 3426 肝门胆管狭窄的病因分析与影像学诊断的临床评价 郝俊鸣, 李雪梅, 徐建民, 任元满, 武世荣, 崔永超 3430 多层螺旋CT三维胆系成像对胆道梗阻的诊断价值 钟华, 张宗明, 朱建平, 宿砚明, 李刚, 郭金星

附 录	3433 世界华人消化杂志投稿须知
致 谢	3438 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	<p>3347 2007中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知</p> <p>3357 世界华人消化杂志关于作者署名的声明</p> <p>3362 中国科学技术信息研究所情报方法研究中心关于2005年世界华人消化杂志指标检索报告</p> <p>3370 中国学术期刊综合引证报告(2006)</p> <p>3381 欢迎订阅2007年《世界华人消化杂志》</p> <p>3401 中华医学会第七次全国消化系疾病学术会议征文通知、更正与说明</p> <p>3404 2005年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序表</p> <p>3413 全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会征文启事</p> <p>3420 第十九届全国中西医结合消化会议征文通知</p>
封面故事	<p>刘会春, 吴斌全.</p> <p>原发性胆囊癌组织中脆性组氨酸三联体基因和Ki-67的表达及临床意义.</p> <p>世界华人消化杂志 2006;14(35):3382-3386</p> <p>http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3382.asp</p>
国际会议	<p>9th World Congress on Gastrointestinal Cancer</p> <p>20-23 June 2007</p> <p>Barcelona</p> <p>Imedex</p> <p>meetings@imedex.com</p>

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2006-12-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生 编辑部主任 张海宁 英文编辑 张海宁 中文编辑 潘伯荣 王晓瑜 张焕兰 电子编辑 张敏 李琪 本期责任编辑 王晓瑜</p>		<p>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 出版 世界胃肠病学杂志社 100023, 北京市2345信箱 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</p> <p>印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p>订购 全国各地邮电局 邮购 世界胃肠病学杂志社发行部 (100023, 北京市2345信箱) 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</p>	<p>《世界华人消化杂志》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》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。</p> <p>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社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>2006年版权归世界胃肠病学杂志社所有</p>
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R	邮发代号 82-262 国外代号 M 4481	国内定价 每期24.00元 全年864.00元	广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

December 2006 Contents in Brief Volume 14 Number 35

EDITORIAL	<p>3341 Role of CD14 in alcoholic liver disease <i>Wu T, Ji G, Zheng PY</i></p>
BASIC RESEARCH	<p>3348 Effects of magnetic nano-controlled release paclitaxel on the growth of esophageal carcinoma cell line Eca109 <i>Chen P, Shi RH, Ling TS</i></p> <p>3353 Efficacy of recombinant Canstatin protein plus fluorouracil in treatment of pancreatic cancer <i>He XP, Zhu RM, Wang ZK, Wang FY, Zhang XH, Liu J, Wang L</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>3358 Efficacy of Tongfu granules in treatment of gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndromes: an analysis of 140 cases <i>Dong J, Zhang SW, Duan ML, Wang BE, Wang H, Yin CH, Wen Y</i></p> <p>3363 Epidemiological study of <i>Helicobacter pylori</i> infection and its risk factors in Jiangsu area <i>Xu SF, Shi RH, Zhang GX, Ding YB, Sun GQ, Zhang HJ, Chen XX, Huang XY, Li XL, Yan ZG, Miao Y</i></p> <p>3371 Expression of P-glycoprotein, topoisomerase II and glutathione S-transferase π in gastric carcinoma and their correlations with clinical prognosis <i>Guan YY, Ou XL, Guo QM, Yan F</i></p> <p>3377 Efficacy of high intensity focused ultrasound in treatment of hepatocellular carcinoma and its influential factors <i>Xue J, Sha WH, Nie YQ, Li YY, Zhang YL, Zhou DY</i></p> <p>3382 Expression of fragile histidine triad and Ki-67 in primary gallbladder carcinoma and their clinical significances <i>Liu HC, Wu BQ</i></p>
REVIEW	<p>3387 Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease <i>Liang XY, Gao Q</i></p> <p>3391 Role of prostaglandins in pathogenesis of gastrointestinal cancer <i>Ding YB, Xiao WM, Wang XH</i></p> <p>3397 Current status on the interaction of testosterone and estradiol with liver cirrhosis <i>Hong MZ, Chen GL</i></p>
DIAGNOSTIC & TREATMENT GUIDELINE	<p>3402 Diagnosis and treatment for Guangzhou angiostrongylosis <i>Yin CH, Gan SB, Liu J, Han XQ, Feng ML, Ji AP, Guo ZZ, Wang F, Li SG, Wu ZY</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>3405 Moxibustion at <i>Zusanli</i> and <i>Liangmen</i> prevents gastric mucosa from oxidation injury through inducing high expression of heat shock protein 70 <i>Chang XR, Peng N, Yi SX, Peng Y, Yan J</i></p>

	<p>3409 Inhibitory effects of antisense Snail on invasion of hepatoma carcinoma cells <i>Liu H, Wang ZQ</i></p> <p>3414 Inhibitory effects of epidermal growth factor receptor antisense oligonucleotide on the proliferation of human colonic cancer cells <i>Qu X, Chen J</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>3417 Solid gastric emptying and mental analysis in elderly patients with reflux esophagitis <i>Li J, Cai CH, Wu BY, Li Y, Zhang JJ, Wang JH</i></p> <p>3421 Values of endoscopy and computed tomographic angiography for portal vein in diagnosis of portal hypertension <i>Chen LN, Qu Q, Sun B, Wang L, Shen RZ, Cheng SD, Jin Y, Wu YL</i></p> <p>3426 Etiological analysis of bile duct obstruction in porta hepatitis and clinical evaluation of imaging diagnostic technique <i>Hao JM, Li XM, Xu JM, Ren YM, Wu SR, Cui YC</i></p> <p>3430 Value of multislice helical CT cholangiography in diagnosis of biliary obstruction <i>Zhong H, Zhang ZM, Zhu JP, Su YM, Li G, Guo JX</i></p>
APPENDIX	3433 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology
ACKNOWLEDGMENT	3438 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<p><i>Liu HC, Wu BQ.</i> Expression of fragile histidine triad and Ki-67 in primary gallbladder carcinoma and their clinical significances Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(35):3382-3386 http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3382.asp</p>
INTERNATIONAL MEETINGS	<p>9th World Congress on Gastrointestinal Cancer 20-23 June 2007 Barcelona Imedex meetings@imedex.com</p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 18, 2006

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2006 by The WJG Press

CD14与酒精性肝病

吴涛, 季光, 郑培永

吴涛, 季光, 郑培永, 上海中医药大学附属龙华医院肝病研究室 上海市 200032

季光, 主任医师, 博士生导师, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科教授, 主要从事中医药防治慢性肝病的研究.

国家自然科学基金资助课题, No. 30572380

通讯作者: 季光, 200032, 上海市, 上海中医药大学附属龙华医院肝病研究室. jiliver@vip.sina.com

电话: 021-64286261 传真: 021-64286261

收稿日期: 2006-09-29 接受日期: 2006-10-16

Role of CD14 in alcoholic liver disease

Tao Wu, Guang Ji, Pei-Yong Zheng

Tao Wu, Guang Ji, Pei-Yong Zheng, Department of Liver Diseases, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by National Science Foundation of China, No. 30572380

Correspondence to: Guang Ji, Department of Liver Diseases, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com

Received: 2006-09-29 Accepted: 2006-10-16

Abstract

CD14 (cluster of differentiation antigen), the receptor of LPS (lipopolysaccharide), plays a key role in a series of responses of the body immune and recovery system. Membrane CD14 not only recognizes LPS, but also induces tyrosine's phosphorylation, transposes NF- κ B (nuclear factor- κ B), triggers the release of cytokines, generates the oxygen free radicals. But the soluble CD14 competes with membrane CD14 in binding LPS, and mediates the response to LPS of the endothelial cells and smooth muscle cells which do not express membrane CD14. In recent years, it is demonstrates that CD14 plays an important role in the pathogenesis of alcoholic liver disease.

Key Words: Cluster of differentiation antigen 14; Alcoholic liver disease; Lipopolysaccharide; Signal transduction

Wu T, Ji G, Zheng PY. Role of CD14 in alcoholic liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3341-3347

摘要

白细胞分化抗原14(cluster of differentiation antigen, CD14)为内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)高亲和力受体,在机体免疫、防御系统引起的一系列反应中起着关键的作用. 细胞膜CD14识别LPS并引起细胞酪氨酸磷酸化、核因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)转位、触发细胞因子释放和氧自由基的产生. 而可溶性CD14则与细胞膜CD14竞争结合LPS,并且介导不表达膜CD14的内皮细胞和平滑肌细胞对LPS的应答. 近年来发现, CD14在酒精性肝病的发病机制中起着重要的作用.

关键词: 白细胞分化抗原14; 酒精性肝病; 脂多糖; 信号传导

吴涛, 季光, 郑培永. CD14与酒精性肝病. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3341-3347

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3341.asp>

0 引言

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是因长期、大量饮用各种含乙醇的饮料所致肝脏损害性病变,包括酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver, ALF)、酒精性肝炎(alcoholic hepatitis, AH)及酒精性肝硬化(alcoholic cirrhosis, ALC). ALD是发达国家肝硬化(liver cirrhosis)的主要病因(占80%-90%),也是青壮年死亡的主要原因. 在亚洲各国, ALD有日渐增多的趋势^[1]. ALD的产生机制是多方面的,近年来发现, CD14在ALD的形成中起着重要的作用,因而对于CD14结构、功能及其临床意义的研究日益受到重视. 本文就CD14的结构和功能、与LPS的结合和细胞内信号传导以及在ALD发生、发展中的作用作一综述.

1 CD14的结构特点与分布

1.1 CD14结构特点 编码CD14的基因位于人类5号染色体长臂5q23-31区,约3900 bp,编码含有375个氨基酸的糖蛋白,相对分子质量为55 kDa. 其主要结构识别特征是N-末端富含亮氨酸的重

■背景资料

酒精性肝病(ALD)是因长期、大量饮用各种含乙醇的饮料所致肝脏损害性病变,包括酒精性脂肪肝、酒精性肝炎及酒精性肝硬化. ALD是发达国家肝硬化的主要病因,也是青壮年死亡的主要原因. ALD的产生机制是多方面的,近年来发现CD14在酒精性肝病的形成中起着重要的作用.

■ 研发前沿

目前关于CD14研究的热点主要集中在CD14分子结合LPS的特异结合位点, CD14-LPS跨膜信号传导和细胞内信号传导途径等方面。许多的研究证实CD14在ALD的发生、发展过程中起了重要的作用。目前亟待研究的问题在于CD14细胞内信号传导具体途径及其在ALD中导致肝损伤的机制。

复单位^[2-3]。CD14蛋白在人体内存在两种形式, 膜结合CD14(membrane CD14, mCD14)和可溶性CD14(soluble CD14, sCD14)。其中mCD14是一种相对分子质量为55 kDa的非跨膜糖蛋白, 以糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidyl inositol, GPI)锚定在细胞表面。CD14至少有两个独立的功能结构域: 一个是LPS结合区, 另一个是介导LPS-CD14与信号传导分子相互作用的区域, 完成CD14结合LPS及激活细胞双重功能^[4]。mCD14蛋白质部分由包括356个氨基酸残基组成的多肽链和一个由19个氨基酸残基组成的末端多肽链构成, 其末端多肽为强疏水性多肽链。sCD14也是一种糖蛋白, 其蛋白质结构与mCD14的蛋白质结构基本相同, 但sCD14不含有GPI结构, 故相对分子质量较mCD14小, 为48 kDa左右^[5-7]。

1.2 产生与分布 mCD14是由含有CD14基因的单核细胞、巨噬细胞, 自行转录、翻译蛋白质多肽链, 在高尔基复合体内糖化后, 其羧基端再与PI结合, 并由PI的磷脂部分与细胞膜连接而成。sCD14则是由单核细胞产生。单核细胞产生sCD14的方式可能有两种: (1)经内源性酶促反应(由蛋白酶或磷脂酶催化), 使mCD14分解(脱去PI成分)、脱落形成; (2)由CD14基因转录、合成的CD14蛋白, 不进行PI化或逃脱PI化, 直接分泌入血而成^[8]。mCD14主要分布在单核细胞、巨噬细胞和树突细胞的细胞表面, 微弱分布于中性粒细胞、肾小球膜细胞、乳腺细胞和B细胞。而内皮细胞(endothelial cell, Ecs)、上皮细胞等表面则未发现mCD14的存在, 早期的髓单核细胞和原单核细胞表面不表达CD14^[2]。sCD14则存在于正常人和动物的血浆(清)中, 来源于mCD14的直接脱落或直接分泌, 血清中含量约2-6 mg/L, 占总CD14的99%。

2 CD14的生物学功能

2.1 作为LPS受体 CD14的主要功能是作为LPS的受体在LPS结合蛋白(LBP)的协助下结合LPS并引起细胞活化。LPS通常以聚合体的形式与CD14结合。目前, 推测CD14上与结合LPS相关的区域有: 氨基酸57-64, 39-44, 这些区域的删除将导致LPS结合能力完全丧失; 与细胞激活相关的区域有: 氨基酸7-10, 9-13和91-101, 删除这些区域后CD14尚能结合LPS, 但其激活细胞的能力丧失^[9-13]。Muroi *et al*^[14]研究表明, 鼠CD14氨基酸35-44, 151-153, 235-243, 273-275在LPS结合

过程和信号传递中起了重要的作用。mCD14与sCD14可通过不同途径与LPS相互作用, 导致细胞激活。且mCD14与sCD14作为LPS受体有着不同的结构决定簇^[15]。LPS或革兰阴性细菌进入血液循环后, 立即与LBP结合, 形成LPS/LBP复合物。LPS/LBP复合物随即被单核细胞表面的mCD14所识别并结合。mCD14一方面传递LPS信息, 刺激单核细胞等分泌TNF, IL-21等细胞因子, 介导一系列生理(增强免疫反应性)和病理(炎症)反应; 另一方面介导单核细胞等对LPS/LBP复合物的吞噬作用, 清除被LBP调理后的革兰阴性细菌和LPS^[5]。Tsan *et al*^[16]研究显示, 在鼠巨噬细胞中LPS诱导的TNF- α 、二氧化锰歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)的激活是由mCD14和TLR4所介导。sCD14生物学活性与mCD14相似, 识别并结合LPS-LBP复合物, 产生相应的生物学效应。一些不表达CD14的细胞, 例如Ecs、平滑肌细胞、星形胶质细胞, 则由sCD14来介导, sCD14与LPS/LBP复合物结合或直接与LPS结合, 形成复合物(类似LPS/LBP复合物), 再将LPS信息传递给Ecs、上皮细胞等。活化后的Ecs等细胞可释放IL、生长因子、一氧化氮, 并表达黏附分子, 参与炎症反应导致组织器官损伤。sCD14与LPS的直接结合, 还可减少LPS与mCD14的结合, 调节单核细胞等的细胞反应。当sCD14浓度明显高于正常血清浓度时, 能部分抑制LPS对单核细胞、巨噬细胞的激活作用, 抑制TNF的产生, 这可能是由于sCD14竞争性地与LPS结合; 也可能是由于sCD14与LPS对Ecs刺激的副作用^[5]。但在sCD14与LPS或LPS/LBP复合物结合后, 通过何种特定的细胞受体进一步传递LPS信息, 介导LPS对Ecs等的刺激作用, 目前尚不明确。

2.2 作为其他分子的受体 CD14不仅是LPS的受体, 还可作为革兰阴性或阳性细菌等其他产物的受体, 识别并结合分枝杆菌的脂肪阿拉伯甘露聚糖(lipoarabinomannan, LAM)^[17]、革兰阳性细菌细胞壁成分-肽聚糖(peptidoglycan, PGN)^[18]和磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)等, 激活单核细胞, 介导一系列生物学反应。Chiba *et al*^[19]研究结果还表明, CD14是甘露糖结合蛋白A(mannose-binding protein-A, MBP-A)的一种新的配体, 且MBP-A利用不同的CD14识别LPS的机制。

2.3 作为巨噬细胞的受体 CD14是巨噬细胞上识别和吞噬凋亡细胞的受体之一。目前研究认为,

CD14可能作为一个信号识别分子, 和其他受体如补体受体3(complement receptor3, CR3), 补体受体4(complement receptor4, CR4)联合激活信号, 介导凋亡细胞的识别. 这个作用依赖于CD14的特定区域, 且这个区域与LPS结合的区域密切相关. 然而, 凋亡细胞不像LPS, 不能激活巨噬细胞前炎症因子的释放. 研究表明, 凋亡细胞的清除CD14受体可与非己成分(LPS)及自我成分(凋亡细胞)相互作用, 引起巨噬细胞的不同反应^[20-24].

3 CD14与LPS跨膜信号传导

关于CD14跨膜传导争论颇多. Ulevitch *et al*^[25]就CD14介导的LPS刺激信号传导提出了3种模式. 模式I为所谓的信号受体模式, 即单构件受体: LPS(LPS/LBP)与mCD14连接后开始传导信号, 由跨膜蛋白(transmembrane protein)识别mCD14GPI锚后将信号传递到细胞内; 模式II和模式III则认为LPS受体是一种多构件受体, 由主要配体结合亚单位mCD14和一个附加的跨膜蛋白传递信号. 模式II认为mCD14与LPS结合后, mCD14通过构型改变与没有连接LPS的跨膜信号分子相互作用, 从而将信号传入细胞内. 模式III提出CD14使LPS能够直接和跨膜信号分子结合. 模式III为缺乏CD14时的LPS能与巨噬细胞表现出低亲和力结合提供了解释. 模式II, III假设的信号传导分子都属于受体型跨膜蛋白. 这两种观点认为CD14在细胞与LPS结合上起重要作用, 但在信号传导中需要有附加蛋白. 大多数研究人员趋向认为, CD14没有跨膜区胞质内段, 不能直接传导内毒素信号, 必需联合其他膜表面分子来完成跨膜^[26-28].

4 CD14与LPS细胞内信号传导途径

目前, 对于CD14细胞内激活机制提出两种途径即磷脂酰肌醇(phosphatidyl inositol, PI)途径和蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)途径.

4.1 磷脂酰肌醇途径 LPS与CD14结合后通过某种机制激活磷脂酶C(phospholipase C, PLC), 其中可能有G蛋白的介导作用^[29-30]. PLC酶促磷脂酰肌醇水解生成甘油二酯(diacylglycerol, DAG)和三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP₃), DAG和IP₃激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和动员钙离子, 通过DAG-PKC和IP₃-Ca²⁺两条途径产生一系列的生物效应. 激活的PKC促使靶蛋白核内磷酸酶磷酸化而活化, 活化的磷酸酶使核内

激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)脱磷酸而变构活化, 活化后的AP-1与TPA反应元件(phorbol ester element, TRE)结合促进基因表达, 促进细胞生长和增殖. 细胞内Ca²⁺浓度的升高使得Ca²⁺作为第二信使进一步传递信息的功能加强, 从而产生一系列的生物效应^[27,31]. Yamamoto *et al*^[32]认为磷酸卵磷脂(phosphatidylcholine, PC)中产生的DAG是CD14介导的LPS刺激引起NF- κ B活化的上游条件. 中国仓鼠卵巢(CHO)/CD14细胞在LPS的刺激下细胞内DAG水平升高, 并激活NF- κ B. 当细胞与短链DAG类似物或与细菌的PLC一起孵育时, 即使没有LPS的刺激也能使NF- κ B激活, 用PC-PLC和磷脂酶D(phospholipase D, PLD)的特异的抑制剂来处理CHO/CD14细胞, 几乎完全抑制LPS依赖的DAG产生和NF- κ B的激活. 孙航 *et al*^[33]研究发现, 磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C(PI-PLC)能通过裂解KC膜的CD14蛋白, 阻止LPS与KC的结合, 对KC的激活、肝组织中CD14 mRNA的表达以及血浆中TNF- α 和IL-6等细胞因子的产生和释放有一定抑制作用.

4.2 蛋白酪氨酸激酶(PTK)途径 PTK途径是CD14受体的细胞内信号传递中的另一重要通路, 在LPS刺激的几分钟内, 一些靶蛋白被酪氨酸磷酸化, 激活促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径, 催化转录因子(transcription factor, TF)发生磷酸化修饰, 调控相关基因蛋白的表达. Schumann *et al*^[34]发现, PTK的特异抑制剂三羟基异黄酮(Genistein)能阻断LPS诱导的细胞激活与传导, 这些说明, 酪氨酸磷酸化过程中酪氨酸激酶参与了CD14介导的信号传递通路. 尽管PTK在细胞内的相互传递过程中起重要作用, 但其确切成员尚不清楚. 在被PTK磷酸化的蛋白质中, 39, 45 kDa的蛋白质被证实为MAPK家族成员. LPS诱导单核细胞的MAPK家族中一些成员(包括p42和p44)的酪氨酸磷酸化, 激活中性粒细胞p38 MAPK, 在sCD14存在下, LPS还使内皮细胞的MAPK家族的Erk-1(细胞外信号调节激酶-1)和p38发生快速酪氨酸磷酸化. 在sCD14的下游、p38的上游还需某些信号分子的存在以完成信号传递^[27,29,35-36]. 细胞外的刺激经CD14受体所介导的细胞内蛋白激酶信号传递可能相互重叠或多个通路. 通过这些蛋白激酶的级联反应使得NF- κ B诱导的蛋白激酶激活I- κ B磷酸化激酶(inhibitory kappa B kinase, I κ K), 使得I- κ B(inhibitory kappa B)发生

■创新盘点

本文较为系统全面的综述了CD14的结构与功能、产生与分布及跨膜信号传导, 细胞内信号传递途径, 以及目前对于CD14在ALD中的作用的研究进展和中医药治疗ALD的研究现状.

■应用要点

目前CD14在ALD的形成和发展过程中的作用越来越受到重视,将CD14分子信号传导途径作为ALD治疗的靶点已经成为目前该领域的研究热点之一。大量实验和临床研究证明CD14在ALD中起了重要的作用,且可以试图通过不同途径干预CD14分子信号传导来抑制ALD的形成和发展,进而为治疗ALD开辟更为广阔的途径。

磷酸化修饰,磷酸化的I- κ B α 继而被泛素化,进而受到蛋白酶小体作用导致I- κ B成员降解,NF- κ B脱离NF- κ B/I- κ B复合物,从细胞质中移入细胞核,最后结合于特定的目的基因 κ B部位,从而诱导靶基因转录^[37]。NF- κ B能够上调免疫反应和各种炎症相关因子的基因表达,引起免疫反应和多种急性慢性炎症反应。因此,CD14分子及其信号通路在机体的免疫反应、炎症反应过程中起到重要的作用。

5 CD14在酒精性肝病中的作用

酒精造成肝损伤的机制是多方面的^[38-40]。其中一个重要因素就是LPS的大量产生。酒精可导致肠道黏膜对大分子(包括LPS)的通透性增加,同时肝脏对LPS的清除减少,使血液中的LPS增高。LPS不仅可直接损伤肝细胞,更重要的是与库普弗细胞(Kupffer Cell, KC)特异受体CD14及toll样受体4(toll like receptor4, TLR4)结合激活该细胞,进而可释放大量的氧自由基、细胞因子和炎症介质,如TNF, IL-6, IL-10, IL-12, 干扰素(interferon- β , IFN- β), 转化生长因子(TGF- β), 血小板源生长因子(PDGF)等。Adachi *et al*^[41]研究证实,在AH的发病过程中, KC的激活及其释放的细胞因子起一定作用。Thurman *et al*^[42]对ALD研究显示,乙醇使KC对LPS刺激敏感性增加,产生的炎症介质,尤其是TNF- α 和活性氧(reactive oxygen species, ROS)增加,导致进一步的肝细胞脂肪变、炎症及肝纤维化,严重的损伤肝脏功能。表明细胞因子和炎症介质是酒精性肝损伤的主要原因之一。Fukui^[43]研究发现,在重度酒精性肝损伤和多器官衰竭的进展中LPS和他在肝外的巨噬细胞起着关键性作用。Su *et al*^[44]提出,在ALD形成过程中关键的中介者可能是早期由肝脏中的KC所产生的细胞因子TNF- α , LBP和CD14等。LPS可引起KC的激活及肝细胞的营养障碍,导致肝脏炎症、肝细胞脂肪变性、纤维化和肝再生障碍等。Lin *et al*^[45]研究表明,ALD时肝脏能产生TNF- α 、IL类、前列腺素及其他可溶性细胞介质,在早期肝脏损害中起重要作用。许多研究证明,CD14作为LPS的受体在ALD的形成中起着重要的作用。Kono *et al*^[46]表明,早期酒精性肝损伤与KC中CD14的表达和NF- κ B的活化、TNF- α mRNA的表达是密切相关的。Zuo *et al*^[47-49]认为, KC中CD14基因和蛋白的增高造成KC激活并释放多种细胞因子如TNF- α 和IL-6可能是酒精诱导肝细胞损害的重

要机制之一。Yin *et al*^[50]实验研究证明,在用酒精灌胃野生小鼠和CD14基因敲除小鼠两类动物中,前者的NF- κ B, TGF, TNF明显增长,这说明在早期酒精性肝损害的发展中作为内毒素受体的CD14分子占了很重要的作用。Campos *et al*^[51]研究证明,大量饮酒并具有CD14/-159TT基因者较单纯CD14/-159C的等位基因携带者有较高水平的内毒素结合的急性期蛋白(LBP, CD14)。表明,CD14/-159TT基因是ALD的一个危险因子。Meiler *et al*^[52]研究表明,CD14基因启动子区的-159基因多态性与早期酒精性肝损伤是相关联的。以血清转氨酶作为酒精性肝损伤的标志下,在ALD的过程中CD14的多态性表现出不同的影响。Campos *et al*^[53]亦证实了CD14/-159C/T基因多态性在血清IgE水平上改变酒精所致的影响。Yin *et al*^[54]也报道酒精能增加血浆中内毒素含量和肝组织中CD14 mRNA的水平,大鼠肝脏对酒精所致的损伤的敏感性与肝组织中CD14的表达直接相关。Zima *et al*^[55]已经显示,CD14在小鼠酒精性肝损伤中是必要的,且在人类CD14的增长水平与ALD的严重程度是相关联的。Ebong *et al*^[56]研究证实,CD14激活途径在前炎症细胞因子和细胞因子抑制剂的产生中起着关键性的作用。在骨髓源细胞中基因改变的过度表达CD14的小鼠对LPS更加敏感,这提供了体内实验的证据,说明内生的CD14的过多表达可以加强LPS介导的活化作用^[57]。相反,在CD14敲除鼠中对LPS的敏感性和TNF, IL-6的产生至少<10倍未敲除CD14鼠^[58]。Martins *et al*^[59]提出,虽然在对CD14的研究较多,但是CD14内毒素受体的多态现象作为发展ALD的危险因素并没有被他们的结果所证实。

6 CD14信号传导途径与中医药治疗ALD

中医学虽无酒精性肝病之称,但根据其病因、病理及临床特征,可将其归属于“伤酒”、“酒病”、“胁痛”、“酒癖”、“酒疸”、“积聚”、“酒嗽”等病证之中。中医学认为酒伤肝脾,聚湿生痰为本病发病之关键,而素体禀赋不足,脾胃虚弱为发病之本。目前,大量实验研究和临床研究证实中医药治疗ALD具有一定的疗效^[60-63]。季光 *et al*^[64]研究表明,清肝活血方通过下调CD14, TLR₄及NF- κ B的表达,抑制TNF- α 的产生,保护肝细胞。但是目前,对于中医药可能通过下调CD14表达而降低KC-LPS内毒素效应的研究较少,以及药物通过干预CD14途

经治疗ALD的研究亦不多,但可以相信,随着对ALD研究的深入,中医药必将为ALD的治疗做出更大的贡献。CD14在LPS介导单核巨噬细胞激活中起重要作用。因此,了解CD14蛋白的结构特点,生物学功能及其与LPS结合和细胞内信号传导的途径可以为我们实验和临床研究提供一些帮助。我们可以针对性地阻断CD14发挥其毒性作用,如运用抗CD14 mAb;用反义CD14质粒表达出反义CD14 mRNA使CD14在膜上或血液中浓度降低,降低CD14的表达而减弱LPS信号传导等。但目前对CD14受体与ALD的研究还存在以下问题: (1)CD14作为复合受体,其信号传导分子仍未被分离、纯化出来; (2)CD14分子结合LPS的特异结合位点还需要不断探索和完善; (3)CD14与LPS跨膜信号传导模式还需要进一步的研究; (4)LPS结合CD14后引起胞内信号传导的具体途径还需继续研究; (5)关于ALD的LPS发病机制具体信号传递和肝损伤过程未完全了解清楚,且CD14在ALD的形成过程中具体是怎样起作用的都有待于进一步的研究和证实。

7 参考文献

- 赵彩彦. 核因子- κ B与酒精性肝病. 国外医学·消化系疾病分册 2002; 22: 230-232
- 张葵. CD14的研究进展及临床意义. 临床检验杂志 2003; 21: 367-368
- Viriyakosol S, Kirkland TN. The N-terminal half of membrane CD14 is a functional cellular lipopolysaccharide receptor. *Infect Immun* 1996; 64: 653-656
- Stelter F, Bernheiden M, Menzel R, Jack RS, Witt S, Fan X, Pfister M, Schutt C. Mutation of amino acids 39-44 of human CD14 abrogates binding of lipopolysaccharide and *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 1997; 243: 100-109
- 赵虎, 周庭银. CD14的结构和功能. 免疫学杂志 2000; 16: 74-76
- Ferrero E, Hsieh CL, Francke U, Goyert SM. CD14 is a member of the family of leucine-rich proteins and is encoded by a gene syntenic with multiple receptor genes. *J Immunol* 1990; 145: 331-336
- Frey EA, Miller DS, Jahr TG, Sundan A, Bazil V, Espevik T, Finlay BB, Wright SD. Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1992; 176: 1665-1671
- Bazil V, Strominger JL. Shedding as a mechanism of down-modulation of CD14 on stimulated human monocytes. *J Immunol* 1991; 147: 1567-1574
- 白洁. CD14生物学特性. 国外医学·生理、病理科学与临床分册 2000; 20: 124-126
- Stelter F, Bernheiden M, Menzel R, Witt S, Jack RS, Grunwald U, Fan X, Schutt C. The molecular basis for therapeutic concepts utilizing CD14. *Prog Clin Biol Res* 1998; 397: 301-313
- Juan TS, Hailman E, Kelley MJ, Busse LA, Davy E, Empig CJ, Narhi LO, Wright SD, Lichenstein HS. Identification of a lipopolysaccharide binding domain in CD14 between amino acids 57 and 64. *J Biol Chem* 1995; 270: 5219-5224
- Juan TS, Kelley MJ, Johnson DA, Busse LA, Hailman E, Wright SD, Lichenstein HS. Soluble CD14 truncated at amino acid 152 binds lipopolysaccharide (LPS) and enables cellular response to LPS. *J Biol Chem* 1995; 270: 1382-1387
- Stelter F, Loppnow H, Menzel R, Grunwald U, Bernheiden M, Jack RS, Ulmer AJ, Schutt C. Differential impact of substitution of amino acids 9-13 and 91-101 of human CD14 on soluble CD14-dependent activation of cells by lipopolysaccharide. *J Immunol* 1999; 163: 6035-6044
- Muroi M, Ohnishi T, Tanamoto K. Regions of the mouse CD14 molecule required for toll-like receptor 2- and 4-mediated activation of NF-kappa B. *J Biol Chem* 2002; 277: 42372-42379
- Viriyakosol S, Mathison JC, Tobias PS, Kirkland TN. Structure-function analysis of CD14 as a soluble receptor for lipopolysaccharide. *J Biol Chem* 2000; 275: 3144-3149
- Tsan MF, Clark RN, Goyert SM, White JE. Induction of TNF-alpha and MnSOD by endotoxin: role of membrane CD14 and Toll-like receptor-4. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C1422-1430
- Bernardo J, Billingslea AM, Blumenthal RL, Seetoo KF, Simons ER, Fenton MJ. Differential responses of human mononuclear phagocytes to mycobacterial lipoarabinomannans: role of CD14 and the mannose receptor. *Infect Immun* 1998; 66: 28-35
- Dziarski R, Gupta D. Peptidoglycan recognition in innate immunity. *J Endotoxin Res* 2005; 11: 304-310
- Chiba H, Sano H, Iwaki D, Murakami S, Mitsuzawa H, Takahashi T, Konishi M, Takahashi H, Kuroki Y. Rat mannose-binding protein a binds CD14. *Infect Immun* 2001; 69: 1587-1592
- 田玉恒. CD14介导凋亡细胞清除的研究进展. 国外医学·生理、病理科学与临床分册 2003; 23: 265-268
- Devitt A, Moffatt OD, Raykundalia C, Capra JD, Simmons DL, Gregory CD. Human CD14 mediates recognition and phagocytosis of apoptotic cells. *Nature* 1998; 392: 505-509
- Devitt A, Parker KG, Ogden CA, Oldreive C, Clay MF, Melville LA, Bellamy CO, Lacy-Hulbert A, Gangloff SC, Goyert SM, Gregory CD. Persistence of apoptotic cells without autoimmune disease or inflammation in CD14-/- mice. *J Cell Biol* 2004; 167: 1161-1170
- Schlegel RA, Krahling S, Callahan MK, Williamson P. CD14 is a component of multiple recognition systems used by macrophages to phagocytose apoptotic lymphocytes. *Cell Death Differ* 1999; 6: 583-592
- Gregory CD. CD14-dependent clearance of apoptotic cells: relevance to the immune system. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 27-34
- Ulevitch RJ, Tobias PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 437-457
- 单于, 陆大祥. 内毒素诱导的细胞内信息转导. 中国病理生理杂志 2001; 17: 85-88
- 周平. CD₁₄与内毒素研究进展. 中华医学丛刊 2004; 4: 2-4
- 姜勇. LPS介导细胞激活的信号转导: 从CD14到p38MAPK通路的研究. 生理科学进展 1999; 30: 29-34
- Ferlito M, Squadrito F, Halushka PV, Cook JA.

■同行评价

本文文笔很好, 陈述清楚, 有条理, 有参考价值。

- Signal transduction events in Chinese hamster ovary cells expressing human CD14; effect of endotoxin desensitization. *Shock* 2001; 15: 291-296
- 30 Fan H, Peck OM, Tempel GE, Halushka PV, Cook JA. Toll-like receptor 4 coupled GI protein signaling pathways regulate extracellular signal-regulated kinase phosphorylation and AP-1 activation independent of NF κ B activation. *Shock* 2004; 22: 57-62
- 31 陈理华. CD14分子的受体作用及其信号传递. 国外医学免疫学分册 2000; 23: 137-140
- 32 Yamamoto H, Hanada K, Nishijima M. Involvement of diacylglycerol production in activation of nuclear factor kappaB by a CD14-mediated lipopolysaccharide stimulus. *Biochem J* 1997; 325 (Pt 1): 223-228
- 33 孙航, 吴传新, 龚建平, 刘海忠, 李旭宏, 游海波, 陈先锋. 磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C对内毒素血症大鼠肝组织CD14表达的抑制作用. 基础医学与临床 2005; 25: 337-341
- 34 Schumann RR, Pfeil D, Lamping N, Kirschning C, Scherzinger G, Schlag P, Karawajew L, Herrmann F. Lipopolysaccharide induces the rapid tyrosine phosphorylation of the mitogen-activated protein kinases erk-1 and p38 in cultured human vascular endothelial cells requiring the presence of soluble CD14. *Blood* 1996; 87: 2805-2814
- 35 Hoek JB, Pastorino JG. Cellular signaling mechanisms in alcohol-induced liver damage. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 257-272
- 36 Aroor AR, Shukla SD. MAP kinase signaling in diverse effects of ethanol. *Life Sci* 2004; 74: 2339-2364
- 37 刘兴. 脂多糖受体的研究进展. 国外医学临床生物化学与检验学分册 2001; 22: 134-136
- 38 Nagy LE. Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 882-890
- 39 McClain CJ, Hill DB, Song Z, Deaciuc I, Barve S. Monocyte activation in alcoholic liver disease. *Alcohol* 2002; 27: 53-61
- 40 Hines IN, Wheeler MD. Recent advances in alcoholic liver disease III. Role of the innate immune response in alcoholic hepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G310-314
- 41 Adachi Y, Bradford BU, Gao W, Bojes HK, Thurman RG. Inactivation of Kupffer cells prevents early alcohol-induced liver injury. *Hepatology* 1994; 20: 453-460
- 42 Thurman RG. II. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol* 1998; 275: G605-611
- 43 Fukui H. Relation of endotoxin, endotoxin binding proteins and macrophages to severe alcoholic liver injury and multiple organ failure. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 1725-1795
- 44 Su GL, Rahemtulla A, Thomas P, Klein RD, Wang SC, Nanji AA. CD14 and lipopolysaccharide binding protein expression in a rat model of alcoholic liver disease. *Am J Pathol* 1998; 152: 841-849
- 45 Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127: 117-126
- 46 Kono H, Wheeler MD, Rusyn I, Lin M, Seabra V, Rivera CA, Bradford BU, Forman DT, Thurman RG. Gender differences in early alcohol-induced liver injury: role of CD14, NF- κ B, and TNF- α . *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278: G652-G661
- 47 Zuo GQ, Gong JP, Liu CA, Li SW, Wu XC, Yang K, Li Y. Expression of lipopolysaccharide binding protein and its receptor CD14 in experimental alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 836-840
- 48 Zuo G, He S, Liu C, Gong J. Expression of lipopolysaccharide binding protein and lipopolysaccharide receptor CD14 in experimental alcoholic liver disease. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2002; 10: 207-210
- 49 Dai LL, Gong JP, Zuo GQ, Wu CX, Shi YJ, Li XH, Peng Y, Deng W, Li SW, Liu CA. Synthesis of endotoxin receptor CD14 protein in Kupffer cells and its role in alcohol-induced liver disease. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 622-626
- 50 Yin M, Bradford BU, Wheeler MD, Uesugi T, Froh M, Goyert SM, Thurman RG. Reduced early alcohol-induced liver injury in CD14-deficient mice. *J Immunol* 2001; 166: 4737-4742
- 51 Campos J, Gonzalez-Quintela A, Quinteiro C, Gude F, Perez LF, Torre JA, Vidal C. The -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene is associated with advanced liver disease and higher serum levels of acute-phase proteins in heavy drinkers. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 1206-1213
- 52 Meiler C, Muhlbauer M, Johann M, Hartmann A, Schnabl B, Wodarz N, Schmitz G, Scholmerich J, Hellerbrand C. Different effects of a CD14 gene polymorphism on disease outcome in patients with alcoholic liver disease and chronic hepatitis C infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6031-6037
- 53 Campos J, Gude F, Quinteiro C, Vidal C, Gonzalez-Quintela A. Gene by environment interaction: the -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene modifies the effect of alcohol consumption on serum IgE levels. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30: 7-14
- 54 Yin M, Ikejima K, Wheeler MD, Bradford BU, Seabra V, Forman DT, Sato N, Thurman RG. Estrogen is involved in early alcohol-induced liver injury in a rat enteral feeding model. *Hepatology* 2000; 31: 117-123
- 55 Zima T, Kalousova M. Oxidative stress and signal transduction pathways in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 1105-1155
- 56 Ebong SJ, Goyert SM, Nemzek JA, Kim J, Bolgos GL, Remick DG. Critical role of CD14 for production of proinflammatory cytokines and cytokine inhibitors during sepsis with failure to alter morbidity or mortality. *Infect Immun* 2001; 69: 2099-2106
- 57 Ferrero E, Jiao D, Tsuberi BZ, Tesio L, Rong GW, Haziot A, Goyert SM. Transgenic mice expressing human CD14 are hypersensitive to lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2380-2384
- 58 Haziot A, Ferrero E, Kontgen F, Hijiya N, Yamamoto S, Silver J, Stewart CL, Goyert SM. Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of gram-negative bacteria in CD14-deficient mice. *Immunity* 1996; 4: 407-414
- 59 Martins A, Cortez-Pinto H, Machado M, Goncalves MS, Soren S, Marques-Vidal P, de Moura MC, Camilo ME. Are genetic polymorphisms of tumour necrosis factor alpha, interleukin-10, CD14

- endotoxin receptor or manganese superoxide dismutase associated with alcoholic liver disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 1099-1104
- 60 崔剑巍, 胡义扬. 中医药防治酒精性肝病研究进展. 中国中医药信息杂志 2005; 12: 102-104
- 61 孙劲晖, 田德禄. 中医药防治酒精性肝病的临床和实验研究进展. 中医药学报 2002; 30: 65-67
- 62 肖朝阳, 徐秀梅. 酒精性肝病中医药研究进展. 河南中医 2005; 25: 76-80
- 63 祁培宏. 浅谈中医对酒精性肝病的几点认识. 青海医药杂志 2002; 32: 55-56
- 64 季光, 王淼, 郑培永, 刑练军, 柳涛. 清肝活血方及其拆方对库普弗细胞表达CD14、Toll样受体4及核因子- κ B的影响. 中西医结合学报 2006; 4: 509-513

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2007 中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知

本刊讯 “2007中华肝胆胰脾外科(国际)论坛”应澳门特区外科学会的盛情邀请于2007-04-13/16在澳门举办, 现将征文通知公布如下:

1 征文内容

(1)肝癌诊断及外科与综合治疗: 新诊断技术-可切除与否的界定-综合治疗与序贯化思路-对复发转移的研究进展-微创技术实际应用的可能性; (2)医源性胆管损伤的预防-胆管下端功能状态对修复及重建的影响-肝胆管结石外科治疗的新经验-肝门胆管癌根治性切除的实施与效果; (3)胰腺炎-重症急性、出血坏死性、“凶险性”-治疗中早期复苏的策略与实施-相关并发症的预防和处理; (4)胰腺癌-早期诊断的思路与进展-根治术在当前的含义和尺度-术前减黄与并发症的处理; (5)脾功能研究进展-保脾和切脾含义和抉择-PH时单纯切脾的指征与价值; (6)肝移植-应用指征的决策-供肝切取与保存-技术性与非技术性并发症-再移植-远期存活的努力.

2 投稿要求及截稿日期

来稿请寄未曾公开发表过4000字以内全文及800字论文摘要各1份(无摘要不入汇编)请在信封上注明“会议征文”. 截稿日期: 2007-01-31. 正式代表发论文证书并授一级继续教育学分. 来稿请寄:《中华肝胆外科杂志》编辑部.

3 联系方式

地址: 北京市复兴路28号; 邮编: 100853; 电话: 010-66936223; 电传: 010-68177009; E-mail: zhgdwkzz@vip.163.com; 详情请登陆网站: www.zhgdwkzz.net.

磁性纳米控释紫杉醇对食管癌Eca109细胞株生长的影响

陈萍, 施瑞华, 凌亭生

■背景资料

食管癌严重危害人民生命健康, 化学治疗是中晚期食管癌的主要治疗手段之一。磁性纳米紫杉醇作为一种新型药物, 是利用超声乳化-溶剂挥发法制备成白蛋白纳米微粒, 以四氧化三铁作为磁性材料, 目的使其在外加磁场的的作用下, 如食管支架上加磁场, 使药物选择性的浓集于肿瘤局部, 以达到高效、缓释的杀伤肿瘤细胞, 提高疗效, 减少副作用。磁性纳米紫杉醇在体外对食管癌细胞生长的抑制作用及可能的机制, 目前尚未阐述清楚。

陈萍, 施瑞华, 凌亭生, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029

陈萍, 南京医科大学在职硕士研究生, 马鞍山市中心医院消化内科主治医师, 主要从事食管癌的研究。

江苏省卫生厅资助项目, No. 2001-31

通讯作者: 施瑞华, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院消化内科。ruihuashi@126.com

电话: 025-83718836-6255

收稿日期: 2006-08-28 接受日期: 2006-09-25

Effects of magnetic nano-controlled release paclitaxel on the growth of esophageal carcinoma cell line Eca109

Ping Chen, Rui-Hua Shi, Ting-Sheng Ling

Ping Chen, Rui-Hua Shi, Ting-Sheng Ling, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by the Fund from Sanitation Office of Jiangsu Province, No. 2001-31

Correspondence to: Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com

Received: 2006-08-28 Accepted: 2006-09-25

Abstract

AIM: To observe the effects of magnetic nano-controlled release paclitaxel at different concentrations on the growth of esophageal carcinoma cell line Eca109.

METHODS: Eca109 cells in logarithmic growth phase were treated by magnetic nano-controlled release paclitaxel at different concentrations, fluorouracil (5-FU) and Taisu, while dimethylsulfoxide (DMSO) and RPMI 1640 were used in the control cells. MTT assay was used to examine the inhibitory rate through the absorbency of 24, 48, and 72 h. After Eca109 cells were disposed by magnetic nano-controlled release paclitaxel at different concentrations for 72 h, the cellular ultrastructure was observed under electron microscope and cell cycle and apoptosis were analyzed by flow cytometry.

RESULTS: Magnetic nano-controlled release

paclitaxel inhibited the proliferation of Eca109 cell *in vitro*, and the effect had characteristic of slower release in comparison with that of 5-FU or Taisu (78.1% vs 60.0%, 63.8%, $P < 0.01$). Chromatin condensation, nucleic fragmentation and apoptotic body formation were found in drug-treated cells by electron microscopy. Flow cytometry analysis showed an obvious apoptotic peak before G1 peak and magnetic nano-controlled release paclitaxel blocked Eca109 cells in G2-M phase, which was associated with the concentrations.

CONCLUSION: Magnetic nano-controlled release paclitaxel can induce apoptosis and block cell cycle of esophageal cells.

Key Words: Magnetic nano-controlled release paclitaxel; Esophageal carcinoma; Cell cycle; Cell apoptosis

Chen P, Shi RH, Ling TS. Effects of magnetic nano-controlled release paclitaxel on the growth of esophageal carcinoma cell line Eca109. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3348-3352

摘要

目的: 观察不同浓度磁性纳米控释紫杉醇对食管癌细胞Eca109的影响及与不同化疗药物的对比。

方法: 取对数生长期的食管癌Eca109细胞作细胞增殖抑制实验, 实验组分别给予不同浓度的磁性纳米控释紫杉醇和5-氟尿嘧啶、泰素, 同时设立二甲基亚砷(DMSO)和RPMI 1640液对照, 测定24, 48, 72 h三个时间段的吸光度值, 计算抑制率。经不同浓度的磁性纳米控释紫杉醇作用72 h后, 用电镜观察细胞超微结构, 同时用流式细胞仪测定细胞周期和细胞凋亡。

结果: MTT实验显示磁性纳米控释紫杉醇可抑制食管癌细胞增殖, 与5-氟尿嘧啶、泰素相比, 具有缓释性($P < 0.01$); 电镜可发现药物作用组细胞核固缩、解聚以及凋亡小体; 流式细胞仪检测显示G1峰前有明显的凋亡峰; 细胞周期分析提示磁性纳米控释紫杉醇可将Eca109细胞阻滞于G2-M期, 且与浓度相关。

结论: 磁性纳米控释紫杉醇对人食管癌细胞Eca109的生长有明显的抑制作用, 使细胞分裂阻滞于G2-M期, 并诱导细胞凋亡, 且具有缓释效果。

关键词: 磁性纳米控释紫杉醇; 食管肿瘤; 细胞周期; 细胞凋亡

陈萍, 施瑞华, 凌亭生. 磁性纳米控释紫杉醇对食管癌Eca109细胞株生长的影响. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3348-3352
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3348.asp>

0 引言

食管癌严重危害人民生命健康, 目前主要的治疗方法包括外科手术、化学治疗、放射治疗及生物免疫治疗。外科手术是实体瘤的首选治疗方法, 但许多患者往往在就诊时已有局部或全身转移病灶, 手术无法根除原发病灶, 此时化学治疗成为主要治疗手段之一。化疗药物对肿瘤缺乏特异亲和性和专一性, 临床应用全身毒副作用大。因此, 多年来人们一直希望能改变化疗药物剂型, 使其能有效到达肿瘤部位, 提高疗效, 降低毒副作用^[1]。磁靶向给药系统(magnetic targeting drug delivery system, MTDDS)作为一种新型药物载体指将药物与适当的磁活性成分配置在稳定系统中, 于一定磁场作用下将药物定位于靶器官而发挥作用^[2]。本课题采用我们自行制备的纳米级磁性控释紫杉醇进行体外对食管癌细胞株生长的抑制作用及其机制的研究, 为其用于食管癌的临床治疗提供实验基础。紫杉醇(taxol, paclitaxel)是近年来研究开发的化学结构新颖、作用机制独特的新型抗肿瘤药物。他可促进微血管双聚体装配成微管, 并阻止微管蛋白解聚, 使微管稳定, 从而阻碍细胞分裂, 使其发生凋亡, 达到抑制肿瘤细胞的生长, 对多种中晚期肿瘤有一定的疗效, 但其水溶性差, 不便临床应用^[3-5]。利用超声乳化-溶剂挥发法自行制备的磁性纳米控释紫杉醇具有水溶性好、缓释、靶向性的特点^[6]。如在体外被证实对食管癌细胞具有良好的抑制生长及促进凋亡作用, 将对其用于临床, 在足够强的外加磁场作用下, 使其在体内定向移动, 定向浓集, 作用于食管癌局部, 从而达到提高治疗效果, 降低毒副作用带来广阔的应用前景。

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养液, 小牛血清, 四甲基偶氮唑蓝(MTT), 碘化丙啶(PI)及Rnase(美国Sigma

表 1 72 h不同浓度磁性纳米紫杉醇吸光度值比较(mean \pm SD)

浓度(mmol/L)	吸光度值(A)	抑制率(%)
空白	0.907 \pm 0.086	
10 ⁻⁵	0.625 \pm 0.178	31.1
10 ⁻⁶	0.395 \pm 0.129	56.4 ^b
10 ⁻⁷	0.637 \pm 0.146	29.8
10 ⁻⁸	0.636 \pm 0.122	29.9
10 ⁻⁹	0.597 \pm 0.135	34.2

^bP<0.01 vs 空白组。

公司), 磁性白蛋白纳米控释紫杉醇(磁性材料为Fe₃O₄, 分子质量853.9 Da, 自行制备), 5-氟尿嘧啶, 泰素(紫杉醇的商品名, 由百时美施贵宝公司提供, 6 g/L, 分子质量853.9 Da)。人食管癌细胞株Eca109取自北京肿瘤防治研究所, 用含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养液培养, 生长于37℃含50 mL/L的CO₂孵箱中, 待细胞长至单层后, 以2.5 g/L的胰蛋白酶消化贴壁细胞, 选用对数生长期细胞用于实验。

1.2 方法

1.2.1 细胞增殖抑制实验 采用MTT法, 选择对数生长期细胞, 调整细胞数为2.5 \times 10⁷/L接种于96孔培养板, 每孔200 μ L, 实验组分别给予10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹ mmol/L浓度的磁性纳米控释紫杉醇和5-氟尿嘧啶(5-FU)、泰素, 同时设立二甲基亚砜(DMSO)和RPMI 1640液对照, 每组的每个浓度设8个复孔, 分别于24, 48, 72 h, 每孔加入20 μ L 5 g/L MTT, 孵育4 h后, 弃上清, 加入DMSO终止反应。微振荡后, 于酶标仪波长620 nm处测吸光度值(A), 抑制率(%) = (1-实验组A/对照组A) \times 100%, 即吸光度值越大, 抑制率越小。

1.2.2 形态学观察 细胞经不同浓度的磁性纳米控释紫杉醇作用, 72 h后用胰酶消化, 离心收集细胞, 25 g/L戊二醛固定, 置于4℃冰箱30 min, 常规制作电镜标本, 双铅染色后, 置1200EX型透射电镜下观察细胞超微结构, 并摄像。

1.2.3 细胞周期和细胞凋亡率的测定 72 h后, 收集不同浓度作用的Eca109细胞, PBS洗涤后用4℃的700 mL/L乙醇固定12 h以上, 经离心去乙醇, 加10 g/L Rnase 200 μ L, 37℃水浴15 min, 加碘化丙啶染色, 用Becton Dickinson公司FACS Calibur型流式细胞仪检测(汞灯激发光波长为488 nm), 根据DNA含量测定细胞时相(G0-G, S, G2-M)。位于G0-G1前期的亚二倍体峰为“凋亡峰”, 所得资料均经Lysis II软件收集、贮存和分析。

■研发前沿

在过去的10余年中, 人们对紫杉醇在妇科及消化道肿瘤的治疗作用的研究较多, 紫杉醇的抑癌作用已得到公认。磁性纳米紫杉醇与紫杉醇及其他化疗药物相比, 对食管癌细胞的生长抑制作用有无差异及可能机制, 对其进行深入研究, 有望开辟肿瘤治疗的又一重要途径。

■相关报道

Mul *et al* 研究认为, 磁性纳米紫杉醇是一种新型的缓释的抗癌新药, Sun *et al* 研究认为, 磁性纳米紫杉醇可增加靶向作用, 国内张伟、沈锡中在正常小鼠体内应用磁性阿克拉霉素, 认为可增加靶向性。这些研究均提示, 磁性纳米紫杉醇作为一种新型抗癌药物, 可增加化疗的效果, 达到高效、缓释、靶向的作用。

■创新盘点

磁靶向给药系统作为一种新型药物载体,于一定磁场作用下,药物可浓集于肿瘤局部,达到高效、缓释、靶向的目的,因此,对磁靶向给药系统的研究成为抗肿瘤研究的新热点,可以预见,随着对磁靶向给药系统的深入研究,有可能开辟肿瘤治疗的又一个重要有效途径。

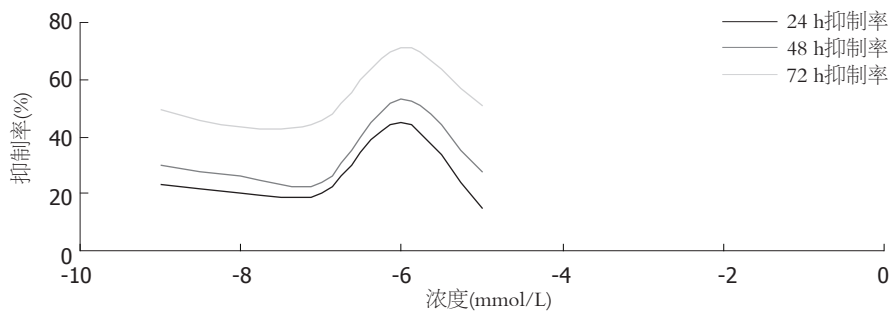


图 1 不同时间不同浓度磁性纳米紫杉醇抑制率对比。

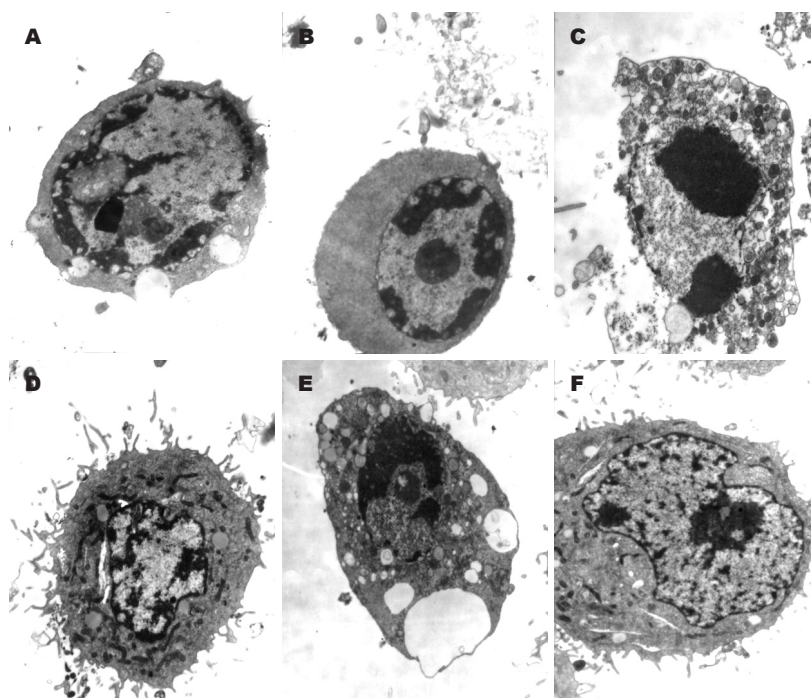


图 2 经磁性纳米紫杉醇处理的细胞电镜下形态学变化 ($\times 8000$)。A: 空白对照; B: 10^{-5} mmol/L; C: 10^{-6} mmol/L; D: 10^{-7} mmol/L; E: 10^{-8} mmol/L; F: 10^{-9} mmol/L。

表 2 10^{-6} mmol/L与不同药物各时间点吸光值比较(mean \pm SD)

	24 h吸光度	48 h吸光度	72 h吸光度	抑制率(%)
空白	1.060 ± 0.209			
磁性	0.874 ± 0.092	0.623 ± 0.073	0.232 ± 0.056	17.6/41.3/78.1
泰素	0.483 ± 0.059	0.394 ± 0.043	0.384 ± 0.065	54.5/62.8/63.8
5-FU	0.511 ± 0.044	0.438 ± 0.057	0.424 ± 0.056	51.8/58.7/60.0

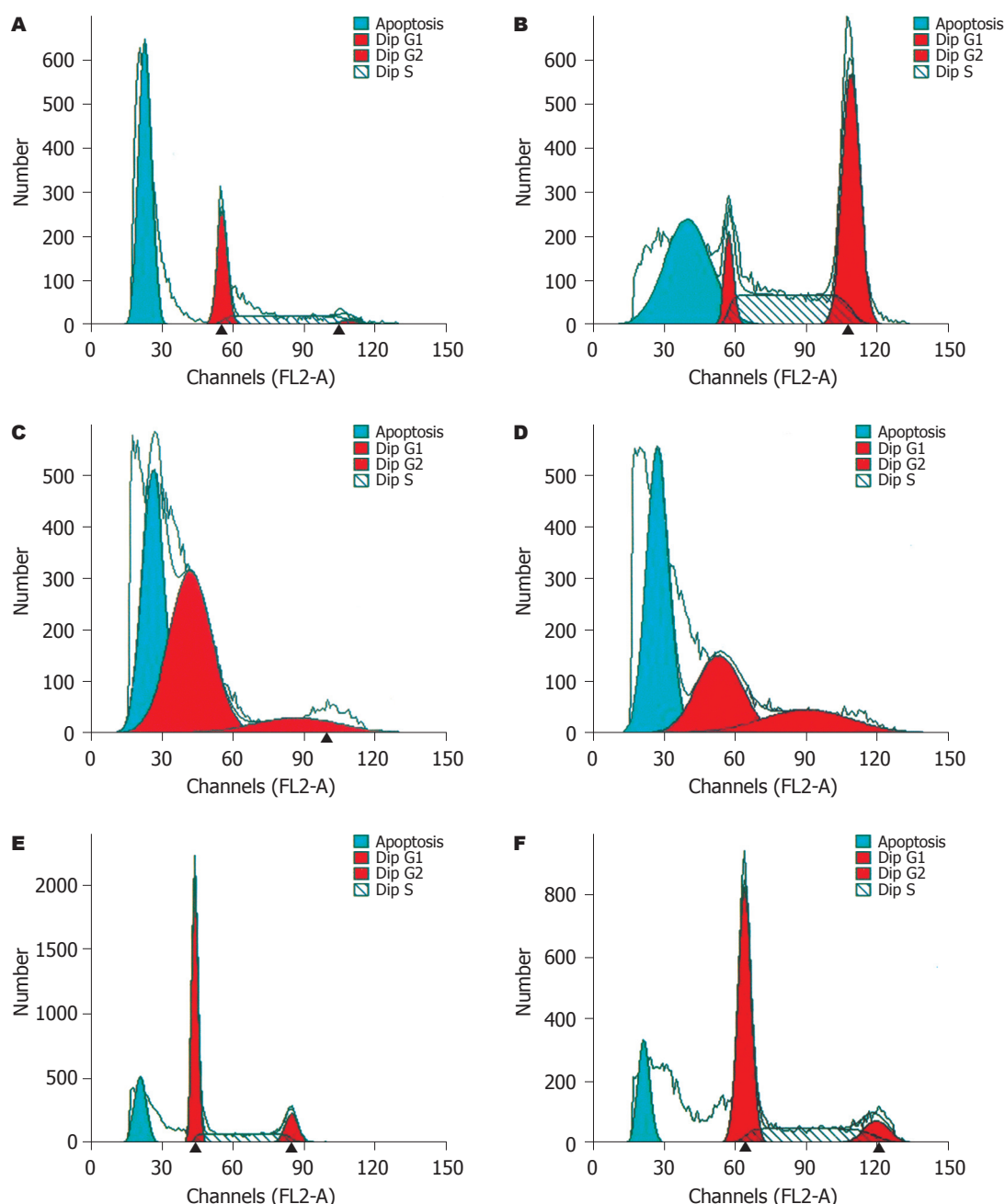
3种药物相比,磁性纳米紫杉醇在72 h后抑制率超过对照,有缓释作用。

统计学处理 采用 t 检验补充检验水准等。

2 结果

2.1 对食管癌细胞生长的影响及与不同药物的对比 不同浓度磁性纳米控释紫杉醇与Eca109细胞共同孵育后,细胞生长受到抑制,并呈剂量效应关系。在3个不同的时间段,各浓度的抑制率都在72 h达到最高,其中, 10^{-6} mmol/L浓度的磁性紫杉醇其他浓度相比,抑制率明显高于对照

组。不同浓度磁性纳米控释紫杉醇与空白,泰素在24, 48, 72 h的吸光度值相比,均有显著差异,其中,24, 48 h磁性纳米紫杉醇抑制率小于对照组,而在72 h抑制率明显高于对照组,有缓释作用(表1-2)。图1表明随着时间的延长,任意浓度的磁靶向纳米紫杉醇对肿瘤细胞的抑制率均逐渐升高,说明其抑制肿瘤细胞增殖的效应具有时间依赖性。任意时间段内, 10^{-6} mmol/L浓度的磁性紫杉醇的抑制率高于其他任何浓度组。



应用要点

传统的化疗药物对肿瘤细胞缺乏特异亲和性和专一性, 药物疗效与剂量呈正相关, 临床应用毒副作用大, 因此, 多年来人们一直希望能改变药物剂型, 使其能有效到达肿瘤部位, 提高疗效, 降低毒副作用。磁性纳米紫杉醇可以有望成为这样一种剂型。

图 3 磁性纳米紫杉醇作用后的Eca109细胞的流式细胞仪分析结果。A: 空白对照; B: 10^{-5} mmol/L; C: 10^{-6} mmol/L; D: 10^{-7} mmol/L; E: 10^{-8} mmol/L; F: 10^{-9} mmol/L。

2.2 细胞形态学变化 正常情况下, Eca109细胞呈多角形, 贴壁生长。在磁性纳米紫杉醇的作用下, 癌细胞逐渐变圆, 折光性减弱, 贴壁细胞数减少。电镜下经磁性纳米紫杉醇处理的细胞可出现细胞核DNA固缩, 解聚以及凋亡小体, 并可见大量处于分裂期的细胞, 而空白对照组细胞生长良好, 未见上述改变, 而以72 h各浓度组凋亡小体出现最多(图2)。

2.3 流式细胞仪分析结果 无论低浓度还是高浓度磁性纳米紫杉醇均可将Eca109细胞阻滞于G2-M期, 低浓度磁性纳米紫杉醇处理的细胞阻

断G2-M期短暂, 不完全, 而高浓度磁性纳米紫杉醇对食管癌细胞的G2-M期阻断较低浓度的完全、持久。在G2-M期阻断过后, 流式细胞仪可检测到凋亡期, 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} mmol/L的磁性纳米紫杉醇作用后, 凋亡细胞明显多于空白及对照组, 且持续时间延长, 具有缓释性。高浓度组在24 h后出现诱导凋亡作用, 而在72 h后呈直接杀伤作用, 低浓度组在48 h后出现诱导凋亡作用(图3)。

3 讨论

理想的药物分布应该是, 目的药物选择性的、

■名词解释

磁靶向给药系统(MTDDS): 是一种新型的药物载体, 指药物与适当的磁活性成分配置在稳定的系统中, 在一定磁场作用下, 将药物定位于靶向而发挥作用。

集中分布到需要发挥疗效的作用部位, 并在必要时间内维持一定浓度, 尽量少向无关部位分布, 即具有靶向性、缓释性。纳米粒由于其粒度小, 易穿过各种生理屏障而达到特定部位。他们容易被肝、脾、骨髓等网状内皮系统的巨噬细胞吞噬, 被动的靶向于此类器官中, 其中, 肝富集最多。若病变部位不在此类器官, 则被动靶向是不利的。要使纳米粒能靶向于特定部位, 可以对纳米粒进行表面修饰。其中方法之一是加磁性材料, 通过外加磁场, 对于特异性部位有很好的靶向性^[7-9]。磁性纳米紫杉醇是利用超声乳化-溶剂挥发法制备成白蛋白纳米微粒紫杉醇, 以 Fe_3O_4 作为磁性材料, 目的使其在外加磁场的作用下, 如食管支架上加磁场, 使药物选择性的浓集于肿瘤局部, 以达到高效, 缓释的杀伤肿瘤细胞, 提高疗效, 减少副作用^[10-13]。紫杉醇已被证实是一种新型独特的抗肿瘤药, 作用机制是其可促进微管双聚体装配成微管, 并防止微管蛋白解聚, 使微管稳定, 促使肿瘤细胞凋亡, 达到抑制肿瘤细胞生长的作用^[14-17]。磁性纳米紫杉醇和紫杉醇及其他抗肿瘤药相比, 在体外对食管癌细胞生长的抑制作用有无差异及可能的机制, 是本课题要探讨的问题。

在本实验中, MTT实验及流式细胞仪细胞周期分析, 均提示磁性纳米紫杉醇具有缓释作用, 在72 h后药物作用达高峰, 高于对照组, MTT实验中, 不同浓度磁性纳米紫杉醇作用于肿瘤细胞后, 提示 10^{-6} mmol/L浓度的磁性纳米紫杉醇对肿瘤细胞的生长抑制率最高。细胞生长抑制率大小是反映药物抑制细胞增殖分化功能的指标。 10^{-6} mmol/L浓度的磁性纳米紫杉醇有较强的抑制作用, 推测可能与其更能影响微管蛋白的聚集有关, 表明该浓度对微管蛋白聚集有更强的细胞毒作用而诱导细胞发生凋亡的。流式细胞仪细胞周期分析结果显示, 高浓度组在24 h后出现诱导凋亡作用, 而在72 h后呈直接杀伤作用, 低浓度组在48 h后开始出现诱导凋亡作用。推测由于缓释作用, 高浓度药物在24 h后药物释放的浓度达到最低诱导凋亡浓度, 而在72 h后药物释放高峰后, 药物浓度增加, 呈直接杀伤作用。而低浓度药物在48 h后药物释放达到最低诱导凋亡浓度。凋亡诱导时间与药物浓度在一定范围内呈时间依赖性关系。磁性纳米紫杉醇的抗癌效果与其诱导细胞凋亡的能力密切相关。本实验用药组电镜下出现的细胞核固缩, 解聚以及凋亡小体, 流式细胞仪可检测到明显的凋亡峰, 充

分证明磁性纳米紫杉醇对食管癌细胞有明显的抑制作用, 他不仅可将细胞阻滞于G2-M期, 还可诱导凋亡, 并随着时间的延长, 其药物释放量达峰值后, 药物作用更趋明显, 有缓释作用。

4 参考文献

- 1 王苑本, 余国行, 高友芝. 食管癌的治疗方法和实施原则. 世界华人消化杂志 2000; 8: 1021-1023
- 2 张伟, 沈锡中, 王吉耀, 于晓峰, 王根生. 磁性阿克拉霉素A聚氰基丙烯酸正丁酯纳米微粒在正常小鼠体内靶向研究. 中国临床医学 2005; 12: 82-86
- 3 凌亭生, 施瑞华. 纳米控释紫杉醇及其抗肿瘤作用研究. 国外医学肿瘤学分册 2004; 31: 361-366
- 4 秦有才, 元玉琴, 司君利, 林静, 朱菊人, 刘吉勇. 紫杉醇体外诱导人胃癌细胞凋亡及对端粒酶活性的影响. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1086-1087
- 5 耿长新, 曾昭冲, 周长宏, 王吉耀, 元玉琴. 多烯紫杉醇体内对肝癌放疗化疗及其对p21和bcl-2表达影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2848-2852
- 6 林本兰, 沈晓冬, 崔升, 施瑞华, 凌亭生. 磁性纳米粒阿霉素微球制备的初探. 中国医院药学杂志 2005; 25: 424-426
- 7 Chen JZ, Ranade SV, Xie XQ. NMR characterization of paclitaxel/poly (styrene-isobutylene-styrene) formulations. *Int J Pharm* 2005; 305: 129-144
- 8 Dong AJ, Deng LD, Sun DX, Zhang YT, Jin JZ, Yuan YJ. Studies on paclitaxel-loaded nanoparticles of amphiphilic block copolymer. *Yao Xue Xue Bao* 2004; 39: 149-152
- 9 Mu L, Feng SS. A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. *J Control Release* 2003; 86: 33-48
- 10 Sun EY, Josephson L, Weissleder R. "Clickable" nanoparticles for targeted imaging. *Mol Imaging* 2006; 5: 122-128
- 11 Liu SQ, Tong YW, Yang YY. Thermally sensitive micelles self-assembled from poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide)-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide) for controlled delivery of paclitaxel. *Mol Biosyst* 2005; 1: 158-165
- 12 Cavalli R, Caputo O, Gasco MR. Preparation and characterization of solid lipid nanospheres containing paclitaxel. *Eur J Pharm Sci* 2000; 10: 305-309
- 13 Gradishar WJ. Albumin-bound paclitaxel: a next-generation taxane. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7: 1041-1053
- 14 Ami K, Nagahama T, Andou M, Nawa K, Ganno H, Ohbu M, Kimu K, Ito T, Yamauchi A, Ichikawa S, Kobo T, Takaba E. A case of ascities decrease in malignant peritoneal mesothelioma by weekly intra-peritoneal administration of cisplatin and paclitaxel. *Gan To Kagaku Ryoho* 2005; 32: 1709-1711
- 15 郭学良, 王杰军, 高勇, 傅丽娜, 钱立平, 许青, 林庚金. 多西紫杉醇体外抑制血管生成的作用. 复旦学报(医学版) 2003; 30: 59-62
- 16 马湘一, 何福仙, 陈刚, 徐茜, 刘玉兰, 郭素芳, 李辅军, 卢运萍, 马丁. 紫杉醇诱导卵巢癌细胞凋亡及对survivin基因表达的影响. 现代妇产科进展 2005; 14: 44-46
- 17 王承龙, 邓雪娥, 肖健云, 赵素萍, 张帅. 紫杉醇对鼻咽癌上皮细胞株HNE-1生长抑制和凋亡的影响. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志 2004; 10: 263-265

电编 张敏 编辑 张焕兰

重组Canstatin蛋白联合氟尿嘧啶治疗胰腺癌

何小平, 朱人敏, 王震凯, 汪芳裕, 张晓华, 刘炯, 王琳

何小平, 朱人敏, 王震凯, 汪芳裕, 张晓华, 刘炯, 王琳, 南京军区南京总医院消化内科 江苏省南京市 210002

何小平, 主治医师, 医学博士, 主要从事肿瘤基因治疗的研究。

通讯作者: 朱人敏, 21002, 江苏省南京市中山东路305号, 南京

军区南京总医院消化内科, zhurenmin51@126.com

电话: 025-80861126

收稿日期: 2006-07-23 接受日期: 2006-09-28

Efficacy of recombinant Canstatin protein plus fluorouracil in treatment of pancreatic cancer

Xiao-Ping He, Ren-Min Zhu, Zhen-Kai Wang, Fang-Yu Wang, Xiao-Hua Zhang, Jiong Liu, Lin Wang

Xiao-Ping He, Ren-Min Zhu, Zhen-Kai Wang, Fang-Yu Wang, Xiao-Hua Zhang, Jiong Liu, Lin Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ren-Min Zhu, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. zhurenmin51@126.com

Received: 2006-07-23 Accepted: 2006-09-28

Abstract

AIM: To study the anti-tumor effects of recombinant Canstatin protein plus 5-fluorouracil (5-FU) on pancreatic cancer in order to develop a new treatment modality.

METHODS: Tumor xenografts were established by subcutaneous inoculation of 1×10^7 SW1990 pancreatic cancer cells into the right flanks of 32 BALB/c nude mice. When the tumors reached 2-3 mm in diameter, mice were randomly divided into 4 groups: phosphate buffer solution (PBS) group were treated with PBS 0.3 mL per day for 3 weeks; Canstatin group were treated with Canstatin 5 mg/kg per day for 3 weeks; 5-FU group were treated with 5-FU 12.5 mg/kg per day for 5 days; and combination group were treated with 5-FU 12.5 mg/kg per day for 5 days plus Canstatin 5 mg/kg per day for 3 weeks. All the agents were injected intraperitoneally. During the treatment period, the subcutaneous tumors were measured by compasses and caliper every 3 or 4 days. At the end

of the experiment, all the tumors were resected, and both routine pathological and immunohistochemical examinations were performed to observe the drug toxicity and intratumoral microvessel density (MVD).

RESULTS: The size of tumors treated with Canstatin was significantly decreased in comparison with that of PBS group from the 10th day after treatment ($P < 0.01$). In 5-FU group, the tumor size was obviously smaller than that in PBS group from the 7th day after treatment ($P < 0.05$), and in combination group from the 3rd day after treatment ($P < 0.05$). At the end of the experiment, the size of tumors in combination group was the lowest ($P < 0.05$), with the highest tumor suppression rate of 83.2%. During treatment, no obvious toxicity was observed. The immunohistochemical examination showed that the MVD in Canstatin group (25.2 ± 3.7) or combination group (22.0 ± 4.8) was significantly lower than that in PBS group (36.8 ± 9.4) or 5-FU group (31.6 ± 4.0) ($P < 0.05$). No significant difference was found in MVD between 5-FU and PBS group.

CONCLUSION: Recombinant human Canstatin protein effectively retards the growth of pancreatic cancer through inhibiting the angiogenesis of tumors, without remarkable adverse effects. Synergic anti-tumor effect is achieved as Canstatin is combined with cytotoxic drugs.

Key Words: Pancreatic cancer; Angiogenesis; Canstatin protein

He XP, Zhu RM, Wang ZK, Wang FY, Zhang XH, Liu J, Wang L. Effects of recombinant canstatin protein plus fluorouracil in treatment of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3353-3357

摘要

目的: 探讨血管生成抑制剂Canstatin与细胞毒药物5-FU联合应用治疗胰腺癌的效果, 以期探索胰腺癌治疗新途径。

方法: 胰腺癌SW1990细胞(1×10^7 /只)注射到32只裸鼠皮下, 建立胰腺癌皮下移植瘤

■背景资料

胰腺癌无论治疗与否, 预后都很差, 迫切需要寻找新的治疗策略。抗血管生成治疗以肿瘤新生血管为靶点, 切断肿瘤生长转移所依赖的“命脉”, 成为胰腺癌治疗领域的研究热点。自2004-02美国FDA陆续批准Avastin, Sorafenib和Sutent等3个抗血管生成生物制剂用于晚期肿瘤治疗, 更促进了抗肿瘤血管生成治疗领域的研究进程。

■研发前沿

理论上讲, 抗血管生成治疗使肿瘤体积缩小到一定程度, 肿瘤便蛰伏起来, 只有和细胞毒药物或放射治疗联合使用, 才有可能彻底杀死肿瘤细胞。抗血管生成治疗和这些治疗联合使用的疗效及合理联合方案亟待深入研究。

■相关报道

Kamphaus *et al*通过体外实验发现, Canstatin具有抑制内皮细胞的迁移和管状结构形成, 诱导内皮细胞凋亡, 最终抑制新生血管生成的作用. 体内实验亦表明, Canstatin能有效抑制异种移植人前列腺癌和人肾癌的生长, 作用甚至强于Endostatin, 引起人们普遍关注.

模型. 当肿瘤长至2-3 mm时, 随机分4组, 即PBS (0.3 mL/d)对照组、5-FU (12.5 mg/(kg·d) × 5 d)治疗组、Canstatin(10 mg/(kg·d) × 3 wk)治疗组、及5-FU [12.5 mg/(kg·d) × 5 d]+Canstatin[10 mg/(kg·d) × 3 wk]联合治疗组, 给药途径均为ip. 治疗期间, 定期用圆规和游标卡尺测量皮下移植瘤大小. 疗程结束时, 取下瘤体, 常规病理切片, 观察药物毒性反应, CD34免疫组化染色, 检测肿瘤内微血管密度(MVD).

结果: Canstatin治疗组移植瘤体积从第10天起显著小于对照组($P<0.01$), 5-FU治疗组第7天起就显著小于对照组($P<0.05$), 而联合治疗组自第3天起, 移植瘤体积就显著小于对照组($P<0.05$). 疗程结束时, 联合治疗组小鼠移植瘤体积显著小于其余各组($P<0.01$), 抑瘤率最高, 达83.2%. 治疗期间, 各实验组未观察到明显毒性反应. 免疫组化染色显示, Canstatin组(25.2 ± 3.7)和联合治疗组(22.0 ± 4.8)治疗小鼠肿瘤组织内MVD显著低于对照组(36.8 ± 9.4)和5-FU治疗组(31.6 ± 4.0) ($P<0.05$), 而5-FU治疗组与对照组间无显著差异.

结论: 重组人Canstatin蛋白能有效抑制人胰腺癌生长, 无明显副作用, 作用机制是抑制肿瘤新血管形成, 与细胞毒药物联合使用, 具有协同作用, 为胰腺癌治疗提供了新的有力的治疗方法.

关键词: 胰腺癌; 血管生成; Canstatin蛋白

何小平, 朱人敏, 王震凯, 汪芳裕, 张晓华, 刘炯, 王琳. 重组Canstatin蛋白联合氟尿嘧啶治疗胰腺癌. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3353-3357

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3353.asp>

0 引言

胰腺癌无论治疗与否, 预后都很差^[1-2]. 在美国, 每年有胰腺癌新增病例约27 000例, 年死亡病例约26 000例, 位居肿瘤死因第4位. 在我国, 胰腺癌也位居肿瘤死因前10位, 严重影响着人类的健康. 胰腺癌局部侵袭力非常强, 当产生症状并确诊时, 病程常到晚期, 手术可切除率不到20%. 治疗上通常采用联合治疗, 如联合化疗、放疗或手术切除. 尽管如此, 胰腺癌5 a存活率依然不足5%^[3]. 迫切需要寻找新的治疗策略. 胰腺癌和其他恶性肿瘤一样, 新生血管在其生长转移中起着关键作用^[4-5]. 研究证实, 胰腺癌微血管密度(MVD)与肿瘤组织恶性程度直接相关, MVD

高者预后差^[6-7]. 抗血管生成治疗以肿瘤新生血管为靶点, 目的是切断肿瘤生长转移所依赖的“命脉”, 成为胰腺癌治疗领域的研究热点^[8-9].

Canstatin是继血管抑素和内皮抑素后新发现的一种内源性血管生成抑制剂^[10-12]. 体内外实验表明, Canstatin具有抑制新生血管生成, 抑制异种移植人前列腺癌和人肾癌的生长作用, 疗效甚至强于Endostatin, 引起人们普遍关注. 但是, Canstatin对人胰腺癌的作用如何, 尚未见报道, 其与传统化疗药物联合应用的疗效亦有待阐明. 我们在既往研究中, 成功克隆了canstatin基因^[13], 并表达出活性重组人Canstatin蛋白^[14], 在此基础上, 我们探讨了Canstatin蛋白联合化疗药物5-FU治疗胰腺癌的疗效, 旨在探索胰腺癌治疗新途径.

1 材料和方法

1.1 材料 SW1990胰腺癌细胞系购于美国ATCC公司, 来源于一中度分化胰腺导管腺癌患者, 其倍增时间为64 h, 具有局部浸润转移能力. 大鼠抗小鼠CD34 IgG抗体, 购自荷兰Hbt公司. 抗大鼠第二抗体购自晶美公司. δ SPF级BALB/c裸鼠32只, 4周龄, 体质量16-18 g, 购自上海中科院实验动物培育中心.

1.2 方法 体外培养人胰腺癌细胞株SW1990, 取对数生长期贴壁生长细胞, 2.5 g/L胰酶消化, 离心、收集细胞后用PBS液重悬, 1000 r/min室温下离心5 min, 弃上清, 再用PBS液重悬后离心收集细胞, 调整细胞悬液浓度至 1×10^6 个/L. 于裸鼠右肋背部皮下接种SW1990细胞, 0.1 mL/只. 至接种10 d后可见接种部位皮下长出小米粒大小硬结, 为皮下移植瘤模型建成. 32只皮下移植瘤的裸鼠, 随机分4组, 即PBS对照组(PBS 0.3 mL/d × 3 wk)、Canstatin治疗组[Canstatin 5 mg/(kg·d) × 3 wk)、5-FU治疗组[5-FU 25 mg/(kg·d) × 5 d]及5-FU+Canstatin联合治疗组[Canstatin 5 mg/(kg·d) × 3 wk+5-FU 12.5 mg/(kg·d) × 5 d], 共4组, 给药途径均为ip, 疗程3 wk. 在开始治疗后分别于第3, 7, 10, 14, 17, 21 d用圆规和游标卡尺测量肿瘤大小. 肿瘤体积计算按公式: 肿瘤体积(mm^3) = $A \times B^2/2$ (A、B分别为经过中心点的肿瘤最大径和最小径). 同时测量小鼠体质量, 计算肿瘤生长抑制率: 肿瘤生长抑制率 = $(V_{\text{确定时间点对照组体积}} - V_{\text{确定时间点治疗组体积}}) / V_{\text{确定时间点对照组体积}} \times 100\%$. 动物实验结束采用颈椎脱臼法处死, 无菌条件下取出肿瘤组织, 称重, 以40 g/L甲醛固定. 为观察药物毒性反

■创新盘点

本研究成功克隆了canstatin基因, 并表达出活性重组人Canstatin蛋白, 在此基础上, 证实重组人Canstatin蛋白能有效抑制人胰腺癌生长, 其作用机制是抑制肿瘤新生血管形成. 与细胞毒药物联合应用, 能显著增强抗肿瘤效果, 为胰腺癌治疗开辟了新方法.

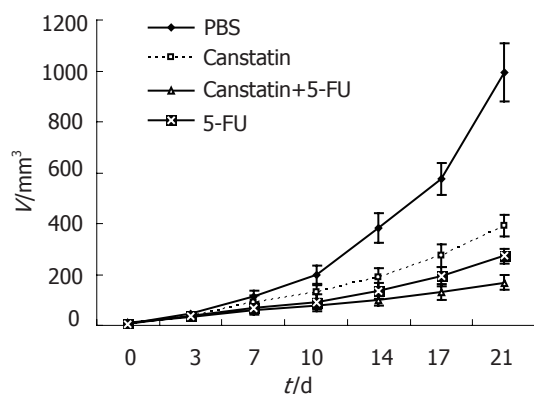


图 1 各实验组皮下移植瘤体积变化.

应,同时取出实验动物的心、肝、胃、胰腺、肠等组织以40 g/L甲醛固定.免疫组化染色采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶法.镜下微血管计数分级方法:先在100倍光镜下选择5个血管密度高的“热点”,在200倍视野下行微血管计数,5个视野均值为MVD.微血管判断标准:不以含有红细胞或出现管腔作为判断标准,只要与周围肿瘤细胞和结缔组织成分明显区别的任何染成棕色的内皮细胞或细胞丛计数就可作为一个微血管计数,而厚壁血管或管径大于50 μm 的血管则排除在外.

统计学处理 所有实验数据结果均以均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,采用SPSS 10.0软件包中的重复测量资料的方差分析进行统计处理,两两比较用非配对T-test.

2 结果

2.1 裸鼠皮下移植瘤体积变化 32只裸鼠,在接种部位均生长出新生物,表明该模型构建成功率是100%.在不同时间点测量裸鼠皮下移植瘤大小,并计算其体积,结果表明,Canstatin治疗组移植瘤体积从第10天起显著小于对照组($P<0.01$),5-FU治疗组第7天起就显著小于对照组($P<0.05$),到第10天时,有非常显著差异($P<0.01$),而联合治疗组自第3天起,移植瘤体积就显著小于对照组($P<0.05$),到第7天时,有非常显著差异($P<0.01$,图1).疗程结束时,联合治疗组小鼠移植瘤体积显著小于Canstatin或5-FU治疗组($P<0.01$),抑瘤率分别为83.2%,60.6%和72.6%.

2.2 毒副作用观察 各治疗组小鼠给药后未出现明显精神萎靡,活动减少,双眼微闭表现,实验期间,食粮无明显减少,疗程结束时,Canstatin治疗组和5-FU治疗组与对照组相比较,体质量无明显差异($P>0.05$),有趣的是,联合治疗组小鼠

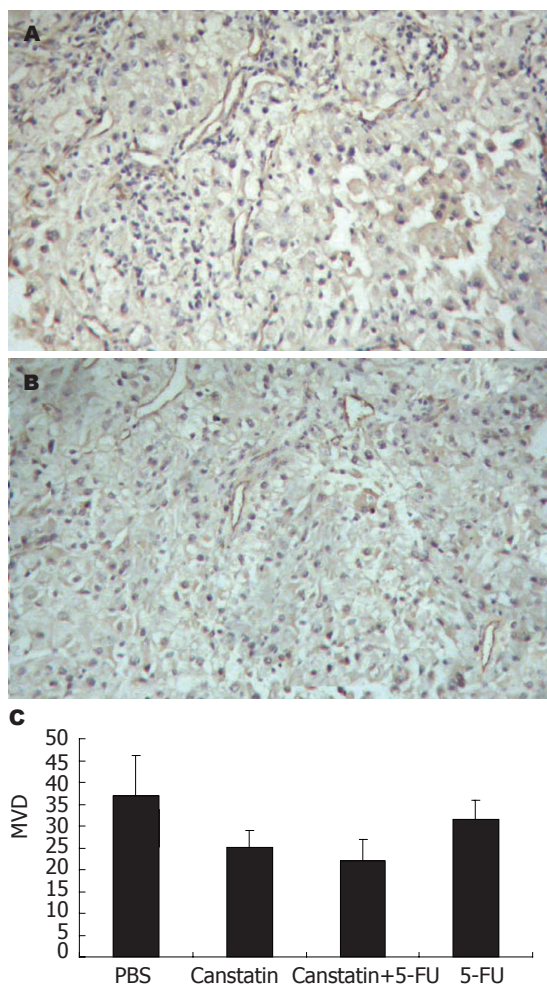


图 2 肿瘤组织内MVD变化. A: PBS对照组CD34免疫组化染色,血管丰富; B: Canstatin治疗组肿瘤组织CD34免疫组化染色,血管数减少; C: 各验组疗程结束时肿瘤组织MVD.

体质量高于对照组,经统计学检验,有显著性差异($P<0.05$,表1).各实验组动物心、肝、胃、胰腺、肠等脏器常规病理检查未发现明显异常.

2.3 免疫组化改变 疗程结束时,病理切片经免疫组化染色,以5个高倍视野计算,各试验组MDV分别是: A组 36.8 ± 9.4 ; B组 25.2 ± 3.7 ; C组 22.0 ± 4.8 ; D组 31.6 ± 4.0 (图2A-C).

3 讨论

胰腺癌恶性程度高,预后很差,号称“癌中之王”,5 a生存率不到5%^[1-2].如何改善胰腺癌患者预后,是临床医生面临的棘手问题.近年来,胰腺癌化疗取得重大进展,健择取代5-FU成为胰腺癌化疗的一线药物^[15-16].但是,虽然健择能明显改善晚期胰腺癌患者症状,但对患者预后的改善非常有限,与5-FU相比较,接受健择治疗的晚期转移胰腺癌患者中位生存期仅略有升高(分别为5.6 mo和4.4 mo),1 a生存率分别是18%和2%^[16].因此,仍迫切需要研发治疗胰腺癌的新的

■应用要点

本文证实了重组人Canstatin蛋白对胰腺癌的治疗作用及与细胞毒药物联合应用的意义,为胰腺癌治疗开辟了新方法.

■名词解释

血管生成: 血管丛通过出芽的方式逐渐扩展, 形成有机的结构高度稳固的血管网络, 再分支形成较小的血管支, 新生的内皮细胞EC被周细胞(PCs)和平滑肌细胞(SMCs)覆盖, 起支撑和调节血管灌注作用, 这一过程被称为血管生成。

表 1 各试验组小鼠体重质量变化(mean \pm SD, g)

时间(d)	A组	B组	C组	D组
0	16.59 \pm 0.64	16.45 \pm 0.56	16.35 \pm 0.45	16.45 \pm 0.59
7	16.39 \pm 0.66	16.26 \pm 0.52	16.16 \pm 0.69	16.06 \pm 0.95
14	14.43 \pm 1.01	14.50 \pm 0.79	14.59 \pm 0.57	14.24 \pm 0.77
21	12.19 \pm 0.82	12.43 \pm 0.78	13.00 \pm 0.53 ^a	12.08 \pm 0.84

^a $P < 0.05$ vs A组。

有效药物。

1971年, Folkman^[17]首次提出, 肿瘤生长依赖于新生血管形成, 后被大量研究所证实。当肿瘤体积增至1-2 mm³以上时, 如果没有新生血管长入, 肿瘤组织将保持休眠状态或发生退化。新生血管供给肿瘤生长所需要的氧和营养物质, 并带走代谢产物, 因此, 一旦血管长入肿瘤, 肿瘤将快速生长并达到难以控制的体积。此外, 肿瘤新生血管不成熟, 结构缺乏完整性, 通透性较高, 易于肿瘤细胞发生血行转移; 同时, 因间质内压力增高, 淋巴回流加速, 也易于肿瘤发生淋巴转移。研究证实, 新生血管在胰腺癌的生长转移中也起着关键作用, 胰腺癌MVD与恶性程度直接相关, MVD高者预后差^[7-8]。抗血管生成治疗以肿瘤新生血管为靶点, 有希望长期控制肿瘤生长, 成为胰腺癌治疗领域研究热点。血管生成是促血管生成因子和抑制因子作用失衡的结果^[18-20]。促血管生成因子主要是一些经典的肽类生长因子, 如: 血管内皮细胞生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管生成素(Ang)、基质金属蛋白酶(MMP)、血小板衍生生长因子(PDGF)等, 其中最重要的是VEGF, bFGF和Ang。血管生成抑制因子则包括血管抑素(angiostatin)、内皮抑素(endostatin)、组织金属蛋白酶抑制剂(TIMP)、血小板因子-4(PF-4)等^[21-25]。众多研究表明, 抑制促血管生成因子作用和/或增强血管生成抑制因子作用, 能有效抑制新生血管形成。与既往研究结果类似, 本研究表明, 重组人Canstatin蛋白能有效抑制人胰腺癌生长, 有望成为治疗胰腺癌的新药物。Canstatin 5mg/(kg·d), ip, 治疗第10天起, 肿瘤体积显著低于对照组, 第21天时, 肿瘤体积较对照组缩小近3倍, 抑瘤率达60.6%。治疗期间, 未观察到明显毒副作用, Canstatin治疗组小鼠体重与对照组相比无显著差异。免疫组化结果显示, Canstatin治疗组小鼠肿瘤内MVD显著低于对照组, 提示Canstatin抗肿瘤作用是通过抑制肿瘤新生血管生成有关。与细胞毒药物相比, 抗血管

生成治疗具有多种优点^[26-27]: 首先是毒性低; 其次肿瘤内血管不成熟, 对药物反应较敏感; 另外, 当某一根毛细血管塌陷使血流中断, 可能会产生抗血管作用放大效应; 而且因内皮细胞遗传性状稳定, 不同于肿瘤细胞, 产生耐药的机会少。

另外, 本实验研究结果表明, 联合治疗组疗效最好, 自第3天起, 移植瘤体积就显著小于对照组($P < 0.05$), 疗程结束时, 该组小鼠移植瘤体积显著小于其余各组($P < 0.01$), 抑瘤率达83.2%。这是因为抗血管生成治疗和细胞毒药物的作用机制不同, 两者合用产生了协同作用。而且理论上讲, 抗血管生成治疗使肿瘤体积缩小到一定程度, 当肿瘤生长不再依赖新生血管时, 肿瘤便蛰伏起来, 但若和细胞毒药物联合使用, 则有可能彻底杀死肿瘤细胞。本研究还发现, 疗程结束时, 联合治疗组小鼠体重甚至略高于对照组, 经统计学检验有显著差异($P < 0.05$)。这可能是因为联合应用抗血管生成药和细胞毒药物, 在未增加明显毒性反应情况下, 增强了抗肿瘤疗效, 使肿瘤负荷减轻所致。

总之, 我们的研究证实, 重组人Canstatin蛋白能有效抑制人胰腺癌生长, 其作用机制是抑制肿瘤新生血管形成。与细胞毒药物联合应用, 能显著增强抗肿瘤效果, 为胰腺癌治疗开辟了新方法。

4 参考文献

- MacKenzie MJ. Molecular therapy in pancreatic adenocarcinoma. *Lancet Oncol* 2004; 5: 541-549
- Yamamoto M, Davydova J, Wang M, Siegal GP, Krasnykh V, Vickers SM, Curiel DT. Infectivity enhanced, cyclooxygenase-2 promoter-based conditionally replicative adenovirus for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2003; 125: 1203-1218
- de Braud F, Cascinu S, Gatta G. Cancer of pancreas. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 50: 147-155
- Saif MW. Anti-angiogenesis therapy in pancreatic carcinoma. *JOP* 2006; 7: 163-173
- Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-936
- Zhongqiu W, Guangming L, Jieshou L, Xinhua Z, Ziqian C, Kui M. The comparative study of tumor angiogenesis and CT enhancement in pancreatic

- carcinoma. *Eur J Radiol* 2004; 49: 274-280
- 7 Wang ZQ, Li JS, Lu GM, Zhang XH, Chen ZQ, Meng K. Correlation of CT enhancement, tumor angiogenesis and pathologic grading of pancreatic carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2100-2104
- 8 何小平, 李兆申. 胰腺癌抗肿瘤血管生成治疗. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2442-2445
- 9 Onizuka S, Kawakami S, Taniguchi K, Fujioka H, Miyashita K. Pancreatic carcinogenesis: apoptosis and angiogenesis. *Pancreas* 2004; 28: 317-319
- 10 Narazaki M, Tosato G. Canstatin: an inhibitor of angiogenesis and tumor growth revisited. *Cancer J* 2006; 12: 110-112
- 11 Kamphaus GD, Colorado PC, Panka DJ, Hopfer H, Ramchandran R, Torre A, Maeshima Y, Mier JW, Sukhatme VP, Kalluri R. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem* 2000; 275: 1209-1215
- 12 Hou WH, Wang TY, Yuan BM, Chai YR, Jia YL, Tian F, Wang JM, Xue LX. Recombinant mouse canstatin inhibits chicken embryo chorioallantoic membrane angiogenesis and endothelial cell proliferation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2004; 36: 845-850
- 13 何小平, 李兆申, 屠振兴, 潘雪, 龚燕芳, 高军, 金晶. 人canstatin基因克隆. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2329-2332
- 14 李兆申, 何小平, 屠振兴, 高军, 潘雪, 龚燕芳, 金晶. 原核表达活性重组人Canstatin蛋白. 中华消化杂志 2006; 26: 92-95
- 15 Haller DG. New perspectives in the management of pancreas cancer. *Semin Oncol* 2003; 30: 3-10
- 16 Tsai JY, Iannitti DA, Safran H. Combined modality therapy for pancreatic cancer. *Semin Oncol* 2003; 30: 71-79
- 17 Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-1186
- 18 Cavallaro U, Christofori G. Molecular mechanisms of tumor angiogenesis and tumor progression. *J Neurooncol* 2000; 50: 63-70
- 19 Conti CJ. Vascular endothelial growth factor: regulation in the mouse skin carcinogenesis model and use in antiangiogenesis cancer therapy. *Oncologist* 2002; 7 Suppl 3: 4-11
- 20 Bandoh N, Hayashi T, Takahara M, Kishibe K, Ogino T, Katayama A, Imada M, Nonaka S, Harabuchi Y. VEGF and bFGF expression and microvessel density of maxillary sinus squamous cell carcinoma in relation to p53 status, spontaneous apoptosis and prognosis. *Cancer Lett* 2004; 208: 215-225
- 21 Kuwahara K, Sasaki T, Kuwada Y, Murakami M, Yamasaki S, Chayama K. Expressions of angiogenic factors in pancreatic ductal carcinoma: a correlative study with clinicopathologic parameters and patient survival. *Pancreas* 2003; 26: 344-349
- 22 Cao Y, Cao R, Veitonmaki N. Kringle structures and antiangiogenesis. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2002; 2: 667-681
- 23 Sim BK, MacDonald NJ, Gubish ER. Angiostatin and endostatin: endogenous inhibitors of tumor growth. *Cancer Metastasis Rev* 2000; 19: 181-190
- 24 Kirsch M, Schackert G, Black PM. Angiogenesis, metastasis, and endogenous inhibition. *J Neurooncol* 2000; 50: 173-180
- 25 Ren B, Hoti N, Rabasseda X, Wang YZ, Wu M. The antiangiogenic and therapeutic implications of endostatin. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2003; 25: 215-224
- 26 Kieran MW, Billett A. Antiangiogenesis therapy. Current and future agents. *Hematol Oncol Clin North Am* 2001; 15: 835-51, viii
- 27 Davis DW, McConkey DJ, Abbruzzese JL, Herbst RS. Surrogate markers in antiangiogenesis clinical trials. *Br J Cancer* 2003; 89: 8-14

■同行评价

本文探索胰腺癌治疗新途径, 观察了血管生成抑制剂Canstatin与细胞毒药物5-FU联合应用治疗胰腺癌的效果, 内容新颖, 实验设计合理, 讨论、数据充分说明问题, 逻辑性强。

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 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。第一方面是直接参与, 包括: (1) 酝酿和设计实验; (2) 采集数据; (3) 分析/解释数据。第二方面是文章撰写, 包括: (1) 起草文章; (2) 对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持, 包括: (1) 统计分析; (2) 获取研究经费; (3) 行政、技术或材料支持; (4) 指导; (5) 支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者。世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者。(世界胃肠病学杂志社2006-12-18)

通腑颗粒治疗MODS胃肠功能障碍140例

董军, 张淑文, 段美丽, 王宝恩, 王红, 阴赅宏, 文艳

■背景资料

鉴于胃肠道在MODS发病中的重要性, 目前国内、外都十分重视针对MODS时胃肠功能障碍治疗的研究, 肠道能否成为MODS救治的突破点是当前研究的热点。尽管如此, 对MODS时胃肠功能障碍的治疗还缺乏确有实效的方案或药物。祖国医学把胃功能衰竭归为“肠结”的范畴, 由气滞、血瘀、热结、寒凝等多种原因引起, 以痛、胀、吐、泻为主要表现。中药通腑颗粒(厚朴、大黄、枳实等8味中药), 经实验与临床研究证明, 在恢复胃肠动力、保护胃肠黏膜及防治微生态紊乱等方面显示了良好的治疗效果, 但缺乏前瞻性、多中心临床验证。

董军, 北京大学附属临床肿瘤学院ICU 北京市 100036
张淑文, 段美丽, 王宝恩, 王红, 阴赅宏, 文艳, 首都医科大学附属北京友谊医院 北京市 100052
董军, 医师, 主要从事危重症急救方面的研究。

北京市科委重大课题, No. H020920050230
通讯作者: 张淑文, 100052, 首都医科大学附属北京友谊医院感染暨急救内科. zhw401106@sina.com

电话: 010-63138749

收稿日期: 2006-09-19 接受日期: 2006-10-11

Efficacy of Tongfu granules in treatment of gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndromes: an analysis of 140 cases

Jun Dong, Shu-Wen Zhang, Mei-Li Duan, Bao-En Wang, Hong Wang, Cheng-Hong Yin, Yan Wen

Jun Dong, Department of Intensive Care Unit, Peking University School of Oncology, Beijing Cancer Hospital, Beijing 100036, China

Shu-Wen Zhang, Mei-Li Duan, Bao-En Wang, Hong Wang, Cheng-Hong Yin, Yan Wen, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital University of Medical Sciences, Beijing 100052, China

Supported by the Key Project of Beijing Municipal Science and Technology committee, No. H020920050230

Correspondence to: Shu-Wen Zhang, Department of Infectious and Critical Care Medicine, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital University of Medical Sciences, Beijing 100052, China. zhw401106@sina.com

Received: 2006-09-19 Accepted: 2006-10-11

Abstract

AIM: To observe the effect of Tongfu granules on the intestinal dysfunction of patients with multiple organ dysfunction syndromes (MODS).

METHODS: Prospective, multi-center and randomized controlled trial was used in this study. A total of 140 patients selected from the ICU of 10 hospitals in Beijing were randomly divided into group A and B, treated with Mosapride Citrate and Tongfu granules, respectively. The experimental indexes, including peristaltic sound, the condition of pneumatosis and fluid in intestine (performing abdominal B-type ultrasound), serum endotoxin, diamine oxidase (DAO), D-lactic acid were observed at the 0, 48th

hour, and the 7th day after treatment (or before death), respectively, and the scores for intestinal dysfunction were compared between the two groups according to Lushan meeting criteria in 1995.

RESULTS: At the 7th day after treatment, the ratio of peristaltic sound (beat/min), the positive ratio of abdominal B-type ultrasound for pneumatosis and fluid, the levels of serum endotoxin, serum DAO, serum D-lactic acid, and intestinal dysfunction scores were significantly different between group A and B (2.29 ± 1.685 vs 3.62 ± 1.762 , $P < 0.01$; 34.4% vs 13.5% , $P < 0.05$; 180 ± 30 EU/L vs 111 ± 21 EU/L, $P < 0.05$; 4.45 ± 1.67 μ kat/L vs 3.17 ± 0.83 μ kat/L, $P < 0.01$; 14.594 ± 2.022 mg/L vs 10.49 ± 4.185 mg/L, $P < 0.05$; 0.41 ± 0.12 vs 1.32 ± 0.14 , $P < 0.01$).

CONCLUSION: Tongfu granules can obviously promote intestinal motility and improve intestinal mucosal barrier function.

Key Words: Multiple organ dysfunction syndrome; Gastrointestinal dysfunction; Gut barrier; Tongfu granule

Dong J, Zhang SW, Duan ML, Wang BE, Wang H, Yin CH, Wen Y. Efficacy of Tongfu granules in treatment of gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndromes: an analysis of 140 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3358-3362

摘要

目的: 观察通腑颗粒治疗MODS时胃肠功能障碍的临床疗效。

方法: 采用前瞻性、多种心、临床随机对照研究方法, 收集10家北京三级医院ICU病房符合入选标准的140例患者, 随机分为A组和B组, 分别以加斯清和通腑颗粒治疗。于入选后0 h、给药后48 h、第7天或死亡前, 观察患者肠鸣音及腹部B超肠管积气、积液的情况; 抽血并测定血浆内毒素含量、血浆二胺氧化酶(DAO)活性及血浆D-乳酸水平; 进行两组胃肠功能评分的比较。

结果: 治疗第7天加斯清组与通腑颗粒组患者肠鸣音(2.29 ± 1.685 次/min vs 3.62 ± 1.762 次/min, $P < 0.01$), 腹部B超积气或积液阳性率(34.4% vs 13.5% , $P < 0.05$), 血浆内毒素(180 ± 30 EU/L vs 111 ± 21 EU/L, $P < 0.05$), 血浆DAO(4.45 ± 1.67 μ kat/L vs 3.17 ± 0.83 μ kat/L, $P < 0.01$), 血浆D-乳酸(14.594 ± 2.022 mg/L vs 10.49 ± 4.185 mg/L, $P < 0.05$), 胃肠功能评分(0.407 ± 0.12 vs 1.32 ± 0.14 , $P < 0.01$), 各项监测指标差异显著。

结论: 通腑颗粒能够明显促进MODS时胃肠功能障碍患者肠蠕动, 改善肠黏膜屏障功能。

关键词: 多器官功能不全综合征; 胃肠功能障碍; 肠屏障功能; 通腑颗粒

董军, 张淑文, 段美丽, 王宝恩, 王红, 阴赅宏, 文艳. 通腑颗粒治疗MODS胃肠功能障碍140例. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3358-3362

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3358.asp>

0 引言

多器官功能障碍综合征(MODS)是近代急救医学中出现的新的重大课题, 世界范围内对MODS的研究已经持续了数十年, 针对MODS的研究也日益深入, 其中胃肠道功能在MODS的作用逐步引起人们的关注, “肠道不仅是MODS的靶器官, 又是损伤的激发器官”^[1]. 在各种严重的病理打击下, 机体的肠黏膜屏障功能受损, 肠道内大量的细菌和内毒素经过受损的肠黏膜屏障入血, 激活单核巨噬细胞系统, 产生大量的细胞因子和炎症介质, 导致失控性全身炎症反应综合征(SIRS)和MODS^[2]. 虽然胃肠道在MODS的发生、发展中起着重要的作用, 但是目前针对胃肠功能障碍和衰竭国内外还没有统一的定义和评分标准, 也没有确实有效的药物可以改善胃肠功能. 本研究拟在以往研究的基础上, 前瞻性、多中心的观察中药复方通腑颗粒治疗MODS时胃肠功能障碍的临床疗效, 旨在为临床上MODS胃肠功能障碍有效治疗方案提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2004-10/2006-02北京10家三级医院ICU病房符合入选标准的140例患者, 其中男性93人(67%), 女性47人(33%), 年龄 67.8 ± 13.2 岁, 病因主要包括: 严重感染109例、严重创伤8例、胰腺炎9例、心肺复苏8例、大手术16例、

其他原因20例(有些患者同时存在两种病因). 入选患者胃肠功能评分^[3] 1.58 ± 0.731 , 最低分1, 最高分3. 病例入选标准: (1)有引起MODS的病因, 感染及非感染性因素(严重创伤、烧伤、重症胰腺炎、大手术、心肺复苏术后、病理产科等); (2)上述因素发生24 h后出现至少两个器官功能障碍, 且胃肠功能评分 ≥ 1 分者; (3)按Marshall标准器官损伤积分3-20分; (4)年龄18-80岁; (5)中医证型为腑气不通症(经2002年市科委MODS课题组制定症状为腹胀、呕吐、无排气排便、肠鸣音减弱或消失、肠管扩张或积液、腹部液平). 排除标准: (1)孕妇或哺乳期妇女; (2)年龄 < 18 岁或 > 80 岁; (3)慢性心、肝、肺、肾等疾病引发胃肠功能障碍; (4)恶性肿瘤晚期; (5)HIV感染; (6)近期使用过促胃肠动力药物且仍在该药物的5倍半衰期内; (7)胃肠切除术后; (8)治疗未超过72 h死亡或出院者; Glasgow评分 ≤ 6 分。

1.2 方法

1.2.1 病例分组 入选病例按北医三院流行病学研究所提供的统一随机信封分为两组: A组加斯清组和B组通腑颗粒组。

1.2.2 观察药物用量、疗程 (1)通腑颗粒(北京长城制药厂生产, 批号: 040901) 10 g/次, 3次/d, 疗程7 d, 经口或胃管给予; 加斯清(枸橼酸莫沙比利, 大日本制药株式会社, 批号: H20030648) 5 mg, 3次/d, 疗程7 d, 经口或胃管给予; (2)药物加量标准: 若用药第3天仍无排气排便, 可考虑药物用量加倍; (3)药物减量/终止标准: 观察期间若因本药引起导致血流动力学或酸碱平衡紊乱的腹泻, 则考虑药物减量或停用。

1.2.3 观察指标及方法 于入组0 h、用药后48 h、第7天(即疗程结束日)或死亡前, 记录患者的肠鸣音、腹部B超肠管积气、积液情况; 评定两组患者胃肠功能评分. 取血行血浆内毒素定量、血二胺氧化酶(DAO)活性测定及血D-乳酸的测定. 内毒素检测方法: 应用上海伊华医学科技有限公司的鲎试剂盒(批号20050402)定量检测内毒素; DAO的测定量: 采用1995年黎君友 *et al*^[4]改良的分光光度法检测血浆二胺氧化酶(DAO)活性; D-乳酸的测定采用改良的酶学分光光度法^[5]检测血浆D-乳酸水平。

统计学处理 实验数据用SPSS 11.5软件包进行统计处理. 所有数据(mean \pm SD)表示, 采用 t 检验、 χ^2 检验等, $P < 0.05$ 认为差异具有显著性。

2 结果

2.1 两组MODS时伴胃肠功能障碍患者在不同观

■创新盘点

本文在以往研究的基础上, 前瞻性、多中心的观察中药复方通腑颗粒治疗MODS时胃肠功能障碍的临床疗效, 为临床上MODS胃肠功能障碍有效治疗方案提供实验依据。

■同行评价

本文采用前瞻性、多中心、临床随机对照研究,从不同时间点观察中药通腑颗粒治疗MODS时肠鸣音及腹部B超肠管积气/积液的情况,血浆内毒素含量、血浆二胺氧化酶(DAO)活性及血浆D-乳酸水平,胃肠功能评分,得出通腑颗粒能够明显促进MODS时胃肠功能障碍患者肠蠕动,改善肠黏膜屏障功能的结论,为祖国传统医学治疗MODS时胃肠功能障碍综合作了较好的大型临床研究,具有较高的评价。

表 1 两组患者在不同时间肠鸣音和胃肠功能评分的比较(mean \pm SD, 次/min)

分组	n	入组0 h	入组48 h	入组第7天	第7天与0 h差值
A组	62	1.13 \pm 0.873	3.33 \pm 1.582	2.29 \pm 1.685	1.13 \pm 1.034
B组	65	0.82 \pm 0.110 ^a	2.02 \pm 1.344	3.62 \pm 1.762 ^b	2.87 \pm 1.736 ^b

^a P <0.05, ^b P <0.01 vs A组.

表 2 两组患者在不同时间的血浆内毒素的比较(mean \pm SD, EU/mL)

分组	n	入组0 h	入组48 h	入组第7天
A组	62	0.264 \pm 0.219	0.201 \pm 0.182	0.180 \pm 0.030
B组	65	0.278 \pm 0.237	0.271 \pm 0.061	0.111 \pm 0.021 ^a

^a P <0.05 vs A组.

表 3 两组患者在不同时间的血浆DAO的比较(mean \pm SD, μ kat/L)

分组	n	入组0 h	入组48 h	入组第7天
A组	62	3.95 \pm 1.38	4.35 \pm 1.33	4.35 \pm 1.67
B组	65	4.43 \pm 1.58	4.18 \pm 1.43	3.17 \pm 0.83 ^b

^b P <0.01 vs A组.

表 4 两组患者在不同时间的血浆D-乳酸的比较(mean \pm SD, mg/L)

分组	n	入组0 h	入组48 h	入组第7天
A组	62	13.593 \pm 5.797	11.694 \pm 4.224	14.894 \pm 2.022
B组	65	15.671 \pm 10.612	12.950 \pm 3.976	10.491 \pm 4.185 ^a

^a P <0.05 vs A组.

察时间肠鸣音的变化 两组患者在入选0 h均有肠鸣音的明显减弱,且通腑颗粒组肠鸣音减弱明显;入组48 h两组患者肠鸣音均有提高、改善;入组第7天两组患者肠鸣音比较,通腑颗粒组高于加斯清组,由于入选0 h两组间存在一定的差异,我们进行了两组间第7天与0 h差值的比较,通腑颗粒组差值明显大于加斯清组(表1).

2.2 两组MODS胃肠功能障碍患者在不同观察时间腹部B超肠积气情况的变化 入组0 h两组患者的腹部B超肠积气情况没有差异,经过7 d的治疗,通腑颗粒组腹部B超肠积气情况较加斯清组明显改善[5/37(13.5%) vs 11/32(34.4%), P <0.05].

2.3 两组MODS胃肠功能障碍患者在不同观察时间内毒素的变化 两组患者于入选0 h血浆内毒素无差异,经过不同治疗,两组血浆内毒素水平均下降,通腑颗粒组优于加斯清组,入组第7天差异具有显著性(表2).

2.4 两组MODS胃肠功能障碍患者在不同观察时间DAO的变化 两组患者于入选0 h血浆DAO无差异,经过不同治疗,第7天加斯清组血浆DAO水平有轻度升高,而通腑颗粒组血浆DAO水平明显下降(P <0.01, 表3).

2.5 两组MODS胃肠功能障碍患者在不同观察时

间D-乳酸的变化 两组患者于入选0 h血浆D-乳酸无差异,经过7 d不同治疗,加斯清组血浆D-乳酸水平经过短暂的下降后又升高,通腑颗粒组血浆D-乳酸水平持续下降(P <0.05, 表4).

2.6 两组MODS胃肠功能障碍患者在不同观察时间胃肠功能评分变化 两组患者在入组0 h,胃肠功能评分均升高,胃肠功能均有损伤,且通腑颗粒组患者胃肠功能损伤严重,经过不同治疗,入组第7天通腑颗粒组患者胃肠功能与对照组加斯清组比较明显改善(P <0.01),由于入选0 h两组间存在一定的差异,我们进行了两组间第7天与0 h差值的比较,通腑颗粒组差值大于加斯清组(表5).

3 讨论

加斯清(枸橼酸莫沙比利)是一种新型的胃肠道促动力药,作用机制和西沙比利相似,为5-HT₄(5-羟色胺4)受体激动剂,良好的全胃肠道促动力药.国外有学者报道^[6],在危重症患者中应用西沙比利后死亡率明显下降.但是由于后者存在QT间期延长、室性心律失常和尖端扭转型室性心动过速等在心脏方面的严重副作用,临床上受到很大的限制.本研究选用加斯清

表 5 两组患者在不同时间的胃肠功能评分的比较

分组	n	入组0 h	入组48 h	入组第7天	第7天与0 h差值
A组	62	1.37 ± 0.613	1.03 ± 0.736	0.91 ± 0.117	0.407 ± 0.12
B组	65	1.75 ± 0.779 ^a	0.84 ± 0.79	0.39 ± 0.105 ^b	1.32 ± 0.14 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs A组.

为对照药物. 通腑颗粒(原名促动胶囊), 本方由北京友谊医院王宝恩教授、张淑文教授经过近30 a的临床和动物实验组方而成. 一方面使用厚朴、大黄、枳实等理气消胀, 泻热通腑, 一方面使用黄芪、白术、当归健脾益气养血, 意在祛除之时, 顾护正气, 祛邪而不伤正气, 扶正而不敛邪. 本方诸药合用共奏理气消胀, 泻热通腑之功效. 研究表明, 通腑颗粒较加斯清能够明显的增加肠鸣音, 减少B超下肠积气的发生率, 提示通腑颗粒能够促进肠蠕动, 这是因为大黄可以作用于胃动素(MTL)、胆囊收缩素(CCK)及血管活性肠肽(VIP)等胃肠激素^[7], 而这些激素与胃肠动力密切相关的作用. 胃肠激素是胃肠动力功能的主要调节因素, 胃动素和胃泌素是与人类胃肠功能关系密切的两种重要激素, MTL主要由小肠的M细胞分泌, 具有强烈的刺激上消化道机械运动和生理肌电活动的作用. GAS由胃窦及十二指肠近端黏膜中的G细胞分泌, 具有促进肽和胃酸分泌、刺激胃肠运动、胃窦收缩和消化道黏膜生长等生理作用. 两者还可以直接作用使胃平滑肌细胞收缩^[8], 从而缩短患者腹胀、腹痛的持续时间, 减少继发感染并发症的发生. 另外现代医学研究表明, 枳实可促进胃排空及小肠推进功能, 其作用可能与血浆胃动素水平升高和提高了胆碱能神经的功能^[9]有关; 厚朴对正常胃肠电活动有兴奋作用, 而且可以明显改善内毒素休克时胃肠电的抑制^[10]; 白术可以促进肠蠕动可能与胆碱能神经M受体有关, 他可以促进乙酰胆碱的释放^[11], 从而促进肠动力; 木香使胃肠血管扩张, 改善胃肠道血液供应, 从而有助于协调胃肠运动, 木香煎剂还可使血浆胃动素水平升高; 黄芪具有补气助阳等功效, 具有增强小肠运动和平滑肌紧张度的效应^[12].

内毒素是G菌胞壁的脂多糖(LPS)部分, 其生物学效应及病理生理作用是由脂多糖的类脂A部分所致. LPS可诱导小肠间质层成纤维细胞产生TNF- α , 后者导致肠上皮细胞紧密连接松开,

并加重肠道局部的炎症反应, 损伤肠黏膜屏障功能(IBF). 另外, LPS导致的IBF损伤和细菌移位(BT)与其激活诱导型NO合成酶(iNOS)生成大量NO亦密切相关, 大量NO使肠壁通透性增加. 近来研究认为, 肠道合成过量NO损伤IBF与其形成的大量过硝酸盐有关, 过硝酸盐可使细胞线粒体蛋白硝酸化从而影响细胞呼吸而线粒体功能的改变又激活了半胱氨酸蛋白酶级联, 诱导肠细胞凋亡^[13]. 多种作用联合, 使得本来就受损的肠黏膜通透性进一步增加, 由于内毒素分子明显小于细菌, 即使肠黏膜通透性轻微增加, 内毒素也可通过肠黏膜屏障经门静脉进入肝脏. 若内毒素量过多超过肝细胞的解毒能力或肝病导致Kupffer细胞功能减退时, 便可形成肠源性内毒素血症^[14].

DAO是一种含有脱氨的腐胺和组胺的细胞内酶, 95%以上存在于哺乳动物小肠的黏膜或纤毛上皮细胞中, 其活性与绒毛高度及肠黏膜细胞的核酸和蛋白合成密切相关. 肠黏膜屏障功能衰竭时, 肠黏膜细胞脱落入肠腔, DAO进入肠细胞间隙淋巴管和血流, 使血浆和肠腔DAO活性升高, 而肠黏膜DAO活性降低^[15]. 因此测定其在外周血中的变化可反映肠道损伤和修复情况.

血清D-乳酸: 哺乳动物组织即不产生D-乳酸, 也不能或仅能缓慢代谢D-乳酸, 正常情况下血中其水平很低. 人体内的D-乳酸主要是由胃肠道的细菌发酵产生的, 肠道菌群中多种细菌均可产生, 包括克雷伯菌、大肠杆菌、乳酸杆菌属和拟杆菌属等. 当肠道发生急性缺血时, 局部细菌大量繁殖, 破坏肠黏膜生物屏障, 由于肠黏膜缺血导致肠黏膜绒毛顶端上皮脱落, 细胞旁路增加而导致肠黏膜通透性增加. 此时, 肠道中细菌产生的大量D-乳酸透过受损的肠黏膜经循环进入血液, 使血液中D-乳酸水平升高. 因此检测其外周血水平也可间接反映肠黏膜损害程度和通透性变化^[16]. 研究表明, 通腑颗粒较加斯清可以明显降低患者第7天血浆中内毒素、DAO、D-乳酸的浓度($P < 0.05$, $P < 0.01$,

$P<0.05$), 提示通腑颗粒能够改善肠黏膜屏障, 使肠黏膜通透性下降, 降低肠源性内毒素血症的发生, 从而防止了肠源性细菌移位、肠源性脓毒症进而演变为SIRS, MODS. 通腑颗粒对胃肠黏膜损伤有改善作用, 他作用的主要来源可能与其组分大黄有关, 近来研究又表明, 大黄具有提高脓毒血症患者胃肠黏膜内pH值的作用, 可以缓解胃肠黏膜的缺血缺氧状态, 抑制肠道细菌移位, 消除自由基等功能^[17].

目前, 虽然对肠功能障碍没有统一的诊断标准和评分系统, 1995年我国第三届全国急救学术会议上讨论通过的1995年重修多脏衰病情分期诊断及严重程度分期标准^[3]规定的胃肠评分系统, 简单易行, 在国内较多使用. 本研究结果以及我们以往的研究结果^[12]均提示, 通腑颗粒较加斯清能够改善胃肠功能评分($P<0.05$), 明显改善胃肠功能障碍.

总之, 通腑颗粒可促进急性肠功能障碍患者的肠蠕动, 可以改善MODS患者肠黏膜屏障功能, 从而降低血浆内毒素、DAO、D-乳酸水平.

4 参考文献

- 1 孟宪均. 多器官功能障碍综合征研究展望. 中华医学杂志 1998; 78: 407-408
- 2 董军, 张淑文, 王宝恩. 肠功能障碍与多器官功能障碍综合征. 中国危重病急救医学 2005; 17: 764-767
- 3 王今达, 王宝恩. 多器官功能失常综合征(MODS)病情分期诊断及严重程度评分标准. 中国危重病急救医学 1995; 7: 346-347
- 4 黎君友, 于燕, 郝军, 晋桦, 许惠君. 分光光度法测定血和小肠组织二胺氧化酶活性. 氨基酸与生物资源 1996; 18: 28-30
- 5 Brandt RB, Siegel SA, Waters MG, Bloch MH. Spectrophotometric assay for D-(-)-lactate in plasma. *Anal Biochem* 1980; 102: 39-46
- 6 彭淑梅, 王淑珍, 高薇薇, 曾可. 西沙比利治疗危重症并胃肠功能衰竭的临床探讨. 临床儿科杂志 2002; 20: 343-345
- 7 王婧, 阴赅宏, 张淑文, 王宝恩. 大黄类药物治疗重症急性胰腺炎的进展. 中国中西医结合急救杂志 2005; 12: 318-320
- 8 陈永前, 宁淑敏, 王爱华, 董湘玉, 张庆立. 危重症新生儿血中胃泌素、胃动素变化及其意义探讨. 临床儿科杂志 2003; 21: 777-779
- 9 孙友俊, 刘志苏, 汪晖, 袁玉峰. 胰泌素颗粒对实验动物胃肠运动的影响. 武汉大学学报(医学版) 2005; 26: 379-382
- 10 次秀丽, 王宝恩, 郭昌燕, 陈玲. 厚朴对正常和内毒素休克大鼠胃肠电活动影响的实验研究. 中国中医药科技 1999; 6: 154-156
- 11 杨倩, 冯玉彦, 姚希贤. 中医对胃肠动力障碍性疾病的治疗研究概况. 四川中医 2005; 23: 28-30
- 12 段美丽, 张淑文, 王宝恩. 中药复方促动胶囊治疗急性胰腺炎患者胃肠运动功能障碍的临床观察. 中国中西医结合急救杂志 2004; 11: 36-38
- 13 Nadler EP, Upperman JS, Dickinson EC, Ford HR. Nitric oxide and intestinal barrier failure. *Semin Pediatr Surg* 1999; 8: 148-154
- 14 Lichtman SM. Bacterial [correction of bacterial] translocation in humans. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 1-10
- 15 阮鹏, 张全荣, 龚作炯, 杨丽华. 肝炎肝硬化患者血浆D-乳酸、二胺氧化酶和内毒素的检测及其临床意义. 临床内科杂志 2004; 21: 93-95
- 16 蔡元坤, 秦新裕. D-乳酸与肠道屏障功能. 国外医学外科学分册 2004; 31: 331-335
- 17 次秀丽, 王宝恩, 张淑文, 张宁宁. 肿瘤坏死因子和内毒素致大鼠肠黏膜屏障损伤的中药治疗研究. 中国危重病急救医学 1999; 11: 262-265

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国科学技术信息研究所情报方法研究中心关于 2005年世界华人消化杂志指标检索报告

本刊讯 2005年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为2079, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第51位, 内科医学类28种期刊的第4位. 2005年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.485, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第449位, 内科医学类28种期刊的第14位. 《世界华人消化杂志》的即年指标0.070, 他引率0.66, 地区分布数26, 基金论文比0.43, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.46. (世界胃肠病学杂志社2006-12-18)

江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查

徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅

徐顺福, 施瑞华, 张国新, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 南京医科大学一附院消化科 江苏省南京市 210029
丁岩冰, 严志刚, 扬州市第一人民医院消化科 江苏省扬州市 225001

孙桂前, 响水县中医院内科 江苏省盐城市 224000

苗毅, 南京医科大学一附院普外科 江苏省南京市 210029

徐顺福, 副主任医师, 主要从事幽门螺杆菌基础与临床研究.

江苏省135重点学科资助课题, No. 2001-31

通讯作者: 施瑞华, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学一附院消化科. ruihuashi@126.com

电话: 025-83714511-6255

收稿日期: 2006-09-15 接受日期: 2006-10-14

Epidemiological study of *Helicobacter pylori* infection and its risk factors in Jiangsu area

Shun-Fu Xu, Rui-Hua Shi, Guo-Xin Zhang, Yan-Bing Ding, Gui-Qian Sun, Hong-Jie Zhang, Xiao-Xing Chen, Xia-Yue Huang, Xue-Liang Li, Zhi-Gang Yan, Yi Miao

Shun-Fu Xu, Rui-Hua Shi, Guo-Xin Zhang, Hong-Jie Zhang, Xiao-Xing Chen, Xia-Yue Huang, Xue-Liang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Yan-Bing Ding, Zhi-Gang Yan, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Yangzhou City, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Gui-Qian Sun, Department of Internal Medicine, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xiangshui County, Yancheng 224000, Jiangsu Province, China

Yi Miao, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by the Grant for the 135 Key Medical Project of Jiangsu Province, No. 2001-31

Correspondence to: Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Guangzhou 300, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com

Received: 2006-09-15 Accepted: 2006-10-14

Abstract

AIM: To investigate the infection status of *Helicobacter pylori* and its risk factors in Jiangsu area with a high incidence of gastric cancer.

METHODS: A total of 1457 individuals from 3 rural villages in the northern area of Jiangsu province were included in this study, and data were collected by face-to-face interviews using a standard questionnaire, involving general con-

ditions, family environment, drinking, personal habit, diet habit, smoking, alcohol drinking, and disease history. *H pylori* infection was assessed by detecting the serum antibodies of anti-*H pylori* IgG or ¹³C-urea breath test.

RESULTS: At last, the study was completed in 1371 individuals, and the total prevalence rate of *H pylori* infection was 62.07%. No association was found between infection and gender. The infection rate was different between different-age groups with no significance, and the highest rate was 67.25% (individuals of 30 to 40 years old). The prevalence of *H pylori* infection was increased significantly with the increase of annual family income, and the lowest rate was 53.49% (individuals with annual income of 1000 to 4999 RMB). *H pylori* infection was also related with the education level and size of household. *H pylori* infection rate was decreased significantly in subjects who drank raw water, drank water without washing cups, shared cups with others, had history of vomiting, belching, or nausea. However, the prevalence rate of *H pylori* infection was increased significantly in subjects who washed hands before meals and after defecation, using soaps. *H pylori* infection rate was positively correlated with the frequency of rice intake per day, but negatively correlated with the frequency of potato intake per day. There were no association between *H pylori* infection and source of drinking water, smoking or alcohol drinking. Multivariate logistic regression analysis showed that *H pylori* infection was positively associated with the family income, but negatively associated with education degree and washing cups after drinking.

CONCLUSION: *H pylori* infection is strongly influenced by education level, size of household and annual family income in the rural area with high gastric cancer prevalence, and transmits within families. Further studies are needed on the association of *H pylori* infection with hygiene habits, source of drinking, and diet.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Epidemiology; Risk

■背景资料

幽门螺杆菌 (*H pylori*) 自1983年发现以来, 与上消化道疾病, 特别是与胃癌的关系一直是消化领域的研究热点. 由于 *H pylori* 可能是胃癌的重要的致癌因素, 而全球约一半的人感染 *H pylori*, 因此通过对 *H pylori* 感染危险因素的了解, 希望通过预防减少 *H pylori* 感染, 从而减低胃癌发病率.

■同行评价

本文对江苏地区 *H pylori* 感染及其危险因素进行调查, 研究的部分结果与中华医学会消化分会幽门螺杆菌学组发表的全国多中心 *H pylori* 流行病学调查结果不完全一致: 经济状况、文化程度、卫生习惯, 具有一定学术价值。

factor; Questionnaire investigation

Xu SF, Shi RH, Zhang GX, Ding YB, Sun GQ, Zhang HJ, Chen XX, Huang XY, Li XL, Yan ZG, Miao Y. Epidemiological study of *Helicobacter pylori* infection and its risk factors in Jiangsu area. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3363-3370

摘要

目的: 进一步了解我国胃癌高发区 *H pylori* 流行状况及危险因素。

方法: 在江苏响水县及高邮县进行整群抽样, 纳入调查人群1457例。调查方法采用问卷调查, 问卷内容包括基本情况、家庭情况、饮水和个人习惯、饮食习惯、吸烟和饮酒习惯及既往病史, *H pylori* 检测采用血清 *H pylori* IgG 抗体检查和¹³C呼气试验检查, 如任何一项检测结果阳性则判 *H pylori* 感染为阳性。

结果: 1371例完成了问卷调查及幽门螺杆菌检测, *H pylori* 总的感染率为62.07%, 男女性别无差异, 30-40岁感染率最高67.25%, 但各年龄组间无显著差别。以年经济收入1000-4999元感染率为最低(53.49%), 年经济收入愈高, *H pylori* 感染率也愈高。家庭人数增多 *H pylori* 感染率显著增高, 家庭中有10岁以下儿童 *H pylori* 感染率偏高, 小学教育程度时 *H pylori* 感染率为最高(66.92%), 总的趋势显示教育程度愈高, *H pylori* 感染率愈低。喝生水、茶杯用后不洗刷、合用茶杯、恶心、呕吐、嗝气者反而 *H pylori* 感染率下降, 饭前洗手、便后洗手、肥皂洗手反而 *H pylori* 感染率升高。 *H pylori* 感染率与每日食用米饭次数成正相关, 而食用土豆则成负相关, 与饮水水源、吸烟、饮酒无关。多因素Logistic回归分析, 家庭经济收入与 *H pylori* 感染成正相关, 教育程度, 茶杯用后洗刷与 *H pylori* 感染成负相关。

结论: 我国胃癌高发区农村 *H pylori* 感染、家庭人数、教育程度及家庭经济收入有关, 并存在家庭聚集现象, 有一定经济基础(5000元/年以上), 受过一定教育(小学)的人易感染 *H pylori*。卫生习惯、饮水、饮食与 *H pylori* 感染的关系有待进一步研究。

关键词: 幽门螺杆菌; 流行病学; 危险因素; 问卷调查

徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅. 江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. *世界华人消化杂志* 2006;14(35):3363-3370

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3363.asp>

0 引言

1984年Warren和Marshall从人胃黏膜中分离培养出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)后, 经过20多年的研究表明, *H pylori* 感染为慢性活动性胃炎的主要致病菌, 消化性溃疡的重要致病因素, 也是胃癌重要的危险因素^[1], 世界卫生组织将其列为一类致癌物^[2], Warren和Marshall并为此荣获2005年诺贝尔生理医学奖^[3]。20多年来, 国内外对其感染的相关因素及传播途径进行了大量的研究, 但仍不甚明了^[4]。为此中华医学会消化分会 *H pylori* 研究协作组在国内开展多中心流行病学调查, 以全面了解我国 *H pylori* 流行病状况及危险因素, 为制订正确有效的预防措施提供依据。江苏为胃癌高发区, 作为多中心之一参与了这一流行病学调查计划。

1 材料和方法

1.1 材料 2004-09/2005-10分别在江苏响水县及高邮县进行整群抽样, 3个村庄纳入调查, 自然人群共1866例。去除5岁以下, 较重器质性疾病者及其他不适人群外, 纳入人群1457例。

1.2 方法 调查方法为问卷调查, 采用全国 *H pylori* 研究统一问卷, 以面对面的方式进行问卷, 并自愿签署知情同意书。内容包括基本情况、家庭情况、饮水和个人习惯、饮食习惯、吸烟和饮酒习惯及既往病史6个部分, 共63个可能与 *H pylori* 感染、传播有关的问题。 *H pylori* 检测: 包括血清 *H pylori* IgG 抗体检查和¹³C呼气试验检查两项。对每位调查者调查当天清晨空腹时采静脉血3 mL, 分离血清后检测 *H pylori* IgG 抗体, 检测试剂采用上海元谷科技发展有限公司生产, 其敏感性为98.4%, 特异度为96.0%。同时进行¹³C-尿素呼气试验检测, 采用美国Isotec公司生产, 协和药业有限公司分装试剂盒, 按操作说明书进行阳性结果评定。 *H pylori* 感染标准: 以血清抗体检测、¹³C呼气试验中任何一项检测结果阳性判为 *H pylori* 感染阳性, 两项均阴性作为感染阴性诊断标准。

统计学处理 *H pylori* 感染率以百分比表示, 统计数据epidata3.1双轨录入, 整理分析统计软件采用SAS 9.0, 各种危险因素的比较采用 χ^2 检验和Logistic逐步回归分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 *H pylori* 感染与一般情况、家庭因素分析

表 1 性别、年龄分组后 *H. pylori* 感染结果分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
性别			0.9209 ^b
男	585(62.22)	0.99(0.79-1.23)	
女	786(61.96)		
合计	1371(62.07)		
年龄组(岁)			0.2037 ^b
			0.9583 ^a
<20	48(60.42)	1.20(0.58-2.47)	0.6176
20-29	84(55.95)	对照	
30-39	287(67.25)	1.61(0.98-2.66)	0.0568
40-49	297(57.58)	1.07(0.66-1.74)	0.7906
50-59	372(64.25)	1.41(0.86-2.29)	0.1556
60-69	180(59.44)	1.15(0.68-1.95)	0.5919
≥70	102(62.75)	1.33(0.74-2.39)	0.3473

表中^a表示趋势检验, ^b表示总体检验。

在1457例中1371例完成了问卷调查及 *H. pylori* 检测, 1371例平均年龄 47.75 ± 14.82 岁, 最小5岁, 最大100岁; 其中男585例(57.33%), 平均年龄 48.52 ± 15.52 岁; 女786例(42.67%), 平均年龄 47.17 ± 14.25 岁。 *H. pylori* 总的感染率为62.07%(表1), 其中男女感染率分别为61.96%, 62.22%。男女感染率无明显差别($P = 0.9209$)。按年龄分组, 30-40岁感染率最高67.25%, 20-30岁及40-50岁偏低, 但各组间感染率无明显差别($P = 0.2037$), 也无随年龄变化趋势。根据家庭人数分成2组, 1-4人家庭的感染率(58.40%)明显低于5人以上的家庭(67.42%, $P = 0.0009$)。家庭中有10岁以下孩子感染率63.36%, 稍高于无儿童家庭者57.41%($P = 0.0778$)。家庭年经济收入平均7259.35元, 从<1000元-30 000元以上分为六个级别(表2), 其中以年经济收入1000-4999元感染率为最低(53.49%), 3万元以上感染率为最高(75.00%), 差别显著($P < 0.0001$)。趋势分析显示, 经济收入愈高, 感染率愈高($P < 0.0001$)。在教育程度方面, 以小学为最高(66.92%), 文盲感染率较小学明显减低($P < 0.0413$)。从小学、初中、高中逐渐下降, 至大学最低(51.72%), 趋势分析显示从小学开始教育程度愈高, 感染率愈低($P = 0.0061$)。配偶的教育程度也显示相似规律, 但配偶学历大学者感染率突然增高(68.00%)而无统计学意义。1371例中绝大多数为农民占89.86%, 98.35%生活平原农村地区, 87.48%无在外地生活史, 6.7%丧偶或离婚。 *H. pylori* 感染率与职业、

表 2 *H. pylori* 感染与家庭及个人基本情况分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
第几胎			0.9758 ^b
1	432(63.89)	对照	0.7997 ^a
2	305(62.6)	0.95(0.70-1.283)	0.7254
3	220(62.27)	0.93(0.67-1.31)	0.6855
≥4	223(63.23)	0.97(0.70-1.36)	0.8678
婚姻			0.2514 ^b
在婚	1188(62.46)	对照	
丧偶	89(52.81)	0.67(0.47-1.04)	0.0708
离婚或分居	1(100.00)	1.60(1.53-1.67)	1.0000
未婚	65(64.62)	1.10(0.65-1.85)	0.7264
家庭人数			0.0009 ^b
1-4	815(58.40)	re	
≥5	531(67.42)	1.47(1.17-1.85)	
职业			0.4926 ^b
农民	1232(61.77)	0.88(0.61-1.27)	
其他	139(64.75)	对照	
家庭经济收入			<0.0001 ^b
<1000	235(62.13)	1.44(1.06-1.97)	0.0199
1000-	602(53.49)	对照	<0.0001 ^a
5000-	103(71.84)	2.22(1.40-3.509)	0.0005
10000-	279(72.0)	2.24(1.65-3.05)	<0.0001
20000-	129(69.77)	2.01(1.33-3.02)	0.0007
≥30000	24(75.00)	2.61(1.02-6.66)	0.0380
10岁以下孩子			0.0778 ^b
有	333(63.36)	1.28(0.97-1.69)	
无	580(57.41)	对照	
与别人合用床			0.1553 ^b
合用	1168(62.41)	1.28(0.91-1.80)	
不合用	154(56.49)	对照	
教育程度			0.0819 ^b
文盲	585(60.51)	1.32(1.01-1.72)	
小学	396(66.92)	对照	0.0061 ^a
初中	241(59.75)	1.36(0.98-1.90)	0.0672
高中	91(54.95)	1.66(1.04-2.64)	0.0312
大学及以上	29(51.72)	1.89(0.89-4.03)	0.0957
配偶教育程度			0.0675 ^b
文盲	574(58.01)	1.52(1.14-2.02)	0.0043
小学	319(67.71)	对照	0.2058 ^a
初中	244(61.8)	1.29(0.91-1.83)	0.1504
高中	94(59.5)	1.42(0.89-2.29)	0.1437
大学及以上	25(68.00)	0.99(0.41-2.36)	0.9763
饲养动物			0.7430 ^b
无	334(61.98)	对照	
猫	313(63.90)	1.09(0.79-1.49)	0.6131
狗	220(63.64)	1.07(0.76-1.53)	0.6927
猫狗合养	302(59.93)	0.92(0.67-1.26)	0.5980

表中^a表示趋势检验, ^b表示总体检验。

生活地区及有无外地生活未见明显相关关系,与第几胎、婚姻、合用床情况也无明显相关关系.

2.2 *H pylori*感染与饮水、个人卫生因素分析 在饮水、个人卫生因素分析中,多数相关因素分有4个量级:“总是”、“多半是”、“多半不是”、“从来不”,我们采用两种统计方法进行分析,一种是从“总是”到“从来不”4个量级的趋势分析,另一种因一些因素个别级别的例数偏少,而采用“总是”与“多半是”,“多半不是”与“从来不”合并进行对照比较.如表3所示,是否常喝生水, *H pylori*感染率以“总是”、“多半是”为低(55.88%),而“多半不是”、“从不喝”逐渐增高(67.46%),差别显著($P = 0.0039$),感染率并有递增趋势($P = 0.0005$);洗刷碗筷是否使用洗洁剂,“总是”、“多半是”与“多半不是”、“从不喝”有显著差异($P = 0.0132$),而趋势分析未见统计学差异;茶杯用后是否洗刷,感染率以“总是”为最高(70.20%),其他量级有以次下降趋势 $P = 0.0002$.“总是”、“多半是”与“多半不是”、“从来不”相比较也有显著差异 $P = 0.0009$;茶杯是否合用,因感染率以“从来不”为最高(70.07%),而使趋势分析显示统计学差异($P = 0.0471$).而在“总是”、“多半是”与“多半不是”、“从来不”对照比较中则未见显著差异;在洗手习惯上,饭前洗手、便后洗手及肥皂洗手3个因素都显示,“总是”、“多半是”与“多半不是”、“从来不”相比感染率均显著增高($P = 0.0001, 0.0018, 0.0019$).在肥皂洗手因素趋势分析也显示有显著差异($P = 0.0103$);是否分餐与使用公筷,“有时”感染率为66.39%,“从不”为59.84%,二者间差异显著($P = 0.0364$),而“经常”、“有时”及“从不”感染率未见趋势变化.

调查地区饮用水来源90.85%为浅井水, *H pylori*感染未见与其有相关性,饭后碗筷刷洗方式、是否刷牙、是否共用牙缸、是否常将食物嚼烂喂婴儿、是否常口对口亲吻孩子与*H pylori*感染也未见明显相关性关系.

2.3 *H pylori*感染与饮食习惯因素分析 吃米饭与吃土豆及其制品,根据其频度,分别分为3个级别: <1次/wk, 1次/wk-1次/d, >2次/d,吃米饭3个级别的*H pylori*感染率逐渐升高41.86%→65.05%,而食用土豆及其制品者正好相反,67.57%→52.58%,趋势分析显示二者均具有统计学意义($P = 0.0007, P < 0.0001$),同时吃米饭与

表 3 *H pylori*感染与饮水、个人卫生因素分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
是否常喝生水			0.0005 ^a
总是	34(55.88)	对照	0.0039
多半是	306(55.88)		
多半不是	356(60.67)		
从不喝	544(67.46)		
使用洗洁剂			0.0627 ^a
总是	144(64.58)	对照	0.0132
多半是	687(65.21)		
多半不是	416(57.45)		
从来不	35(65.71)		
茶杯用后洗刷			0.0002 ^a
总是	198(70.20)	对照	0.0009
多半是	648(64.81)		
多半不是	418(55.02)		
从来不	21(61.9)		
茶杯合用否			0.0471 ^a
总是	219(61.19)	对照	0.2480
多半是	462(60.61)		
多半不是	294(57.82)		
从来不	294(70.07)		
饭前洗手			0.0518 ^a
总是	330(60.61)	对照	<0.0001
多半是	650(67.85)		
多半不是	295(52.88)		
从来不	8(50.00)		
便后洗手			0.1234 ^a
总是	386(62.44)	对照	0.0018
多半是	578(66.44)		
多半不是	309(53.72)		
从来不	14(85.71)		
肥皂洗手			0.0103 ^a
总是	62(56.45)	对照	0.0019
多半是	585(67.52)		
多半不是	571(58.67)		
从来不	58(51.72)		
分餐与公筷			0.0624 ^a
经常	174(64.94)	对照	0.2147
有时	357(66.39)		0.0364
从不	737(59.84)		

表中^a表示趋势检验.

吃土豆及其制品3个级别间均有显著性差异.而其他饮食习惯:喜欢吃咸还是吃淡、饮奶制品种类及次数、是否生吃水果或蔬菜、生吃水果或蔬菜前是否常洗、生吃水果或蔬菜前是否常削皮与*H pylori*感染未见相关性(表4).

2.4 *H pylori*感染与吸烟和饮酒习惯因素分析

表 4 *H pylori*感染与饮食习惯相关的危险因素分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
吃米饭			0.0007 ^a
<1次/wk	43(41.86)	re	
1次/wk-1次/d	437(58.58)	1.96(1.04-3.71)	0.0345
≥2次/d	844(65.05)	2.58(1.39-4.82)	0.0020
土豆及其制品			<0.0001 ^a
<1次/wk	555(67.57)	对照	
1次/wk-1次/d	448(60.04)	0.72(0.56-0.94)	0.0135
≥2次/d	194(52.58)	0.53(0.38-0.74)	0.0002

表中^a表示趋势检验。

表 5 *H pylori*感染与饮食习惯因素分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
吸烟			0.7324 ^b
否	952(62.71)	对照	
是	347(61.67)	0.96(0.74-1.23)	
吸烟年支			0.5929 ^a
0	951(62.78)	对照	
1-200	94(71.28)	1.47(0.92-2.34)	0.1024
200-600	137(56.20)	0.76(0.53-1.10)	0.1426
≥600	100(63.00)	0.76(0.53-1.10)	0.1428
饮酒			0.9696 ^b
否	876(63.01)	对照	
是	318(62.89)	0.99(0.76-1.30)	
每周饮酒次数			0.4945 ^a
0	873(63.12)	对照	
1-2	122(62.30)	0.97(0.65-1.43)	0.8604
3-6	100(70.00)	1.37(0.87-2.15)	0.1686
≥7	76(52.63)	0.65(0.45-1.04)	0.0734
饮酒年次			0.3980 ^a
0	875(63.09)	对照	
1-	187(64.17)	1.05(0.75-1.46)	0.7799
100-	60(60.00)	0.88(0.52-1.50)	0.6403
≥200	40(55.00)	0.72(0.38-1.36)	0.3055

表中^a表示趋势检验, ^b表示总体检验。

*H pylori*感染与吸烟、饮酒史未见明显相关性, 与吸烟、饮酒的开始年龄、目前是否还吸烟饮酒、饮酒的种类以及吸烟饮酒的频度、年数、年支(年次)均未见明显相关(表5)。

2.5 *H pylori*感染与上消化症状及病史关系分析 共有718例(52.33%)既往病史中有上消化道症状胃痛、上腹胀、烧心、反酸、恶心、呕吐、食

表 6 *H pylori*感染与消化道症状及病史关系分析

项目	调查人数 (阳性率%)	OR (95%CI)	P值
上消化道症状			0.2342 ^c
无	653(63.71)	对照	
有	718(60.58)	0.88(0.70-1.09)	
腹胀	173(60.69)	0.88(0.62-1.24)	0.4654
烧心	133(57.89)	0.78(0.54-1.15)	0.2065
恶心	141(54.61)	0.69(0.47-0.99)	0.0435
呕吐	97(49.48)	0.56(0.36-0.86)	0.0071
食欲不振	67(68.66)	1.25(0.73-2.14)	0.4209
早饱	43(62.79)	0.96(0.51-1.82)	0.9038
暖气	133(52.63)	0.63(0.43-0.92)	0.0166
打嗝	82(53.66)	0.66(0.42-1.05)	0.0764
反酸	280(59.64)	0.84(0.63-1.12)	0.2401
腹痛	336(62.50)	0.9495(0.72-1.25)	0.7094
胃病史			0.5094 ^b
胃癌	3(100.00)	4.16(0.21-80.83)	0.2987
慢性胃炎	215(61.40)	0.95(0.70-1.28)	0.7172
球溃	20(70.00)	1.39(0.53-3.64)	0.5044
胃溃疡	26(57.69)	0.81(0.37-1.78)	0.6014
有具体不详	120(56.67)	0.78(0.53-1.14)	0.1973
无	987(62.72)	对照	
家庭胃病史			0.0180 ^b
胃癌	43(65.12)	1.22(0.64-2.32)	0.5394
慢性胃炎	102(77.45)	2.25(1.39-3.65)	0.0008
球溃	13(61.54)	1.05(0.34-3.23)	0.9355
胃溃疡	25(56.00)	0.83(0.37-1.86)	0.6551
有但不详	146(67.81)	1.38(0.95-2.00)	0.0900
无	877(60.43)	对照	

表中^a表示趋势检验, ^b表示总体检验, ^c表示上消化道症状有与无的比较。

欲不振、早饱、暖气、打嗝10种症状, 其*H pylori*感染率为60.58%, 而无症状者为63.61%, 二者无显著性差异($P = 0.2491$), 在这10种症状中, 与*H pylori*感染有相关性的有恶心($P = 0.0435$)、呕吐($P = 0.0274$)、暖气($P = 0.0166$)(表6)。1371例中曾有上消化道疾病诊断244例, 各疾病间*H pylori*感染率无明显差别。家庭中有胃病史者329例, 家庭中有胃病者*H pylori*感染高于无胃病家庭史者($P = 0.0180$), 其中主要是因为慢性胃炎*H pylori*感染率明显增高(77.45%)。

2.6 *H pylori*感染多因素Logistic回归分析 本研究将可能影响*H pylori*感染的, 适宜多因素分析的变量45个, 进行多因素Logistic回归分析, 家庭经济收入与*H pylori*感染呈正相关, 教育程度、茶杯用后洗刷与*H pylori*感染呈负相关(表7)。

3 讨论

世界各地的 *H pylori* 感染率不尽相同, 差别很大, 发达国家小于40%, 发展中国家可高达80%-90%^[5], 随着 *H pylori* 与相关疾病关系的研究深入, 认识到 *H pylori* 感染是一个应被关注的公共卫生问题^[6]. 为此多年来其感染的危险因素世界各国进行了大量研究, 一般认为 *H pylori* 感染与社会经济发展水平有关, 但充满矛盾结果, 因此仍不明^[7-10]. 我国幅员辽阔, 地域差异较大, 而需采用多中心流行病学调查, 以期全面了解我国 *H pylori* 流行病状况及危险因素. 江苏省为我国胃癌高发区, 尤以苏中地区为最高, 部分地区胃癌标化死亡率达55.43/10万^[11]. 为此, 我们在这一地区选择调查点, 同时这些地区农村经济欠发达, 自然人群人口流动小, 与外界接触少, 接近该地区 *H pylori* 感染的原貌. 现有的研究表明 *H pylori* 感染与年龄、性别及社会经济条件有关^[12-13], 本研究地区 *H pylori* 感染率62.07%, 与以往报道的我国农村 *H pylori* 平均感染率64.41%相近^[14]. 性别对 *H pylori* 感染未见影响. *H pylori* 感染随年龄变化规律与其他研究相似, 不过一般在我国20岁以前 *H pylori* 感染较低, 而本研究则高达60.42%, 说明调查地区儿童 *H pylori* 感染时间更早、危害更大、胃癌发病率可能更高^[5,15-16]. 30-39岁 *H pylori* 感染达到高峰67.25%, 令人奇怪的是40-49岁 *H pylori* 感染率突然下降至57.58%, 以后再上升最后再逐渐下降, 40-49岁 *H pylori* 感染率下降在 *H pylori* 其他调查点也存在这一现象^[17], 其原因尚不清楚.

本研究中 *H pylori* 感染率与家庭经济收入关系分析显示有显著相关性, 当年经济收入1000-4999元时 *H pylori* 感染率为最低(53.49%), 小于1000元时感染率明显增高(62.13%), 大于5000元时感染率也增高, 并与收入成正比, 家庭经济收入愈高 *H pylori* 感染率愈高, 且多因素分析也显示家庭收入是影响 *H pylori* 感染率的重要因素. 年收入小于1000元时感染率增高与其他研究结果收入愈低 *H pylori* 感染率愈高相吻合^[18], 收入大于5000元时, *H pylori* 感染率增高可能的原因本研究调查地区大多数为农民, 人际交往少、单一封闭, 而较高收入者则外出活动相当较多, 感染机会也可能较多. 在社会经济条件方面, 除经济收入外, 一般认为 *H pylori* 感染的危险因素还包括儿童期间合用床, 兄弟姐妹多, 家庭人员多, 教育程度低等^[5,19-20]. 本研究发现, 家庭人数增多 *H pylori* 感染率显著增高, 家庭中

表 7 *H pylori* 感染的多因素 Logistic 回归分析

变量	回归系数	标准误	OR(95%CI)	P值
年经济收入	0.2373	0.0558	0.79(0.70-0.88)	<0.0001
教育程度	-0.1413	0.0712	1.15(1.00-1.32)	0.0472
茶杯用后洗刷	-0.2614	0.1016	1.30(1.06-1.59)	0.0101

有10岁以下儿童 *H pylori* 感染率偏高, 总的趋势显示教育程度愈高, *H pylori* 感染率愈低, 与其他研究结果一样, 提示这些因素可能是 *H pylori* 感染的相关因素. 本研究未发现合用床情况与 *H pylori* 感染有关, 但本研究中合用床情况仅指目前合用情况, 而不包括以往儿童期间合用床情况, 因此结果可能有偏差.

H pylori 感染传播方式, 有直接传播与间接传播之分, 直接传播为人-人之间传播, 而间接传播需通过水源、苍蝇、动物等媒介传播^[21-22]. 现有一些证据表明饮用水可能是 *H pylori* 感染的传播途径或者传染源^[23-24], 如 *H pylori* 污染水源可在水中存活较长时间, 部分流行病学调查也显示饮用水源不同 *H pylori* 感染率也不同. 本调查地区, 由于经济欠发达, 大多饮用浅井水, 而水源细菌污染是许多疾病传播的主要原因^[25], 因此该地区 *H pylori* 可能通过水源传播, 但本研究不同水源与 *H pylori* 感染率未见相关关系. 原因可能与该地区饮用浅井水占绝大多数(90.85%), 且5 a前这些村民则一直使用河水、池塘水作为饮用水源有关. 本研究调查对象饲养动物以猫狗为主, 与 *H pylori* 未见相关性. *H pylori* 感染直接传播常见的可能有口-口、粪-口二个途径. 一些实验在牙斑中检出 *H pylori*, 口对口亲吻、将食物嚼烂喂婴儿及合餐(与分餐与公筷相对应)可能通过口-口途径传播 *H pylori*, 本研究这三项与 *H pylori* 感染率未见相关, “有时”使用分餐与公筷者 *H pylori* 感染率还反而升高. 本研究与大多数研究结果基本一致, 未能显示出口-口途径传播依据. 粪-口途径是 *H pylori* 感染传播最可能的方式, 尽管大便中有大量的 *H pylori* 抗原, 但难以培养分离出活菌. 从流行病学角度, 粪-口途径可通过个人卫生习惯调查而反映, 一般认为良好的个人卫生习惯可减少 *H pylori* 感染^[26-27]. 本研究则显示, 喝生水、不使用洗涤剂、茶杯用后不洗刷、合用茶杯反而 *H pylori* 感染率下降, 饭前洗手、便后洗手、肥皂洗手也显示相似结果. 多因素 Logistic 回归分析也显示 *H pylori*

感染率与茶杯用后是否洗刷呈负相关。这些与其他研究结果相反^[26], 其原因难以解释, 值得进一步研究。猜测可能与该地区目前尚未知的地域因素或者大多数使用浅井水水源有关。

*H pylori*感染与饮食和饮食习惯也有关。多食水果蔬菜能减少*H pylori*感染引起的胃黏膜损伤, 但生食污染(粪便施肥)的水果蔬菜可能传播*H pylori*感染^[6], 本研究有关水果蔬菜的项目均未见与*H pylori*有关。令人惊奇的是本研究发现每日食用米饭次数与*H pylori*感染率呈正相关, 而食用土豆则呈负相关, 食用米饭与食用土豆对*H pylori*感染的影响结果正好相反, 查阅文献未见有相关报道, 这种*H pylori*感染的饮食差异是否是地区差异的原因有待进一步探讨。

一些文献报道*H pylori*感染与吸烟酒嗜好有关, 吸烟、饮酒与*H pylori*感染率呈负相关, 其原因被解释为适量的饮酒可消除*H pylori*^[28-29], 吸烟可提高胃酸分泌而减少*H pylori*感染^[30], 也有*H pylori*与吸烟、饮酒正相关的报道, 但大多数调查结果与本研究相似, 可见吸烟量、饮酒量与*H pylori*感染呈一定的负相关关系, 但无统计学差异^[26,31]。

*H pylori*感染与胃十二指肠疾病关系已明确, 但本研究*H pylori*与胃病诊断与胃镜钡餐检查无关, 与上消化道症状关系中, 恶心、呕吐、暖气与*H pylori*感染相关性具有统计学意义(排除近期抗生素使用外仍有显著性), 恶心、呕吐、暖气者反而*H pylori*感染率下降, 其原因可能胃病有症状病史者已得到过治疗, 从而使*H pylori*感染率反而下降。*H pylori*感染有家庭内聚集传播现象^[32], 有研究表明, 母亲是家庭中儿童*H pylori*感染之源^[33], *H pylori*阳性者其配偶的*H pylori*感染率为73.94%, *H pylori*阴性者其配偶感染为26.67%^[14]。本研究显示,*H pylori*感染与家庭胃病史有关, 有10岁以下孩子者的*H pylori*感染率稍高于没有10岁以下孩子者, 也说明了这一现象的存在, 同时也间接说明了*H pylori*感染与胃十二指肠疾病的关系。

总之, 本研究在胃癌高发区自然人群中进行了*H pylori*感染流行状况及危险因素的调查, 发现*H pylori*感染与家庭人数、教育程度及家庭经济收入有关, 并存在家庭聚集现象, 有一定经济基础(5000元/年以上), 受过一定教育(小学)的人易感染*H pylori*。卫生习惯、饮水、饮食与*H pylori*感染的关系有待进一步研究。

致谢: 本调查得到了扬州市第一人民医院、响

水县人民医院及当地政府的大力支持和协助, 在此一并表示感谢。

4 参考文献

- 1 Murakami K, Kodama M, Fujioka T. Latest insights into the effects of *Helicobacter pylori* infection on gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2713-2720
- 2 Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241
- 3 Hellstrom PM. This year's Nobel Prize to gastroenterology: Robin Warren and Barry Marshall awarded for their discovery of *Helicobacter pylori* as pathogen in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3126-3127
- 4 Kikuchi S, Dore MP. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 2005; 10 Suppl 1: 1-4
- 5 Magalhaes Queiroz DM, Luzzi F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006; 11 Suppl 1: 1-5
- 6 Herrera AG. *Helicobacter pylori* and food products: a public health problem. *Methods Mol Biol* 2004; 268: 297-301
- 7 Koch A, Krause TG, Krogfelt K, Olsen OR, Fischer TK, Melbye M. Seroprevalence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Greenlanders. *Helicobacter* 2005; 10: 433-442
- 8 Malaty HM, Nyren O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003; 8 Suppl 1: 8-12
- 9 Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2004; 9 Suppl 1: 1-6
- 10 Bures J, Kopacova M, Koupil I, Vorisek V, Rejchrt S, Beranek M, Seifert B, Pozler O, Zivny P, Douda T, Kolesarova M, Pinter M, Palicka V, Holcik J. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in the Czech Republic. *Helicobacter* 2006; 11: 56-65
- 11 武鸣, 胡晓抒, 赵金扣, 王培桦, 覃玉, 陆应昶. 江苏省部分地区90年代主要恶性肿瘤死亡变化. *中国肿瘤* 2003; 12: 378-380
- 12 Malcolm CA, MacKay WG, Shepherd A, Weaver LT. *Helicobacter pylori* in children is strongly associated with poverty. *Scott Med J* 2004; 49: 136-138
- 13 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春. 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1779-1780
- 14 王凯娟, 王润田. 中国幽门螺杆菌感染流行病学Meta分析. *中华流行病学杂志* 2003; 24: 443-447
- 15 Kato S, Nakajima S, Nishino Y, Ozawa K, Minoura T, Konno M, Maisawa S, Toyoda S, Yoshimura N, Vaid A, Genta RM. Association between gastric atrophy and *Helicobacter pylori* infection in Japanese children: a retrospective multicenter study. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 99-104
- 16 Cao X, Tsukamoto T, Nozaki K, Tanaka H, Shimizu N, Kaminishi M, Kumagai T, Tatematsu M. Earlier *Helicobacter pylori* infection increases the risk for the N-methyl-N-nitrosourea-induced stomach carcinogenesis in Mongolian gerbils. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 1293-1298
- 17 陈世耀, 刘天舒, 樊晓明, 董玲, 方国汀, 涂传涛, 顾秀

- 英, 王吉耀. 上海地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 中华医学杂志 2005; 85: 802-806
- 18 Aguemon BD, Struelens MJ, Massougbodji A, Ouendo EM. Prevalence and risk-factors for *Helicobacter pylori* infection in urban and rural Beninese populations. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 611-617
- 19 Ozen A, Ertem D, Pehlivanoglu E. Natural history and symptomatology of *Helicobacter pylori* in childhood and factors determining the epidemiology of infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42: 398-404
- 20 Bani-Hani KE, Shatnawi NJ, El Qaderi S, Khader YS, Bani-Hani BK. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in healthy schoolchildren. *Chin J Dig Dis* 2006; 7: 55-60
- 21 Ahmed KS, Khan AA, Ahmed I, Tiwari SK, Habeeb MA, Ali SM, Ahi JD, Abid Z, Alvi A, Hussain MA, Ahmed N, Habibullah CM. Prevalence study to elucidate the transmission pathways of *Helicobacter pylori* at oral and gastroduodenal sites of a South Indian population. *Singapore Med J* 2006; 47: 291-296
- 22 Nguyen BV, Nguyen KG, Phung CD, Kremp O, Kalach N, Dupont C, Raymond J, Vidal-Trecan G. Prevalence of and factors associated with *Helicobacter pylori* infection in children in the north of Vietnam. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74: 536-539
- 23 Rolfe-Kampczyk UE, Fritz GJ, Diez U, Lehmann I, Richter M, Herbarth O. Well water-one source of *Helicobacter pylori* colonization. *Int J Hyg Environ Health* 2004; 207: 363-368
- 24 Bellack NR, Koehoorn MW, MacNab YC, Morshed MG. A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiol Infect* 2006; 134: 439-449
- 25 Ashbolt NJ. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. *Toxicology* 2004; 198: 229-238
- 26 Brown LM, Thomas TL, Ma JL, Chang YS, You WC, Liu WD, Zhang L, Pee D, Gail MH. *Helicobacter pylori* infection in rural China: demographic, lifestyle and environmental factors. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 638-645
- 27 Moayyedi P, Axon AT, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Braunholtz D, Richards ID, Dowell AC, Forman D. Relation of adult lifestyle and socioeconomic factors to the prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 624-631
- 28 Kuepper-Nybelen J, Thefeld W, Rothenbacher D, Brenner H. Patterns of alcohol consumption and *Helicobacter pylori* infection: results of a population-based study from Germany among 6545 adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 57-64
- 29 Murray LJ, Lane AJ, Harvey IM, Donovan JL, Nair P, Harvey RF. Inverse relationship between alcohol consumption and active *Helicobacter pylori* infection: the Bristol *Helicobacter* project. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2750-2755
- 30 Ogihara A, Kikuchi S, Hasegawa A, Kurosawa M, Miki K, Kaneko E, Mizukoshi H. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and smoking and drinking habits. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 271-276
- 31 Shinchi K, Ishii H, Imanishi K, Kono S. Relationship of cigarette smoking, alcohol use, and dietary habits with *Helicobacter pylori* infection in Japanese men. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 651-655
- 32 卢启明, 曹萍, 姜瑞, 张岫兰, 张丽萍, 李淑兰, 陈翔, 石丽清, 董桂梅, 周彦萍, 薛群基. 胃癌高发区幽门螺杆菌的家庭感染. 世界华人消化杂志 2005; 13: 118-120
- 33 Weyermann M, Adler G, Brenner H, Rothenbacher D. The mother as source of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiology* 2006; 17: 332-334

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国学术期刊综合引证报告(2006)

本刊讯 根据《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》2005年6182种统计刊源析出的214万条中国期刊引文数据库及CNKI“中国期刊网”中心网站2005-01/12全文下载记录(1.5亿篇次)的大样本数据统计分析得到:世界华人消化杂志[标准刊号: ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R; 类目名称: 医药科学\临床科学\呼吸及消化系统疾病(YK5.2.3)]总被引频次为2471, 影响因子为0.661, 5年影响因子为0.644, 即年指标为0.079, 他引总引比为0.73, 被引期刊数为491, 被引半衰期为4.6, 2005载文量为768, 基金论文比为0.44, Web即年下载率为0.6. [中国学术期刊(光盘版)电子杂志社; 中国科学文献计量评价研究中心].

P-gp, Topo II 和GST- π 在胃癌组织中的表达及与预后的关系

关云艳, 欧希龙, 郭庆明, 颜芳

关云艳, 欧希龙, 颜芳, 东南大学临床医学院附属中大医院消化科 江苏省南京市 210009

郭庆明, 东南大学临床医学院附属中大医院病理科 江苏省南京市 210009

关云艳, 研究生, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

通讯作者: 欧希龙, 210009, 江苏省南京市, 东南大学临床医学院附属中大医院消化科. ouxilong@126.com

电话: 025-83272034

收稿日期: 2006-09-13 接受日期: 2006-10-18

Expression of P-glycoprotein, topoisomerase II and glutathione S-transferase π in gastric carcinoma and their correlations with clinical prognosis

Yun-Yan Guan, Xi-Long Ou, Qing-Ming Guo, Fang Yan

Yun-Yan Guan, Xi-Long Ou, Fang Yan, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital Affiliated to Clinical Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Qing-Ming Guo, Department of Pathology, Zhongda Hospital Affiliated to Clinical Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xi-Long Ou, Department of Gastroenterology, Zhongda Hospital Affiliated to Clinical Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. ouxilong@126.com

Received: 2006-09-13 Accepted: 2006-10-18

Abstract

AIM: To investigate the expression characteristics of P-glycoprotein (P-gp), topoisomerase II (Topo II) and glutathione S-transferase π (GST- π) in gastric carcinoma as well as their effects on the prognosis of patients.

METHODS: The expression of P-gp, Topo II and GST- π in 130 patients with gastric carcinoma were detected by immunohistochemistry and some patients were followed up for more than two years to analyze the relationship between the expression of P-gp, Topo II and GST- π and the clinical prognosis of patients.

RESULTS: The positive rate of P-gp, Topo II

and GST- π expression in gastric carcinoma were 23.85%, 80.77% and 75.38% respectively. The expression of P-gp and GST- π were associated with tumor size, and the positive rates of P-gp and GST- π in patients with tumor size more than 5 cm in diameter were significantly higher than those in ones with tumor size less than 5 cm in diameter ($\chi^2 = 4.56$, $P = 0.033$; $\chi^2 = 5.545$, $P = 0.020$). P-gp and GST- π expression were also correlated with the vessel invasion (invasion *vs* non-invasion: $\chi^2 = 17.69$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 5.40$, $P = 0.020$) and 2-year survival rate (++~+++ *vs* ~+; $\chi^2 = 3.964$, $P = 0.047$; $\chi^2 = 4.2576$, $P = 0.039$). The positive rate of P-gp expression was markedly higher in patients with lymph node metastasis than that in ones without metastasis ($\chi^2 = 5.84$, $P = 0.016$). The expression of Topo II was associated with the types and differentiations of histology. The positive rate of Topo II in patients with signet-ring cell carcinoma was obviously lower than that in ones with other kinds of carcinoma ($\chi^2 = 7.29$, $P = 0.007$), and it was apparently lower in lowly-differentiated carcinoma than that in highly- and moderately-differentiated ones ($\chi^2 = 7.79$, $P = 0.005$).

CONCLUSION: The expression of P-gp and GST- π can be regarded as prognostic factors in gastric carcinoma. Combined detection is necessary for evaluating the degree of drug resistance and prognosis of patients.

Key Words: Gastric carcinoma; Drug resistance; Immunohistochemistry; Prognosis; P-glycoprotein; Topoisomerase II; Glutathione S-transferase π

Guan YY, Ou XL, Guo QM, Yan F. Expression of P-glycoprotein, topoisomerase II and glutathione S-transferase π in gastric carcinoma and their correlations with clinical prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3371-3376

摘要

目的: 探讨胃癌患者中耐药基因P-糖蛋白(P-gp)、DNA拓扑异构酶II(Topo II)和谷胱甘

■背景资料

胃癌是严重危害国人健康和生命的恶性肿瘤。化疗是治疗该病的主要方法之一,但肿瘤细胞的多药耐药性的存在明显降低了化疗的效果。目前认为,在介导胃癌耐药的诸多基因及蛋白中,多药耐药基因(MDR-1)及其表达产物P-糖蛋白(P-gp)、拓扑异构酶II(Topo II)和谷胱甘肽-s-转移酶(GST- π)起主要作用。本文研究这3者的表达与临床病理及预后的关系。

■相关报道

国外研究显示, P-gp和CD44可通过相互作用促进了肿瘤细胞的迁移及侵袭能力, 有学者利用耐药癌细胞株研究时发现, 此两种蛋白有共免疫沉淀现象; 且将CD44s转染肿瘤细胞后可诱导MDR-1的表达, 并产生功能性的P-gp, 而利用RNA干扰抑制P-gp的表达则降低了细胞的迁移能力, 此点可能是P-gp影响预后的重要原因之一。

肽-S转移酶(GST- π)的表达特点及对预后的影响。

方法: 用免疫组化方法检测130例胃癌组织中的P-gp, Topo II及GST- π , 分析其与临床病理特征的关系, 并随访部分患者以研究其表达与预后的相关性。

结果: 在130例胃癌患者中, P-gp, Topo II和GST- π 表达的阳性率分别为24.62%, 81.54%和75.38%。这3种耐药基因中, P-gp和GST- π 与病变大小相关, 病变直径 >5 cm患者中, 其阳性率显著高于直径 <5 cm患者($\chi^2 = 4.56, P = 0.033$; $\chi^2 = 5.545, P = 0.020$), 有淋巴结转移患者P-gp的阳性表达率高于无淋巴结转移组($\chi^2 = 5.84, P = 0.016$), 有血管侵犯患者P-gp和GST- π 阳性表达率高于无血管侵犯患者($\chi^2 = 17.69, P < 0.001$; $\chi^2 = 5.40, P = 0.020$), P-gp和GST- π 表达为++~+++患者2 a生存率明显低于~+患者($\chi^2 = 3.964, P = 0.047$; $\chi^2 = 4.2576, P = 0.039$); Topo II的表达与病理类型及分化程度有关, 在印戒细胞癌中表达率低于其他类型($\chi^2 = 7.29, P = 0.007$), 且在低分化组中强阳性表达率明显低于中高分化组($\chi^2 = 7.79, P = 0.005$)。

结论: P-gp和GST- π 的表达不仅与胃癌的生物学行为有关, 同时也可作为判断胃癌患者预后的指标之一。耐药基因在胃癌中的表达程度及特点不同, 因而有必要对其进行联合检测以判断耐药及预后情况。

关键词: 胃癌; 多药耐药; 免疫组化; 预后; P-糖蛋白; 拓扑异构酶 II; 谷胱甘肽-S转移酶

关云艳, 欧希龙, 郭庆明, 颜芳. P-gp, Topo II和GST- π 在胃癌组织中的表达及与预后的关系. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3371-3376

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3371.asp>

0 引言

在我国, 胃癌是导致死亡人数最多的恶性肿瘤^[1]。对于此病的治疗, 化疗具有清除术后癌细胞的残留及防止复发的作用, 但目前应用的多种药物及多种方案的总体疗效并不理想, 原因在于癌细胞对某些药物具有内在耐药性。另外, 据美国癌症协会统计资料表明, 90%肿瘤患者的死亡不同程度地受到耐药的影响。可见, 肿瘤耐药已成为当今肿瘤治疗中亟待解决的问题。目前, 由于耐药基因在肿瘤组织的表达上研究结果不一致, 故应进一步行反复多样本的研究。为此, 我

们应用免疫组化方法检测了130例胃癌手术标本中的耐药基因的蛋白表达情况, 并分析了其与该肿瘤病理特征之间的关系及对预后的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 选自东南大学附属中大医院2001-04/2004-04期间进行手术的胃癌患者共130例, 均有完整的临床及病理资料, 所有患者术前均未行化疗或其他针对肿瘤的治疗。对部分患者进行了2 a以上的随访。由于临床分期、病理分化程度均对预后有较大的影响, 故为尽可能减少混杂偏倚, 在研究耐药基因蛋白表达情况与预后的关系时, 选择病理为低分化、临床分期为III、IV期的患者52例进行了随访, 这些患者术后根据检测结果选用以5-氟尿嘧啶(5-FU)为基础的联合化疗, 第一年为3个疗程, 第二年为两个疗程, 个体间的每一疗程及间隔时间相同, 如患者未死亡则持续2 a。总体患者中男101例, 女29例, 年龄32-85(平均56.22)岁; 病变直径 ≥ 5 cm者60例, <5 cm者70例; 根据TNM临床分期标准, I期20例, II期26例, III期81例, IV期3例; 有淋巴结转移的87例, 无转移的43例; 侵犯血管形成癌栓者42例, 未侵犯血管者88例, 病理类型显示, 乳头状腺癌和管状腺癌分别为53例、62例(其中低分化者59例), 黏液腺癌2例, 印戒细胞癌13例。随访的患者中男39例, 女13例, 年龄39-85(平均59.34)岁; 病变直径 ≥ 5 cm者32例, <5 cm者20例; 临床分期中III期50例, IV期2例; 有淋巴结转移的50例; 有癌栓者23例, 未侵犯血管者29例。

1.2 方法 所有标本经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 制成4 μ m的连续切片, P-gp, Topo II和GST- π 一抗试剂盒均购自福州迈新生物工程技术公司, 为即用型抗体。免疫组化步骤: 二甲苯脱蜡、梯度酒精至水, 30 mL/L双氧水灭活内源性过氧化酶, 磷酸盐缓冲液(PBS)振洗(采用专业微波炉进行抗原微波热修复), 正常山羊血清封闭, 一抗冰箱过夜, 二抗、三抗各1 h, DAB显色, 复染核、脱水、透明, 中性树胶封片。用PBS代替一抗作阴性对照, 已知结肠癌阳性片作阳性对照。结果判断在光学显微镜下观察, 以细胞结构中存在粗细一致的棕黄色颗粒为阳性, 其中P-gp阳性颗粒分布于细胞膜或同时在胞质和胞膜上表达(图1A); Topo II阳性颗粒分布于胞核(图1B); GST- π 阳性颗粒分布于胞质和/或胞核(图1C)。双盲法随机观察5个不同高倍视野, 各计数500个

细胞, P-gp 和 GST- π 判断标准如下: 根据染色的细胞数量及染色强度分为阴性(-), 无阳性细胞染色或阳性细胞数低于10%; 弱阳性(+), 阳性细胞在10%-25%之间; 中度阳性(++), 阳性细胞25%-75%; 强阳性(+++), 阳性细胞>75%. 这两种蛋白表达为中度阳性以上时提示存在耐药. Topo II 判断标准: 阳性细胞数<25%为 I 级; 阳性细胞数25%-50%为 II 级; 阳性细胞数50%-75%为 III 级; 阳性细胞数>75%为 IV 级. 此蛋白表达为 I 级时说明细胞有耐药性.

统计学处理 应用 SAS 8.2 统计软件对计数资料进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, 并用寿命表法统计术后生存率.

2 结果

2.1 胃癌 P-gp, Topo II 和 GST- π 的表达及与临床病理特点的关系 130 例胃癌手术标本中, P-gp 阳性 32 例 (24.62%); Topo II 阳性 106 例 (81.54%); GST- π 阳性 98 例 (75.38%). P-gp 的表达与病变大小、淋巴结转移及血管侵犯有关, 其阳性表达率在病变直径 ≥ 5 cm 组中高于直径 < 5 cm 组 ($\chi^2 = 4.56$, $P = 0.033$); 有淋巴结转移的阳性表达率高于无淋巴结转移组 ($\chi^2 = 5.84$, $P = 0.016$); 在有血管侵犯组中高于无血管侵犯组 ($\chi^2 = 17.69$, $P < 0.001$); 而与性别、组织分型、分化程度及 TNM 分期无关. Topo II 的表达与病理类型及分化程度有关, 在印戒细胞癌中表达率低于其他类型 ($\chi^2 = 7.29$, $P = 0.007$); 且在低分化组中强阳性表达率明显低于中高分化组 ($\chi^2 = 7.79$, $P = 0.005$). GST- π 的表达与病变大小、血管侵犯相关, 病变直径 ≥ 5 cm 的中度及强阳性表达率明显高于直径 < 5 cm 组 ($\chi^2 = 5.45$, $P = 0.020$); 同样, 有血管侵犯的阳性率也明显高于无血管侵犯组 ($\chi^2 = 5.40$, $P = 0.020$); 其与性别、组织分型、分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期无关 (表 1).

2.2 P-gp, Topo II 和 GST- π 的表达对预后的影响 随访患者 52 例, 其中 2 例失访, 总的 2 a 生存率为 56.97%. P-gp 和 GST- π 的阳性表达 ++~+++ 时为耐药组, 其术后 2 a 生存率低于非耐药组 (前者 $\chi^2 = 3.964$, $P = 0.047$; 后者 $\chi^2 = 4.2576$, $P = 0.039$). Topo II 表达呈 I 级时为耐药组, II-IV 级为非耐药组, 胃癌术后生存率在这两组中的差别无统计学意义 (表 2).

3 讨论

肿瘤的多药耐药 (MDR) 可涉及到临床常用的多

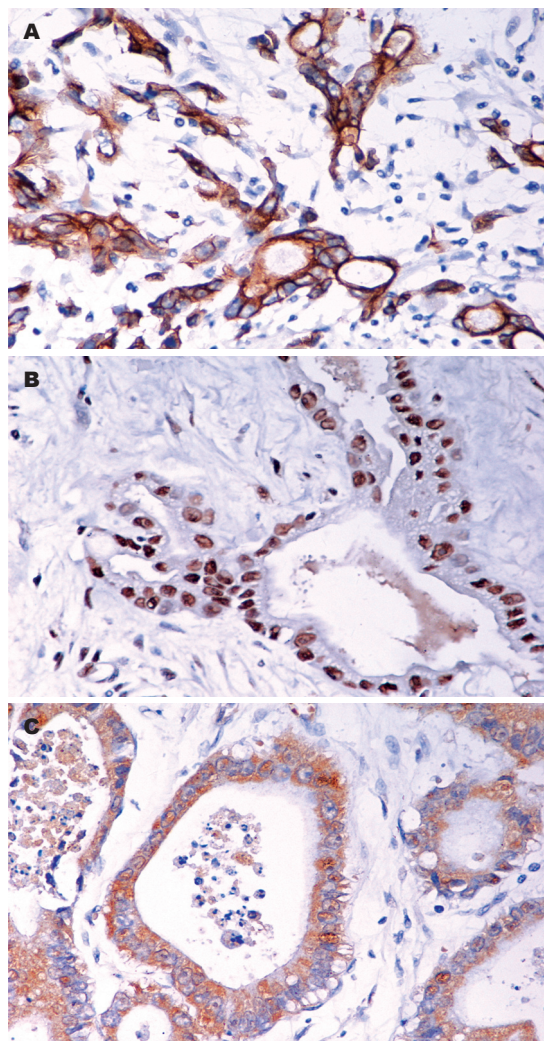


图 1 P-gp, Topo II 及 GST- π 在胃癌组织中的表达 (SP $\times 400$). A: P-gp; B: Topo II; C: GST- π .

种抗肿瘤药物, 是肿瘤成功化疗的严重障碍之一, 因而有关这方面的研究越来越受到重视. 近年来已发现多种耐药相关基因及蛋白, 但研究较多的是多药耐药基因 (MDR-1) 及其表达产物 P-糖蛋白 (P-gp)、拓扑异构酶 II (Topo II) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (GST- π).

P-gp 是 MDR-1 基因的蛋白产物, 该蛋白在细胞膜上可形成单一药物通道, 具有“药泵”功能, 当药物进入细胞后, P-gp 结合药物分子, 同时其 ATP 结合位点结合并水解 ATP 释放能量, 使细胞内药物主动转运至细胞外, 也可使药物在细胞内重分布^[2], 此外还可抑制 FAS (CD95) 诱导的 Caspase-3 和 Caspase-8 的激活而抑制细胞的凋亡^[3], 导致细胞产生耐药. 通常 P-gp 在结肠癌、肾细胞癌、肾上腺癌中化疗前即有高水平表达, 而在其他肿瘤中常在产生获得性耐药时有较高表达^[4]. 王翠莲 *et al*^[5] 认为, P-gp 在未化疗的胃癌

■ 创新盘点

本文重点报道了介导胃癌耐药机制中的 3 种蛋白的表达特征与术后生存率之间的关系, 并结合文献重点分析了这些耐药基因对预后产生影响的一些可能原因.

■应用要点

P-gp, Topo II, GST- π 3者介导耐药的机制不同, 并且在胃癌的表达特征不同, 因而联合检测除了为临床选择化疗方案提供基础资料外, 还有助于综合判断病情以及正确评估预后情况。

表 1 P-gp, Topo II 和GST- π 的表达与临床病理特征的关系

分组	P-gp				P值	Topo II				P值	GST- π				P值
	-	+	++	+++		I级	II级	III级	IV级		-	+	++	+++	
性别					$P>0.05$					$P>0.05$					$P>0.05$
男	79	7	9	6		18	29	28	26		25	13	25	38	
女	19	4	4	2		6	8	5	10		7	4	6	12	
病变直径					$P<0.05$					$P>0.05$					$P<0.05$
≥ 5 cm	40	6	9	5		9	14	18	19		10	6	17	27	
< 5 cm	58	5	4	3		15	23	15	17		22	11	14	23	
组织分型					$P>0.05$					$P<0.05$					$P>0.05$
管状腺癌	47	6	7	2		7	15	18	22		10	12	16	24	
乳头状腺癌	37	5	6	5		10	19	12	12		16	5	12	20	
印戒细胞癌	12	0	0	1		6	2	3	2		5	0	2	6	
分化程度					$P>0.05$					$P<0.05$					$P>0.05$
低	48	7	8	6		16	23	18	12		18	6	18	27	
中或高	50	4	5	2		8	14	15	24		14	11	13	23	
淋巴结转移					$P<0.05$					$P>0.05$					$P>0.05$
有	60	8	12	7		16	25	24	22		23	8	19	37	
无	38	3	1	1		8	12	9	14		9	9	12	13	
侵犯血管					$P<0.05$					$P>0.05$					$P<0.05$
有	22	4	12	4		7	12	13	10		5	4	13	20	
无	76	7	1	4		17	25	20	26		27	13	18	30	
TNM分期					$P>0.05$					$P>0.05$					$P>0.05$
I, II	37	5	3	1		9	13	10	14		10	11	12	13	
III, IV	61	6	10	7		15	24	23	22		22	6	19	37	

中表达较高, 达56.00%, 其阳性判断标准是该蛋白在胞质的表达。而研究认为, P-gp单纯在胞质的表达并不影响细胞对药物的敏感性^[6], 所以, 本组实验的阳性判断标准为该蛋白在细胞膜上或同时在胞质的表达, 结果显示, 该蛋白在胃癌中表达率低(23.85%), 但其表达与病变大小、淋巴结转移、血管侵犯呈正相关。在P-gp与预后的关系上, Sagol *et al*^[7]检测了P-gp在胰腺癌中的表达, 认为该蛋白的表达不影响生存率及中位生存期。而Kato *et al*^[8]研究结果正相反。我们的结果显示中、强度阳性表达者2 a生存率明显下降, 与后者一致。考虑原因之一可能在于P-gp可抑制细胞凋亡, 而细胞凋亡的减少在肿瘤的发生、生长过程中起重要作用^[9-11]。此外, 以往认为该蛋白可使细胞对多种脂溶性药物包括生物碱类、蒽环类及鬼臼类产生不同程度的耐药, 近来Takechi *et al*^[12]利用mRNA差异展示分析了对5-FU耐药的胃癌细胞株的多种基因表达情况, 显示MDR-1表达明显升高。谭晖 *et al*^[13]证实P-gp蛋白的高表达阻碍了5-FU诱导的细胞凋亡, 说明P-gp也可介导肿瘤细胞对5-FU的耐药, 降低了肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 从而导致术

后生存率的下降。其二是P-gp在向细胞外泵出物质时会引起肿瘤细胞膜边缘的波动, 提高肿瘤细胞的游走、着床能力^[14], 后来该研究人员又证实高表达P-gp的多药耐药细胞中, 基质金属蛋白酶包括MMP-1, MMP-2和MMP-9的数量和活性均明显增加^[15], 而且P-gp表达的同时又可增加CD44的表达^[16], 这些因素共同作用促进了肿瘤细胞的侵袭能力, 从而使肿瘤易于转移和复发。

Topo II 是一种能调节核酸空间结构动态变化, 控制核酸生理功能的关键酶, 参与基因重组、转录和DNA修复等。如该酶数量减少或活性降低可导致以其为靶点的药物诱导的DNA稳定断裂复合物形成减少, 因而与多种肿瘤的多药耐药关系密切。Topo II mRNA的表达与细胞增殖周期中的S期具有显著相关性^[17-19]。以Topo II 为靶点的药物包括喜树碱、蒽环类及鬼臼毒素类^[20]。我们的检测结果显示, Topo II 阳性率为(80.77%), 而且其表达与病理分型及组织分化程度有关, 在印戒细胞癌中表达率低, 在低分化组明显低于中、高分化组。但与预后无明显相关, 这与报道Topo II 的表达可降低患者的无瘤生存率^[21]不一致, 原因可能与肿瘤异质性有关, 也可

表 2 P-gp, Topo II 和GST- π 的表达与预后的关系

类别	<i>n</i>	第1年内 失访例数	第1年内 死亡例数	第2年内 失访例数	第2年内 死亡例数	2 a累积 生存率(%)	<i>P</i> 值
P-gp							<i>P</i> <0.05
--~+	38	1	4	1	8	64.98	
++~++++	14	0	4	0	5	35.71	
Topo II							<i>P</i> >0.05
I 级	11	0	1	0	2	72.72	
II ~IV 级	41	1	7	1	11	52.64	
GST- π							<i>P</i> <0.05
--~+	16	0	2	1	1	77.78	
++~++++	36	1	6	0	12	47.89	

能是由于本次观察预后的样本较少所致. 但也有研究认为, Topo II 不能作为肿瘤患者预后的指标^[22], 至于两者有无确切关系还有待进一步研究.

GST- π 在细胞的解毒功能上起重要作用, 他可催化亲电物质与谷胱甘肽结合, 其本身又可与亲脂性细胞毒药物结合增加其水溶性、促进其代谢, 另外还可促进DNA的修复, 从而使细胞产生耐药. Suganuma *et al*^[23]利用cDNA微阵技术进一步证实了该基因参与介导了胃癌的多药耐药, 此种耐药细胞对顺铂、环磷酰胺、氮芥、甲氨喋呤、喜树碱、苯丁酸氮芥、阿霉素等药物疗效不佳^[24-25]. 另外, Suzuki *et al*^[26]通过研究结肠癌细胞内与MMC激活或失活有关的基因及生化特征的改变, 发现GST- π 也参与了MMC的灭活作用. Zhu *et al*^[27]报道在食道癌及癌前病变中GST- π 的表达明显增高, 且随着不典型增生程度的递进而增加. 但也有学者利用RT-PCR检测大肠癌患者外周血GST- π mRNA表达, 虽阳性率较其他各组高, 但没有明显差别. 认为尚不能作为肿瘤早期诊断的依据^[28]. 尽管如此, 一些研究证实, GST- π 与肿瘤的进展及患者的预后有关^[29-30]. 本次检测结果显示, GST- π 阳性率为75.38%, 其表达与病变大小、血管侵犯呈正相关, 且中、强度表达阳性的患者预后差. 分析原因考虑为GST- π 在某些环境压力情况下可激活转录因子c-Jun, 后者为激活蛋白-1(AP-1)的一个组分, 而GST- π 以及与细胞增殖、分化相关基因的启动子中均含有AP-1结合位点^[31], 因而在新合成GST- π 单体的同时可上调基质金属蛋白酶的表^[32], 而后的增加则有利于促进肿瘤的侵袭力, 从而促进了疾病的进展并降低了术后生存时间.

总之, P-gp, Topo II 和GST- π 3者引起的耐药机制各不相同, 本实验结果也进一步证实了这3种耐药基因在胃癌的表达与其生物学特征具有相关性. 在本次随访病例的选择上, 基本去除了对预后有较大影响的因素, 术后采用以5-FU为基础的个体化的联合化疗方案, 因5-FU对胃癌的疗效已为人们所共识, 且陈亚军 *et al*^[33]以MTT法体外测定胃癌对十余种化疗药物敏感性, 结果也进一步证实此种药物体外敏感率高. P-gp和GST- π 的中、强度阳性表达之所以降低生存率, 除文中分析的一些原因外可能还存在其他机制, 有待进一步研究. 由于3者在胃癌的表达特征不同, 故需联合检测有助于综合判断病情、合理选择用药以及正确评估预后情况.

4 参考文献

- 1 李诚, 周健, 袁炯良. 胃癌流行病学与分子生物学病因的研究进展. 肿瘤防治研究 2004; 31:115-118
- 2 Arancia G, Molinari A, Calcabrini A, Meschini S, Cianfriglia M. Intracellular P-glycoprotein in multidrug resistant tumor cells. *Ital J Anat Embryol* 2001; 106: 59-68
- 3 Ruefli AA, Tainton KM, Darcy PK, Smyth MJ, Johnstone RW. P-glycoprotein inhibits caspase-8 activation but not formation of the death inducing signal complex (disc) following Fas ligation. *Cell Death Differ* 2002; 9: 1266-1272
- 4 Tsuruo T, Naito M, Tomida A, Fujita N, Mashima T, Sakamoto H, Haga N. Molecular targeting therapy of cancer: drug resistance, apoptosis and survival signal. *Cancer Sci* 2003; 94: 15-21
- 5 王翠莲, 李建红, 刘玉, 李慧芳, 陈广斌, 崔猛生, 乔培堂. 多药耐药基因与P53在胃癌组织中表达关系及意义. 长治医学院学报 2003; 17: 90-91
- 6 樊代明. 肿瘤研究前沿(第1卷). 第1版. 西安: 西安交通大学出版社 2001: 284-299
- 7 Sagol O, Yavuzsen T, Oztup I, Ulukus C, Yilmaz U, Alakavuklar M, Karademir S, Obuz F, Astaroglu H, Astaroglu I. The effect of apoptotic activity, survivin, Ki-67, and P-glycoprotein expression on prognosis in pancreatic carcinoma. *Pancreas* 2005;

■名词解释

肿瘤的多药耐药(MDR): 是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物耐药的同时对其他结构和作用机制不同的抗肿瘤药物也产生了耐药性.

■同行评价

本文研究了耐药基因在胃癌组织中的表达及其与胃癌病理学科特征和预后的关系,科学性与可读性高,提供了有意义的信息。

- 30: 343-348
- 8 Kato A, Miyazaki M, Ambiru S, Yoshitomi H, Ito H, Nakagawa K, Shimizu H, Yokosuka O, Nakajima N. Multidrug resistance gene (MDR-1) expression as a useful prognostic factor in patients with human hepatocellular carcinoma after surgical resection. *J Surg Oncol* 2001; 78: 110-115
- 9 Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 403-406
- 10 Schmitt CA. Senescence, apoptosis and therapy-cutting the lifelines of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 286-295
- 11 Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 231-237
- 12 Takechi T, Koizumi K, Tsujimoto H, Fukushima M. Screening of differentially expressed genes in 5-fluorouracil-resistant human gastrointestinal tumor cells. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 696-703
- 13 谭晖, 李琴, 张志伟, 周秀田, 曾希, 曹建国. 5-Fu抗结肠癌作用与细胞凋亡及P-gp蛋白表达的关系. *南华大学学报(医学版)* 2005; 33: 311-313, 370
- 14 Yang JM, Vassil A, Hait WN. Involvement of phosphatidylinositol-3-kinase in membrane ruffling induced by P-glycoprotein substrates in multidrug-resistant carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2002; 63: 959-966
- 15 Yang JM, Xu Z, Wu H, Zhu H, Wu X, Hait WN. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multidrug resistant cancer cells. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 420-427
- 16 Miletti-Gonzalez KE, Chen S, Muthukumaran N, Saglimbeni GN, Wu X, Yang J, Apolito K, Shih WJ, Hait WN, Rodriguez-Rodriguez L. The CD44 receptor interacts with P-glycoprotein to promote cell migration and invasion in cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 6660-6667
- 17 Gupta D, Shidham V, Holden J, Layfield L. Prognostic value of immunohistochemical expression of topoisomerase alpha II, MIB-1, p53, E-cadherin, retinoblastoma gene protein product, and HER-2/neu in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8: 267-274
- 18 Costa MJ, Hansen CL, Holden JA, Guinee D Jr. Topoisomerase II alpha: prognostic predictor and cell cycle marker in surface epithelial neoplasms of the ovary and peritoneum. *Int J Gynecol Pathol* 2000; 19: 248-257
- 19 Park SH, Suh YL. Expression of cyclin A and topoisomerase IIalpha of oligodendrogliomas is correlated with tumour grade, MIB-1 labelling index and survival. *Histopathology* 2003; 42: 395-402
- 20 Topcu Z. DNA topoisomerases as targets for anticancer drugs. *J Clin Pharm Ther* 2001; 26: 405-416
- 21 Korkolopoulou P, Patsouris E, Konstantinidou AE, Christodoulou P, Thomas-Tsagli E, Kouzelis K, Angelidakis D, Rologis D, Davaris P. Mitosin and DNA topoisomerase IIalpha: two novel proliferation markers in the prognostication of diffuse astrocytoma patient survival. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9: 207-214
- 22 张青俊, 张凡, 徐国刚, 尚小颖, 张九龄. 72例喉癌患者耐药基因与临床预后关系的初步探讨. *河北北方学院学报(医学版)* 2006; 23: 20-24
- 23 Suganuma K, Kubota T, Saikawa Y, Abe S, Otani Y, Furukawa T, Kumai K, Hasegawa H, Watanabe M, Kitajima M, Nakayama H, Okabe H. Possible chemoresistance-related genes for gastric cancer detected by cDNA microarray. *Cancer Sci* 2003; 94: 355-359
- 24 Goto S, Kamada K, Soh Y, Ihara Y, Kondo T. Significance of nuclear glutathione S-transferase pi in resistance to anti-cancer drugs. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 1047-1056
- 25 Balendiran GK, Dabur R, Fraser D. The role of glutathione in cancer. *Cell Biochem Funct* 2004; 22: 343-352
- 26 Suzuki K, Yamamoto W, Park JS, Hanaoka H, Okamoto R, Kirihaara Y, Yorishima T, Okamura T, Kumazaki T, Nishiyama M. Regulatory network of mitomycin C action in human colon cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 571-577
- 27 Zhu X, Zhang SH, Zhang KH, Li BM, Chen J. Value of endoscopic methylene blue and Lugol's iodine double staining and detection of GST-Pi and telomerase in the early diagnosis of esophageal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6090-6095
- 28 杜雅菊, 刘晓璐, 金英敏, 曲波, 李宝杰. RT-PCR寻找大肠癌患者外周血早期分子标记物的研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 280-286
- 29 Jayasurya A, Yap WM, Tan NG, Tan BK, Bay BH. Glutathione S-transferase pi expression in nasopharyngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1396-1399
- 30 Stoecklacher J, Park DJ, Zhang W, Groshen S, Tsao-Wei DD, Yu MC, Lenz HJ. Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 936-942
- 31 Wilhelm D, Bender K, Knebel A, Angel P. The level of intracellular glutathione is a key regulator for the induction of stress-activated signal transduction pathways including Jun N-terminal protein kinases and p38 kinase by alkylating agents. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 4792-4800
- 32 Reunanen N, Westermarck J, Hakkinen L, Holmstrom TH, Elo I, Eriksson JE, Kahari VM. Enhancement of fibroblast collagenase (matrix metalloproteinase-1) gene expression by ceramide is mediated by extracellular signal-regulated and stress-activated protein kinase pathways. *J Biol Chem* 1998; 273: 5137-5145
- 33 陈亚军, 叶古祥, 孙国娣. MTT法体外测定胃癌化疗药物敏感性. *中国普通外科杂志* 2003; 12: 47-49

电编 张敏 编辑 王晓瑜

高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效及其影响因素

薛净, 沙卫红, 聂玉强, 李瑜元, 张亚历, 周殿元

薛净, 北京武警医院 北京市 100039
沙卫红, 聂玉强, 李瑜元, 广州医学院附属第一人民医院消化内科 广东省广州市 510180
张亚历, 周殿元, 广州市南方医院消化病研究所 广东省广州市 510515
薛净, 博士后, 主要从事消化系统疾病的基础与临床研究.
通讯作者: 张亚历, 510515, 广东省广州市, 南方医院消化病研究所. zhangyl@fimmu.com
收稿日期: 2006-09-28 接受日期: 2006-10-11

Efficacy of high intensity focused ultrasound in treatment of hepatocellular carcinoma and its influential factors

Jing Xue, Wei-Hong Sha, Yu-Qiang Nie, Yu-Yuan Li, Ya-Li Zhang, Dian-Yuan Zhou

Jing Xue, Beijing Hospital of Chinese PLA Armed Forces, Beijing 100039, China
Wei-Hong Sha, Yu-Qiang Nie, Yu-Yuan Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated People Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510180, Guangdong Province, China
Ya-Li Zhang, Dian-Yuan Zhou, Institute of Gastroenterology, Nanfang Hospital, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Correspondence to: Ya-Li Zhang, Institute of Gastroenterology, Nanfang Hospital, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. zhangyl@fimmu.com
Received: 2006-09-28 Accepted: 2006-10-11

Abstract

AIM: To observe the efficacy of high intensity focused ultrasound (HIFU) in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) and investigate the prognostic factors affecting the overall survival.

METHODS: A total of 104 patients with HCC were treated with HIFU and the efficacy was evaluated by the following indexes: tumor size, number, metastasis, alpha fetoprotein (AFP) levels before and after HIFU treatment, hepatic function before HIFU treatment, Child Pugh classifications, TNM stages and variations in color Doppler sonography.

RESULTS: After HIFU treatment, the remission rates for clinical symptoms and liver function

were 83.2% (80/104) and 82.7% (86/104), respectively, and the patients with AFP decreased by more than 50% covered a percentage of 62.5% (65/104). After HIFU, color Doppler sonography manifested coagulative necrosis and tumor blood supply reduction or disappearance in the target region. The survival rates of patients were 59.5% (3-6 mo), 38.7% (12 mo) and 25.6% (24 mo). The therapeutic effects of HIFU were correlated with AFP levels, TNM stages and treatment combined with transcatheter arterial chemoembolization and metastasis before treatment.

CONCLUSION: HIFU is effective and feasible in the treatment of HCC, and its efficacy is associated with the pretherapeutic AFP levels, TNM stages and treatment combined with transcatheter arterial chemoembolization and metastasis.

Key Words: High intensity focused ultrasound; Hepatocellular carcinoma; TNM stage; Alpha fetoprotein; Transcatheter arterial chemoembolization; Efficacy

Xue J, Sha WH, Nie YQ, Li YY, Zhang YL, Zhou DY. Efficacy of high intensity focused ultrasound in treatment of hepatocellular carcinoma and its influential factors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3377-3381

摘要

目的: 观察原发性肝癌(HCC)经高强度聚焦超声(HIFU)治疗后临床效果并探讨其影响因素。

方法: 通过对2001-04/2002-12经HIFU治疗的104例原发性肝癌患者肿瘤大小, 数目, 是否转移, HIFU前后AFP, HIFU前肝功能, Child Pugh分级和TNM分期及彩色多普勒超声检查等指标观察HIFU治疗效果。

结果: 104例原发性肝细胞癌治疗后HCC患者临床症状缓解率为83.2%(80/104), 肝功能好转者占82.7%(86/104), AFP降低超过原数值50%者占62.5%(65/104), 彩色多普勒超声检查癌灶灰阶明显增加或减弱, 癌灶内血液供应减少或消失。HIFU治疗后生存期3-6 mo占59.5%, 12 mo占38.7%, 24 mo占25.6%。HIFU治疗效

■背景资料

由于肝癌细胞一般对放、化疗不敏感, 手术切除目前仍是肝细胞癌(HCC)的首选治疗方法。然而, 临床上往往一经发现大多数为已无法进行手术切除, 高强度聚焦超声(HIFU)是近年才开始应用于临床的无创治疗实体肿瘤的新技术, HIFU治疗原发性肝癌的疗效已被大量临床应用所证实, 但关于治疗后效果的评价及其影响因素的报道较少。

■同行评价

本文探讨了高强度聚焦超声治疗原发性肝癌的疗效及其影响因素,有一定参考价值。

果与治疗前AFP, TNM分期, 治疗前是否联合TACE治疗, 治疗前是否有转移等因素有关。

结论: HIFU治疗HCC是有效和可行的, 其疗效与治疗前AFP, TNM分期, 治疗前是否联合TACE治疗, 治疗前是否有转移等因素有关。

关键词: 高强度聚焦超声; 肝细胞癌; TNM分期; 甲胎蛋白; 肝动脉化疗栓塞术; 疗效

薛净, 沙卫红, 聂玉强, 李瑜元, 张亚历, 周殿元. 高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效及其影响因素. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3377-3381

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3377.asp>

0 引言

肝细胞癌是我国常见的恶性肿瘤之一^[1], 消化道肿瘤肝转移亦多见. 由于肝癌细胞一般对放、化疗不敏感, 手术治疗为首选的方法^[2]. 但是, 对于中晚期肝癌, 特别是伴有肝硬化、肝功能不全的患者, 以及肿瘤靠近门静脉、肝动脉和多发性、转移性肝癌患者, 手术切除非常困难; 早期肝癌伴有肝硬化肝功能失代偿时, 也属手术禁忌证^[3]. 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近年来兴起的局部消融(ablation)治疗肿瘤的方法, 其利用超声波方向性和聚焦性好的特点, 将体外低能量的低频超声聚焦于体内某个靶区, 利用超声波的生物效应, 使靶区的焦点温度瞬间达到65-100℃, 使靶区组织产生凝固性坏死, 从而达到局部消融肿瘤的目的. HIFU治疗原发性肝癌的疗效已被大量临床应用所证实^[4-6], 但关于治疗后效果的评价及其影响因素的报道较少. 本研究应用临床资料探讨HCC经HIFU治疗后临床效果及其影响因素。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-04/2002-12接受HIFU治疗的原发性肝癌患者104例, 全部按卫生部肝癌诊治规范^[7], 经影像学(超声加CT或MR), 实验室检查(AFP, CEA, CA199等)诊断, 有23例经肝活检病理组织学所证实. 其中HCC 89例, 转移性肝癌15例. 男86例, 女18例, 年龄31-67(平均49岁). 患者肿瘤病灶直径为2.6-15.5 cm不等. 多数患者伴有肝内多发病灶部分伴门静脉癌栓或肝内或全身转移. 其中20例(19.2%) HIFU治疗前曾行经皮肝动脉栓塞化疗(TACE)治疗(指HIFU前6 mo和/或HIFU后1 mo内TACE). 所有患者均自愿接受

表 1 HIFU治疗前后AFP值的改变 (n)

分组	≤25 μg/L	25-400 μg/L	>400 μg/L	肿块直径 (cm)
治疗前	18 ^a	27	59 ^b	8.22 ± 2.30
治疗后	26	46 ^b	32 ^b	5.37 ± 0.9 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 治疗后.

HIFU治疗. HIFU治疗前89例AFP阳性, 其中≥200-500, ≥1000 μg/L分别为64和25例. 肝功能Child Pugh分级A, B, C级分别为83, 16和5例. 按TNM分期^[8], II b期8例、III期49例、IV期47例. 对肝内残留复发肿瘤, 若患者病情许可, 1 mo后进行再次行HIFU治疗.

1.2 方法 患者经临床体格检查及影像学检查确定病灶位置、大小、形态和与邻近器官、血管、胆管的关系. 根据上述资料确定治疗方案^[9]. 采用重庆医科大学超声研究所提供海扶HIFU肿瘤JC-1型治疗系统. 全麻下按病灶位置调整体位, 多用俯卧位. 最少者1次, 最多者3次. 治疗参数: 频率0.8 MHz, 焦距135-160 mm, 声功率160-230 W. 在B超定位和监测下治疗, 先深后浅, 部分患者治疗次数为2-3次. 筛选可能对HIFU治疗效果产生影响的临床因素包括: 性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤数目、是否转移、HIFU前后AFP、HIFU前肝功能、Child Pugh分级、TNM分期、联合应用TACE、复发等.

统计学处理 应用SPSS 10.0统计软件, 经对数转换后以均数±标准差表示. 采用两样本t检验分析两组间数据差异.

2 结果

2.1 HIFU治疗后HCC患者临床改变 104例肝癌患者治疗前有98例均有不同程度的临床症状, 经过HIFU治疗后症状有明显的改善: 乏力改善, 食欲增加, 体质量有所增加, 肿区不适、疼痛有所缓解, 临床症状缓解率为83.2%(80/104), 肝功能好转者占82.7%(86/104), AFP升高的患者经HIFU治疗后降低超过原数值50%者占62.5%(65/104), HIFU治疗的近期疗效见表1.

2.2 HIFU治疗时B型超声声像图的变化 经HIFU治疗时, 其超声声像图有明显的变化, 主要为治疗靶区回声增强, 治疗时灰度增强后, 等待5-10 min, 灰度会减弱, 但治疗区域回声光点变得细小而均匀. 随治疗时间的延长, 治疗时皮

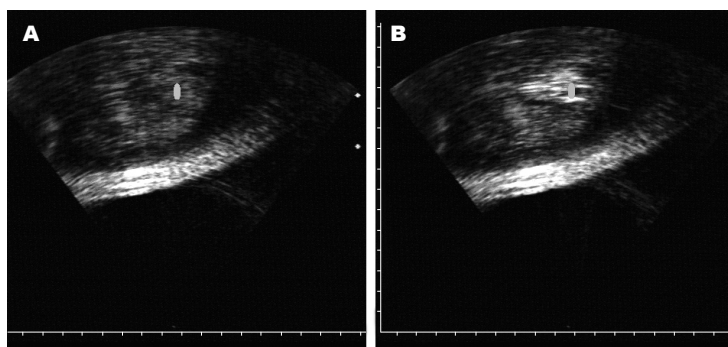


图 1 HIFU治疗时B型超声声像图。
A: 治疗时; B: 治疗中的直线扫描, 其超声声像图的变化, 治疗靶区回声增强, 治疗时靶区癌灶灰度明(箭头)。

肤的水肿情况加重, 靶区超声灰度会减弱。分析其主要原因可能与肿瘤血供是否丰富、治疗时间、治疗区域等有关。HIFU治疗后靶区肿瘤呈高回声改变, 边界不清, 组织灰阶增加。2 wk后肿瘤中心区回声减弱, 边缘回声增强, 癌灶血流减少或消失, 病灶明显缩小(图1)。

2.3 HIFU治疗前后ALT的改变 104例原发性肝细胞HIFU治疗后的效果于治疗前AFP、肿瘤的大小、TNM分期、治疗前是否联合TACE治疗、治疗前是否有转移等因素有关。肝功能异常的患者行HIFU治疗3 d后复查肝功能稍有增高, 但与HIFU治疗前比较差异无显著意义, 其均数±标准差为ALT(1339.1 ± 586.6) nkat/L, AST(1823.0 ± 700.8) nkat/L, 其生存期3-6, 12, 24 mo分别为59.5%, 38.7%, 25.6%。

2.4 HIFU治疗前后肿瘤大小、Child Pugh分级、TNM分期、联合应用TACE、复发按规范化方案治疗的变化 治疗前肿瘤大小直径为2.6-15.5 cm不等, 平均随访11.9 mo, 影响局部复发的因素分析发现肿瘤大小是影响疗效最显著的因素($P < 0.01$)。治疗前后Child Pugh积分分别为 9.06 ± 1.43 , 7.13 ± 3.22 , 5.00 ± 5.44 , 7.65 ± 4.09 , 两组比较差异显著($P < 0.01$); TNM分期, IIb期8例、III期49例、IV期47例, 组间比较差异显著($P < 0.01$)。术前联合应用TACE, 复发在生存率分析中均为危险度最高的影响因素(表2-3)。

3 讨论

由于肝癌细胞一般对放、化疗不敏感, 手术切除目前仍是肝细胞癌(HCC)的首选治疗方法。然而, 临床上往往一经发现大多数为已无法进行手术切除^[10], 仅有10%-20%的HCC患者可以接受手术治疗。综合治疗包括局部治疗和全身治疗。局部治疗主要有TAE、PEI、冷冻、激光、射频和微波等^[11-12], 与上述方法相比, HIFU是一种非侵入性的体外适形治疗肿瘤的新技术。国

表 2 104例原发性肝癌经HIFU治疗生存期单因素分析

	Sig.	Exp(B)	95.0%CI	
			Lower	Upper
肿瘤大小	0.027	25.135	0.192	41.682
肿瘤数目	0.361	29.960	0.206	75.959
术前AFP	0.723	0.000	0.000	0.000
Child(Π)	0.334	0.046	0.000	23.982
TNM分期	0.020	11.132	0.000	34.063
性别	0.554	0.480	0.042	5.437
年龄	0.981	1.001	0.913	1.097
联合TACE	0.001	0.000	0.000	0.042
复发	0.024	0.263	0.019	3.601
是否转移	0.014	21.604	1.083	430.874

内外大量的动物实验和临床应用HIFU技术治疗多种恶性实体肿瘤亦显示HIFU治疗肝癌的安全有效^[13]。因HIFU技术有可视性、软组织穿透性和聚焦性等物理特点, 可掌握治疗范围, 随肿瘤复发转移重复治疗等优点, 现已越来越受到临床重视。

HIFU是近年才开始应用于临床的无创治疗实体肿瘤的新技术。将体外低能量超声聚焦在体内肿瘤病灶处, 使焦点处瞬态产生高温, 从而使组织发生凝固性坏死^[14]或有效的破坏瘤区血管, 包括动脉、静脉及瘤区微血管。他可随肿瘤复发转移多次治疗等优点而受到临床重视^[15]。由于HIFU应用于临床的时间远远少于外科和TACE等传统治疗方法, 大样本和长期随访的病例报道较少, 有关治疗影响因素分析的研究更少。本文对我院过去3 a内进行HIFU治疗的104例HCC进行治疗影响因素分析, 并对治疗后生存期进行探讨, 以阐述HIFU治疗原发性肝癌的效果和影响因素。

本组资料分析104例原发性肝细胞经HIFU治疗后患者临床症状较治疗前减轻、血清AFP

表 3 生存影响因素多因素Logistic分析

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0%CI for EXP (B)	
							Lower	Upper
肿瘤大小	0.496	0.993	27.89	1	0.056	0.032	0.015	0.075
TNM分期	-2.823	0.825	11.697	1	0.001	0.059	0.012	0.300
联合ACE	-5.441	1.508	13.027	1	0.000	0.004	0.000	0.083
复发	-1.800	0.975	3.409	1	0.024	0.165	0.024	1.117
是否转移	1.183	0.897	1.738	1	0.043	3.265	0.562	18.953
Constant	16.275	5.021	10.508	1	0.001	11702.668	0.000	0.000

水平有所下降,彩色多普勒超声检查癌灶灰阶明显增加或减弱,癌灶内血液供应减少或消失.临床上AFP是诊断HCC及复发检测的重要指标.但是治疗前AFP水平对肝癌预后的影响仍有争议.本组资料显示,经HIFU治疗原发性肝癌大多数病例AFP下降明显.可见AFP与HIFU后生存率相关;AFP轻度升高不影响预后,但AFP>200 U/L有可能成为影响预后的一个因素.根据Child Pugh肝功能分级, A, B, C级患者分别为83例、16例、5例.分析影响患者生存期的诸多因素,经过临床观察HIFU治疗后生存期为59.5%(3-6 mo), 38.7%(12 mo), 25.6%(24 mo),说明肝功能是影响HIFU治疗疗效的主要因素之一.由此可以得出行HIFU前应尽量进行内科治疗恢复肝功能,治疗中应尽量保留正常肝组织.应采用较规范的计算方案可达到用最少数目的聚焦灶完全灭活肿瘤,以减少损伤周围肝组织的目的.

治疗前肿瘤大小直径为2.6-15.5 cm不等,随访3-28 mo, 2.0-5.0 cm肿瘤的完全坏死率为71.4%(35/49), >5 cm肿瘤的完全坏死率仅为25.4%(14/55).本组资料对治疗时患者的性别、年龄、肿瘤大小及肿瘤数目等因素进行了统计学分析,结果显示,只有肿瘤大小是影响局部复发的一个变量.对于肿瘤数目可能还需要积累病例观察远期疗效和作进一步研究.术前联合应用TACE治疗(20例)的患者,随访11 mo,局部复发率为25%(5/20),说明术前联合应用TACE治疗对HIFU治疗疗效的有一定的影响.本组资料数据分析提示, TNM分期的 I - II 期和III-IV期之间具有统计学意义,但III期与IV期癌之间生存期未见明显差异,由此可以看出, TNM分期可以反映出肝癌的综合预后.而对于单发且肿块直径<3 cm无转移者联合应用TACE预后较好,生存率较高.多发且肿块直径>5 cm伴转移者预后较差,生存率较低.对于肝转移癌的治疗其成功

率较低,分析其原因是多方面的,其中最重要的是肿瘤的治疗不恰当或对组织的不同反应.由于较小的肝细胞癌肿瘤边缘多数被假包膜包绕^[16-17],容易被均匀、彻底灭活;但转移肿瘤的外缘则不同,肿瘤对周边肝实质的浸润很常见^[18],因遗漏而造成肿瘤局部复发的几率较大.因此,对转移性肝癌进行HIFU时应采取更为激进的方法,如扩大安全治疗范围等,以降低肿瘤局部复发率.

从本组临床数据来看体检发现的肝癌患者总生存期优于有症状后就诊者,这就指出应定期进行健康体检,可早期发现肿瘤、早期治疗,改善预后,提高生活质量.发现原发性肝癌至高强度聚焦超声间隔时间的长短也反映了是否及时进行治疗;肿瘤分布反映了肿瘤的生长方式及起源特点,此两项均对无瘤生存率有影响.生存分析结果显示,保护肝功能,治疗前全面影像学检查,重视规范化治疗和辅助治疗将有助于改善肝癌高强度聚焦超声生存期.

总之, HIFU治疗肝肿瘤疗效及其影响因素是多种因素决定的.通过分析我们发现肝功能、肿瘤大小、术前联合应用TACE治疗、是否伴有转移、TNM分期、复发均对HIFU的疗效有一定的影响.这些因素将反映手术后的有效率.正确评价HIFU的疗效,充分了解疗效、并发症及相关的影响因素,将有助于指导临床实际应用,从而提高肝肿瘤的治疗水平.

4 参考文献

- 1 Yang R, Reilly CR, Rescorla FJ, Faught PR, Sanghvi NT, Fry FJ, Franklin TD Jr, Lumeng L, Grosfeld JL. High-intensity focused ultrasound in the treatment of experimental liver cancer. *Arch Surg* 1991; 126: 1002-1009; discussion 1009-1010
- 2 Thuroff S, Chaussy C. High-intensity focused ultrasound: complications and adverse events. *Mol Urol* 2000; 4: 183-187; discussion 189
- 3 Sato M, Watanabe Y, Kashu Y, Nakata T, Hamada

- Y, Kawachi K. Sequential percutaneous microwave coagulation therapy for liver tumor. *Am J Surg* 1998; 175: 322-324
- 4 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667
- 5 Yi J, Li N, Jiang LS, Xiong XZ. The study of clinical application of high intensity focused ultrasound in non-invasive therapy for liver cancer. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2005; 36: 426-428
- 6 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zhu H, Bai J, Zou JZ, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 1061-1069
- 7 Su XZ. Computed tomography in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 1983; 5: 52-54
- 8 Zhang Z, Wu M, Shen F. Significance of TNM classification in prognostic evaluation of hepatocellular carcinoma following surgical resection. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 1999; 21: 293-295
- 9 ter Haar G, Sinnett D, Rivens I. High intensity focused ultrasound-a surgical technique for the treatment of discrete liver tumours. *Phys Med Biol* 1989; 34: 1743-1750
- 10 Ahmed M, Goldberg SN. Thermal ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: S231-244
- 11 Sibille A, Prat F, Chapelon JY, Abou el Fadil F, Henry L, Theillere Y, Ponchon T, Cathignol D. Extracorporeal ablation of liver tissue by high-intensity focused ultrasound. *Oncology* 1993; 50: 375-379
- 12 Zhang L, Jensen RT, Maton PN. Characterization of beta-adrenoreceptors on smooth muscle cells from guinea pig stomach. *Am J Physiol* 1990; 259: G436-442
- 13 Wang XJ, Yuan SL, Lu YR, Zhang J, Liu BT, Zeng WF, He YM, Fu YR. Growth inhibition of high-intensity focused ultrasound on hepatic cancer *in vivo*. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4317-4320
- 14 Zibari GB, Riche A, Zizzi HC, McMillan RW, Aultman DF, Boykin KN, Gonzalez E, Nandy I, Dies DF, Gholson CF, Holcombe RF, McDonald JC. Surgical and nonsurgical management of primary and metastatic liver tumors. *Am Surg* 1998; 64: 211-220; discussion 220-221
- 15 Farmer DG, Rosove MH, Shaked A, Busuttill RW. Current treatment modalities for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1994; 219: 236-247
- 16 Jin CB, Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zhu H. High intensity focused ultrasound therapy combined with transcatheter arterial chemoembolization for advanced hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2003; 25: 401-403
- 17 Wang XJ, Yuan SL, Zhang J, Lu YR, Wang YP, Chen XH, Ning QZ, Fu YR, Liu BT, Zeng WF, He YM. A study of the inhibition effect of HIFU and its mechanism of action on the proliferation of human breast cancer cells. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2004; 35: 60-63
- 18 Li CX, Xu GL, Jiang ZY, Li JJ, Luo GY, Shan HB, Zhang R, Li Y. Analysis of clinical effect of high-intensity focused ultrasound on liver cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2201-2204

电编 张敏 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

欢迎订阅 2007 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

本刊主要报道食管癌、胃癌、肝癌、大肠癌、病毒性肝炎、幽门螺杆菌、中医中药、中西医结合等胃肠病学和肝病学的最新进展及原创性等基础或临床研究的文章。

《世界华人消化杂志》2007年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号 ISSN 1009-3079,国内统一刊号CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期每月8, 18, 28日,月价72.00,年价864元。欢迎广大消化科医务人员及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023,北京市2345信箱,世界胃肠病学杂志社。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。

原发性胆囊癌组织中脆性组氨酸三联体基因和Ki-67的表达及临床意义

刘会春, 吴斌全

■背景资料

脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)基因是新近发现的一个候选抑癌基因,大量研究表明, FHIT基因在人类多种恶性肿瘤组织中存在较高频率的基因异常和蛋白表达缺失。有关胆囊癌中FHIT基因表达异常国内外报道很少,本研究检测FHIT和反映细胞增殖活性的标志抗原Ki-67在原发性胆囊癌中的表达情况,探讨他们与胆囊癌临床病理指标和预后的可能关系,从而为胆囊癌的预后判断提供可能的新指标。

刘会春, 吴斌全, 蚌埠医学院附属医院肝胆外科 安徽省蚌埠市 233004

刘会春, 1984年蚌埠医学院学士, 主任医师, 副教授, 主要从事肝胆胰疾病的临床与基础研究。

通讯作者: 刘会春, 233004, 安徽省蚌埠市长淮路287号, 蚌埠医学院附属医院肝胆外科. doctorlhc2000@yahoo.com.cn

电话: 0552-3060946 传真: 0552-3070260

收稿日期: 2006-03-24 接受日期: 2006-04-20

Expression of fragile histidine triad and Ki-67 in primary gallbladder carcinoma and their clinical significances

Hui-Chun Liu, Bin-Quan Wu

Hui-Chun Liu, Bin-Quan Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China

Correspondence to: Dr. Hui-Chun Liu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, 287 Changhuai Road, Bengbu 233004, Anhui Province, China. doctorlhc2000@yahoo.com.cn

Received: 2006-03-24 Accepted: 2006-04-20

Abstract

AIM: To investigate the expression of fragile histidine triad (FHIT) gene and Ki-67 antigen in primary gallbladder carcinoma, gallbladder adenoma and chronic cholecystitis.

METHODS: Streptavidin-peroxidase immunohistochemical method was used to determine the expression of FHIT and Ki-67 in 51 cases of primary gallbladder carcinoma, 15 cases of gallbladder adenoma and 12 cases of chronic cholecystitis. Their relationships with clinical and pathological features of gallbladder carcinoma were analyzed.

RESULTS: The positive rate of FHIT expression was significantly lower in gallbladder carcinoma than that in gallbladder adenoma and chronic cholecystitis (47.1% vs 66.7%, 91.7%, $P < 0.01$), while the positive rate of Ki-67 expression was markedly higher than that in gallbladder adenoma and chronic cholecystitis (82.4% vs

20.0%, 0, $P < 0.01$). Loss of FHIT expression was significantly correlated with the higher histological grade (18.8% vs 56.5%, 66.7%, $P = 0.02$) and lymph node or distant metastasis (33.3% vs 66.7%, $P = 0.019$), as well as survival time after operation (31.2% vs 77.8%, $P = 0.041$). The expression of Ki-67 was increased with the higher histological grades (58.3% vs 87.0%, 93.8%, $P = 0.039$) and lymph node or distant metastasis (33.3% vs 66.7%, $P = 0.037$). There was a negative correlation between FHIT and Ki-67 ($r = -0.285$, $P = 0.043$).

CONCLUSION: FHIT may be a candidate tumor suppressor gene of gallbladder carcinoma. FHIT and Ki-67 play significant roles in the pathogenesis and evolution of gallbladder carcinoma. The combined detection of FHIT and Ki-67 protein may be helpful for clinical assessment of tumor biological behavior and prognosis in patients with gallbladder carcinoma.

Key Words: Gallbladder neoplasm; Fragile histidine triad gene; Ki-67 antigen; Immunohistochemistry

Liu HC, Wu BQ. Expression of fragile histidine triad and Ki-67 in primary gallbladder carcinoma and their clinical significances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3382-3386

摘要

目的: 探讨脆性组氨酸三联体(FHIT)基因和Ki-67抗原在原发性胆囊癌、胆囊腺瘤和慢性胆囊炎组织中的表达情况。

方法: 应用免疫组织化学S-P法, 检测51例原发性胆囊癌、15例胆囊腺瘤和12例慢性胆囊炎组织中FHIT和Ki-67的表达情况, 并分析其与胆囊癌临床病理因素的关系。

结果: 胆囊癌组中FHIT阳性率明显低于胆囊腺瘤和慢性胆囊炎组(47.1% vs 66.7%, 91.7%, $P < 0.01$), 而Ki-67阳性率明显高于胆囊腺瘤和慢性胆囊炎组(82.4% vs 20.0%, 0, $P < 0.01$)。

FHIT表达缺失不仅与胆囊癌的高分级(18.8% vs 56.5%, 66.7%, $P = 0.02$)、淋巴结或远处转移(33.3% vs 66.7%, $P = 0.019$)明显相关, 而且与术后生存时间减少关系密切(31.2% vs 77.8%, $P = 0.041$)。Ki-67表达与胆囊癌的高分级(58.3% vs 87.0%, 93.8%, $P = 0.039$)和淋巴结或远处转移(33.3% vs 66.7%, $P = 0.037$)明显相关。FHIT与Ki-67表达呈负相关($r = -0.285$, $P = 0.043$)。

结论: FHIT基因是胆囊癌的一个候选抑癌基因。FHIT和Ki-67在胆囊癌的发生和演化中均起着重要作用, 联合检测FHIT和Ki-67的表达情况有助于临床评估胆囊癌的生物学行为和判断预后。

关键词: 胆囊肿瘤; 脆性组氨酸三联体基因; Ki-67抗原; 免疫组织化学

刘会春, 吴斌全. 原发性胆囊癌组织中脆性组氨酸三联体基因和Ki-67的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3382-3386
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3382.asp>

0 引言

脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)基因于1996年由Ohta *et al*^[1]成功分离并定位于染色体3P14.2。研究表明, FHIT基因在人类多种恶性肿瘤组织中存在较高频率的基因异常和蛋白表达缺失, 为一候选的抑癌基因。有关胆囊癌中FHIT基因或表达异常国外已有少量病例报道^[2-3], 国内尚未见相关的研究发表。本研究采用免疫组化方法, 检测FHIT在原发性胆囊癌中的表达, 同时检测反映细胞增殖活性的标志抗原Ki-67的表达情况, 探讨他们与胆囊癌临床病理指标和预后的可能关系。

1 材料和方法

1.1 材料 原发性胆囊癌标本51例来自我院1994-01/2003-06外科手术切除、术后病理证实的存档组织蜡块。所有病例术前未进行放化疗, 有完整的临床病理资料。其中男22例, 女29例, 平均年龄59.6(30-76)岁, ≥ 60 岁者31例, < 60 岁者20例。组织学类型: 腺癌43例, 腺鳞癌3例, 鳞癌5例。病理分级: 高分化(I级)12例, 中分化(II级)23例, 低分化(III级)16例。按Nevin临床分期: I期1例, II期8例, III期12例, IV期11例, V期19例。根据术中探查及病理报告结果有淋巴结或远处转移30例, 无转移21例。合并有胆囊结石24

例, 无结石27例。另外选取15例胆囊腺瘤和12例慢性胆囊炎组织标本作为对照组。即用型兔抗人FHIT多克隆抗体购自北京中山生物技术有限公司; 即用型鼠抗人Ki-67 mAb、广谱型SP试剂盒、DAB显色剂均购自福州迈新生物技术有限公司。

1.2 方法 将石蜡组织块切成4 μm 厚的连续组织切片4张, 1张作HE染色, 余作免疫组化染色。以已知正常乳腺组织阳性切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。FHIT和Ki-67均采用微波抗原修复方法, 免疫组化染色具体步骤按SP试剂盒说明书进行操作。FHIT以胞质出现棕黄色颗粒视为阳性细胞, 结果判断标准根据Hao *et al*^[4]的方法, 先按染色强度打分: 无色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 再按阳性细胞所占百分比打分: 阳性细胞 $< 5\%$ 为0分, $5\%-25\%$ 为1分, $25\%-50\%$ 为2分, $50\%-75\%$ 为3分, $> 75\%$ 为4分; FHIT基因表达最终得分 = 染色强度 \times 染色范围。0-4分为阴性(低表达或表达缺失); 5-12分为阳性。参考有关文献[5-6]。Ki-67以细胞核出现棕黄色颗粒视为阳性细胞, 根据阳性细胞所占百分比分为: 阳性细胞数 $< 10\%$ 为阴性表达, $\geq 10\%$ 为阳性表达。另通过电话调查、信件随访以及入户调查的方式了解胆囊癌患者自手术之日起1 a内是否存活、存活时间及其死亡原因。有25例获得完整随访资料, 结果存活1 a以上的有9例, 1 a内死于肿瘤的有16例, 1 a生存率为36.0%。

统计学处理 采用SPSS 11.0统计软件包进行统计分析。根据资料性质分别采用 χ^2 检验、Fisher确切概率法和Spearman等级相关分析。结果均以双侧 $P < 0.05$ 作为有统计学意义的判断标准。

2 结果

2.1 FHIT和Ki-67在胆囊良恶性病变组织中的表达 FHIT阳性染色主要位于胞质(图1)。FHIT在慢性胆囊炎、胆囊腺瘤及胆囊癌组织中FHIT阳性表达率逐渐降低, 分别为91.7%(11/12), 66.7%(10/15)和47.1%(24/51), 3组总体差异有显著性($P < 0.01$), 组间比较, 胆囊癌与慢性胆囊炎比较差异有显著性($P < 0.01$)。Ki-67定位于细胞核(图2)。Ki-67在胆囊癌中的阳性表达率为82.4%(42/51), 胆囊腺瘤中阳性率为20.0%(3/15), 而在慢性胆囊炎中无一例阳性表达, 3组总体差异有显著性($P < 0.01$), 组间比较, 胆囊癌与

■同行评价

文章有较好的科学性、创新性和可读性, 有一定的学术意义。

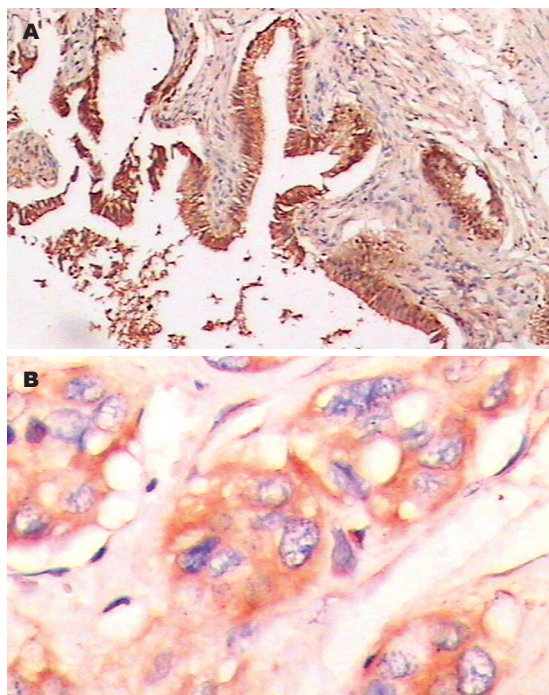


图1 胆囊组织FHIT表达AP法. A: 慢性胆囊炎强阳性($\times 100$); B: 中分化胆囊腺癌阳性($\times 400$).

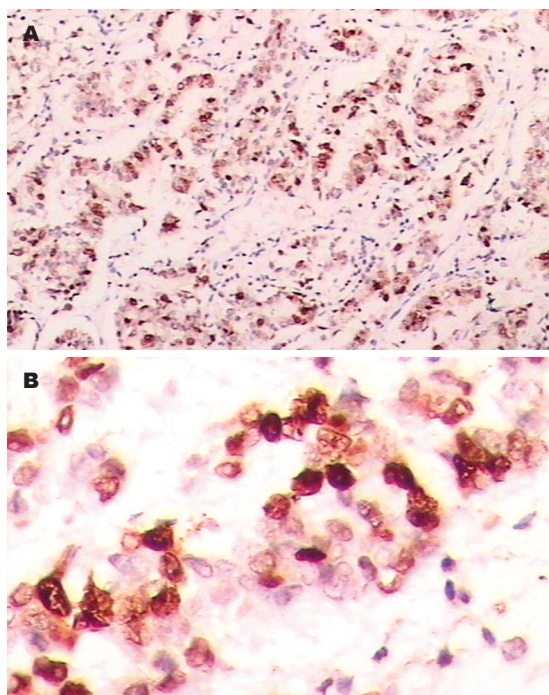


图2 低分化胆囊腺癌Ki-67强阳性表达. A: $\times 100$; B: $\times 400$.

慢性胆囊炎和胆囊腺瘤比较差异均有显著性($P < 0.01$).

2.2 FHIT和Ki-67表达与胆囊癌临床病理指标的关系 FHIT表达缺失不仅与胆囊癌的高分级、淋巴结或远处转移明显相关(表1), 而且与胆囊

表1 FHIT和Ki-67表达与胆囊癌临床病理的关系 n (%)

临床病理指标	n	FHIT阳性	Ki-67阳性
年龄(岁)			
<60	20	8(40.0)	18(90.0)
≥ 60	31	16(51.6)	24(77.4)
男	22	10(45.5)	19(86.4)
女	29	14(48.3)	23(79.3)
腺癌	43	19(44.2)	36(83.7)
非腺癌	8	5(62.5)	6(75.0)
有结石	24	13(54.2)	21(87.5)
无结石	27	11(40.7)	21(77.8)
病理			
I级	12	8(66.7) ^a	7(58.3) ^a
II级	23	13(56.5)	20(87.0)
III级	16	3(18.8)	15(93.8)
Nevin临床分期			
早期	9	6(66.7)	5(55.6)
中晚期	42	18(42.9)	37(88.1)
淋巴结或远处转移			
有	30	10(33.3) ^a	28(93.3) ^a
无	21	14(66.7)	14(66.7)
术后生存时间(a)			
<1	16	5(31.2) ^a	14(87.5)
≥ 1	9	7(77.8)	5(55.6)

^a $P < 0.05$.

癌术后生存时间减少关系密切, 但与年龄、性别、组织学类型、Nevin临床分期以及是否伴有结石等因素无明显相关性($P > 0.05$). Ki-67表达与胆囊癌的高分级和淋巴结或远处转移明显相关, 与其他因素均无明显相关性($P > 0.05$).

2.3 胆囊癌中FHIT表达与Ki-67表达的关系 在51例胆囊癌标本中, FHIT阳性表达24例, Ki-67阳性表达42例, 两者共同阳性表达者17例. 经Spearman等级相关分析, 在胆囊癌中FHIT表达与Ki-67表达呈负相关关系($r = -0.285$, $P = 0.043$).

3 讨论

FHIT基因是1996年Ohta *et al*^[1]用外显子捕获法在3p14.2上确定的一新基因, 由于该基因氨基酸测序结果与组氨酸三联体(histidine triad, HIT)蛋白具有高度同源性, 而基因内又包含有FRA3B脆性位点, 故命名为FHIT基因. FHIT基因含10个外显子, 其中外显子5-9构成开放性阅读框架(open reading frame, ORF), 编码一个由147个氨基酸组成的分子质量为16.8 kDa的Fhit蛋白. 近来大量研究发现, FHIT基因及蛋白表达异常见于多种类型的肿瘤细胞株和原发瘤组织, 包括

肺癌^[7]、乳腺癌^[8]、食管癌^[9-10]、胃癌^[11-12]、肝癌^[13-14]、卵巢癌^[15]、宫颈癌^[16]和结直肠癌^[17]等, 故提示FHIT基因为多种肿瘤的候选抑癌基因。虽然大量实验证明了FHIT基因的抑癌活性, 但是目前FHIT基因在恶性肿瘤组织中的确切抑癌机制仍不清楚, 多数作者认为其主要是通过调控细胞周期和凋亡来抑制癌细胞的增殖^[18-20]。本研究发现, FHIT在慢性胆囊炎、胆囊腺瘤及胆囊癌组织中阳性表达率逐渐降低, 与Wistuba *et al*^[2]的研究结果类似, 我们的实验结果也显示胆囊癌中FHIT表达明显下调或缺失(缺失率为52.9%), 提示FHIT基因在胆囊癌的发生中具有重要意义, 可能是胆囊癌一个重要的候选抑癌基因。与Wistuba *et al*^[2]的结果不同, 我们还发现, FHIT表达缺失与胆囊癌的高分级以及淋巴结或远处转移明显相关, 提示Fhit蛋白的失活与肿瘤高恶性及转移潜能密切相关, 进一步证实了该蛋白是一种重要的肿瘤抑制蛋白, 其表达的下调或缺失在胆囊癌的发展中可能起着重要作用。在本实验获得完整随访资料的25例患者中, 术后1 a内死亡组的FHIT阳性表达率明显低于术后生存期超过1 a组, 提示FHIT有可能作为胆囊癌一种新的预后监测的指标。与此类似, 在乳腺癌^[8]、胃癌^[11,21]、宫颈癌^[22]和喉咽癌^[23]等其他肿瘤中也报道FHIT基因异常表达与肿瘤的病理分级、浸润转移及预后明显相关。有关FHIT表达在胆囊癌发展演进和预后中的作用, 我们研究结果与Wistuba *et al*^[2]的结果不同, 出现这种差异的原因可能有选择的样本期别不同、样本量的差别以及人种的差异等, 还需要更多作者通过增加样本量、扩大随访资料的进一步深入加以证实。

肿瘤细胞最根本的生物学特征是分化受阻和无限增殖, 肿瘤细胞的增殖活性与肿瘤的组织分化程度、浸润和转移等生物学行为密切相关。Ki-67是继PCNA之后发现的又一种反映细胞增殖活性的标志抗原, 分布于除G0期和G1早期以外的细胞周期各个时相, 是一种稳定、可靠的组织细胞增殖活性的标志物。研究发现, Ki-67在卵巢癌^[24]、子宫内膜癌^[25]、结肠癌^[26]、肝癌^[27]、胰腺癌^[28]和喉癌^[29]等多种恶性肿瘤中有异常表达, 且与肿瘤的增殖、浸润、转移潜能和预后密切相关, 因而有可能成为一种较好的预后指标。本研究结果显示, Ki-67在慢性胆囊炎、胆囊腺瘤和胆囊癌中的阳性表达率逐渐增加, 胆囊癌与慢性胆囊炎和胆囊腺瘤比较差异

均有显著性, 这与国内外的研究结果基本一致, 提示胆囊癌的发生与细胞增殖活性的增加密切相关, Ki-67可作为鉴别胆囊良恶性肿瘤的一个参考指标。我们实验结果还发现, Ki-67表达与胆囊癌的高分级以及淋巴结或远处转移明显相关, 这与Hui *et al*^[30]研究结果相一致, 表明Ki-67高表达的胆囊癌肿瘤细胞增殖活性活跃, 有较强的恶性程度和侵袭转移的能力。另外在获得随访资料的25例患者中, 术后1 a内死亡组的Ki-67阳性表达率高于术后生存期超过1 a组, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 考虑可能与获得随访资料的病例数量少有关。

我们通过联合检测FHIT和Ki-67在胆囊癌中的表达情况, 探讨胆囊癌中FHIT表达与细胞增殖的关系。结果发现, 胆囊癌中FHIT表达与Ki-67表达呈负相关关系, 表明FHIT表达缺失与肿瘤的恶性增殖密切相关, FHIT基因可能通过影响细胞增殖而参与胆囊癌的发生、发展。在肺癌^[31]和头颈鳞癌^[32]中也有类似的结论。

总之, FHIT表达缺失在胆囊癌中是一个频发事件, FHIT基因是胆囊癌的一个候选抑癌基因。FHIT和Ki-67在胆囊癌的发生和演化中均起着重要作用, FHIT基因可能通过影响细胞增殖而参与胆囊癌的发生、发展。联合检测FHIT和Ki-67的表达情况有助于临床评估胆囊癌的生物行为和判断预后。

4 参考文献

- 1 Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, Kastury K, Baffa R, Palazzo J, Siprashvili Z, Mori M, McCue P, Druck T, Croce CM, Huebner K. The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 1996; 84: 587-597
- 2 Wistuba II, Ashfaq R, Maitra A, Alvarez H, Riquelme E, Gazdar AF. Fragile histidine triad gene abnormalities in the pathogenesis of gallbladder carcinoma. *Am J Pathol* 2002; 160: 2073-2079
- 3 Koda M, Yashima K, Kawaguchi K, Andachi H, Hosoda A, Shiota G, Ito H, Murawaki Y. Expression of Fhit, Mlh1, and P53 protein in human gallbladder carcinoma. *Cancer Lett* 2003; 199: 131-138
- 4 Hao XP, Willis JE, Pretlow TG, Rao JS, MacLennan GT, Talbot IC, Pretlow TP. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinomas and premalignant lesions. *Cancer Res* 2000; 60: 18-21
- 5 莫华, 黎冠群, 危群, 袁志伟. Ki-67抗原在原发性胆囊癌中的表达及其意义. *实用癌症杂志* 2001; 16: 44-45, 69
- 6 Pillai MR, Jayaprakash PG, Nair MK. Tumour-proliferative fraction and growth factor expression as markers of tumour response to radiotherapy in cancer of the uterine cervix. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; 124: 456-461

- 7 Sozzi G, Pastorino U, Moiraghi L, Tagliabue E, Pezzella F, Ghirelli C, Tornielli S, Sard L, Huebner K, Pierotti MA, Croce CM, Pilotti S. Loss of FHIT function in lung cancer and preinvasive bronchial lesions. *Cancer Res* 1998; 58: 5032-5037
- 8 Yang Q, Yoshimura G, Suzuma T, Tamaki T, Umemura T, Nakamura M, Nakamura Y, Wang X, Mori I, Sakurai T, Kakudo K. Clinicopathological significance of fragile histidine triad transcription protein expression in breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3869-3873
- 9 Kitamura A, Yashima K, Okamoto E, Andachi H, Hosoda A, Kishimoto Y, Shiota G, Ito H, Kaibara N, Kawasaki H. Reduced Fhit expression occurs in the early stage of esophageal tumorigenesis: no correlation with p53 expression and apoptosis. *Oncology* 2001; 61: 205-211
- 10 李吉学, 李燕杰, 秦艳茹, 安继业, 王启鸣, 余炜伟, 王立东. 河南食管癌高发区食管癌和癌旁正常组织中 FHIT 蛋白及其 mRNA 的表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1417-1420
- 11 Zhao P, Liu W, Lu YL. Clinicopathological significance of FHIT protein expression in gastric adenocarcinoma patients. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5735-5738
- 12 刘平, 游思洪, 张小勇, 张道富, 丁小健. 胃癌和胃癌前病变组织 FHIT 基因的杂合性丢失. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1190-1193
- 13 Zhao P, Song X, Nin YY, Lu YL, Li XH. Loss of fragile histidine triad protein in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1216-1219
- 14 Nan KJ, Ruan ZP, Jing Z, Qin HX, Wang HY, Guo H, Xu R. Expression of fragile histidine triad in primary hepatocellular carcinoma and its relation with cell proliferation and apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 228-231
- 15 高国兰, 聂春莲, 高玟, 邹学森. 脆性组氨酸三联体和 Ki67 蛋白在卵巢上皮性肿瘤组织中的表达及其临床意义. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 669-672
- 16 Machida S, Ohwada M, Saga Y, Suzuki M. Abnormal fragile histidine triad expression in advanced cervical cancer and evaluation of its utility as a prognostic factor. *Oncology* 2003; 65: 89-93
- 17 胡义奎, 段晓明, 刘莲叶, 贺修胜, 曹建国. 结直肠癌中 FHIT 蛋白的异常表达及其临床意义. *现代肿瘤医学* 2006; 14: 190-192
- 18 Barnes LD, Garrison PN, Siprashvili Z, Guranowski A, Robinson AK, Ingram SW, Croce CM, Ohta M, Huebner K. Fhit, a putative tumor suppressor in humans, is a dinucleoside 5',5''-P1,P3-triphosphate hydrolase. *Biochemistry* 1996; 35: 11529-11535
- 19 Sard L, Accornero P, Tornielli S, Delia D, Bunone G, Campiglio M, Colombo MP, Gramegna M, Croce CM, Pierotti MA, Sozzi G. The tumor-suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8489-8492
- 20 Sevignani C, Calin GA, Cesari R, Sarti M, Ishii H, Yendamuri S, Vecchione A, Trapasso F, Croce CM. Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in breast cancer cell lines. *Cancer Res* 2003; 63: 1183-1187
- 21 Rocco A, Schandl L, Chen J, Wang H, Tulassay Z, McNamara D, Malfertheiner P, Ebert MP. Loss of FHIT protein expression correlates with disease progression and poor differentiation in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 84-88
- 22 Huang LW, Chao SL, Chen TJ. Reduced Fhit expression in cervical carcinoma: correlation with tumor progression and poor prognosis. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 331-337
- 23 吴昊, 梁信庸, 周维镭, 潘新良, 许风雷, 雷大鹏. Fhit 蛋白与喉咽癌生物学行为相关性研究. *临床耳鼻咽喉科杂志* 2006; 20: 249-251
- 24 Khalifeh I, Munkarah AR, Schimp V, Morris R, Lawrence WD, Ali-Fehmi R. The impact of c-kit and ki-67 expression on patients prognosis in advanced ovarian serous carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2005; 24: 228-234
- 25 Pozharisskii KM, Samsonova EA, Ten VP, Maksimova NA, Urmanceeva AF. Immunohistochemical profile of endometrioid adenocarcinoma of the uterus: ER, PR, HER-2, Ki-67 and their prognostic value. *Arkh Patol* 2005; 67: 13-17
- 26 Valera V, Yokoyama N, Walter B, Okamoto H, Suda T, Hatakeyama K. Clinical significance of Ki-67 proliferation index in disease progression and prognosis of patients with resected colorectal carcinoma. *Br J Surg* 2005; 92: 1002-1007
- 27 Cui J, Dong BW, Liang P, Yu XL, Yu DJ. Effect of c-myc, Ki-67, MMP-2 and VEGF expression on prognosis of hepatocellular carcinoma patients undergoing tumor resection. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1533-1536
- 28 陈晓星, 倪金良, 郝波, 张国新, 施瑞华, 王学浩. 胰腺癌组织 Survivin 与 Ki-67 的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2650-2653
- 29 孙大为, 王彦君, 刘海兵, 孔维佳, 刘邦华. Ki67 和 VEGF 与喉鳞状细胞癌预后关系的探讨. *临床耳鼻咽喉科杂志* 2006; 20: 246-248
- 30 Hui AM, Shi YZ, Li X, Sun L, Guido T, Takayama T, Makuuchi M. Proliferative marker Ki-67 in gallbladder carcinomas: high expression level predicts early recurrence after surgical resection. *Cancer Lett* 2002; 176: 191-198
- 31 Toledo G, Sola JJ, Lozano MD, Soria E, Pardo J. Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer. *Mod Pathol* 2004; 17: 440-448
- 32 Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Misawa K, Ueda Y, Suzuki I, Ito M, Wennerberg J. Low expression of fragile histidine triad gene correlates with high proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2003; 39: 56-63

电编 张敏 编辑 潘伯荣

胃食管反流病的食管外表现及其临床进展

梁小燕, 高青

梁小燕, 高青, 重庆医科大学附属第一医院消化科 重庆市 400016

通讯作者: 梁小燕, 400016, 重庆市, 重庆医科大学附属第一医院消化科. lxyan925@yahoo.com.cn

电话: 023-89012923

收稿日期: 2006-09-28 接受日期: 2006-10-23

Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease

Xiao-Yan Liang, Qing Gao

Xiao-Yan Liang, Qing Gao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Xiao-Yan Liang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China. lxyan925@yahoo.com.cn

Received: 2006-09-28 Accepted: 2006-10-23

Abstract

The typical symptoms of gastroesophageal reflux disease (GERD), heartburn and regurgitation, are quite reliable to make diagnosis in the majority of patients. However, some patients may present with extraesophageal symptoms which are related to pulmonary, otolaryngologic or pharyngeal manifestations, such as bronchial asthma, chronic cough, obstructive sleep apnea hypoventilation syndrome, idiopathic pulmonary fibrosis, pharyngitis, laryngitis, and dental erosion, etc. These symptoms are less typical, often ambiguous, and easily misdiagnosed. Hence this review will address the recent progress in the mechanisms and clinical manifestations of the extraesophageal symptoms of GERD.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Extraesophageal manifestation; Chronic cough; Asthma; Chronic pharyngolaryngitis

Liang XY, Gao Q. Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3387-3390

摘要

胃食管反流病(GERD)的食管外表现是指除反

酸、烧心等典型症状外,同时伴有呼吸系统、耳鼻喉、口腔等部位的症状,如支气管哮喘、慢性咳嗽、阻塞型睡眠呼吸暂停综合征、特发性肺纤维化、咽炎、喉炎、牙侵蚀症等。因其表现特殊、临床容易误诊,本文特对其发病机制及临床表现作一综述。

关键词: 胃食管反流病; 食管外表现; 慢性咳嗽; 哮喘; 慢性咽喉炎

梁小燕, 高青. 胃食管反流病的食管外表现及其临床进展. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3387-3390

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3387.asp>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃内容物反流入食道引起的症状或并发症。其典型的症状为烧心(胸骨后烧灼感)、反酸,严重时可引起反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)甚至Barrett食管。GERD也常伴有食管外表现,如哮喘、慢性咳嗽、特发性肺纤维化、声嘶、反流性喉炎、非心源性胸痛等非典型性症状^[1]。GERD是一常见病,欧美发病率10%-20%^[1],亚洲发病率6%^[2],因GERD的食管外表现在国内尚无全面综述,且临床表现多样,容易误诊,故本文特对GERD的食管外临床表现及其发病机制作一综述。

1 GERD与肺部表现

研究发现,GERD是肺部疾病的发病因素之一。许多呼吸道的症状和疾病,如慢性咳嗽、支气管哮喘、阻塞型睡眠呼吸暂停综合征、反复发作的肺炎、支气管扩张、肺纤维化等都与GERD相关。

1.1 支气管哮喘 近年来流行病学研究已证实支气管哮喘发病率呈上升趋势,GERD与哮喘发作之间存在着确切的联系,并将其列为支气管哮喘的一个重要的激发因素。美国对2397名青少年的调查研究^[3]显示,患哮喘学生中GERD发生率(19.3%)明显高于无哮喘者(2.5%)。Kiljander *et al*^[4]报道,在90例哮喘患者中,有典型的反流症

■背景资料

GERD是一常见的由胃内容物反流到食道引起的疾病,临床主要表现为烧心、反酸。GERD同时可伴食道外呼吸系统、耳鼻喉及口腔疾病的多种、多样表现,如慢性咳嗽、哮喘、咽炎、喉炎等等。由于GERD的食道外表现在国内尚无全面综述,在临床上往往又表现多样,极易误诊。故本文总结综述GERD的食道外临床表现、相应机制及相关治疗的最新进展,以期能全面提高对该病的认识和重视。

■同行评价

本文对胃食管反流病的食管外表现及其临床进展进行了较全面的综述,研究方向、内容皆可,有一定的新意。

状的为52%,其中51%有异常的酸反流。在GERD伴哮喘患者用奥美拉唑、潘托拉唑治疗均可使哮喘明显好转^[5-6]。在难治性哮喘患者中, Wong *et al*^[7]发现, GERD的患病率为56.7%, 用兰索拉唑治疗8 wk (30 mg qd), 75%的GERD患者哮喘症状评分得到明显改善, 而最大呼气流速和呼气量无明显改变。值得注意的是, 相当比例的支气管哮喘合并GERD患者没有烧心、反酸等典型症状, 即无反流症状的GERD(silent GERD)。

GERD可以导致或加重支气管哮喘。尽管二者之间内在的发病机制仍未完全明确。支气管哮喘患者食管pH测定显示其异常酸反流的发生率明显高于对照组, 经抗反流药物或手术治疗后, 其呼吸道症状明显改善, 提示酸反流是呼吸道症状的一个重要因素, 也提示在合并酸反流的哮喘患者中, 胃食管反流对哮喘症状的产生起着重要的作用^[8]。现认为GERD引起哮喘机制为: (1)酸性反流物的微吸入刺激呼吸道黏膜; (2)远端食管酸化时, 酸刺激食管的化学感受器触发迷走反射, 引起支气管收缩^[9]; (3)来自食管的炎性介质影响呼吸功能^[10]; (4)食道敏感神经将刺激传入中枢, 诱发气道高反应性。在这些患者中, 即使酸反流很少, 也能引起支气管痉挛, 这是不少患者抗酸疗效不佳的原因之一, 且大部分患者内镜检查阴性, 甚至部分患者食管pH检测亦在正常范围。国外有回顾性GERD调查显示, 并非所有患者抗反流治疗均能改善哮喘症状, 这也进一步证实上述有关所致哮喘发病机制的问题。许多对药物治疗效果不佳的患者, 对抗反流手术治疗效果则较好, 但与GERD伴发慢性咳嗽患者相比, GERD伴发哮喘患者抗反流手术治疗效果不如前者显著^[11]。相反, 支气管哮喘患者也易发生GERD, 其原因为: (1)支气管痉挛时, 肺充气过度, 使膈肌下降, 致食管下括约肌(LES)功能减低, 抗反流作用减弱; (2)哮喘发作时, 胸腔负压增大, 腹内压增高, 胸腹压力梯度增大, 利于胃食管反流; (3)应用茶碱类药物治疗哮喘时可以增加胃酸分泌并降低食管下括约肌(LES)压力。GERD和哮喘相互影响这一恶性循环可致胃食管反流进行性加重或顽固性哮喘。

1.2 慢性咳嗽 临床上常将咳嗽作为唯一症状或主要症状、咳嗽时间超过3 wk、X线胸片无明显异常者称为不明原因慢性咳嗽(简称慢性咳嗽)。GERD被认为是引起慢性咳嗽最常见的病因之一, 此外还有鼻后滴漏综合征、哮喘、非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎, 在慢性咳嗽患

者中, 他们可以单独出现也可以相互合并, 除咳嗽外, 没有其他任何临床表现^[12]。

目前, 认为GERD诱发或加重慢性咳嗽的机制是: (1)食管远端的酸刺激引起气管、支气管咳嗽反射; (2)胃酸、胆汁等反流物被误吸入气管, 直接刺激气管黏膜导致咳嗽。当肺部影像学检查正常时, GERD很可能是通过刺激食管-支气管反射而引起咳嗽^[13]。但要确诊慢性咳嗽由GERD所致比较困难, 因为大部分患者并不具有烧心、反酸等典型反流症状, 且内镜下反流性食管炎的阳性率较低。因此在排除哮喘、鼻后滴漏综合征等常见原因后, 可试用质子泵抑制剂(PPI)作诊断性治疗。现有资料显示, 用抗酸药物治疗和改变生活方式能使70%或更多的酸相关性慢性咳嗽患者的症状缓解。研究表明, 使用质子泵抑制剂(奥美拉唑40 mg bid) 2 wk可使咳嗽症状缓解^[14]。非对照研究显示, 药物治疗无效的患者采取抗反流手术治疗后80%以上患者有显著效果。Irwin *et al*^[15]对8例药物治疗不佳的患者行胃底折叠术, 咳嗽症状显著缓解。

1.3 阻塞型睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS) OSAS患者中GERD症状发生率较高。Green *et al*^[16]证实, 在331例OSAS的患者中, 发生夜间酸反流的为62%, 且内镜下反流性食管炎的严重程度与睡眠呼吸暂停的严重程度呈正相关^[17]。Bortolotti *et al*^[18]报道, OSAS合并GERD的患者经过奥美拉唑治疗6 wk后, 呼吸暂停的发作频率降低约73%。GERD可能是OSAS的病因之一, 但其机制尚未完全清楚。研究发现, 当食管pH值<4时, 发生的酸反流多较重, 常出现反流症状, 可以使患者从睡眠中完全觉醒。胃酸的微吸入可以引起夜间窒息和觉醒, 这些症状均提示OSAS。此外, 酸反流也可以引起喉部的炎症和水肿, 加重上气道的阻塞^[19]。相反, 呼吸暂停时, 胸腔负压增大, LES功能下降, 也可以诱发GERD。此外, 二者之间还存在着一些共同的危险因素, 如肥胖、饮酒等, 其潜在的联系仍存在着争论。

1.4 特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 大量临床和临床前的研究显示, 胃酸可能是IPF的一种病因性的有害物质。在动物模型中, 逐渐灌注酸性物质可以导致吸入性肺损伤, 在猪的模型中引起了肺纤维化^[20]。Raghu *et al*^[21]对65例IPF患者进行24 h pH监测和食管压力测定, 证实异常酸反流的发生率为87%, 其中76%有异常的远端食管酸暴露, 63%有异常的近

端食管酸暴露. 但其中只有47%的患者有典型的反流症状, 19例患者在进行24 h pH监测同时接受标准剂量的PPI治疗, 其中12例仍有食管异常的酸暴露, 此外, 他们还发现, IPF的严重度与反流的严重度之间无关联. 异常的酸反流在IPF患者中发病率很高, 且临床表现隐匿, 但目前尚缺乏有力的证据证实二者之间的病因学联系.

1.5 其他 GERD与其他一些肺部疾病也存在着联系, 如支气管扩张、慢性阻塞性肺病(COPD)、肺萎陷、肺炎、婴儿猝死综合征等. 在这些疾病中, 呼吸系统的生理性改变可能会引起GERD. GERD也可能通过微吸入或食管-肺反射引起肺部病变. 此外, 他们之间也可能仅仅是因为一些共同的危险因素而共存.

2 GERD与耳鼻喉部表现

2.1 慢性咽喉炎 胃酸反流至咽喉部, 可以产生很多耳鼻喉咽喉部的症状和体征. 与GERD相关的主要症状为反复的清嗓动作、慢性咳嗽、咽异物感、咽喉痛、声嘶及吞咽不畅等. 喉镜检查时, 以下表现常提示GERD的可能: 水肿、红斑、肉芽肿和溃疡. 胃食管反流性咽喉病实际上是一组以胃食管反流为病因而产生的咽喉部病变及其相应的临床症候群, 其中最常见的是反流性咽喉炎. el-Serag *et al*^[22]对101 366例食管炎患者进行研究, 结果显示, 喉炎及喉狭窄与食管炎关系最为密切, 其余依次为失声症、鼻窦炎、哮喘、咽炎、肺纤维化、支气管扩张等. 另有研究显示, 以咽喉部症状为主的反流多发生在白天、直立位, 而引起食管炎和GERD的典型症状的反流多发生在夜间、平卧位时^[23]. 反流性咽喉炎的患者中无烧心、反酸等典型反流症状的并不少见. Klopocka *et al*^[24]对17例没有典型GERD症状的慢性特发性喉炎患者, 用雷贝拉唑治疗8 wk后, 症状改善明显, 声嘶、咽痛消失率分别为68.7%和78.5%, 喉部体征消失率为50%-80%. 反流性咽喉炎的确切发生机制尚未阐明, 目前认为, GERD引起喉部表现的病理生理机制可能为(1)通过食管-咽反流, 胃酸、胃蛋白酶对喉部产生直接的损伤; (2)远端食管的酸化, 通过迷走神经介导的反射, 导致慢性的清嗓和咳嗽, 最终发展为喉部黏膜的体征和症状^[25].

2.2 喉癌 多年来, GERD被怀疑是咽喉部癌症的一个危险因素, 但他们之间的联系尚缺乏确凿的证据. Mercante *et al*^[26]调查了274名口腔、咽部、喉部癌症患者, 发现胃食管反流的发生率

明显高于健康对照组, 提示胃食管反流可能是上呼吸道、上消化道癌症的一个促进因素. Qadeer *et al*^[27]发现, 喉癌患者手术后或放化疗后行抑酸治疗, 能够明显降低喉癌的复发率, 提示抑酸治疗对喉癌的复发有保护效应.

2.3 其他 Yellon *et al*^[28]对101例儿童进行食管镜和组织活检等检查, 发现食管炎与反复发生的哮喘、鼻窦炎、喘鸣、喉软骨软化病、声门下狭窄、后声门红斑、后声门水肿有显著的联系. Lieu *et al*^[29]报道, 22例慢性中耳炎儿童, 73%中耳液中存在胃蛋白酶/胃蛋白酶原, 但无明显的GERD的症状.

3 牙侵蚀症(dental erosion)

若胃酸频繁地反流至口腔, 牙齿持续的暴露于胃酸中, 可能引起严重的牙侵蚀症. 通常没有临床症状, 唯一明显的表现可能是牙组织不可逆的侵蚀. 在GERD儿童中牙侵蚀症的患病率、唾液中酵母菌及变形链球菌的数量均明显高于健康对照组儿童, 提示GERD儿童患牙侵蚀症和龋齿的危险度都高于健康儿童^[30].

4 GERD食管外表现的治疗原则

GERD的食管外表现多种多样, 累及到多个器官, 值得引起临床医生的关注. 经验性的PPI试疗, 经济、无创, 其敏感性和特异性较好, 越来越受到推崇. 但对食管外表现为主的GERD患者, 同样剂量的PPI效果似乎不显著, 因而24 h食管pH测定、食管压力监测、内镜等检查在一定程度上能够更进一步认识GERD的食管外临床表现. 目前, 尚无证据显示药物治疗或手术治疗是治疗GERD的最佳方法. 用内镜治疗GERD尚未广泛开展, 最佳的内镜治疗方法也尚在研究之中^[31]. 如何选择合适的抗反流药物, 如何确定恰当的剂量, 有待临床工作中进一步探索.

5 参考文献

- 1 Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1900-1920
- 2 Lim LG, Ho KY. Gastroesophageal reflux disease at the turn of millennium. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2135-2136
- 3 Debley JS, Carter ER, Redding GJ. Prevalence and impact of gastroesophageal reflux in adolescents with asthma: a population-based study. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41: 475-481
- 4 Kiljander TO, Laitinen JO. The prevalence of gastroesophageal reflux disease in adult asthmatics.

- Chest* 2004; 126: 1490-1494
- 5 Calabrese C, Fabbri A, Areni A, Scialpi C, Zahlane D, Di Febo G. Asthma and gastroesophageal reflux disease: effect of long-term pantoprazole therapy. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7657-7660
 - 6 Jiang SP, Liang RY, Zeng ZY, Liu QL, Liang YK, Li JG. Effects of antireflux treatment on bronchial hyper-responsiveness and lung function in asthmatic patients with gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1123-1125
 - 7 Wong CH, Chua CJ, Liam CK, Goh KL. Gastro-oesophageal reflux disease in 'difficult-to-control' asthma: prevalence and response to treatment with acid suppressive therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1321-1327
 - 8 Hongo M. Reflux or reflex in GERD-related asthma. *J Gastroenterol* 2005; 40: 109-110
 - 9 Harding SM, Sontag SJ. Asthma and gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: S23-32
 - 10 Stein MR. Possible mechanisms of influence of esophageal acid on airway hyperresponsiveness. *Am J Med* 2003; 115 Suppl 3A: 55S-59S
 - 11 Ekstrom T, Johansson KE. Effects of anti-reflux surgery on chronic cough and asthma in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Respir Med* 2000; 94: 1166-1170
 - 12 Pratter MR. Overview of common causes of chronic cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129: 59S-62S
 - 13 Irwin RS. Chronic cough due to gastroesophageal reflux disease: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006; 129: 80S-94S
 - 14 Ours TM, Kavuru MS, Schilz RJ, Richter JE. A prospective evaluation of esophageal testing and a double-blind, randomized study of omeprazole in a diagnostic and therapeutic algorithm for chronic cough. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3131-3138
 - 15 Irwin RS, Zawacki JK, Wilson MM, French CT, Callery MP. Chronic cough due to gastroesophageal reflux disease: failure to resolve despite total/near-total elimination of esophageal acid. *Chest* 2002; 121: 1132-1140
 - 16 Green BT, Broughton WA, O'Connor JB. Marked improvement in nocturnal gastroesophageal reflux in a large cohort of patients with obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure. *Arch Intern Med* 2003; 163: 41-45
 - 17 Demeter P, Vardi VK, Magyar P. Correlations between gastroesophageal reflux disease and obstructive sleep apnea. *Orv Hetil* 2004; 145: 1897-1901
 - 18 Bortolotti M, Gentilini L, Morselli C, Giovannini M. Obstructive sleep apnoea is improved by a prolonged treatment of gastroesophageal reflux with omeprazole. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 78-81
 - 19 Yohei Mizuta, Fuminao Takeshima, Saburo shikuwa. Is there a specific linkage between obstructive sleep apnea syndrome and gastroesophageal reflux disease? *Digestive Endoscopy* 2006; 18: 88-97
 - 20 Raghu G. The role of gastroesophageal reflux in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Med* 2003; 115 Suppl 3A: 60S-64S
 - 21 Raghu G, Freudenberger TD, Yang S, Curtis JR, Spada C, Hayes J, Sillery JK, Pope CE 2nd, Pellegrini CA. High prevalence of abnormal acid gastro-oesophageal reflux in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2006; 27: 136-142
 - 22 el-Serag HB, Sonnenberg A. Comorbid occurrence of laryngeal or pulmonary disease with esophagitis in United States military veterans. *Gastroenterology* 1997; 113: 755-760
 - 23 Powitzky ES, Khaitan L, Garrett CG, Richards WO, Courey M. Symptoms, quality of life, videolaryngoscopy, and twenty-four-hour triple-probe pH monitoring in patients with typical and extraesophageal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003; 112: 859-865
 - 24 Klopocka M, Sinkiewicz A, Budzynski J, Pulkowski G, Swiatkowski M. Improvement in clinical course and laryngeal appearance in selected patients with chronic laryngitis after eight weeks of therapy with rabeprazole. *Med Sci Monit* 2004; 10: PI115-118
 - 25 Wong RK, Hanson DG, Waring PJ, Shaw G. ENT manifestations of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: S15-22
 - 26 Mercante G, Bacciu A, Ferri T, Bacciu S. Gastroesophageal reflux as a possible co-promoting factor in the development of the squamous-cell carcinoma of the oral cavity, of the larynx and of the pharynx. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 2003; 57: 113-117
 - 27 Qadeer MA, Lopez R, Wood BG, Esclamado R, Strome M, Vaezi MF. Does acid suppressive therapy reduce the risk of laryngeal cancer recurrence? *Laryngoscope* 2005; 115: 1877-1881
 - 28 Yellon RF, Cotichchia J, Dixit S. Esophageal biopsy for the diagnosis of gastroesophageal reflux-associated otolaryngologic problems in children. *Am J Med* 2000; 108 Suppl 4a: 131S-138S
 - 29 Lieu JE, Muthappan PG, Uppaluri R. Association of reflux with otitis media in children. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 133: 357-361
 - 30 Ersin NK, Oncag O, Tumgor G, Aydogdu S, Hilmioğlu S. Oral and dental manifestations of gastroesophageal reflux disease in children: a preliminary study. *Pediatr Dent* 2006; 28: 279-284
 - 31 Waring JP. Surgical and endoscopic treatment of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31: S89-109

电编 张敏 编辑 张焕兰

前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用

丁岩冰, 肖炜明, 王学浩

丁岩冰, 肖炜明, 扬州市第一人民医院消化科 江苏省扬州市 225001

王学浩, 南京医科大学第一附属医院肝胆外科 江苏省南京市 210029

通讯作者: 丁岩冰, 225001, 江苏省扬州市, 扬州市第一人民医院消化科. dybchina@sina.vip.com

电话: 0514-7907366

收稿日期: 2006-07-30 接受日期: 2006-10-11

Role of prostaglandins in pathogenesis of gastrointestinal cancer

Yan-Bing Ding, Wei-Ming Xiao, Xue-Hao Wang

Yan-Bing Ding, Wei-Ming Xiao, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Yangzhou City, 225001, Jiangsu Province, China

Xue-Hao Wang, Department of Hepatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yan-Bing Ding, Department of Gastroenterology, Yangzhou First Municipal Hospital, 225001, Jiangsu Province, China, chinadyb@hotmail.com

Received: 2006-07-30 Accepted: 2006-10-11

Abstract

There are 2 cyclooxygenase (COX) isoforms commonly referred to COX-1 and COX-2 for the temporal order of their discovery. Although both COX-1 and COX-2 are up-regulated in a variety of circumstances, normally, COX-1 is constitutively expressed in a broad range of cells and tissues. COX-1 expression remains constant under most physiologic or pathologic conditions, and COX-1-derived prostaglandins are considered to play a role in many normal physiologic processes. COX-2, by contrast, is an immediately response gene normally absent from most cells but highly inducible in response to inflammatory stimuli, including endotoxin, cytokines, hormones, and tumor promoters. Prostaglandins derived from COX-1 and COX-2 are involved in a variety of physiologic and pathologic processes in the gastrointestinal tract. Recent efforts to identify the molecular mechanisms by which COX-2-derived prostanoids exert their proneoplastic effects have provided a rationale for the possible use of non-steroidal anti-inflammatory drugs alone or in combination with conventional

or experimental anticancer agents for the treatment or prevention of gastrointestinal cancers.

Key Words: Prostaglandins; Cyclooxygenase; Gastrointestinal cancers; Molecular mechanisms

Ding YB, Xiao WM, Wang XH. Role of prostaglandins in pathogenesis of gastrointestinal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3391-3396

摘要

环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是催化花生四烯酸转化为前列腺素过程中的一个关键限速酶。哺乳动物的COX有两种形式, 即COX-1和COX-2。COX-1在大多数组织中都有表达, 其催化产生的前列腺素参与维持机体正常的生理机能。而COX-2是一种诱导酶, 在细胞受到各种刺激时, 如组织损伤、炎症或细胞恶性转化时表达增强。近年来大量研究表明, COX-2通过前列腺素途径除参与炎症反应外, 还与胃肠道肿瘤发生、发展关系密切, COX-2在结直肠癌、胃癌和食管癌中的作用主要是通过PGE₂等前列腺素来调节的, 目前的研究认为前列腺素对肿瘤的促进作用主要牵涉下列分子机制: 促进细胞增殖、抑制凋亡、促进侵袭和转移、刺激血管生成和诱导免疫抑制。本文就前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的研究进展作一综述。

关键词: 前列腺素类物质; 环氧合酶; 胃肠道肿瘤; 分子机制

丁岩冰, 肖炜明, 王学浩. 前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用. *世界华人消化杂志* 2006;14(35):3391-3396

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3391.asp>

0 引言

胃肠道恶性肿瘤是发病率和死亡率均较高的疾病, 严重威胁着人民健康。探讨胃肠道恶性肿瘤发病的分子机制, 以找寻新的预防和治疗方案已迫在眉睫。目前, 环氧合酶(COX)及其催化产生的前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用受到关注。研究认为, 前列腺素(PG)对肿

■背景资料

胃肠道恶性肿瘤是发病率和死亡率均较高的疾病, 严重威胁着人民健康。探讨胃肠道恶性肿瘤发病的分子机制, 以找寻新的预防和治疗方案已迫在眉睫。目前, 环氧合酶及其催化产生的前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用受到关注。

■ 研发前沿

COX-2通过前列腺素途径除参与炎症反应外,还与胃肠道肿瘤发生、发展关系密切,COX-2在结直肠癌、胃癌和食管癌中的作用主要是通过PGE₂等前列腺素来调节的,目前的研究认为,前列腺素对肿瘤的促进作用主要牵涉下列分子机制:促进细胞增殖、抑制凋亡、促进侵袭和转移、刺激血管生成和诱导免疫抑制。

瘤的促进作用主要牵涉下列分子机制:促进细胞增殖、抑制凋亡、促进侵袭和转移、刺激血管生成和诱导免疫抑制。对这些机制的研究,可为COX-2抑制剂在胃肠道肿瘤防治方面的应用提供分子学依据。

1 概述

当组织受到各种生理和病理因子刺激时,多不饱和脂肪酸(如花生四烯酸)在磷酸酶A₂的作用下,从细胞膜磷脂上游离出来,花生四烯酸可通过3种途径代谢:环氧合酶途径、脂氧合酶途径和细胞P450单氧合酶途径。通过COX作用,游离的花生四烯酸可合成多种前列腺素和血栓烷素(TXs)^[1-4]。在此过程中,花生四烯酸由环氧合酶作用转化成PGH₂为关键的调节步骤,PGH₂再由多个特异性PG合成酶作用而生成至少5种结构相似的有生物活性的脂类分子,包括PGE₂、PGD₂、PGF_{2α}、PGI₂和血栓烷素A₂(TXA₂)。NSAIDs就是通过抑制环氧合酶而抑制了前列腺素的生物合成,从而发挥抗炎、镇痛、退热的作用。COX-2催化所产生的PGE₂等前列腺素和消化道肿瘤有密切关系^[5-6]。前列腺素通过结合位于细胞表面的受体而发挥他的细胞生理功能,这些受体属于G蛋白耦联受体(GPCR),PGD₂受体被命名为DP, PGE₂受体为EP (EP₁、EP₂、EP₃和EP₄), PGF_{2α}受体为FP, PGI₂受体为IP, TXA₂受体为TP。最近研究表明, PGE₂显著增加了氧化偶氮甲烷(AOM)所诱导的结肠肿瘤的发生率和多样性^[7],进一步的实验发现, PGE₂明显增加了AOM诱导的结肠癌细胞增殖并减少凋亡,在这些肿瘤组织中能检测到所有4种EP受体,提示PGE₂通过与其受体相结合而发挥了上述作用。PGE₂在结直肠癌发生中的重要作用通过PGE₂受体纯合子缺失实验被进一步证实,实验发现, EP₁和EP₄受体在其中发挥重要作用^[8-10]。另外,研究还发现, EP₂受体破坏可减少APC^{Δ716}敲除鼠的肠息肉的数量和大小^[11]。同时,在致癌原处理的野生型鼠中, EP₁受体拮抗剂也能减少结肠癌的发生率,相似的实验还有:在APC^{min}鼠中用EP₁受体拮抗剂和EP₄受体拮抗剂处理后,其肠道息肉分别减少57%和69%^[8-9]。除结直肠癌之外,在COX-2 MMTV乳腺癌鼠中也发现EP₁、EP₂和EP₄受体高表达^[12]。这些实验充分说明PGE₂与肿瘤发生、发展的密切相关性。

已有研究显示,在结肠癌、胃癌和乳腺癌中,COX-2表达与肿瘤血管形成,淋巴结转移和

凋亡减少呈正相关^[13-16],为探索COX-2的生物学作用,对COX-2来源的PGE₂作用机制成为目前研究的热点之一。众多的研究提示,COX-2来源的PGE₂通过活化EP受体而激活下游的信号通路,随后增加细胞增殖、抑制凋亡、促进血管形成、刺激侵袭和转移,抑制免疫反应,从而促进肿瘤的发生、发展。

2 前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发生中的分子机制

2.1 刺激细胞增殖 COX-2来源的PGE₂可明显刺激结直肠癌(CRC)细胞增殖^[17],但PGE₂诱导的细胞增殖的相关下游信号通路尚不清楚,在CRC细胞中,增加COX-2的表达能反向激活(transactive)EGFR而刺激细胞增殖^[18],在乳腺癌和肺癌中也发现PGE₂在的作用涉及EGFR信号通路^[19]。联合应用非选择性NSAIDs抑制剂与EGFR抑制剂可显著减少APC^{min}鼠结肠息肉的形成^[20],提示联合应用EGFR抑制剂用于癌症防治的有效性。同时,在移植瘤研究中联合COX-2选择性抑制剂、EGFR抑制剂和蛋白激酶A反义核苷酸,可明显减少结肠癌和乳腺癌细胞的增殖和血管形成^[21],还有报道,阻滞EGFR信号通路可抑制COX-2诱导的HCA-7移植瘤的生长^[22-23]。上述研究都提示EGFR信号通路的激活可能参与了PGE₂对胃肠道恶性肿瘤的促进作用。

2.2 促进血管形成 由于>2-3 mm的实体瘤均需血管形成而得以继续增生^[24-25],因而血管生成在人类肿瘤生长中发挥了关键作用,故抑制肿瘤相关的血管生成成为肿瘤治疗的策略之一。最近,VEGF抗体bevacizumab被发现能够延长转移性结肠癌(CRC)无浸润生存期约10 mo^[26],故VEGF成为CRC的有效治疗靶点,同时与VEGF相关的基因研究也成为研究热点。在COX-2基因敲除鼠中结直肠癌生长和血管密度明显减弱,说明COX-2在肿瘤血管形成过程中发挥重要作用,另一方面非选择性和选择性NSAIDs都能有效抑制血管生成相关因子分泌,从而抑制血管内皮细胞增殖、迁移和血管形成^[27-30]。这些研究结果充分说明,COX-2可通过诱导血管生成因子的分泌而刺激内皮细胞增殖、迁移和血管形成。更深入的研究发现非选择性和选择性NSAIDs可通过抑制COX-2而抑制MAPK信号转导途径,从而减少内皮细胞的增殖、迁移和血管形成^[27,31],COX-2抑制剂还能抑制αVβ3调节的Cdc42/Rac依赖的内皮细胞的迁移^[32],这些结果又进一步

证实, COX-2在肿瘤的血管形成中发挥重要作用, 提示NSAIDs可作为抗肿瘤血管生成药物而应用于临床. 在CRC细胞中, COX-2过表达可刺激血管生成因子如VEGF和bFGF分泌^[26], 这些作用主要可能由PGE₂来调节. 研究已发现, PGE₂能够逆转NSAIDs的抗血管生成作用^[33], 而EP₂纯合子缺失能明显也减少APC^{Δ716}鼠肉中VEGF的产生^[34], 说明PGE₂通过EP受体而上调了血管生成因子. 这方面的研究方兴未艾, Trompezinski *et al*^[35]报道, PGE₂可上调人成纤维细胞的VEGF的表达, Pai *et al*^[36]报道, PGE₂通过激活ERK₂/JNK₁信号通路增加血管内皮细胞VEGF和bFGF的表达, Dormond *et al*^[37]又报道PGE₂还能促进αVβ3-Cdc42/Rac依赖的内皮细胞的迁移和侵袭, 还有研究报道^[38-39]PGE₂亦可促进胃癌细胞VEGF的表达,可能经由EGFR介导的通路. 这些研究几乎同时证明PGE₂对肿瘤血管形成的促进作用. 有趣的是, VEGF和bFGF也能够反过来诱导内皮细胞COX-2表达和相应前列腺素物质的增加^[40], 上调的PGE₂又进一步上调VEGF和bFGF诱导的CXCR4依赖的肿瘤血管形成^[41], 因此, COX-2来源的PGE₂在肿瘤血管形成中的作用可能通过其正反馈环效应而进一步放大.

2.3 抑制凋亡 细胞增殖和凋亡的失衡导致肿瘤生长, 抑制凋亡而延长细胞生存, 使得基因突变进一步积累, 导致肿瘤的进展. 在散发性结肠腺瘤和癌中, 细胞凋亡减少, 在FAP患者的结直肠黏膜中也有类似情况^[42-43]. 在结肠腺瘤和结肠癌中分别有50%和90%患者COX-2表达增加, 而在正常结肠黏膜中无表达, 进一步的研究发现, COX-2过表达能够抑制丁酸钠所诱导的鼠肠上皮细胞凋亡、增加Bcl-2蛋白表达^[44]. 选择性COX-2抑制剂NS398能诱导15种结直肠癌细胞系凋亡, 而在表达COX-2细胞系中效果更显著, 在小鼠的胃癌细胞中提示NSAIDs能通过抑制COX-2而抑制细胞的增殖并诱导肿瘤细胞凋亡^[45-47]. 上述研究证据说明, COX-2在CRC的细胞凋亡抑制中发挥了重要作用. COX-2抑制凋亡的机制和其产物前列腺素有密切关系. 研究已显示, PGE₂在大部分人结肠癌中高表达, 同时PGE₂能够抑制非选择性NSAIDs和选择性COX-2抑制剂SC-58125所诱导的人结肠癌细胞凋亡^[45], 提示PGE₂可增强细胞对凋亡的抵制能力, 然而PGE₂影响细胞凋亡的详细机制仍不清楚. PGE₂可能通过增加抗凋亡蛋白如Bcl-2或其他Bcl基因家族成员如Mcl-1的水平来减少细胞凋亡^[48], 另一种可能是PGE₂

诱导了抗凋亡信号通路NF-κB的转录活性^[49]. 在研究PGE₂对细胞凋亡影响的同时, 关于NSAID诱导凋亡的非COX依赖机制又被报道^[50], 研究表明, NSAIDs的抗肿瘤效应并不完全依赖于COX途径, 高剂量的NSAIDs能够调节非COX基因^[51-52], 包括15-LOX-1^[53]、促凋亡基因Par-4^[54]、抗凋亡基因Bcl-X2^[55]和抗凋亡基因NF-κB^[56-57], 从而抑制肿瘤生长, 促进凋亡. 这两方面的作用机制都有待人们去进一步研究. 高表达的COX-2和高水平的PGE₂抑制凋亡、延长细胞生存, 从而导致治疗抵抗, 引起学者对于联合NSAIDs和传统抗癌药物(如顺铂)应用于肿瘤治疗产生了巨大兴趣, 是否联合化疗药(和/或放疗)与长期服用NSAIDs有更好的反应, 尚须进一步研究. 初步研究显示, COX-2选择性抑制剂可增强放疗效果^[58].

2.4 增强侵袭性 大部分实体恶性肿瘤, 如结直肠癌, 主要死因是远处转移. 一项临床研究显示, 非选择性NSAIDs吲哚美辛能增加晚期转移性胃和结肠癌患者的生存期, 并能减轻其疼痛^[59]. 然而另一项临床实验显示, 选择性COX-2抑制剂罗非昔布治疗转移性CRC收益较小^[60], 但在鼠肝转移模型的研究中, 罗非昔布却能够明显抑制结直肠癌细胞的生长和转移能力^[61-62]. 此外, 体外研究证实, COX-2的过表达增加了结直肠癌细胞的侵袭性^[63], 这些研究都提示, COX-2/PGE₂在消化道肿瘤侵袭和转移过程中扮演了重要角色. 最近的研究正在探索PGE₂作用所可能涉及的下游信号转导通路, Pai *et al*^[64]的研究发现, PGE₂通过反向激活(transactivate)EGFR而促进CaCo-2结肠癌细胞生长, 最近Buchanan *et al*^[65]又报道, PGE₂可通过EP4-EGFR-PI3K-AKT途径促进LS-174T结肠癌细胞株的侵袭性, 这两项研究都提示, EGFR信号通路在PGE₂促进肿瘤侵袭和转移过程中可能发挥重要作用. 之前的研究已发现, EGFR的表达与CRC肝转移能力相关^[66], 现在又进一步在分子水平上证实EGFR和肿瘤发生、发展的高度相关性, 显示了EGFR抑制剂在临床肿瘤治疗中的价值和地位. 研究已证明, 联合应用NSAIDs和EGFR抑制剂可显著抑制APC^{min}鼠结肠息肉的形成^[19], 可见EGFR抑制剂用于消化道肿瘤的防治已初见端倪.

2.5 免疫抑制 恶性肿瘤的免疫反应可分为两大类: 细胞免疫和体液免疫. 树突细胞(DCS)作为专职抗原递呈细胞, 在激活人体对肿瘤的免疫反应中起关键作用. 研究已发现, DCS内COX-2表达能抑制DCS功能^[67], 而且PGE₂通过EP₂受

■ 相关报道

目前, 已有一些研究在探索4种EP受体在不同肿瘤中表达情况和PGE₂等前列腺素作用于不同EP受体后各自介导的生物学行为之间的区别, 这些问题的阐明能为肿瘤防治提供新的药物作用靶点.

■创新盘点

本文从刺激细胞增殖、促进血管形成、抑制凋亡、增强侵袭性、免疫抑制、增加基因突变等多个方面综述了前列腺素类物质在胃肠道肿瘤发病分子机制中的作用。

体也可抑制DCS的分化和功能,从而减弱细胞免疫所调节的抗肿瘤反应^[68]。进一步研究发现,PGE₂能抑制NK细胞和巨噬细胞的抗肿瘤活性,还能抑制T淋巴细胞产生抗肿瘤Th1相关细胞因子(如TNF- α , IFN- γ 和IL-2)的能力^[69],同时PGE₂却上调Th₂相关细胞因子的产生,如角化细胞产生的IL-4,外周血淋巴细胞和巨噬细胞产生的IL-10^[70-71]和T淋巴细胞产生的IL-6^[72]。在恶性肿瘤中,从Th₁免疫反应转换成Th₂占优势的免疫反应,可导致机体抗肿瘤的细胞免疫反应被抑制,可见,PGE₂可给予肿瘤细胞逃避免疫攻击的机会。

2.6 增加基因突变 环氧合酶有过氧化物酶的活性作用^[73-74],COX-1和COX-2能活化多种环境和食物致癌原,导致基因突变^[75-76]。但COX-2和PGE₂在消化道肿瘤中的这部分作用尚待进一步研究。

3 展望

胃肠道肿瘤发生、发展是多基因、多因素、多步骤的协同作用过程,COX-2及其前列腺素类物质的过表达只是其中的一种机制,对COX-2及其选择性抑制剂作用的分子机制的研究有可能进一步揭示肿瘤发生、发展的过程,并为肿瘤化学预防提供新途径。有证据已提示非选择性NSAIDs和COX-2选择性抑制剂能通过抑制PGE₂的合成,从而降低结直肠癌、胃癌和食管癌的风险,这些抑制剂也能使癌前病变的腺瘤消退。同时许多研究也直接证实了COX-2在结直肠癌、胃癌和食管癌中的作用主要是通过PGE₂来实现的,COX-2来源的PGE₂的作用是复杂的,其能够促进细胞增殖,抑制凋亡,促进侵袭和转移,刺激血管生成,诱导免疫抑制。因此,PGE₂受体和/或PGE合成酶可能是结直肠癌、胃癌和食管癌化学预防和治疗的新靶点之一。

4 参考文献

- Herschman HR. Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1299: 125-140
- Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998; 12: 1063-1073
- Herschman HR, Xie W, Reddy S. Inflammation, reproduction, cancer and all that.... The regulation and role of the inducible prostaglandin synthase. *Bioessays* 1995; 17: 1031-1037
- Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 145-182
- Rigas B, Goldman IS, Levine L. Altered eicosanoid

levels in human colon cancer. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 518-523

- Fujimura T, Ohta T, Oyama K, Miyashita T, Miwa K. Role of cyclooxygenase-2 in the carcinogenesis of gastrointestinal tract cancers: a review and report of personal experience. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1336-1345
- Kawamori T, Uchiya N, Sugimura T, Wakabayashi K. Enhancement of colon carcinogenesis by prostaglandin E2 administration. *Carcinogenesis* 2003; 24: 985-990
- Watanabe K, Kawamori T, Nakatsugi S, Ohta T, Ohuchida S, Yamamoto H, Maruyama T, Kondo K, Ushikubi F, Narumiya S, Sugimura T, Wakabayashi K. Role of the prostaglandin E receptor subtype EP1 in colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1999; 59: 5093-5096
- Mutoh M, Watanabe K, Kitamura T, Shoji Y, Takahashi M, Kawamori T, Tani K, Kobayashi M, Maruyama T, Kobayashi K, Ohuchida S, Sugimoto Y, Narumiya S, Sugimura T, Wakabayashi K. Involvement of prostaglandin E receptor subtype EP(4) in colon carcinogenesis. *Cancer Res* 2002; 62: 28-32
- Fulton AM, Ma X, Kundu N. Targeting prostaglandin E EP receptors to inhibit metastasis. *Cancer Res* 2006; 66: 9794-9797
- Sonoshita M, Takaku K, Sasaki N, Sugimoto Y, Ushikubi F, Narumiya S, Oshima M, Taketo MM. Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat Med* 2001; 7: 1048-1051
- Chang SH, Liu CH, Conway R, Han DK, Nithipatikom K, Trifan OC, Lane TF, Hla T. Role of prostaglandin E2-dependent angiogenic switch in cyclooxygenase 2-induced breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 591-596
- Gupta RA, Dubois RN. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 11-21
- Turini ME, DuBois RN. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target. *Annu Rev Med* 2002; 53: 35-57
- Saukkonen K, Rintahaka J, Sivula A, Buskens CJ, Van Rees BP, Rio MC, Haglund C, Van Lanschot JJ, Offerhaus GJ, Ristimaki A. Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis. *APMIS* 2003; 111: 915-925
- Costa C, Soares R, Reis-Filho JS, Leitao D, Amendoeira I, Schmitt FC. Cyclo-oxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 429-434
- Sheng H, Shao J, Washington MK, DuBois RN. Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 18075-18081
- Yoshimoto T, Takahashi Y, Kinoshita T, Sakashita T, Inoue H, Tanabe T. Growth stimulation and epidermal growth factor receptor induction in cyclooxygenase-overexpressing human colon carcinoma cells. *Adv Exp Med Biol* 2002; 507: 403-407
- Kelloff GJ, Fay JR, Steele VE, Lubet RA, Boone CW, Crowell JA, Sigman CC. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 657-666
- Torrance CJ, Jackson PE, Montgomery E, Kinzler KW, Vogelstein B, Wissner A, Nunes M, Frost P, Discafani CM. Combinatorial chemoprevention of

- intestinal neoplasia. *Nat Med* 2000; 6: 1024-1028
- 21 Tortora G, Caputo R, Damiano V, Melisi D, Bianco R, Fontanini G, Veneziani BM, De Placido S, Bianco AR, Ciardiello F. Combination of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 and protein kinase A antisense causes cooperative antitumor and antiangiogenic effect. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1566-1572
 - 22 Mann M, Sheng H, Shao J, Williams CS, Pisacane PI, Sliwowski MX, DuBois RN. Targeting cyclooxygenase 2 and HER-2/neu pathways inhibits colorectal carcinoma growth. *Gastroenterology* 2001; 120: 1713-1719
 - 23 Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest* 2001; 19: 554-568
 - 24 Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, Trzaskos JM, Evans JF, Taketo MM. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 1996; 87: 803-809
 - 25 Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest* 2000; 105: 1589-1594
 - 26 Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2342
 - 27 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716
 - 28 Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, Edwards DA, Flickinger AG, Moore RJ, Seibert K. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000; 60: 1306-1311
 - 29 Skopinska-Rozewska E, Piazza GA, Sommer E, Pamukcu R, Barcz E, Filewska M, Kupis W, Caban R, Rudzinski P, Bogdan J, Mlekodaj S, Sikorska E. Inhibition of angiogenesis by sulindac and its sulfone metabolite (FGN-1): a potential mechanism for their antineoplastic properties. *Int J Tissue React* 1998; 20: 85-89
 - 30 Sawaoka H, Tsuji S, Tsujii M, Gunawan ES, Sasaki Y, Kawano S, Hori M. Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth *in vivo*. *Lab Invest* 1999; 79: 1469-1477
 - 31 Jones MK, Wang H, Peskar BM, Levin E, Itani RM, Sarfeh IJ, Tarnawski AS. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med* 1999; 5: 1418-1423
 - 32 Dormond O, Foletti A, Paroz C, Ruegg C. NSAIDs inhibit alpha V beta 3 integrin-mediated and Cdc42/Rac-dependent endothelial-cell spreading, migration and angiogenesis. *Nat Med* 2001; 7: 1041-1047
 - 33 Hernandez GL, Volpert OV, Iniguez MA, Lorenzo E, Martinez-Martinez S, Grau R, Fresno M, Redondo JM. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis by cyclosporin A: roles of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase 2. *J Exp Med* 2001; 193: 607-620
 - 34 Iniguez MA, Rodriguez A, Volpert OV, Fresno M, Redondo JM. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. *Trends Mol Med* 2003; 9: 73-78
 - 35 Trompezinski S, Pernet I, Schmitt D, Viac J. UV radiation and prostaglandin E2 up-regulate vascular endothelial growth factor (VEGF) in cultured human fibroblasts. *Inflamm Res* 2001; 50: 422-427
 - 36 Pai R, Szabo IL, Soreghan BA, Atay S, Kawanaka H, Tarnawski AS. PGE(2) stimulates VEGF expression in endothelial cells via ERK2/JNK1 signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 923-928
 - 37 Dormond O, Bezzi M, Mariotti A, Ruegg C. Prostaglandin E2 promotes integrin alpha Vbeta 3-dependent endothelial cell adhesion, rac-activation, and spreading through cAMP/PKA-dependent signaling. *J Biol Chem* 2002; 277: 45838-45846
 - 38 Ding YB, Shi RH, Tong JD, Li XY, Zhang GX, Xiao WM, Yang JG, Bao Y, Wu J, Yan ZG, Wang XH. PGE2 up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN28 gastric cancer cells via epidermal growth factor receptor signaling system. *Exp Oncol* 2005; 27: 108-113
 - 39 肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 吴健, 童建东, 严志刚. PGE₂对胃癌MKN28细胞VEGF表达的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2546-2550
 - 40 Kage K, Fujita N, Oh-hara T, Ogata E, Fujita T, Tsu-ruo T. Basic fibroblast growth factor induces cyclooxygenase-2 expression in endothelial cells derived from bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254: 259-263
 - 41 Salcedo R, Zhang X, Young HA, Michael N, Waser-berman K, Ma WH, Martins-Green M, Murphy WJ, Oppenheim JJ. Angiogenic effects of prostaglandin E2 are mediated by up-regulation of CXCR4 on human microvascular endothelial cells. *Blood* 2003; 102: 1966-1977
 - 42 Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, Barber JP, Bedi GC, Giardiello FM, Zehnbauser BA, Hamilton SR, Jones RJ. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 1811-1816
 - 43 Pasricha PJ, Bedi A, O'Connor K, Rashid A, Akhtar AJ, Zahurak ML, Piantadosi S, Hamilton SR, Giardiello FM. The effects of sulindac on colorectal proliferation and apoptosis in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 1995; 109: 994-998
 - 44 Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995; 83: 493-501
 - 45 Li M, Wu X, Xu XC. Induction of apoptosis in colon cancer cells by cyclooxygenase-2 inhibitor NS398 through a cytochrome c-dependent pathway. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1010-1016
 - 46 Wu GS, Zou SQ, Liu ZR, Tang ZH, Wang JH. Celecoxib inhibits proliferation and induces apoptosis via prostaglandin E2 pathway in human cholangiocarcinoma cell lines. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1302-1306
 - 47 Yu J, Tang BD, Leung WK, To KF, Bai AH, Zeng ZR, Ma PK, Go MY, Hu PJ, Sung JJ. Different cell kinetic changes in rat stomach cancer after treatment with celecoxib or indomethacin: implications on chemoprevention. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 41-45
 - 48 Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer

■应用要点

COX-2来源的PGE₂等前列腺素类物质与胃肠道肿瘤发生、发展关系密切,因此,PGE₂受体和/或PGE合成酶可能是结直肠癌、胃癌和食管癌化学预防和治疗的新靶点之一,同时为COX-2选择性抑制剂在临床的应用提供了更多的分子学依据。

同行评价

本文科学性强、文字比较精练,比较客观的综述了前列腺素物质在胃肠道肿瘤发病机制中的作用,具有一定的可读性和参考性。

- cells. *Cancer Res* 1998; 58: 362-366
- 49 Poligone B, Baldwin AS. Positive and negative regulation of NF-kappaB by COX-2: roles of different prostaglandins. *J Biol Chem* 2001; 276: 38658-38664
- 50 Gasparini G, Longo R, Sarmiento R, Morabito A. Inhibitors of cyclo-oxygenase 2: a new class of anti-cancer agents? *Lancet Oncol* 2003; 4: 605-615
- 51 Janne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 342: 1960-1968
- 52 Piazza GA, Rahm AL, Kruttsch M, Sperl G, Paranka NS, Gross PH, Brendel K, Burt RW, Alberts DS, Pamukcu R. Antineoplastic drugs sulindac sulfide and sulfone inhibit cell growth by inducing apoptosis. *Cancer Res* 1995; 55: 3110-3116
- 53 Shureiqi I, Chen D, Lee JJ, Yang P, Newman RA, Brenner DE, Lotan R, Fischer SM, Lippman SM. 15-LOX-1: a novel molecular target of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis in colorectal cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1136-1142
- 54 Zhang Z, DuBois RN. Par-4, a proapoptotic gene, is regulated by NSAIDs in human colon carcinoma cells. *Gastroenterology* 2000; 118: 1012-1017
- 55 Zhang L, Yu J, Park BH, Kinzler KW, Vogelstein B. Role of BAX in the apoptotic response to anticancer agents. *Science* 2000; 290: 989-992
- 56 Yamamoto Y, Yin MJ, Lin KM, Gaynor RB. Sulindac inhibits activation of the NF-kappaB pathway. *J Biol Chem* 1999; 274: 27307-27314
- 57 Grilli M, Pizzi M, Memo M, Spano P. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kappaB activation. *Science* 1996; 274: 1383-1385
- 58 Davis TW, O'Neal JM, Pagel MD, Zweifel BS, Mehta PP, Heuvelman DM, Masferrer JL. Synergy between celecoxib and radiotherapy results from inhibition of cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2, a survival factor for tumor and associated vasculature. *Cancer Res* 2004; 64: 279-285
- 59 Lundholm K, Gelin J, Hyltander A, Lonnroth C, Sandstrom R, Svaninger G, Korner U, Gulich M, Karrefors I, Norli B. Anti-inflammatory treatment may prolong survival in undernourished patients with metastatic solid tumors. *Cancer Res* 1994; 54: 5602-5606
- 60 Fenwick SW, Toogood GJ, Lodge JP, Hull MA. The effect of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib on human colorectal cancer liver metastases. *Gastroenterology* 2003; 125: 716-729
- 61 Yao M, Kargman S, Lam EC, Kelly CR, Zheng Y, Luk P, Kwong E, Evans JF, Wolfe MM. Inhibition of cyclooxygenase-2 by rofecoxib attenuates the growth and metastatic potential of colorectal carcinoma in mice. *Cancer Res* 2003; 63: 586-592
- 62 Yamauchi T, Watanabe M, Hasegawa H, Nishibori H, Ishii Y, Tatematsu H, Yamamoto K, Kubota T, Kitajima M. The potential for a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in the prevention of liver metastasis in human colorectal cancer. *Anticancer Res* 2003; 23: 245-249
- 63 Yoshimi N, Shimizu M, Matsunaga K, Yamada Y, Fujii K, Hara A, Mori H. Chemopreventive effect of N-(2-cyclohexyloxy-4-nitrophenyl)methane sulfonamide (NS-398), a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in rat colon carcinogenesis induced by azoxymethane. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 406-412
- 64 Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002; 8: 289-293
- 65 Buchanan FG, Wang D, Bargiacchi F, DuBois RN. Prostaglandin E2 regulates cell migration via the intracellular activation of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2003; 278: 35451-35457
- 66 Radinsky R. Modulation of tumor cell gene expression and phenotype by the organ-specific metastatic environment. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14: 323-338
- 67 Sharma S, Stolina M, Yang SC, Baratelli F, Lin JF, Atianzar K, Luo J, Zhu L, Lin Y, Huang M, Dohadwala M, Batra RK, Dubinett SM. Tumor cyclooxygenase 2-dependent suppression of dendritic cell function. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 961-968
- 68 Yang L, Yamagata N, Yadav R, Brandon S, Courtney RL, Morrow JD, Shyr Y, Boothby M, Joyce S, Carbone DP, Breyer RM. Cancer-associated immunodeficiency and dendritic cell abnormalities mediated by the prostaglandin EP2 receptor. *J Clin Invest* 2003; 111: 727-735
- 69 Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP. Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol* 2002; 23: 144-150
- 70 Shreedhar V, Giese T, Sung VW, Ullrich SE. A cytokine cascade including prostaglandin E2, IL-4, and IL-10 is responsible for UV-induced systemic immune suppression. *J Immunol* 1998; 160: 3783-3789
- 71 Huang M, Stolina M, Sharma S, Mao JT, Zhu L, Miller PW, Wollman J, Herschman H, Dubinett SM. Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation of cytokine balance in lymphocytes and macrophages: up-regulation of interleukin 10 and down-regulation of interleukin 12 production. *Cancer Res* 1998; 58: 1208-1216
- 72 Della Bella S, Molteni M, Compasso S, Zulian C, Vanoli M, Scorza R. Differential effects of cyclooxygenase pathway metabolites on cytokine production by T lymphocytes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 56: 177-184
- 73 Ohki S, Ogino N, Yamamoto S, Hayaishi O. Prostaglandin hydroperoxidase, an integral part of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes. *J Biol Chem* 1979; 254: 829-836
- 74 Munroe DG, Wang EY, MacIntyre JP, Tam SS, Lee DH, Taylor GR, Zhou L, Plante RK, Kazmi SM, Bauerle PA. Novel intracellular signaling function of prostaglandin H synthase-1 in NF-kappa B activation. *J Inflamm* 1995; 45: 260-268
- 75 Wiese FW, Thompson PA, Kadlubar FF. Carcinogen substrate specificity of human COX-1 and COX-2. *Carcinogenesis* 2001; 22: 5-10
- 76 Josephy PD, Eling TE, Mason RP. Co-oxidation of benzidine by prostaglandin synthase and comparison with the action of horseradish peroxidase. *J Biol Chem* 1983; 258: 5561-5569

电编 李琪 编辑 王晓瑜

肝硬化与睾酮、雌二醇相互作用关系研究现状

洪美珠, 陈国良

洪美珠, 福建中医学院中西医结合专业2004级硕士研究生
厦门中医院肝病中心 福建省厦门市 361000
陈国良, 厦门中医院肝病中心 福建省厦门市 361000
通讯作者: 陈国良, 361000, 福建省厦门市仙岳路, 厦门中医院肝病中心. hongyys@sina.com
电话: 0592-5579536
收稿日期: 2006-09-03 接受日期: 2006-10-11

Current status on the interaction of testosterone and estradiol with liver cirrhosis

Mei-Zhu Hong, Guo-Liang Chen

Mei-Zhu Hong, Postgraduate from Fujian College of Traditional Chinese Medicine; Center of Liver Diseases, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361000, Fujian Province, China
Guo-Liang Chen, Center of Liver Diseases, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361000, Fujian Province, China
Correspondence to: Guo-Liang Chen, Center of Liver Diseases, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xiamen 361000, Fujian Province, China. hongyys@sina.com
Received: 2006-09-03 Accepted: 2006-10-11

Abstract

Liver acts as one of the pivotal organs that are involved in the transformation and degradation *in vivo* of the sex hormones, such as testosterone and estradiol. However, the sex hormones are not degraded in the liver simply and passively. They themselves and their metabolites play key roles in the occurrence and development of liver diseases. There are metabolic disorders of testosterone and estradiol in the cirrhotic patients; On the contrary, sex hormones have certain influences on the occurrence of liver cirrhosis, even hepatocellular carcinoma. Comprehensive understanding of this interaction relationship is significant for liver cirrhosis both in prevention and novel treatments. In this article, we probed into the expression of both testosterone and estradiol under the physiological and pathological state, respectively, as well as the influences of testosterone and estradiol on the pathogenesis and prognosis of cirrhosis.

Key Words: Liver cirrhosis; Testosterone; Estradiol; Interaction

Hong MZ, Chen GL. Current status on the interaction of testosterone and estradiol with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3397-3401

摘要

肝脏是睾酮、雌二醇等性激素在体内转化、降解的重要器官,但性激素并不是简单、被动地在肝内被代谢降解,其本身或代谢产物均参与肝脏疾病的发生、发展过程。肝硬化发生时可导致性激素睾酮、雌二醇代谢紊乱;相反地,性激素对肝硬化甚至肝癌的发生也有一定的影响。深入了解这一相互作用关系对于预防肝硬化的发生、探索肝硬化的治疗新途径具有重要意义。本文探讨了生理状态、病理状态下睾酮、雌二醇的表达变化,并探讨了睾酮、雌二醇对肝硬化发病的影响及其与肝硬化预后关系。

关键词: 肝硬化; 睾酮; 雌二醇; 相互作用

洪美珠, 陈国良. 肝硬化与睾酮、雌二醇相互作用关系研究现状. *世界华人消化杂志* 2006;14(35):3397-3401
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3397.asp>

0 引言

肝脏是多种激素(包括性激素)转化、降解的重要器官。但性激素并不是简单、被动的在肝内被代谢降解,其本身或代谢产物均参与肝脏疾病的发生、发展过程。流行病学及实验研究均提示,肝癌等慢性肝病患病率存在性别差异^[1-2],性激素在其发病机制中起到重要作用。1982年在意大利Serono召开的内分泌与肝脏专题研讨会提出了“下丘脑-垂体-肝轴”的新概念,把肝脏看成是使激素、介质等调节因子成为一个统一体的重要部位。原因在于,肝硬化发生时可导致性激素睾酮(testosterone, T)、雌二醇(estradiol, E2)代谢紊乱;相反,性激素对肝硬化甚至肝癌的发生也有一定的影响。我们就肝硬化与T、E2的相互关系作一综述。

■背景资料

肝脏是多种激素包括性激素转化、降解的重要器官,但性激素并不是简单、被动的在肝内被代谢降解,其本身或代谢产物均参与肝脏疾病的发生、发展过程。有学者认为,肝脏是使激素、介质等调节因子成为一个统一体的重要部位,肝硬化发生时可导致性激素睾酮、雌二醇代谢紊乱;相反,性激素对肝硬化甚至肝癌的发生也有一定的影响。

■研究前沿

肝硬化发生后睾酮、雌二醇代谢改变,导致体内性激素水平紊乱;另一方面,睾酮、雌二醇也参与肝硬化的发生、发展过程,甚至在原发性肝癌的发生亦起到重要作用,近年来,睾酮、雌二醇在肝硬化发病机制中的作用倍受关注,成为肝病领域的研究热点。

1 T、E2与肝脏的生理关系

T为人体内活性最高的雄激素,主要由睾丸间质细胞分泌,正常血中3%的T为游离型,40%与性激素结合球蛋白(sex hormone binding protein, SHBG)结合,另有40%与白蛋白结合,约17%与其他血浆蛋白结合^[3]。T在肝脏内转变为17-酮固醇,经葡萄糖醛酸化或硫酸化后从尿中排出。E2主要在卵巢、胎盘合成,约1%的男性雄激素在肝脏内通过细胞色素P450依赖环芳香族转化成雌激素。大部分的E2与SHBG、白蛋白结合,仅少许为游离型。雌激素在肝脏内通过羟基化和结合降解等形式,生成葡萄糖醛酸化和硫酸化结合物^[4],其中约半数经尿和胆汁排出,80%胆道分泌的雌激素结合物在肠道内水解后再吸收,进行肠肝循环。雌激素可促进肝内蛋白质的合成,提高肝脏Kupffer细胞的吞噬能力,抑制胆汁分泌,抑制胆酸排泄及细胞色素P450酶系活性;而雄激素同样可增加肝脏蛋白质的合成,但其促进细胞色素P450酶系的活性^[5]。

2 肝硬化时血清T、E2的改变

前肝脏是性激素代谢、降解、转化的主要器官,肝硬化患者常有性激素水平的改变。大多研究认为,肝硬化患者血清T降低,而E2升高。如张顺财 *et al*^[6]研究得出,乙型肝炎肝硬化患者T浓度明显低于正常人, E2浓度明显高于正常人,其中Child-pugh分级C级患者的E2水平高于A级和B级患者,而各级患者间的T浓度均无明显差异。徐希岳^[7]亦研究认为,肝炎肝硬化患者血清T值明显低于正常健康人,而E2/T比值则高于健康人,失代偿期患者血清T水平明显低于代偿期患者。男性酒精性肝硬化患者中可观察到类似现象,即血浆中SHBG水平显著增高,而非蛋白结合及非SHBG结合的T水平显著下降^[8]。并且,在肝硬化基础上发生癌变后E2水平将进一步升高($P \leq 0.05$),大鼠模型中可观察到这一现象^[9-10]。肝硬化患者血清T值降低,可能与以下因素有关:(1)肝硬化患者如血清E2含量增高,可反馈性抑制垂体促性腺激素的释放,从而引起睾丸间质细胞分泌雄激素减少^[11];(2)肝硬化时17- β 氢化酶活性减低,减少雄烯二酮向T转化^[12];(3)胰岛素水平升高,抑制雄性激素合成,并且肝功能受损程度越重,这种紊乱越明显^[13];(4)肝硬化时存在内毒素血症,内毒素刺激睾丸巨噬细胞等间质细胞释放大量细胞因子,激活诱生型一氧化氮合成酶(iNOS)合成释放大量一氧化氮(NO),

NO合成增加可能抑制T的合成与释放^[14]。至于E2升高则可能有以下原因:(1)外周组织T向E2转化增强和肾上腺内雄烯二酮向雌酮转化增强^[15];(2)肝脏对雌激素的灭活功能减退,特别是在门脉高压伴有门-体循环短路患者中,经肠道再吸收的雌激素可逃逸肝脏的代谢而直接进入体循环。Cantrill *et al*^[16]报道门静脉结扎后肝脏对E2的16 α -羟基化作用减弱,从而导致E2在体内累积。但近年来亦有研究认为,肝硬化患者血清E2水平可降低或正常。如黄培宁^[17]对97例男性肝硬化患者的血清T、E2进行检测,结果肝硬化组T、E2浓度明显低于正常对照组。余剑英 *et al*^[18]的研究亦得出类似结果。造成观察结果差异的原因可能有:(1)男性体内E2主要由于T转化而来,T水平对E2的生成有较大影响,因此不同肝功能时期T水平的变化可以直接影响E2测量值;(2)可能存在影响E2测量值而尚未被阐明的分组因素。

3 T及E2对肝硬化的影响

目前多为探讨肝硬化对T、E2的影响,而T、E2对肝硬化的影响研究较少。现有研究表明,雌激素在一定生理剂量范围内具有抗肝纤维化作用。如Yasuda *et al*^[19]研究显示,在培养的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)中,E2具有抑制 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达、I型胶原形成、细胞增殖及抗氧化应激等作用。E2抗肝纤维化作用的机制可能如下:(1)抑制HSC的活化^[20],抑制HSC表达 α -SMA,减少肝脏I型胶原、透明质酸和IV型胶原的合成^[21],从而减少细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的形成。E2的抗肝纤维化作用亦可能与雌激素受体表达上调有关^[22],如E2可促进HSC表达雌激素受体(ER) β 蛋白^[23];(2)通过MMP-1/TIMP-1途径增加ECM降解而发挥抗肝纤维化作用^[24];(3)目前已知转化生长因子 β 1能促进肝纤维化的发展。E2可抑制肝纤维化大鼠肝脏I、III型胶原蛋白及转化生长因子 β 1的合成表达,从而发挥对肝纤维化的抑制作用^[25]。(4)雌激素是一种强力的内源性抗氧化剂,可减轻脂质过氧化作用^[26],而脂质过氧化作用是HSC活化的重要机制之一,E2还可减少培养的大鼠肝细胞中NF- κ B及I κ B- α 的表达^[27];(5)增强肝细胞中抗氧化酶-GPx的活性^[28],诱导表达具有抗氧化作用的酶类如铜-锌SOD及谷胱甘肽过氧化物酶等^[29];(6)通过对人端粒酶逆转录酶的反式激活延缓慢性肝病的进展^[30]。由此可见,E2的抗肝纤维化机制是多方面的、多水平

的. 他可通过激活抗氧化酶和抑制脂质过氧化等多种作用抑制HSC活化, 从而减少ECM合成, 促进ECM降解, 并能通过稳定端粒酶而延缓肝细胞衰老. 此外, 雌激素的代谢产物也具有抗纤维化作用^[23,31].

然而, 在某些情况下雌激素亦可能促进肝脏疾病的进展. 表现在: (1)E2与表皮生长因子有协同作用, 能促进培养的肝细胞早期表达c-fos mRNA, 并最终增强DNA合成^[32]; (2)E2可促进肝内胆管上皮的增殖^[33], 胆管结扎术后给予雌激素拮抗剂可减少肝纤维化^[34]; (3)E2的衍生物3-苯甲酸E2可通过增强氧化应激及诱导HSC活化等机制, 促进硫代乙酰胺的致肝硬化作用^[35]; (4)男性患者中常见的高雌激素血症可能与硬化肝脏的癌变有一定关系^[36].

此外, 雄激素对雌激素的抗肝纤维化作用有一定的拮抗作用. 研究表明雌激素能改善雄性去势纤维化大鼠的肝功能, 降低ECM分泌和转化生长因子的表达, 而对完整雄性大鼠肝纤维化形成无影响. 推测随着肝纤维化形成, 雄性大鼠体内E2水平显著升高, 可能是机体对损伤的一种自我保护, 但是体内相对较高的T水平却使雌激素无法发挥其生物效应^[37].

国内肝硬化多由乙型肝炎进展而成, 近年来研究发现, T、E2与乙肝病毒关系密切. Alomg *et al*^[38]发现, 雌激素能抑制雄性鼠HBV-DNA的表达, 还能抑制HBsAg的合成, 补充雌激素可抑制雄性鼠HBsAg的产生. 但在男性体内, 可逆性抑制内源性T水平对HBsAg或HBV-DNA的血浆浓度并无影响^[39]. 鞠胜芝 *et al*^[40]进一步研究报道, 男性乙肝患者HBV-DNA含量与血清T呈显著正相关, 与E2呈显著负相关, 女性患者HBV-DNA含量与性激素无显著相关, 推测性激素对男性患者的HBV-DNA含量具有调节作用.

4 T及E2与肝硬化预后关系

T、E2与肝硬化预后的关系体现在: (1)性激素特别是血清T水平可作为临床上评价肝硬化肝功能状态, 判断预后的参考指标之一. 大部分的临床研究认为, 血清T的降低程度与肝功受损程度明显相关, 肝功失代偿期T浓度低于代偿期; (2)T、E2水平可能对肝硬化向原发性肝癌进展具有一定的影响. Tanaka *et al*^[41]检测46名日本丙型肝炎肝硬化患者的血清T、E2的含量, 发现血清游离的T水平及T/E2比值与原发性肝癌的发生具有一定的相关性, 血清T水平上升和雌激素水

平下降可能促进肝硬化向肝癌进展. 但是更大样本研究得出的结论有所不同. Yu *et al*^[42]对4841名台湾男性乙肝病毒携带者的血清T、E2浓度与肝癌关系进行前瞻性研究, 得出E2或T/E2比值与肝癌的发生率无明显相关. 目前, 许多学者同意肝癌是雄激素依赖性肿瘤, 部分实验表明给予失去手术机会的肝癌患者以抗雄激素治疗, 有良好的效果, 但也有部分患者抗激素治疗无效, 可能与雄激素受体含量低或无表达有关^[43]. 宋杨 *et al*^[44]证实原发性肝细胞肝癌、非癌肝组织(肝硬化、肝海绵状血管瘤)及正常肝组织均存在ER- α 和ER- β , 进一步说明, 原发性肝癌可能具有一定的激素依赖性, 肝癌组织与非癌组织比较, ER- α 的含量无明显差异, ER- β 的含量却显著降低. 并且, 研究认为, 血清E2水平增高与原发性肝癌转移有关, 他有可能通过促进血管内皮生长因子和层黏连蛋白受体的合成而影响肿瘤的转移过程^[45].

总之, 肝硬化与T、E2相互影响. 虽然目前肝硬化与性激素关系已得到了一定的阐明, 并且部分已达成共识, 但肝硬化对性激素的影响近年来无明显的突破性研究, 特别是在分子机制上值得进一步探讨; 而在性激素对肝硬化影响方面上多局限于实验动物研究, 且有时结论相左, 临床研究例如改变人体内的激素水平对肝硬化临床、病理的影响如何, 所见报道甚少. 进一步深入了解二者的关系, 或许可为今后肝硬化的治疗提供新思路.

5 参考文献

- 1 Bosch FX, Ribes J, Borrás J. Epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 271-285
- 2 De Maria N, Manno M, Villa E. Sex hormones and liver cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 193: 59-63
- 3 吴赛珠. 性激素平衡紊乱与疾病. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2005: 216
- 4 Jasonni VM, Bulletti C, Bolelli GF, Franceschetti F, Bonavia M, Ciotti P, Flamigni C. Estrone sulfate, estrone and estradiol concentrations in normal and cirrhotic postmenopausal women. *Steroids* 1983; 41: 569-573
- 5 王宝恩, 张定凤. 现代肝脏病学. 第1版. 北京: 科学出版社, 2003: 152-153
- 6 张顺财, 刘斯青. 肝炎后肝硬化的性激素变化及其意义. *胃肠病学和肝病杂志* 1995; 4: 184-185
- 7 徐希岳. 肝硬化患者性激素变化的研究. *实用医学杂志* 2000; 16: 188-189
- 8 Gluud C. Serum testosterone concentrations in men with alcoholic cirrhosis: background for variation. *Metabolism* 1987; 36: 373-378
- 9 Frezza EE, Gerunda GE, Farinati F, DeMaria N, Galligioni A, Plebani F, Giacomini A, Van Thiel DH.

■创新盘点

本文着重讨论了睾酮、雌二醇对肝硬化发生过程的影响, 及其与肝硬化预后的关系, 但是其作用机制特别是分子机制上值得进一步探讨, 对这一机制深入研究可能为肝硬化的治疗提供新思路.

同行评价

本文研究内容重要,又有新颖性,论证有力,方法得当。

- CCL4-induced liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in rats: relationship to plasma zinc, copper and estradiol levels. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 367-369
- 28 周亚军, 殷冬梅, 沙宝熙, 吴亦英, 葛锦涛, 徐立, 金淑仪. 雌二醇 β -estradiol促进鼠纤维肝及氧化压力下培养的肝细胞中GPx的活性. *南通医学院学报* 2003; 23: 363-364
- 29 Lu G, Shimizu I, Cui X, Itonaga M, Tamaki K, Fukuno H, Inoue H, Honda H, Ito S. Antioxidant and antiapoptotic activities of idoxifene and estradiol in hepatic fibrosis in rats. *Life Sci* 2004; 74: 897-907
- 30 Sato R, Maesawa C, Fujisawa K, Wada K, Oikawa K, Takikawa Y, Suzuki K, Oikawa H, Ishikawa K, Masuda T. Prevention of critical telomere shortening by oestradiol in human normal hepatic cultured cells and carbon tetrachloride induced rat liver fibrosis. *Gut* 2004; 53: 1001-1009
- 31 Liu QH, Li DG, Huang X, Zong CH, Xu QF, Lu HM. Suppressive effects of 17 β -estradiol on hepatic fibrosis in CCl4-induced rat model. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1315-1320
- 32 Lee CH, Edwards AM. Stimulation of DNA synthesis and c-fos mRNA expression in primary rat hepatocytes by estrogens. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1473-1481
- 33 Alvaro D, Alpini G, Onori P, Perego L, Svegliata Baroni G, Franchitto A, Baiocchi L, Glaser SS, Le Sage G, Folli F, Gaudio E. Estrogens stimulate proliferation of intrahepatic biliary epithelium in rats. *Gastroenterology* 2000; 119: 1681-1691
- 34 Alvaro D, Onori P, Metalli VD, Svegliati-Baroni G, Folli F, Franchitto A, Alpini G, Mancino MG, Attili AF, Gaudio E. Intracellular pathways mediating estrogen-induced cholangiocyte proliferation in the rat. *Hepatology* 2002; 36: 297-304
- 35 Kang JS, Wanibuchi H, Morimura K, Puatanachokchai R, Salim EI, Hagihara A, Seki S, Fukushima S. Enhancement by estradiol 3-benzoate in thioacetamide-induced liver cirrhosis of rats. *Toxicol Sci* 2005; 85: 720-726
- 36 Nagasue N, Ogawa Y, Yukaya H, Ohta N, Ito A. Serum levels of estrogens and testosterone in cirrhotic men with and without hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1985; 88: 768-772
- 37 刘清华, 李定国, 宗春华, 黄新, 徐芹芳, 陆汉明. 雌激素对雄性大鼠肝纤维化形成的影响. *上海第二医科大学学报* 2005; 25: 39-42
- 38 Almog Y, Klein A, Adler R, Laub O, Tur-Kaspa R. Estrogen suppresses hepatitis B virus expression in male athymic mice transplanted with HBV transfected Hep G-2 cells. *Antiviral Res* 1992; 19: 285-293
- 39 Jilma B, Eichler HG, Koppl C, Weber B, Pidlich JP, Ferenci P, Muller C. Effects of testosterone suppression on serum levels of hepatitis B surface antigen and HBV-DNA in men. *Liver* 1998; 18: 162-165
- 40 鞠胜芝, 孙长华, 赵红梅, 郭峰. 乙肝患者血清HBV-DNA含量与性激素水平的相关关系. *滨州医学院学报* 2001; 24: 550-551
- 41 Tanaka K, Sakai H, Hashizume M, Hirohata T. Serum testosterone:estradiol ratio and the development of hepatocellular carcinoma among male cirrhotic patients. *Cancer Res* 2000; 60: 5106-5110
- 42 Yu MW, Yang YC, Yang SY, Cheng SW, Liaw YF, Lin SM, Chen CJ. Hormonal markers and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk: a
- 200 Frezza EE, Gerunda GE, Farinati F, Plebani M, Giacomini A, Galligioni A, Neri D, Merenda R, Toniolo E, De Maria N. Sex hormones and trace elements in rat CCL4-induced cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer Prev* 1993; 2: 357-359
- 201 McClain CJ, Kromhout JP, Elson MK, Van Thiel DH. Hyperprolactinemia in portal systemic encephalopathy. *Dig Dis Sci* 1981; 26: 353-357
- 202 Zifroni A, Schiavi RC, Schaffner F. Sexual function and testosterone levels in men with nonalcoholic liver disease. *Hepatology* 1991; 14: 479-482
- 203 Haffner SM, Karhapaa P, Mykkanen L, Laakso M. Insulin resistance, body fat distribution, and sex hormones in men. *Diabetes* 1994; 43: 212-219
- 204 杨川杰, 甄承恩, 姚希贤. 肝硬变患者血中NO与性激素水平的关系. *华人消化杂志* 1998; 6: 976-978
- 205 黄咏齐. 促性腺激素和性激素. 肝病与全身性疾病. 第1版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社 1993: 147
- 206 Cantrill E, Murray M, Mehta I, Farrell GC. Downregulation of the male-specific hepatic microsomal steroid 16 α -hydroxylase, cytochrome P-450UT-A, in rats with portal bypass. Relevance to estradiol accumulation and impaired drug metabolism in hepatic cirrhosis. *J Clin Invest* 1989; 83: 1211-1216
- 207 黄培宁. 男性肝硬化患者血清性激素检测结果分析. *广西医学* 2001; 23: 226-228
- 208 余剑英. 男性肝硬化患者血清性激素与垂体激素水平变化及意义. *实用预防医学* 2005; 12: 1104-1105
- 209 Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 1999; 29: 719-727
- 210 Shimizu I, Mizobuchi Y, Yasuda M, Shiba M, Ma YR, Horie T, Liu F, Ito S. Inhibitory effect of oestradiol on activation of rat hepatic stellate cells *in vivo* and *in vitro*. *Gut* 1999; 44: 127-136
- 211 许君望, 龚均, 冯新利, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平. 雌激素对肝纤维化大鼠肝星状细胞活化及胶原合成的影响. *西安交通大学学报* 2003; 24: 624-626
- 212 Xu JW, Gong J, Chang XM, Luo JY, Dong L, Jia A, Xu GP. Effects of estradiol on liver estrogen receptor- α and its mRNA expression in hepatic fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 250-254
- 213 刘清华, 李定国, 宗春华, 黄新, 徐芹芳, 陆汉明. 17 β -雌二醇及代谢产物对大鼠肝星状细胞功能的影响. *中华消化杂志* 2004; 24: 226-229
- 214 范震, 吕敏和, 赵幼安, 刘福利, 崔毅, 李延青, 王春霞. 雌二醇对大鼠体外培养肝星状细胞影响作用的实验研究. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 113-114
- 215 许君望, 龚均, 冯新利, 袁新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平. 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III型胶原及TGF β 1表达的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1185-1188
- 216 Lacort M, Leal AM, Liza M, Martin C, Martinez R, Ruiz-Larrea MB. Protective effect of estrogens and catecholestrogens against peroxidative membrane damage *in vitro*. *Lipids* 1995; 30: 141-146
- 217 Omoaya T, Shimizu I, Zhou Y, Okamura Y, Inoue H, Lu G, Itonaga M, Honda H, Nomura M, Ito S. Effects of idoxifene and estradiol on NF- κ B

- nested case-control study among men. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1644-1651
- 43 朱振龙, 胡拥军, 王春玲, 魏守礼. 肝癌雄激素受体的研究进展. *癌变·畸变·突变* 2005; 17: 389-391
- 44 宋扬, 冯英明, 张惠中, 闵婕, 张贺龙, 姬统理, 张伟, 马宁强. 原发性肝细胞癌中雌激素受体 α 与 β 的表达及临床意义. *陕西医学杂志* 2005; 34: 153-155
- 45 郑世曦, 陈汉琴, 王先松, 杨军, 阮幼冰, 武忠弼. 血清雌激素与肝细胞癌转移的关系. *华人消化杂志* 1998; 6: 482-484

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中华医学会第七次全国消化系疾病学术会议征文通知

本刊讯 中华医学会消化病学分会定于2007-05月上旬在山东省济南市召开第七次全国消化系疾病学术会议. 现将会议的征文内容及有关事项通知如下.

1 征文内容

消化系统疾病的流行病学、基础及临床(包括内镜诊断和治疗)研究. 因会议论文交流将按下列组别进行分会场交流, 故务必请在下列8个组别中选择1个您认为适合的交流组别, 并在论文摘要的右下角上标明.(1)功能性胃肠疾病及动力障碍性胃肠病(包括胃食管反流病); (2)幽门螺杆菌及其相关疾病; (3)胰腺疾病; (4)肝胆疾病; (5)胃肠道肿瘤; (6)炎症性疾病; (7)胃肠激素; (8)其他.

2 征文要求

请提供800字左右的中文摘要一份, 摘要内容包括: 目的、方法、结果、结论, 注明作者的姓名、单位和邮政编码. 并提供电脑打印稿(附软盘), 经所在的单位审查盖章后寄至中华医学会学术会务部刘亚君收(北京东四西大街42号 邮编 100710), 信封上请注明会议名称. 请最好同时通过本次会议专用网站(网址: www.assimilation2007.com)邮寄电子文稿和报名. 凡已在全国性学术会议上或全国公开发行的刊物上发表过的论文, 不予受理. 截稿日期: 2007-02-28(以当地邮戳为准)

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 更正与说明 •

本刊更正 本刊第14卷第32期3103页刊登的《胃癌组织中5-脂氧合酶的表达及其与磷酸化Akt的相关性》一文, 题目应为《胃癌组织中5-脂氧合酶的表达及其与磷酸化Akt的相关性》. 由于工作疏忽, 责任编辑把关不严造成以上失误, 特此更正, 本编辑部对此向作者及广大读者致歉. (世界华人消化杂志 2006-12-18)

广州管圆线虫病诊疗方案

阴赅宏, 甘绍伯, 刘建, 韩小茜, 冯曼玲, 纪爱萍, 郭增柱, 王非, 栗绍刚, 吴赵永

■背景资料

广州管圆线虫病属于食源性寄生虫病, 目前关于本病的基础与临床研究有了长足进步, 但对其虫体的侵入机制、免疫学机制、诊断与鉴别诊断、治疗以及预后等仍需进一步深入研究。

阴赅宏, 甘绍伯, 刘建, 韩小茜, 冯曼玲, 纪爱萍, 郭增柱, 王非, 栗绍刚, 吴赵永, 首都医科大学附属北京友谊医院 北京热带医学研究所 北京市 100050

通讯作者: 阴赅宏, 100050, 北京市宣武区永安路95号, 首都医科大学附属北京友谊医院、北京热带医学研究所. modscn@yahoo.com.cn

电话: 010-63139019

收稿日期: 2006-09-28 接受日期: 2006-10-18

0 引言

广州管圆线虫病又称嗜酸粒细胞增多性脑膜炎或嗜酸粒细胞增多性脑脊髓膜炎。主要是因进食生的或不熟的含有广州管圆线虫幼虫的螺肉而感染, 幼虫寄生在中枢神经系统而致病。主要临床表现为脑膜炎、脊髓膜炎、脑炎或脊髓炎, 脑脊液内有大量嗜酸性粒细胞。

1 病原学

成虫虫体呈线状, 雌虫较大, 长约20-40 mm, 宽约0.3-0.6 mm, 雄虫长约15-20 mm, 宽约0.3-0.4 mm, 头端尖细, 虫体后部向腹侧弯曲, 尾端尖锐。成虫寄生在终末宿主鼠类右心及肺动脉内。雌虫产卵, 卵随血流进入肺部毛细血管, 数日后孵化为第一期幼虫, 由肺泡内脱出, 沿气管上升至咽部被咽下, 再经胃、肠随粪便排出体外, 在自然界可存活2 wk。若被中间宿主(某些种类的陆生或水生螺, 蛞蝓等软体动物)吞食进入体内, 经两次蜕皮变为第三期幼虫, 可长期存在于螺体内, 第三期幼虫对鼠类及人类都具有感染力。此外, 鱼、虾、蟹、蛙、蛇等如摄食带有第三期幼虫的螺类, 幼虫即被转入其肉内长期存在, 此称转续宿主, 同样具有感染性。

2 流行病学

本病在亚洲太平洋中部及东南亚地区相继发现, 甚至局部造成暴发。在我国, 主要流行于台湾, 近年来在我国南方沿海, 如福建、浙江、广东等地时有病例发生, 1997年温州曾有暴发。随着褐云玛瑙螺、福寿螺等螺种在北方上市, 我国东北地区也有患者出现。近年来, 北京偶有散发病例, 今年出现了小范围暴发。其传染源为感染

本虫的鼠类。传播途径是人生食或半生食含有广州管圆线虫第三期幼虫的螺肉而感染; 在流行区进食生的或不熟的转续宿主(鱼、虾、蟹、蛙、蛇等)的肉亦可感染。染有本虫的中间宿主在蔬菜等植物上爬行时, 可将第三期幼虫黏附其上, 如生吃未能洗净菜类亦可受染。人群普遍易感。

3 病理

含第三期幼虫的螺被人食入后, 幼虫可钻入胃肠壁的血管或淋巴管并随血流散布至全身, 但主要聚集于脑内, 再蜕皮两次, 变为第五期幼虫即童虫。10余日后移至蛛网膜下腔内。大多不再发育, 但也偶有再发育为成虫者。人体主要病变集中在中枢神经系统, 特别是在小脑、桥脑及延脑, 亦可见于颈部及额部大脑内。幼虫移行的机械性刺激和抗原性作用可使病变部位产生炎症反应及过敏性反应, 在死亡变性的虫体周围反应最强。在脑膜、蛛网膜及脑内的虫体周围可见嗜酸性粒细胞、夏科-雷登氏结晶及巨噬细胞浸润, 形成嗜酸性粒细胞肉芽肿, 甚至有局灶性坏死。被侵犯的脑膜可增厚黏连, 造成脑室轻至中度扩张。

4 临床表现

4.1 症状和体征 (1)发热: 早期多有发热, 热度不等, 多在37.2-39℃, 呈持续性或间歇性, 多于数日后降至正常, 少数患者可持续数周; (2)神经系统表现: ①头痛为最常见和最主要的症状, 为胀痛、刺痛、搏动样痛等, 活动时加剧。部位多在额部, 其次为颞部和枕部, 亦可同时出现在多个部位。多属间歇性痛, 可持续半小时至数小时, 甚至延续数周。可伴有恶心、呕吐; ②颈项强直感: 为最常见和最主要的症状之一。查体可有颈部轻度抵抗, 但病理反射多为阴性(症状、体征分离); ③感觉异常: 多数患者可有不同部位(躯干或四肢)的感觉异常, 如麻木、疼痛、烧灼感、针刺感等, 可伴痛觉过敏、温度觉异常等; 或有不同程度的面部或肢体麻痹; ④部分患者

■相关报道

潘长旺 *et al* 进行了温州地区广州管圆线虫病的临床及流行病学研究。靳二虎 *et al* 观察了广州管圆线虫病中枢神经系统受侵的磁共振影像改变。

可有抽搐、癫痫、精神失常、嗜睡等症状。少数患者可昏迷, 为病情凶险征兆; (3)其他部位的表现: ①眼部: 畏光、复视、视力障碍, 甚至视野缺损、失明, 少数患者可有眼肌麻痹; ②肺部: 有咳嗽等症状, 肺内可出现阴影。

4.2 临床分期 (1)潜伏期: 3-36 d, 平均半个月左右; (2)前驱期: 前驱期症状不明显, 患者可有发热、头痛、头晕、乏力、腹痛、腹泻, 但症状不重。少数轻症病例在本期可自愈; (3)急性期: 发热, 头痛加重, 出现颈项强直感, 可伴有恶心、呕吐, 皮肤感觉异常(如麻木、疼痛、针刺感、烧灼感等)为本病特征性表现; 或有面部或肢体麻痹、畏光、复视等表现。此期因病情而异, 轻型病程在1 wk左右, 中型、重型可持续1 wk-2 mo, 甚至更长时间; (4)恢复期: 患者临床症状缓解, 逐渐康复, 本期可持续数周。一些客观指标(嗜酸性粒细胞计数、脑脊液压力、头颅MRI阳性表现、肺部阴影等)以及轻度感觉异常等可能持续更长时间。

4.3 临床分型 (1)根据病情轻重可分为①轻型: 症状少而轻, 仅有头痛、低热或局部感觉异常等症状。病程较短, 可在数日内自愈; ②中型: 有发热, 严重头痛, 颅压明显升高, 同时有其他神经系统或其他部位症状; ③重型: 除中型临床表现外, 尚有持续性高血压; 有脑部、肺部定位性损坏造成的相应表现; 可有意识丧失、昏迷等表现, 严重者可致死。 (2)根据病变部位可分为: 脑膜炎型、脑炎型、脊髓膜炎型、脊髓炎型、其他(肺型、眼型等)。临床上常见以上各型的混合型。

4.4 预后 绝大多数患者预后良好, 极个别感染虫体数量多者病情严重可致死或留有后遗症, 如失明、智能障碍、神经根性感觉异常或减退等。

5 实验室检查

血液检查嗜酸性粒细胞百分比或绝对值轻至中度增高, 脑脊液检查发现, 脑脊液压力增高, 嗜酸性粒细胞增多, 蛋白升高, 氯化物可轻度降低或正常, 极少数病例可找见广州管圆线虫幼虫或成虫。免疫学检查常用的方法为酶联免疫吸附试验(ELISA)和金标法, 检测广州管圆线虫IgG、IgM抗体和循环抗原(CAg)。检测标本为患者的血清或脑脊液。从脑脊液、眼或其他寄生部位进行病原学检查可查见本虫幼虫或成虫, 但阳性机率很小。肺部X光片及CT可显示肺部小结节影等表现; 头颅MRI表现多种多样, 脑脊

髓膜内多发长条形影或结节状强化病灶和软脑膜强化是主要的表现。

6 诊断与鉴别诊断

6.1 诊断标准 (1)流行病学史。近期进食了生的或不熟的螺肉; 进食了生的或不熟的转续宿主(鱼、虾、蟹、蛙、蛇等)的肉; 吃了未清洗干净的蔬菜; (2)临床表现。起病较急, 有(或无)发热、头痛(程度较重)、颈项强直感等症状, 可伴有恶心、呕吐及不同部位的皮肤感觉异常(如麻木、疼痛、针刺感、烧灼感等); 或有面部或肢体麻痹、畏光、复视等表现; (3)血常规检查。嗜酸性粒细胞的百分比和绝对值增高; (4)脑脊液的压力多增高, 脑脊液内嗜酸性粒细胞增多; (5)免疫学检查。广州管圆线虫抗体或CAg阳性可做辅助诊断; (6)影像学检查。肺部X光片及CT或头颅MRI如有前述阳性所见可支持诊断; (7)病原学检查。如在脑脊液内或眼内等部位查见本虫幼虫或成虫, 可做病原学诊断。

本诊断标准中, 具备第1-4项可做出临床诊断。具备第7项为病原学确诊。第5-6项为辅助诊断项目。

6.2 鉴别诊断 需与结核性脑膜脑炎、病毒性脑膜脑炎、流行性脑膜炎、神经性头痛, 以及其他脑寄生虫病(肺吸虫、血吸虫、裂头蚴及棘颚口线虫等)相鉴别。

7 治疗方案

7.1 病原学治疗 阿苯达唑(丙硫咪唑)20 mg/(kg·d), 体质量超过60 kg者按60 kg计算, 分3次服用, 连服7-10 d。

7.2 对症、支持治疗 (1)颅压高者静点甘露醇, 根据病情决定用药次数; (2)可采用肾上腺皮质激素, 病情较轻者亦可口服, 剂量根据病情而定; (3)头痛严重者可酌情给予镇痛剂; (4)可酌情给予神经营养药物; (5)间断、低流量吸氧; (6)其他对症治疗。

7.3 治疗中的具体问题 (1)凡眼部有虫者, 应先经眼科医生治疗后, 再行杀虫治疗; (2)颅压过高者(>300 mmH₂O)须先行降颅压治疗, 待颅压下降至一定水平后再行杀虫治疗。杀虫治疗结束后颅压仍高者须继续降颅压治疗, 并酌情应用肾上腺皮质激素。

8 预防措施

大力开展卫生宣教工作, 增强群众自我保护意

■创新盘点

本文对广州管圆线虫病的临床表现、诊断与鉴别诊断等作了系统的介绍, 有利于本病的早期发现、早期诊断、早期治疗, 减少误诊率、漏诊率。

■应用要点

本病在我国内陆地区较为少见, 临床医生对此病缺乏认识, 本文对本病的正确识别和规范诊疗具有良好的应用价值。

■同行评价

本文对广州管圆线虫病的流行病学、病理、临床表现、诊断与鉴别诊断、治疗和预防等作了较系统、详尽的阐述,对目前广大医务工作者有较高的临床指导意义。

识;切忌生食或食入未做熟的螺肉;在流行区亦应避免生食或食入未熟的转续宿主(鱼、虾、蟹、蛙、蛇等)的肉,被螺及软体动物爬过的蔬

菜,食前要充分洗净,从事螺肉加工的人员,更要避免污染,食品管理部门要加强对螺类食物的监测和管理,加强灭鼠工作。

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2005 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序表¹

代码	期刊名称	总被引频次	学科内排名	影响因子	学科内排名
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	2665	1	1.062	5
G803	肝脏	369	17	0.428	15
G257	临床内科杂志	383	16	0.289	22
G855	临床消化病杂志	173	24	0.163	28
G261	临床心血管病杂志	589	13	0.289	22
G293	临床血液学杂志	256	22	0.340	19
G662	内科急危重症杂志	134	27	0.172	27
G190	世界华人消化杂志	2079	4	0.485	14
G800	胃肠病学	271	20	0.324	20
G326	胃肠病学和肝病学杂志	292	19	0.282	24
G083	心肺血管病学杂志	154	25	0.192	26
G419	血管病学进展	297	18	0.238	25
G260	心脏杂志	394	15	0.355	17
G610	胰腺病学	137	26	0.589	11
G234	中国动脉硬化杂志	670	12	0.662	10
G267	中国实用内科杂志	1167	8	0.312	21
G444	中国体外循环杂志	68	28	0.354	18
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	415	14	0.563	12
G633	中国血液净化	229	23	0.391	16
G231	中华肝脏病杂志	2014	5	1.573	1
G155	中华内分泌代谢杂志	1249	7	0.981	6
G156	中华内科杂志	2409	3	0.903	7
G161	中华肝脏病学杂志	1003	9	1.077	4
G211	中华糖尿病学杂志	859	11	1.209	3
G285	中华消化内镜杂志	934	10	0.782	9
G168	中华消化杂志	1645	6	0.798	8
G892	中华心律失常学杂志	269	21	0.514	13
G170	中华心血管病学杂志	2622	2	1.272	2
	平均值	849		0.593	

¹中国科技期刊引证报告/潘云涛,马峥著.北京:科学技术文献出版社,2006.10

艾灸足三里和梁门穴诱导热休克蛋白70抗大鼠胃黏膜氧化损伤作用

常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁

常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁, 湖南省中医学院针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
国家自然科学基金资助项目, No. 30572310
湖南省自然科学基金资助项目, No. 05JJ4008
通讯作者: 常小荣, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医学院针灸推拿学院. xrchang1956@sina.com
电话: 0735-5381163 传真: 0735-5557891
收稿日期: 2006-02-28 接受日期: 2006-03-11

Moxibustion at Zusanli and Liangmen prevents gastric mucosa from oxidation injury through inducing high expression of heat shock protein 70

Xiao-Rong Chang, Na Peng, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Jie Yan

Xiao-Rong Chang, Na Peng, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Jie Yan, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China.

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30572310 and the Natural Science Foundation of Hunan Province, No. 05JJ4008

Correspondence to: Xiao-Rong Chang, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. xrchang1956@sina.com

Received: 2006-02-28 Accepted: 2006-03-11

Abstract

AIM: To observe the effects of moxibustion at Zusanli and Liangmen on the expression of heat shock protein 70 (HSP70) in gastric mucosa in rats with stress-induced ulcer (SU), and explore the mechanism of moxibustion at the acupoints of Foot-Yangming meridian in preventing gastric mucosa from oxidative injury.

METHODS: A total of 60 Sprague Dawley rats were randomly averagely divided into blank group, model group, Zusanli and Liangmen moxibustion group and non-moxibustion control group. After 7 days of pretreatment, the rats, except those in blank group, received water restraint stress (WRS) to induce stress ulcer.

The gastric mucosal blood flow (GMBF) was measured by Laser Doppler Flowmetry (LDF) and the ulcer index (UI) was evaluated by Guth method. HSP70 expression and malondialdehyde (MDA) content in gastric mucosa were determined by immunohistochemical and thio-barbiturate technique.

RESULTS: Moxibustion at Zusanli and Liangmen obviously relieved gastric mucosal injury in SU rats, the UI value was markedly lower than that in the model and control group (14.100 ± 5.425 vs 26.800 ± 9.807 , 26.200 ± 7.729 , $P < 0.01$). At the same time, Moxibustion at Zusanli and Liangmen significantly induced HSP70 higher expression (0.133 ± 0.035 vs 0.077 ± 0.057 , 0.059 ± 0.038 , $P < 0.01$), decreased MDA content (2.586 ± 0.252 $\mu\text{mol/L}$ vs 3.906 ± 0.768 , 3.464 ± 1.502 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$) and increased GMBF (279.827 ± 172.862 mL/min vs 139.489 ± 33.133 , 141.512 ± 58.450 mL/min, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Moxibustion at Zusanli and Liangmen can prevent gastric mucosa from oxidative injury through inducing high expression of HSP70 and decreasing mucosal MDA content, with the relative specificity of acupoints.

Key Words: Moxibustion; Zusanli; Liangmen; Heat shock protein 70; Malondialdehyde

Chang XR, Peng N, Yi SX, Peng Y, Yan J. Moxibustion at Zusanli and Liangmen prevents gastric mucosa from oxidation injury through inducing high expression of heat shock protein 70. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3405-3408

摘要

目的: 观察艾灸足三里和梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜热休克蛋白70(HSP70)表达的影响, 探讨艾灸足阳明经穴抗胃黏膜氧化损伤的作用机制。

方法: 将SD大鼠60只完全随机平均分为空白组、模型组、艾灸足三里等穴组和艾灸非

■背景资料

热休克蛋白(HSPs)是一种细胞保护蛋白, 他参与重要的细胞生理活动, 是保护细胞的物质基础, 已成为胃黏膜保护机制的一个研究热点。故设法寻找一种没有毒副作用的HSPs诱导剂或方法, 诱导HSPs合成, 增加机体对细胞的保护过程, 已成为国内外研究的活跃领域。

■研发前沿

HSPs、针灸与胃黏膜保护有着密切关系, 具相关文献报道针灸能诱导HSPs的表达, 针灸对胃黏膜的保护是否与HSPs有关, 针灸是否能诱导HSPs的表达, 是我们研究的主要目的。

■创新盘点

本文不仅探讨了针灸保护胃黏膜是否与HSPs有关,还进一步阐明针灸启动内源性保护作用的内在机制,既能证明针灸防治疾病的科学价值,还能在中医药宝库中挖掘有效的HSPs诱导方法,激发机体内在抗病潜力,调动整体调节机能,达到防病保健的目的。

穴对照点组,采用水浸-束缚应激法制备应激性溃疡模型。按Guth法计算胃黏膜损伤指数(UI),用激光多普勒血流仪测定胃黏膜血流量(GMBF),用免疫组织化学法和硫代巴比妥酸染色法对处理后大鼠检测其胃黏膜HSP70的表达和丙二醛(MDA)的含量。

结果:与模型组和艾灸非穴组比较,艾灸足三里等穴可使应激性溃疡大鼠胃黏膜损伤指数明显下降(14.100 ± 5.425 vs 26.800 ± 9.807 , 26.200 ± 7.729 , $P < 0.01$), HSP70表达上调(0.133 ± 0.035 vs 0.077 ± 0.057 , 0.059 ± 0.038 , $P < 0.01$)、血流量增高(279.827 ± 172.862 mL/min vs 139.489 ± 33.133 , 141.512 ± 58.450 mL/min, $P < 0.05$)、MDA含量减少(2.586 ± 0.252 μ mol/L vs 3.906 ± 0.768 , 3.464 ± 1.502 μ mol/L, $P < 0.05$)。

结论:艾灸足三里和梁门穴能诱导胃黏膜HSP70高表达并降低MDA含量,以达到其抗氧化损伤作用,并有相对的穴位特异性。

关键词: 艾灸; 足三里; 梁门; 热休克蛋白70; 丙二醛

常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁. 艾灸足三里和梁门穴诱导热休克蛋白70抗大鼠胃黏膜氧化损伤作用. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3405-3408

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3405.asp>

0 引言

大量临床和实验研究均表明,针灸通过对胃黏膜前列腺素E、血流量、胃液、胃运动和胃肠激素的影响而达到保护胃黏膜的作用^[1-5],但其机制并未彻底弄清。目前研究发现,一种细胞保护蛋白-热休克蛋白(HSPs)有很好的对抗应激损伤作用,其中HSP70是胃黏膜保护中一类重要蛋白^[6]。我们针对艾灸对胃黏膜是否具有抗氧化损伤作用,其作用是否与HSP70的诱导有关,进行了艾灸足三里和梁门诱导热休克蛋白70抗胃黏膜氧化损伤的实验研究。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠60只,雌雄各半,体质量200-250 g,由湖南农业大学动物科技学院提供。随机分为4组: A空白组, B模型组, C艾灸足三里等穴组, D艾灸非穴对照点组, 每组15只。兔抗大鼠热休克蛋白70(HSP70)亲和纯化抗体(武汉博士德公司); 即通用型SP系列检测试剂盒兔SP Kit(北京中山金桥生物技术有限公司); 棕黄色

DAB显色试剂盒(北京中山金桥生物技术有限公司); PBS缓冲液(武汉博士德公司); MDA检测试剂盒(解放军总医院科技开发中心放免所), 其余试剂均系国产分析纯。

1.2 方法 穴位定位参考林文注主编《实验针灸学》常用动物穴位定位法及拟人比照法。对照点设在梁门穴旁开1 cm和膝关节内侧与足三里平行的任意非穴处。所有大鼠捆绑于鼠板, A, B组不作处理, C, D组大鼠取单侧穴位, 定位剪毛, 艾炷黏于穴位或非穴对照点上点燃施灸, 每天每穴或非穴连续灸四壮, 总延时约半小时, 每日左右交替艾灸, 所有处理连续8 d。艾炷来源于苏州东方艾绒厂(“神灸300灸”, 东方一型)。预处理7 d后, 采用WRS法制作急性应激性溃疡模型^[7]。大鼠禁食不禁水24 h后, 束缚于鼠板上, 置于温度为20℃水中, 水面平胸骨剑突水平, 10 h后取出松绑。所有动物于造模后24 h, 用100 g/L乌拉坦以10 mL/kg ip麻醉。每组随机抽取5只大鼠, 取胃前, 先将幽门部用线结扎, 然后用注射器抽取40 g/L多聚甲醛3 mL, 自食道注入胃内, 拔出针头结扎贲门。在两结扎线的两端切断食管及十二指肠, 摘下全胃, 10 min后沿胃大弯剖开, 用冰生理盐水冲洗, 然后放入40 g/L多聚甲醛中4℃固定24 h, 石蜡包埋备用。其余大鼠剖腹取胃, 沿胃大弯剖开, 用冰生理盐水冲洗胃内残留物, 计数胃黏膜损伤指数后分析天平称质量, 按1.5 mL/400 mg加入生理盐水, 用玻璃匀浆机研磨40-50次, 制成胃黏膜组织匀浆, 35 000 r/min 4℃离心15 min, 取上清液, -20℃低温保存, 待测。

1.2.1 胃黏膜损伤指数(UI) 按GUTH法计算: 全胃各病灶长度之和为损伤指数, 以mm表示。损伤 ≤ 1 mm(包括糜烂点)为1分; $1 \text{ mm} < \text{损伤} \leq 2 \text{ mm}$ 为2分; $2 \text{ mm} < \text{损伤} \leq 3 \text{ mm}$ 为3分; $3 \text{ mm} < \text{损伤} \leq 4 \text{ mm}$ 为4分; $> 4 \text{ mm}$ 为5分; 损伤宽度 $> 2 \text{ mm}$ 者UI加倍。

1.2.2 GMBF 大鼠麻醉后, 从腹中线打开腹腔, 暴露胃, 采用美国BIOPAC公司生产的激光多普勒血流仪, 选用迷你型接触式探头, 血流计将采集的信号由MP150型模-数转换器转换成血流灌注量单位(blood perfusion unit, BPU), 其值输入计算机, 通过Acqknowledgev3.5软件进行曲线描记。测量时在大鼠胃大弯处剪一个2 cm小口, 将激光探头先后置于胃窦、胃底及胃大、小弯4点检测, 当显示器测量稳定后开始取值, 每只大鼠每点各测3次, 每次测15 s, 取稳定的曲线10 s算其平均值进行统计学分析。

■应用要点

本研究结果显示, 艾灸足三里等穴可使应激性溃疡大鼠胃黏膜损伤指数明显下降, 增高HSP70蛋白及其基因表达, 增加胃黏膜血流量, 降低MDA含量, 说明艾灸足三里等穴能通过增强HSP70的蛋白和基因表达, 达到对胃黏膜的保护作用, 并有一定的穴位特异性。

表 1 艾灸对胃黏膜UI, GMBF, MDA和HSP70的影响(mean ± SD)

分组	UI	GMBF (mL/min)	MDA (μmol/L)	HSP70 (面密度)
A组	12.000 ± 5.944 ^d	363.806 ± 168.551 ^d	2.925 ± 0.625 ^c	0.021 ± 0.010 ^c
B组	26.800 ± 9.807 ^b	139.489 ± 33.133 ^a	3.906 ± 0.768 ^a	0.077 ± 0.057 ^b
C组	14.100 ± 5.425	279.827 ± 172.862	2.586 ± 0.252	0.133 ± 0.035
D组	26.200 ± 7.729 ^b	141.512 ± 58.450 ^a	3.464 ± 1.502 ^a	0.059 ± 0.038 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs C组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs B组.

1.2.3 HSP70 采用SP法. (1)石蜡块间断连续切片(厚度4 μm)、烤片、常规脱蜡至水, 新鲜配置30 mL/L H₂O₂室温10 min, 蒸馏水洗3次; (2)切片入0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液微波炉高火加热至沸腾后断电, 间隔10 min反复两次; (3)滴加正常山羊血清封闭液, 室温湿盒20 min; (4)滴加适当稀释的兔HSP70抗体, 室温湿盒2 h; (5)滴加生物素化羊抗兔HSP70 IgG, 室温湿盒30 min; (6)滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 室温湿盒30 min, 从(4)-(6)步后均用0.01 mol/L PBS洗3min×3次; (7)DAB室温显色, 镜下控制显色时间; (8)苏木素轻度复染. 用PBS代替一抗作阴性对照, 染色结果采用MIAS医学图像分析系统, 光镜下10×40倍每张切片随机分析5个视野, 计其面密度, 取平均值.

1.2.4 MDA 按试剂盒说明书采用硫代巴比妥法检测.

统计学处理 实验结果以均数±标准差表示, 使用SPSS 11.5软件进行数据分析, 所用统计方法为单因素方差分析.

2 结果

2.1 艾灸对胃黏膜UI, GMBF, MDA的影响 所有大鼠经各种处理后, C组UI极显著低于B组和D组($P < 0.01$), 与A组比较无显著性差异($P > 0.05$), B组UI极显著高于A组($P < 0.01$); C组MDA明显低于B组($P < 0.05$), 与A组比较无显著性差异($P > 0.05$), B组MDA明显高于A组($P < 0.05$); C组GMBF明显高于B组($P < 0.05$), 与A组比较无显著性差异($P > 0.05$), B组GMBF明显低于A组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$, 表1).

2.2 艾灸对胃黏膜HSP70表达的影响 HSP70表达结果: 免疫组化标记后, HSP70阳性部位位于胞质, 呈棕黄色, 以胃腺部最明显. C组HSP70表达极显著高于B组($P < 0.01$)、明显高于D组($P < 0.05$), 与A组比较无显著性差异($P > 0.05$), B组

HSP70表达明显高于A组($P < 0.05$, 表1).

3 讨论

HSPs是生物体(或离体培养细胞)在不良环境因素作用下所产生的一组具有高度保守性的应激蛋白, 他普遍存在于整个生物界, 几乎所有的细胞均能合成HSPs. 大多数HSPs在因环境情况改变而被诱导, 如热损伤、缺血、氧化应激、射线、组织损伤、病毒、细菌及其产物等损伤因素及应激刺激以及某些化学物质作用下可被诱导^[8]. HSP70在大鼠诱导急慢性胃溃疡、慢性萎缩性胃炎、人胃癌的胃黏膜中均有过度表达, 而且以病变部位最明显^[9-11]. 这种过度表达, 通过增加胃黏膜血流量、促进细胞增殖、抑制胃黏膜细胞凋亡、保护细胞免受氧自由基损伤、加强胃黏膜细胞蛋白合成和细胞修复等机制而达到细胞保护作用以促进溃疡愈合^[12-17]. 艾灸作为一种生理性温热刺激原, 可诱导HSP70的产生, 作为免疫源激活免疫系统而治疗一些疾病^[18-19]. 从本实验研究结果看, 应激后(模型组)大鼠胃黏膜的HSP70表达均较未应激大鼠(空白组)增强($P < 0.05$), 而经艾灸预处理的大鼠在应激后其表达较模型组更显著($P < 0.01$), 胃黏膜的损伤程度也明显减轻($P < 0.01$). 说明, 艾灸预处理能通过诱导胃黏膜HSP70高表达而达到保护作用.

氧化应激是应激性胃黏膜损害的重要因素, 可能参与导致细胞凋亡, Allen法应激后3 h MDA即有显著变化, 6-12 h达高峰^[20], 并随着应激时间的延长, 机体产生的自由基大量增加, 活性增强的清除系统不足以及及时将其清除掉致胃黏膜损伤^[21]. 电针足三里可降低血浆MDA, 影响氧自由基代谢水平, 抗应激损伤^[22]. 本实验结果中, B组胃黏膜MDA含量明显高于A组和C组($P < 0.05$), 显示艾灸可降低胃黏膜应激后增高的MDA, 达到抗氧化损伤的作用. 艾灸是借热力给人体以温热性刺激, 通过经络腧穴的作用, 以

■名词解释

HSPs: 一类在进化上高度保守的应激蛋白, 是生物细胞在受高温、缺血、病原体或其他多种损伤因素的应激刺激后发生热休克反应所产生的一组蛋白质. 根据分子量大小和各自的诱导条件不同, HSPs可分为不同家族, HSPs的主要功能是提高细胞对应激因素的耐受, 使细胞维持正常的生理功能, 增加细胞对致死性刺激的防御和适应力.

同行评价

文章的科学性、可读性较好,但是如果能在研究中进行二穴同时取与取一穴进行对比则更有意义。

达到治病、防病的一种方法。具有温通经络、行气活血、祛湿逐寒、消肿散结、回阳救逆及防病保健的作用。《医学入门》载:“药之不及,针之不到,必须灸之”。《名医别录》载:“艾叶苦,微温,无毒,主灸百病”。《孟子·离娄篇》有:“七年之病,求三年之艾”之说。现代大量的临床和实验研究证实,艾灸具有镇痛、改善血循环、调整代谢紊乱、调节免疫功能和调整脏腑功能等作用^[23]。足三里穴是胃之下合穴、胃经之合穴,是治疗胃病的首选穴,《灵枢·四时气》记载“胃气逆则呕苦……取足三里以下胃气逆”,明·徐凤《针灸大全·马丹阳天星十二穴并治杂病歌》也指出足三里“善治胃中寒”,“合治内府”、《四总穴歌》“肚腹三里留”又是对其主治作用的经典概括。梁门穴也是足阳明胃经的又一重要穴位。本实验研究结果显示,与艾灸非穴对照点组比较,艾灸足三里、梁门穴组大鼠胃黏膜的HSP70表达均明显增强、MDA含量明显减少($P<0.05$)、胃黏膜损伤程度明显减轻($P<0.01$)。由此可看出,足三里和梁门穴在抗胃黏膜氧化损伤作用上有一定的穴位特异性,为临床运用艾灸治疗消化系统疾患提供了科学依据。

参考文献

- 乔雪峰, 殷克敬. 艾灸对大鼠实验性胃溃疡的治疗作用及其机理研究. 针刺研究 1992; 4: 270-273
- 江庆洪, 许文波, 杨丹红. 艾灸对大鼠胃粘膜血流量的影响及与胃肠激素的关系. 现代康复 2000; 4: 40-41
- 孙世晓, 王新梅, 张江红. 艾灸猫“足三里”穴增强胃运动的中枢作用机理研究. 针灸临床杂志 2001; 17: 53-54
- 王世勇, 陈曦, 高权国. 艾灸治疗肠道易激综合征(IRS)30例临床观察. 针灸临床杂志 2003; 19: 43-44
- 孙华. 温针灸在术后胃瘫治疗中的作用. 针灸临床杂志 2003; 19: 38-40
- Bunce MW, Gonzales ML, Anderson RA. Stress-ING out: phosphoinositides mediate the cellular stress response. *Sci STKE* 2006; 2006: pe46
- 聂时南, 李兆申, 许国铭, 湛先保, 屠振兴, 龚燕芳. 肠三叶因子在胃黏膜应激适应性细胞保护中的作用. 中华消化杂志 2003; 23: 19-22
- Isomoto H, Oka M, Yano Y, Kanazawa Y, Soda H, Terada R, Yasutake T, Nakayama T, Shikuwa S, Takeshima F, Udono H, Murata I, Ohtsuka K, Kohno S. Expression of heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp 40 in gastric cancer. *Cancer Lett* 2003; 198: 219-228
- Guo JS, Chau JF, Shen XZ, Cho CH, Luk JM, Koo MW. Over-expression of inducible heat shock protein 70 in the gastric mucosa of partially sleep-deprived rats. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 510-515
- Targosz A, Pierzchalski P, Krawiec A, Szczyrk U, Brzozowski T, Konturek SJ, Pawlik WW. Helicobacter pylori inhibits expression of heat shock protein 70 (HSP70) in human epithelial cell line. Importance of Cag A protein. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 265-278
- 贾长河, 张沥, 张玲霞, 徐俊荣, 江梅, 张宁霞, 曹广周. 热盐水所致大鼠萎缩性胃炎胃黏膜HSP及p53蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2003; 11: 29-32
- Pierzchalski P, Krawiec A, Ptak-Belowska A, Baranska A, Konturek SJ, Pawlik WW. The mechanism of heat-shock protein 70 gene expression abolition in gastric epithelium caused by Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2006; 11: 96-104
- Targosz A, Pierzchalski P, Krawiec A, Szczyrk U, Brzozowski T, Konturek SJ, Pawlik WW. Helicobacter pylori inhibits expression of heat shock protein 70 (HSP70) in human epithelial cell line. Importance of Cag A protein. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 265-278
- Wada I, Otaka M, Jin M, Odashima M, Komatsu K, Konishi N, Matsuhashi T, Horikawa Y, Ohba R, Itoh H, Watanabe S. Expression of HSP72 in the gastric mucosa is regulated by gastric acid in rats-correlation of HSP72 expression with mucosal protection. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 349: 611-618
- Konturek PC, Brzozowski T, Ptak A, Kania J, Kwiecien S, Hahn EG, Konturek SJ. Nitric oxide releasing aspirin protects the gastric mucosa against stress and promotes healing of stress-induced gastric mucosal damage: role of heat shock protein 70. *Digestion* 2002; 66: 160-172
- Cesar JR, Yang J. Expression patterns of ubiquitin, heat shock protein 70, alpha-actin and beta-actin over the molt cycle in the abdominal muscle of marine shrimp Litopenaeus vannamei. *Mol Reprod Dev* 2006
- 陈国裕, 王志荣, 陈锡美. 热休克蛋白在胃黏膜保护中的作用. 世界华人消化杂志 2002; 10: 969-971
- 刘旭光, 宋开源, 郝亮, 余曙光, 黄迪君. 艾灸对实验性RA大鼠热休克蛋白(HSP70)表达的影响. 中医学刊 2003; 21: 1034-1039
- Otaka M, Konishi N, Odashima M, Jin M, Wada I, Matsuhashi T, Horikawa Y, Ohba R, Watanabe S. Is Mongolian gerbil really adequate host animal for study of Helicobacter pylori infection-induced gastritis and cancer? *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 347: 297-300
- 王天懿, 朱玉群, 杨昭徐. 氧自由基和细胞凋亡在大鼠应激性溃疡中的作用. 中华现代内科学杂志 2005; 2: 492-493
- 许燕, 张芸. 应激时大鼠胃粘膜中MDA含量和CAT、Ca²⁺-ATPase活性的变化. 南京铁道医学院学报 2000; 19: 241-243
- 白艳丽, 张曼莉, 张养民, 陶秦瑜. 电针足三里对大鼠氧自由基和前列腺素的影响. 现代检验医学杂志 2002; 17: 16-18
- 谢莉莉, 刘光谱. 艾灸的治疗作用和机理研究进展. 针灸临床杂志 2000; 16: 55-57

电编 张敏 编辑 潘伯荣

反义Snail转录因子抑制肝癌转移

刘 海, 王志强

刘海, 中建二局二公司职工医院 河南省洛阳市 471001
王志强, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心 湖北省武汉市 430030
通讯作者: 王志强, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心.
wangzq0808@sina.com
电话: 027-83663811 传真: 027-83663400
收稿日期: 2006-09-11 接受日期: 2006-10-11

Inhibitory effects of antisense Snail on invasion of hepatoma carcinoma cells

Hai-Liu, Zhi-Qiang Wang

Hai-Liu, Staff Hospital of the Second Company, the Second Construction and Engineering Bureau of China, Luoyang 471001, Henan Province, China
Zhi-Qiang Wang, Department of Hepatic Surgery Center, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Zhi-Qiang Wang, Department of Hepatic Surgery Center, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. wangzq0808@sina.com
Received: 2006-09-11 Accepted: 2006-10-11

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effects of antisense plasmid Snail on the invasion of hepatoma carcinoma cells *in vitro*.

METHODS: The expression of Snail and E-cadherin mRNA in hepatoma carcinoma cell lines HepG2 were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Antisense Snail plasmid was transfected into HepG2 cells, and then antisense group and control group were established. Lipofectin reagent was used to investigate the relationship between E-cadherin and Snail expression, and the inhibitory effects of antisense Snail mRNA were detected by Transwell motility assay and Matrigel invasion assay.

RESULTS: The expression of Snail mRNA was confirmed by RT-PCR, but E-cadherin mRNA expression was absent. The expression of Snail mRNA were 0.887 ± 0.005 , 0.665 ± 0.010 , $0.348 \pm$

0.012 at the 0, 24th, 48th h after transfection, and E-cadherin mRNA expression were 0 , 0.160 ± 0.001 , 0.299 ± 0.005 , respectively. There were significant differences among the different time points for Snail and E-cadherin mRNA ($P < 0.05$). The mRNA levels of Snail and E-cadherin after stable transfection were significantly different between the antisense group and control group (0.131 ± 0.010 vs 0.357 ± 0.020 , $P < 0.05$; 0.476 ± 0.030 vs 0 , $P < 0.01$). In comparison with that in the control group, the fibronectin mRNA, a mesenchymal marker, was also apparently down-regulated in the antisense group after stable transfection (0.201 ± 0.010 vs 0.558 ± 0.010 , $P < 0.01$). The motility and invasion activity of antisense-Snail transfected cells were obviously decreased as compared with those of control cells (48 ± 2 vs 401 ± 17 , $P < 0.01$; 39 ± 8 vs 211 ± 61 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: A reverse correlation exists between E-cadherin and Snail expression in hepatoma carcinoma cells. Snail may be a potential target to block the invasion in human hepatocellular carcinoma.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Transcription factor; E-cadherin; Transfection; Antisense Snail

Liu H, Wang ZQ. Inhibitory effects of antisense Snail on invasion of hepatoma carcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(35):3409-3413

摘要

目的: 研究反义Snail转录因子体外抑制肝癌转移的作用.

方法: 采用RT-PCR技术分别检测肝癌细胞株HepG2中Snail mRNA和E钙黏蛋白(E-cadherin) mRNA的表达水平. 将HepG2细胞分为转染反义Snail质粒(反义组)和空载体质粒(对照组), 观察Snail对E-cadherin mRNA表达的逆转作用及对肝癌细胞体外侵袭、运动的抑制作用.

结果: Snail mRNA在HepG2细胞中有表达,

■背景资料

Snail是一种锌指蛋白转录因子, 可以介导上皮细胞向间充质细胞的转化, 在转录水平抑制E-钙黏素(E-cadherin)的表达, 促进肿瘤的侵袭和复发转移. E-cadherin是属于钙黏素族典型的钙黏素亚族中一员, 是一种钙依赖性黏附分子, 广泛存在于各类上皮细胞中, 主要介导同型细胞间的黏附反应, 并起细胞骨架作用, 目前发生复发转移的机制尚不完全明了.

■创新盘点

本文认为,侵袭、转移的过程通常表现为失去上皮细胞标志物而重新表达间充质细胞标志物,即发生上皮细胞向间充质细胞的转化,常伴随以E-cadherin为主的成分丢失,因而失去细胞间黏附,是恶性肿瘤细胞的重要特性,肿瘤细胞在缺失E-cadherin表达时侵袭性增强,容易发生转移。

E-cadherin mRNA在HepG2细胞中没有表达。HepG2细胞瞬时转染0, 24, 48 h时, Snail mRNA的表达水平分别为 0.887 ± 0.005 , 0.665 ± 0.010 , 0.348 ± 0.012 ; 同时, E-cadherin mRNA开始有表达, 分别为 $0, 0.160 \pm 0.001$, 0.299 ± 0.005 , 各时间点间分别比较, 有显著性差异($P < 0.05$)。HepG2细胞稳定转染后, 反义组、对照组Snail mRNA表达水平分别为 0.131 ± 0.010 , 0.3577 ± 0.020 , 两组比较有显著性差异($P < 0.05$); 反义组E-cadherin mRNA开始有表达, 表达水平为 0.476 ± 0.030 , 而对照组为0, 两组比较有显著性差异($P < 0.01$); 检测间质细胞标志物纤维连接蛋白mRNA的表达水平, 反义组显著低于对照组(0.201 ± 0.010 vs 0.558 ± 0.010 , $P < 0.01$)。体外细胞运动实验表明, 反义组、对照组跨膜细胞数分别为 (48 ± 2) 个和 (401 ± 17) 个, 有显著性差异($P < 0.01$)。重组细胞基底膜侵袭实验显示, 两组穿透基底膜细胞数分别为 (39 ± 8) 个和 (211 ± 61) 个, 显著性差异($P < 0.05$)。

结论: 肝癌细胞中存在Snail mRNA与E-cadherin mRNA表达的负向关系, 抑制Snail mRNA的表达对肝癌细胞的侵袭和运动有抑制作用, 可能为肝癌的基因治疗提供新的靶点。

关键词: 原发性肝癌; 转录因子; E钙黏蛋白; 转染; 反义Snail

刘海, 王志强. 反义Snail转录因子抑制肝癌转移. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3409-3413

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3409.asp>

0 引言

Snail是一种锌指蛋白转录因子, 可以介导上皮细胞向间充质细胞的转化, 在转录水平抑制E-cadherin的表达, 促进肿瘤的侵袭和复发转移^[1]。在皮肤癌、乳腺癌、结肠癌、口腔癌以及黑色素细胞癌的研究中均发现, Snail与肿瘤的侵袭和复发转移有关^[2-3]。肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发病率和死亡率呈逐年上升趋势, 我国每年约有30万人死于HCC, 在恶性肿瘤死亡顺位中仅次于胃癌居第2位^[4]。HCC高死亡率的原因是早期转移, 但是目前发生复发转移的机制尚不完全明了, 对其机制的研究一直是国内外研究的热点。本研究探讨了Snail mRNA在肝癌细胞中的表达情况; 并观察肝癌细胞株HepG2细胞转染反义Snail质粒

后, HepG2细胞中Snail mRNA表达水平的变化及其E-cadherin mRNA表达及体外侵袭、运动能力的变化。

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2细胞株为华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心提供; DMEM细胞培养基购自美国Pierce生物技术公司; RT-PCR试剂盒和脂质体转染试剂盒购自Gibico公司; 反义Snail质粒由美国Geron Corporation, Villeponteau博士惠赠; Transwell小室购自美国Corning-Costar公司。

1.2 方法

1.2.1 反义Snail质粒的构建 HepG2细胞在37℃, 50 mL/L CO₂, 饱和湿度的培养箱中培养。培养液为含100 mL/L胎牛血清的DMEM细胞培养基。向pcDNA3质粒中反向插入了含有人Snail基因编码序列的第1-355位的碱基, 其转录产物与Snail mRNA互补结合, 从转录水平阻断Snail的表达。碱基序列插入的准确性可通过测序的方法来验证。

1.2.2 引物的设计及合成 检测肝癌细胞中Snail和E-cadherin mRNA的表达, 细胞生长至对数生长期, 按TRIzol试剂盒提供的操作步骤提取总RNA, -70℃保存; 按逆转录试剂盒说明合成cDNA, cDNA产物-20℃保存; 取2 μg逆转录产物进行PCR扩增。Snail, E-cadherin反应条件为: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40个循环; 72℃延伸10 min。反应体系用甘油醛232磷酸脱氢酶(GAPDH)作内参照。利用美国应用生物系统公司引物设计软件Primer Express Version 1.0设计, Snail上游引物: 5'-TTCTTCGCTACTGCTGCG-3', 下游引物: 5'-GGGCAGGTATGGAGAGGAAGA-3', 扩增产物为883 bp; E-cadherin上游引物: 5'-CTGGTTCAGATCAAATCCAAC-3', 下游引物: 5'-TTCTCAGGCACCTGACCCTT-3', 扩增产物为502 bp; GAPDH上游引物: 5'-TGGTATCGTGGAAGGACTCATGAC-3', 下游引物: 5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAGC-3', 扩增产物为190 bp。同时, 扩增间质细胞标志物纤维连接蛋白, 其上游引物: 5'-TCAGCTGTACCATTGCAAATC-3', 下游引物: 5'-TCCTGGTGTCTGATCATTG-3', 扩增产物为314 bp。复性温度54℃。产物用10 g/L琼脂糖凝胶电泳并观察拍照, 凝胶图像分析系统扫描各电泳条带的灰度值, 以Snail/GAPDH、

E-cadherin/GAPDH、纤维连接蛋白/GAPDH的比值代表标本Snail、E钙黏蛋白、纤维连接蛋白mRNA的半定量水平。

1.2.3 脂质体转染 HepG2细胞在37℃, 50 mL/L CO₂, 含100 mL/L胎牛血清的DMEM细胞培养基中培养, 待细胞融合达60%-70%时, 去除培养基, 用无血清培养基洗涤细胞3次。取反义Snail质粒(反义组)和空载体质粒(对照组)各2 μg, 分别与无血清培养基100 μL混匀。将脂质体12 μL和无血清培养基200 μL混匀。放置5 min, 将两种质粒分别与100 μL脂质体无血清混合液混匀, 室温静置20 min, 各自加入800 μL无血清培养基后, 直接滴到细胞表面, 37℃, 50 mL/L CO₂培养箱中放置8 h, 换成100 mL/L胎牛血清培养基继续培养。瞬时转染: 分别于转染后0, 24, 48 h收集细胞行RT-PCR技术检测Snail mRNA和E-cadherin mRNA的表达。稳定转染: 在瞬时转染24 h后, 反义Snail质粒和空载体质粒转染的细胞分别用胰酶消化, 1:10传代于24孔板中, 同时用含800 mg/L G418培养基筛选高表达阳性克隆, 以获得稳定转染的细胞。稳定转染细胞株建立后, 分别检测反义组和对照组Snail mRNA和E-cadherin mRNA以及纤维连接蛋白mRNA的表达。

1.2.4 体外细胞运动实验 取Transwell小室放入24孔板中, 将稳定转染后的HepG2细胞经胰酶消化, 稀释成 1×10^6 /mL, 于Transwell小室滤膜的上方加10 μL细胞悬液。37℃, 50 mL/L CO₂培养箱中孵育24 h, 滤膜冰甲醇固定1 min后行HE染色。棉棒轻轻擦去滤膜上层的细胞。各选择5个无重叠区, 于高倍镜(×200)下分别计数滤膜底面和24孔板中的细胞数。每株细胞设3个复孔, 实验重复3次, 结果以均值表示(下同)。

1.2.5 重组细胞基底膜侵袭实验 取Transwell小室放入24孔板中, 小室滤膜的上方加重组细胞基底膜(Matrigel) 20 μg形成基质胶层, 随后加入200 μL含 1×10^4 个细胞的细胞悬液, 37℃, 50 mL/L CO₂孵育72 h。滤膜冰甲醇固定1 min后行HE染色。棉棒轻轻擦去滤膜顶层的细胞。各选择5个无重叠区, 于高倍镜(×200)下分别计数穿过基质膜滤膜底面和24孔板中的细胞数。

统计学处理 应用SPSS12.0软件进行统计学分析, 实验结果用mean±SD表示, 采用配对t检验。

2 结果

2.1 HepG2细胞mRNA的表达 肝癌细胞株HepG2

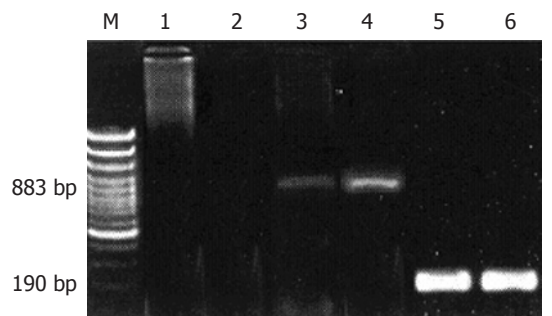


图1 肝癌细胞株中E-cadherin mRNA与Snail mRNA的电泳结果。M: DNA标志物; 1-2: HepG2细胞中E-cadherin mRNA表达; 3-4: HepH2细胞中Snail mRNA表达; 5-6: HepG2细胞中GAPDH mRNA表达。

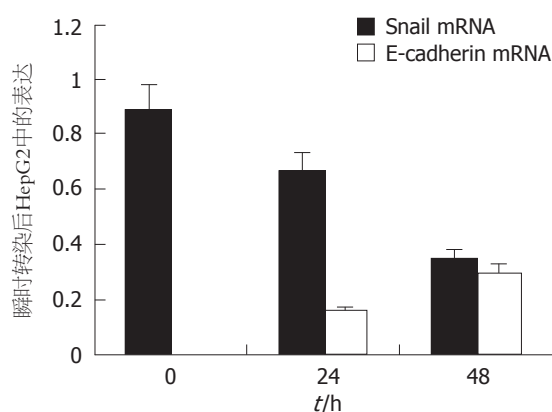


图2 瞬时转染反义Snail质粒不同时间后HepG2细胞中Snail与E-cadherin mRNA表达。

细胞中Snail mRNA在883 bp处有表达, 未检测到E-cadherin mRNA的表达, GAPDH mRNA在190 bp处有表达(图1)。

2.2 瞬时转染反义Snail质粒 瞬时转染反义Snail质粒后, Snail mRNA表达降低, 0与24 h时相比, 有显著性差异($P<0.05$); 24与48 h时相比, 有显著性差异($P<0.01$); 同时, E-cadherin mRNA开始有表达, 并随转染时间的增加而增加, 各时间点比较, 有显著性差异($P<0.05$)(图2)。

2.3 稳定转染 空载体质粒和反义Snail质粒分别转染后的HepG2细胞, 经筛选扩增各获得6个和5个细胞克隆。RT-PCR检测结果显示, 反义组和对照组Snail mRNA表达水平分别为 0.131 ± 0.010 , 0.377 ± 0.020 , 两组比较, 有显著性差异($P<0.05$)。反义组E-cadherin mRNA开始有表达, 表达水平为 0.476 ± 0.030 , 而对照组为0, 两组有显著性差异($P<0.01$)。纤维连接蛋白mRNA的表达反义组为 0.201 ± 0.010 , 对照组为 0.558 ± 0.010 , 反义组显著低于对照组($P<0.01$)。

2.4 HepG2细胞体外运动和侵袭能力的比较

■应用要点

本文的重要意义在于, 揭示肝癌中Snail mRNA能调节E-cadherin mRNA的表达, 并使肿瘤细胞获得侵袭和复发转移能力的过程中起重要作用, E-cadherin在肝癌发生、发展过程中发挥重要作用, 基因表达的下调或缺失是肝癌重要的恶性生物学指标, 阻断Snail mRNA的表达可能会抑制肝癌侵袭和复发转移, 对临床治疗有一定的指导意义。

■同行评价

作者通过体外转染将Snail质粒导入HepG2细胞,观察Snail对E-cadherin mRNA表达的逆转作用及对肝癌细胞体外侵袭、运动的抑制作用。结果发现,肝癌细胞中存在Snail mRNA与E-cadherin mRNA表达的负向关系,抑制Snail mRNA的表达对肝癌细胞的侵袭和运动有抑制作用,实验设计合理,具有一定学术意义。

Transwell小室体外运动实验显示,反义组和对照组跨膜细胞数分别为 (48 ± 2) 和 (401 ± 17) 个/高倍镜($\times 200$),两组比较,有显著性差异($P < 0.01$)。Matrigel侵袭实验显示,反义组和对照组穿透基底膜细胞数分别为 (39 ± 8) 和 (211 ± 61) 个/高倍镜($\times 200$),两组比较,有显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

肝癌是全球第5位常见恶性肿瘤,我国发病率居恶性肿瘤第3位^[5],近年来,以手术为主的系统序贯治疗使得肝癌5 a生存率提高到30%-40%^[6],但肝癌的转移仍然是影响预后的一个重要因素。E-cadherin介导细胞与细胞之间的黏附,维持细胞结构和形态的稳定。其表达下调可降低细胞间的黏附,使细胞相互分离,造成细胞的脱落和扩散,促使癌细胞局部侵袭,进而发生远处转移^[7]。研究认为,侵袭、转移的过程通常表现为失去上皮细胞标志物而重新表达间充质细胞标志物,即发生上皮细胞向间充质细胞的转化^[8]。常伴随以E-cadherin为主的成分丢失,因而失去细胞间黏附,是恶性肿瘤细胞的重要特性^[9]。许多研究证明,恶性肿瘤细胞的这种特性与E-cadherin表达的下调密切相关^[10]。近几年的研究显示,Snail可以在上皮性肿瘤的进展中直接抑制E-cadherin的表达,因而促进转移的发生^[11]。Cano *et al*^[11]的研究首次证明,Snail直接结合E-cadherin CDH1启动子,下调E-cadherin的表达,通过降低细胞间的黏附,破坏正常组织形态,促进肿瘤侵袭。临床研究表明,Snail和E-cadherin在很多上皮性癌(包括鳞癌、肝癌、黑色素瘤等)中存在明显的反向表达^[12-3]。本研究表明,肝癌细胞株HepG2细胞中存在Snail mRNA的表达,却未检测到E-cadherin mRNA的表达,仅在转染反义Snail质粒后HepG2细胞中可检测到E钙黏蛋白mRNA的表达。说明在肝癌细胞中存在Snail mRNA与E-cadherin mRNA表达的负向关系。为进一步证明这种负向关系的存在,我们选择有Snail mRNA表达而无E-cadherin mRNA表达的肝癌细胞株HepG2,瞬时转染反义Snail质粒,观察Snail和E-cadherin mRNA表达的变化。结果发现, HepG2细胞中Snail mRNA表达降低的同时E-cadherin mRNA开始有表达,且随转染时间的延长E-cadherin mRNA表达增强。因此证明,肝癌细胞中存在Snail mRNA与E-cadherin mRNA表达的逆转关系,抑制Snail mRNA的表达可以使E-cadherin mRNA开始有表达,增强细胞间的

黏附力。稳定转染后HepG2细胞中除了检测到E-cadherin mRNA开始有表达,还可以看到纤维连接蛋白mRNA表达的下降。由于上皮细胞向间充质细胞转化时,产生大量细胞间质成分如纤维连接蛋白,从而通过阻断Snail mRNA表达减少间质细胞成分纤维连接蛋白的表达,部分逆转上皮细胞向间充质细胞的转化。肿瘤细胞在缺失E-cadherin表达时侵袭性增强,容易发生转移^[12]。Miyoshi *et al*^[13]最新研究证明,在肝癌细胞株中,Snail不仅抑制E-cadherin的表达,还通过间接调控基质金属蛋白酶家族成员的表达增加细胞的侵袭能力。我们发现,稳定转染反义Snail质粒后使HepG2细胞开始表达E-cadherin mRNA;体外侵袭和运动实验表明,反义组Snail mRNA受到抑制后,可以显著降低HepG2细胞的运动能力,同时其侵袭细胞外基质的能力也明显下降。但Snail介导的肝癌细胞侵袭能力的改变是否与基质金属蛋白酶家族成员有关尚需进一步的实验证明。

总之,揭示肝癌中Snail mRNA调节E-cadherin mRNA的表达,并使肿瘤细胞获得侵袭和复发转移能力的过程中起重要作用,E-cadherin在肝癌发生、发展过程中发挥重要作用,基因表达的下调或缺失是肝癌重要的恶性生物学指标。阻断Snail mRNA的表达可能会抑制肝癌侵袭和复发转移,对临床治疗有一定的指导意义。

4 参考文献

- 1 Cano A, Perez-Moreno MA, Rodrigo I, Locascio A, Blanco MJ, del Barrio MG, Portillo F, Nieto MA. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 76-83
- 2 Yokoyama K, Kamata N, Hayashi E, Hoteiya T, Ueda N, Fujimoto R, Nagayama M. Reverse correlation of E-cadherin and snail expression in oral squamous cell carcinoma cells *in vitro*. *Oral Oncol* 2001; 37: 65-71
- 3 Jiao W, Miyazaki K, Kitajima Y. Inverse correlation between E-cadherin and Snail expression in hepatocellular carcinoma cell lines *in vitro* and *in vivo*. *Br J Cancer* 2002; 86: 98-101
- 4 Okuda K. Hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000; 32: 225-37
- 5 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156
- 6 陈孝平, 裘法祖, 吴在德. 原发性肝癌要按个体化采用以手术为主的综合治疗. *中华外科杂志* 2003; 41: 161-162
- 7 Stambolic V, Mak TW, Woodgett JR. Modulation of cellular apoptotic potential: contributions to oncogenesis. *Oncogene* 1999; 18: 6094-6103

- 8 Thierry JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454
- 9 Sun D, Baur S, Hay ED. Epithelial-mesenchymal transformation is the mechanism for fusion of the craniofacial primordia involved in morphogenesis of the chicken lip. *Dev Biol* 2000; 228: 337-349
- 10 Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565
- 11 Hemavathy K, Ashraf SI, Ip YT. Snail/slug family of repressors: slowly going into the fast lane of development and cancer. *Gene* 2000; 257: 1-12
- 12 许洪卫. 细胞黏附力和黏附分子对癌侵袭性影响的研究展望. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2057-2060
- 13 Miyoshi A, Kitajima Y, Sumi K, Sato K, Hagiwara A, Koga Y, Miyazaki K. Snail and SIP1 increase cancer invasion by upregulating MMP family in hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 2004; 90: 1265-1273

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会征文启事

本刊讯 为提高我国消化内镜诊疗技术的整体水平,《中华消化内镜杂志》编辑部拟于2007-08在新疆乌鲁木齐市召开“全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会”,邀请消化和消化内镜专家作有关专题学术报告.会议将出论文汇编,并授予继续教育 I 类学分,《中华消化内镜杂志》将择优刊登应征论文.

1 征文内容

征文内容包括消化系统疾病的内镜(食管镜、胃镜、十二指肠镜、小肠镜、大肠镜、肠道镜、腹腔镜、超声内镜等)诊疗技术;内镜外科的临床应用及进展;食管、胃、肠、肝胆、胰腺疾病的基础研究、临床诊治及其进展(炎症、溃疡、出血、肿瘤、异物等);消化系统疾病的中医、中西医结合治疗及其进展;消化内镜消毒及护理技术,消化系统疾病的急诊护理.

2 征文要求

应征文章按《中华消化内镜杂志》稿约要求撰写打印,并寄3000字以内全文及500字以内的论文摘要各一份;已投《中华消化内镜杂志》尚未发表的稿件,请注明稿号.应征文章经单位推荐盖公章后,寄南京市紫竹林3号《中华消化内镜杂志》编辑部卜小乐、赵在文同志收.邮编: 210003.信封左下脚注“征文”字样,同时汇寄审稿费10元.请自留底稿,恕不退稿.截稿日期2007-05-31.有关会议的具体事项另行通知.联系电话: 025-83472831, 86086091.

表皮生长因子受体反义寡聚核苷酸抑制人结肠癌细胞的增殖

曲 娟, 陈 杰

■背景资料

肿瘤细胞的无休止生长与癌细胞能分泌生长因子及其受体所构成的不断刺激自身增殖的自分泌环有关。研究表明, 人结肠癌细胞系存在生长因子自分泌环, 这些癌细胞自泌的生长因子作用于自身的EGFR, 不断的刺激自身增殖, 他可能是结肠癌细胞自主无休止生长的原因之一。用抗EGFR的mAb可以阻断EGFR与配体的结合, 抑制肿瘤生长。

曲娟, 北华大学医学院生理学教研室 吉林省吉林市 132013
陈杰, 北京协和医院病理科 北京市 100074
通讯作者: 曲娟, 132013, 吉林省吉林市华山路3999号, 北华大学医学院生理学教研室. quxian6167@yahoo.com.cn
电话: 0432-4608410
收稿日期: 2006-09-25 接受日期: 2006-10-14

Inhibitory effects of epidermal growth factor receptor antisense oligonucleotide on the proliferation of human colonic cancer cells

Xian Qu, Jie Chen

Xian Qu, Department of Physiology, Medical College of Beihua University, Jilin 132013, Jilin Province, China
Jie Chen, Department of Pathology, Beijing Union Hospital, Beijing 100074, China
Correspondence to: Xian Qu, Department of Physiology, Medical College of Beihua University, 3999 Huashan Road, Jilin 132013, Jilin Province, China. quxian6167@yahoo.com.cn
Received: 2006-09-25 Accepted: 2006-10-14

Abstract

AIM: To construct a stable cell line through transfecting reverse transcription virus carrier with antisense epidermal growth factor receptor (AS-EGFR) into human colonic cancer cell line (LST174) and investigate its biological behavior.

METHODS: Reverse transcription virus carrier with AS-EGFR was transfected into human colonic cancer cell line LST174 by lipid mediating method. The cellular growth and transformation of malignant phenotype were detected by cellular counting, growth curve, MTT assay and rate of clone formation on soft agar.

RESULTS: The cells after stable transfection exfoliated easily with rough cell membrane and scattered piece-like growth. The growth of LST174/AS-EGFR cells was significantly as compared with that of the controls (optical density: 0.322 ± 0.014 vs 0.422 ± 0.033 , $P < 0.05$). MTT assay showed that the inhibitory rate in

LST174/AS-EGFR cells was lowered by 23.7% ($P < 0.05$). In the experiment of colony formation on soft agar, LST174/AS-EGFR cells almost lost their abilities to form colony unlike the piled-up growth in the control cells.

CONCLUSION: AS-EGFR-induced blockage of endogenous EGFR self-secreted factor expression can not only inhibit the proliferation of colonic cancer cells, but also suppress the malignant transformation of phenotypes.

Key Words: Epidermal growth factor receptor; Antisense oligonucleotide; Human colonic cancer cell line; Cell proliferation

Qu X, Chen J. Inhibitory effects of epidermal growth factor receptor antisense oligonucleotide on the proliferation of human colonic cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3414-3416

摘要

目的: 建立稳定表达反义表皮生长因子受体(EGFR)的人结肠癌细胞系, 研究细胞的生物学行为。

方法: 应用脂质体介导法将重组克隆携带反义EGFR的逆转录病毒载体转染人结肠癌细胞系LST174, 利用细胞计数、生长曲线、MTT法及软琼脂集落形成率测定细胞生长、增殖及恶性表型的转化。

结果: 转染稳定后的细胞易脱落, 细胞膜毛糙, 细胞生长呈小片状, 不密集。细胞继续培养后, LST174/AS-EGFR组细胞生长受到抑制, 生长曲线较LST174组速度减慢, 差别显著(A 值: 0.322 ± 0.014 vs 0.422 ± 0.033 , $P < 0.05$); 细胞生长抑制率为23.7%, LST174/AS-EGFR组细胞几乎失去了集落形成能力, 且少、松散, 而对照组呈叠落堆积生长。

结论: 反义EGFR对内源性EGFR自分泌因子表达的阻断可抑制结肠癌细胞的生长、增殖及恶性表型的转化。

关键词: 表皮生长因子受体; 反义寡聚核苷酸; 结肠癌细胞系; 细胞增殖

曲娴, 陈杰. 表皮生长因子受体反义寡聚核苷酸抑制人结肠癌细胞的增殖. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3414-3416
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3414.asp>

0 引言

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)具有酪氨酸蛋白激酶活性, 其介导的信号途径在细胞生长与发生中具有重要作用. 过度表达的EGFR不断将表皮生长因子的刺激导入细胞内, 引起细胞持续分裂增殖, 最终导致肿瘤发生^[1-3]. 为此, 针对EGFR的实验性治疗已为肿瘤治疗提供了新途径^[4-5]. 本研究应用脂质体介导法将重组克隆携带反义EGFR cDNA的逆转录病毒载体转染人结肠癌细胞系, 进而建立稳定表达反义EGFR的人结肠癌细胞系, 观察其对细胞生长的影响及恶性表型的逆转, 为基因治疗奠定科学的物质基础.

1 材料和方法

1.1 材料 结肠癌细胞系LST174由中国协和医科大学黄显明教授惠赠; 逆转录病毒载体(pBabe-puro)由英国皇家癌症研究基金N.Lemoine博士惠赠; 反义EGFR逆转录病毒载体(pBabe-AS-EGFR)由北京协和医科大学病理科博士生曾春旬构建; 脂质体介导转染试剂(lipofectin reagent)盒(Gibco公司产品).

1.2 方法 用lipofectin介导, 将pBabe-AS-EGFR质粒、pBabe质粒分别转染细胞LST174后, 嘌呤霉素(1 mg/L)筛选3 wk, 得到稳定的抗药细胞株LST174/AS-EGFR, LST174/pBabe, 在含嘌呤霉素(0.5 mg/L)培养基中继续培养. 常规细胞计数. 细胞生长曲线测定: 于24孔板上每孔植入 1.5×10^4 个对数生长期细胞, 分3组: LST174/AS-EGFR组、LST174/pBabe组与LST174对照组, 每组设3个平行孔, 每天分别计数3个平行孔, 取平均值, 连续计数9 d. MTT法测定细胞增殖及代谢能力^[6]: 细胞以 5×10^3 孔接种于96孔板, 每组样本设8个平行孔, 加入100 μ L培养基37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养48 h, 加入(5 g/L) MTT溶液, 再加入细胞裂解液, 避光过夜, 置酶标仪测A₅₅₀值. 根据公式计算细胞增长率或抑制率. 增长率(+)或抑制率(-) = (转化细胞A值-空载体细胞A值)/空载体细胞A值 \times 100%. 软琼脂集落形成率: 60 mm培养皿底层铺6 g/L琼脂的培

养基, 上层铺3 g/L琼脂的培养基, 50 mL/L CO₂, 37℃培养2 wk, 显微镜下计数集落, 直径大于40 μ m为一个集落.

统计学处理 采用SPSS for Windows 13.0软件进行方差分析, LSD-*t*检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

转染稳定后的细胞易脱落, 细胞膜毛糙, 细胞生长呈小片状, 不密集. 反义EGFR表达检测用EGFR cDNA探针做Southern和Northern Blot, LST174/AS-EGFR细胞EGFR mRNA表达减少, DNA含量增高, 说明质粒的成功转染. 细胞继续培养后, LST174/AS-EGFR组细胞生长受到抑制, 细胞生长速度较对照组减慢(表1). MTT值检测结果: LST174/AS-EGFR组、LST174/pBabe组、LST174组A值分别为 0.322 ± 0.014 , 0.437 ± 0.014 , 0.422 ± 0.033 , LST174/AS-EGFR组与LST174组比较($P < 0.05$), 有显著差异, 细胞生长抑制率为23.7%, 而LST174/pBabe和LST174之间差别不显著. 集落形成能力: LST174/AS-EGFR组全培养孔形成3个集落, 集落形态不明显, 几乎失去了集落形成能力; LST174/pBabe组101个集落/10个视野, 集落直径93 μ m-1 mm; LST174组112个集落/10个视野, 集落直径100 μ m-1 mm.

3 讨论

随着分子生物学及免疫学的发展, 促使人们从分子免疫水平对肿瘤的发病机制、生物学行为等方面进行深入研究. 近20 a的研究发现, 信号转导异常与肿瘤的发生、发展有密切关系, 其中酪氨酸激酶途径尤为重要. 生长因子结合特异性受体可将生长信号传入到细胞内. 受体的结构作为跨膜蛋白, 具有细胞外的配体结合区、跨膜区和细胞质的功能区. 大多数生长因子受体的细胞质部分含有完整的蛋白酪氨酸激酶(PTK)功能区, 并含有数个可自身磷酸化的酪氨酸位点, 后者对调节PTK活性具有重要的作用. 在正常情况下, 当配体与相应的受体结合后, 可诱导受体发生构型变化使受体的PTK活性增强, 通过PTK对靶蛋白上酪氨酸残基的磷酸化, 调节这些蛋白的活性, 引发一系列的生化反应而改变细胞的生长状态. 表皮生长因子受体具有酪氨酸蛋白激酶活性, 他在结构和功能上与c-erbB-2癌基因蛋白具有相似性, 因此两者在肿

■应用要点

反义EGFR对内源性EGFR自泌因子表达的阻断可抑制结肠癌细胞的生长、增殖及恶性表型的转化, 为进一步开展动物实验及人结肠癌的基因治疗提供理论依据.

■同行评价

本文应用细胞转染技术及MTT等免疫学方法从细胞学角度观测了EGFR反义寡聚核苷酸对人结肠癌细胞增殖的抑制作用,其研究结果在某种程度上对于进一步探讨在体动物实验研究及结肠癌的基因治疗提供了一定的理论依据.文章立题较新颖,研究方法较先进,研究结论有一定的学术价值.

表 1 反义EGFR对LST174细胞生长的影响(cell/well, mean \pm SD)

Group	3 d	5 d	7 d	8 d	9 d
LST174/AS-EGFR	94 657 \pm 66 123	176 954 \pm 28 546	248 815 \pm 48 720	445 605 \pm 48 168	778 235 \pm 15 389
LST174/pBabe	130 563 \pm 36 621	259 024 \pm 41 745	1 082 701 \pm 351 466	1 869 090 \pm 393 377	3 276 458 \pm 412 063
LST174	95 626 \pm 6833	226 528 \pm 34 307	943 588 \pm 372 671	1 851 156 \pm 654 608	3 316 434 \pm 718 015

瘤的发生和生物学行为等方面可能存在协同作用. 当他与配体EGF和/或TGF α 结合后,即可激活酪氨酸激酶而产生放大生长信号的作用,促进细胞异常增生,进而转化为癌细胞^[1-7]. 研究表明,EGFR在人类许多上皮源性恶性肿瘤组织中表达增强,过度表达的EGFR不断将表皮生长因子的刺激导入细胞内,引起细胞持续分裂增殖,最终导致肿瘤发生^[8]. 反义技术的开展为抑制胃肠道肿瘤的基因治疗提供了新技术^[9],即根据碱基互补的原理,用生物体内或者人工合成的互补DNA或RNA片段来抑制或封闭靶细胞基因的表达,也可能是用于根治肿瘤极具希望的基因治疗手段. 人结肠癌细胞系存在EGFR基因及蛋白水平的过度表达且有自分泌环的存在,用抗EGFR的mAb可以阻断EGFR与其配体的结合^[4-5],对体外培养的结肠癌细胞具有抑制作用. 本实验应用反义EGFR逆转录病毒表达载体转染结肠癌LST174细胞系,转染稳定后的细胞易脱落,细胞膜毛糙,细胞生长呈小片状,不密集. 经反义EGFR转染的LST174细胞,生长速度和MTT值均低于对照组,表明细胞生长慢, DNA合成速率慢;在软琼脂上几乎不呈集落生长,且少、松散,不象对照组呈叠落堆积生长,说明应用反义EGFR逆转录病毒表达载体转染人结肠癌细胞,具有抑制肿瘤生长、增殖及恶性表型的转化. 其机制可能与反义EGFR RNA与细

胞内源性表达的EGFR mRNA结合,阻止EGFR mRNA翻译成蛋白,从而达到有效的抑制作用. 为此,本实验为进行在体动物实验及结肠癌的基因治疗提供了实验依据,具有深入研究的价值.

4 参考文献

- 1 Yang H, Jiang D, Li W, Liang J, Gentry LE, Brattain MG. Defective cleavage of membrane bound TGF α leads to enhanced activation of the EGF receptor in malignant cells. *Oncogene* 2000; 19: 1901-1914
- 2 Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2958-2970
- 3 张晓晶, 张亮, 刘云鹏, 侯科佐, 王舒宝. EGFR信号通路影响Caco-2细胞黏附和侵袭的分子机制. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 483-488
- 4 曲娴, 陈杰, 刘彤华. 表皮生长因子受体单克隆抗体抗人结肠癌LST174的作用. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 841-842
- 5 曲娴, 胡景新. EGFR单克隆抗体抗结肠癌作用的实验研究. *中国病理生理杂志* 2002; 18: 1130-1132
- 6 Hansen MB, Nielsen SE, Berg K. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J Immunol Methods* 1989; 119: 203-210
- 7 曲娴, 刘建平, 曲宏, 孙红霞. 大肠癌C-erbB-2和EGFR的表达意义. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 838-839
- 8 呼闯营, 贺彩峰. TGF- α 和EGFR在Barrett食管和食管腺癌的表达. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 879-883
- 9 Wang HM, Rajagopal S, Chakrabarty S. Inhibition of human colon cancer malignant cell behavior and growth by antisense epidermal growth factor receptor expression vector. *Anticancer Res* 1998; 18: 2297-2300

电编 张敏 编辑 张焕兰

老年反流性食管炎患者固体胃排空状况及其心理因素

李军, 蔡昌豪, 吴本俨, 李园, 张建军, 王金海

李军, 蔡昌豪, 吴本俨, 李园, 中国人民解放军总医院南楼消化科 北京市 100853

张建军, 王金海, 总参北极寺干休处门诊部 北京市 100083

通讯作者: 李军, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院南楼消化科. wuditian111@sohu.com

收稿日期: 2006-08-14 接受日期: 2006-09-20

Solid gastric emptying and mental analysis in elderly patients with reflux esophagitis

Jun Li, Chang-Hao Cai, Ben-Yan Wu, Yuan Li, Jian-Jun Zhang, Jin-Hai Wang

Jun Li, Chang-Hao Cai, Ben-Yan Wu, Yuan Li, Department of Gastroenterology, South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Jian-Jun Zhang, Jin-Hai Wang, Outpatient Department of Beijisi Retired Cadres Entertainment Center, Beijing 100083, China

Correspondence to: Jun Li, Department of Gastroenterology, South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. wuditian111@sohu.com

Received: 2006-08-14 Accepted: 2006-09-20

Abstract

AIM: To study the function of solid gastric emptying in elderly patients with reflux esophagitis (RE) and its correlative factors and provide evidence for clinical diagnosis and treatments.

METHODS: The solid gastric emptying of RE patients ($n = 33$) was checked by ^{13}C -octanoic acid breath test. All the patients had been classified by endoscopy according the standard made on Yantai conference in 1999. The symptoms were scored and the mental factors were evaluated through Zung's self-rating depression scale.

RESULTS: The half gastric emptying time (T1/2) and lag phase time (Tlag) in RE patients were both obviously higher than those in the controls ($t = 7.51, P < 0.01; t = 9.42, P < 0.01$), and the values of T1/2 and Tlag in patients with more than 6 scores were also markedly higher than those with less than 6 scores ($t = 4.01, P < 0.01; t = 9.42, P < 0.01$). However, no significant difference was

found between endoscopic I and II+III grade in T1/2 and Tlag. The melancholy and anxiety score in RE patients were significantly higher than those in the controls (56.8 ± 12.3 vs $39.6 \pm 9.8, P < 0.01; 53.4 \pm 10.9$ vs $37.7 \pm 11.5, P < 0.01$).

CONCLUSION: The solid gastric emptying in elderly RE patients is significantly delayed, which is correlated with the symptom scores but not endoscopic grades. Melancholy and anxiety commonly exist in elderly RE patients.

Key Words: Reflux esophagitis; ^{13}C -octanoic breath acid; Gastric empty; Zung's self-rating depression scale

Li J, Cai CH, Wu BY, Li Y, Zhang JJ, Wang JH. Solid gastric emptying and mental analysis in elderly patients with reflux esophagitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(35):3417-3420

摘要

目的: 老年反流性食管炎患者胃固体排空状况和相关因素分析, 为临床诊治实践提供依据。

方法: 确诊为反流性食管炎的患者33例, 采用 ^{13}C 辛酸呼气试验进行胃固体排空测定; 1999年烟台会议制定的反流性食管炎分级标准进行内镜下分级; 采用0-III分法进行症状评分; Zung氏抑郁焦虑自评量表进行心理因素评估。

结果: 老年反流性食管炎患者胃半排空时间(half gastric emptying time, T1/2)和延迟相时间(lag phase time, Tlag)与对照组比较有显著性差异(147.5 ± 19.3 vs $106.4 \pm 17.1, t = 7.51, P < 0.01; 60.3 \pm 10.3$ vs $34.2 \pm 9.2, t = 9.42, P < 0.01$); 病例组症状评分 >6 分组的T1/2和Tlag均高于 <6 分组(161.6 ± 22.4 vs $137.6 \pm 16.7, t = 4.01, P < 0.01; 71.8 \pm 11.8$ vs $52.9 \pm 9.2, t = 9.42, P < 0.01$); 病例组中内镜分极I级的患者其T1/2和Tlag与II+III组比较无显著差异; 病例组抑郁和焦虑评分与对照组比较, 有显著性差异(56.8 ± 12.3 vs $39.6 \pm 9.8, P < 0.01; 53.4 \pm 10.9$ vs $37.7 \pm 11.5, P < 0.01$)。

结论: 老年反流性食管炎患者存在胃固体排

■背景资料

胃排空在许多疾病的病理、生理中都有参与, 是影响药物代谢的因素之一。胃排空障碍也与许多疾病特别是胃肠道疾病的发展密切相关。近年来, 在各种检测胃排空功能的方法中, ^{13}C -辛酸呼气试验是近年新发展起来的一种间接检测固体胃排空的方法, 具有应用方便、安全性高、放射性污染低等特点, 尤其适用于老年、儿童、孕妇等特殊人群, 在临床实践中应用日趋成熟。

■研发前沿

反流性食管炎是临床研究热点之一, 而老年反流性食管炎胃排空状况国内外均鲜见报道, 且该类患者的心理卫生因素和疾病的相互作用尚不明确, 制约了老年反流性食管炎临床诊治的进展。

■相关报道

文献报道,老年反流性食管炎具有发病率高、易漏误诊、病变程度重、复发率高的特点,且与口咽及呼吸道疾病关系密切,所以提高对老年人反流性食管炎的诊治水平显得非常重要。目前已经证实,社会心理因素和胃肠道的功能状况相关,而正确的心理健康状况的评估对疾病的诊断治疗会带来有利的辅助作用。

空延迟,且延迟程度与症状评分有关,与内镜下分级无关;老年反流性食管炎患者普遍存在抑郁和焦虑情绪。

关键词: 反流性食管炎;胃排空; ^{13}C 辛酸;Zung氏量表

李军, 蔡昌豪, 吴本严, 李园, 张建军, 王金海. 老年反流性食管炎患者固体胃排空状况及其心理因素. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3417-3420

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3417.asp>

0 引言

反流性食管炎是消化系统常见病之一。文献报道反流性食管炎发病率以老年组最高^[1],且老年人具有发病率高、易漏误诊、病变程度重、复发率高的特点^[2],且与口咽及呼吸道疾病关系密切^[3],所以提高对老年人反流性食管炎的诊治水平显得非常重要。有文献报道,反流性食管炎患者存在胃排空障碍^[4],但老年反流性食管炎患者的胃排空状况国内外均少见报道。 ^{13}C -辛酸呼气实验是一种间接检测胃固体排空的方法,具有应用方便、安全性高、放射性污染低等特点,尤其适用于老年、儿童、孕妇等特殊人群。而临床常用的Zung抑郁自评量表(SDS)及焦虑自评量表(SAS)也认为是适合老年人群的心理评定量表。本研究的目的主要是通过胃排空功能的检测和抑郁、焦虑量表的调查,评估老年反流性食管炎患者胃排空状况及存在的心理因素,从而为临床治疗和康复提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 我院2005-07/2006-04确诊为反流性食管炎且排除胃肠器质性病变及严重肝、肾、心脑血管病患者共33例,其中男31例,女2例,年龄69-84(平均 76.7 ± 2.7)岁。选择同期体检健康的老年自愿者21例,男20例,女1例,年龄65-82(平均 74.6 ± 4.7)岁。病例组与对照组在性别和年龄构成上差异无显著性意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 ^{13}C -辛酸呼气实验 以Ghoos *et al*^[5]所述方法为基础,患者在禁食12 h以上空腹状态下口服实验餐(两片配餐面包、一个鸡蛋、150 mL水,总热量250 K)。进食实验餐后4 h内限制在病房或检验室内活动,前1 h每15 min收集样品一次,后3 h每30 min收集样品1次,质谱仪分析检测,计算患者胃半排空时间(half-emptying time, T1/2)、延

表 1 病例组与对照组T1/2和Tlag比较

分组	病例组	对照组
T1/2	147.5 ± 19.3^b	106.4 ± 17.1
Tlag	60.3 ± 10.3^b	34.2 ± 9.2

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

迟相时间(lag phase time, Tlag); T1/2大于130 min为胃排空延迟,全部实验由同一技师盲法检测。

1.2.2 症状评分 对患者烧心、反酸、反胃严重程度及发生频度进行症状记分,计算出每位患者的总积分S。严重程度记录为0, 1, 2, 3分; 0分:指无症状; 1分:症状轻微,不用服药; 2分:症状明显,有时需求医生指导; 3分:症状明显,较严重影响生活。症状发生频度记录为0, 1, 2, 3, 4分。0分:指无症状,或每月发作少于1次; 1分:偶发作, 1-3次/mo; 2分:较多, 1-6次/wk; 3分:症状发作频繁, ≥ 1 次/d。参照我国消化内镜学会1999年烟台会议拟定的反流性食管炎内镜分级标准: 0为正常(可有组织学改变); I为由点状或条状发红,糜烂,无融合现象; II有条状发红,糜烂,并有融合,但非全周性; III病变广泛,发红,糜烂融合呈全周性或溃疡。采用SDS及SAS在患者入院初期或初诊时完成评定工作,评定前向患者详细解释填表方法及注意事项,受检者独立完成,不得受他人影响。

1.2.3 观察指标 (1)两组患者T1/2, Tlag比较; (2)症状评分与T1/2, Tlag的关系; (3)内镜分级与T1/2, Tlag的关系; (4)两组患者SDS及SAS评分比较。

统计学处理 数据统计学处理采用SPASS 10.0统计软件完成,两样本比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 胃排空功能 33例老年反流性食管炎患者胃排空延迟者26例, 21例对照组中胃排空延迟者3例,两组比较,差异有显著性意义($\chi^2 = 21$, $P < 0.01$),病例组和对照组T1/2和Tlag比较,有显著性差异($P < 0.01$, 表1)。

2.2 症状评分 33例患者症状评分4-13(平均 6.25 ± 2.04)分, < 6 分者19例, ≥ 6 分者14例,二者的T1/2和Tlag比较具有显著性差异($P < 0.01$, 表2)。

2.3 反流性食管炎分级和胃排空的关系 33例反流性食管炎患者中,内镜下I级17人, II级14人,

■创新点

本文对老年反流性食管炎患者的胃排空状况第一次有了明确的结论,对老年反流性食管炎患者的心理卫生状况及与胃排空的关系做出了评估。

III级2人, I级与II+III级间在T1/2和Tlag上的变化无显著性差异(表3)。

2.4 心理量表 Zung量表是美国教育卫生部推荐用于精神研究的量表之一, 适用于各种职业、文化阶层及年龄段的正常人或各类精神患者, 包括青少年患者、老年患者和神经症患者。目前, 已广泛用于综合医院的临床实践。结果显示, 病例组焦虑抑郁均分与对照组比较, 有显著性差异($P<0.01$, 表4)。

3 讨论

许多消化系统疾病如功能性胃肠病(FD)^[6]、肝硬化^[7]存在胃运动功能障碍。胃食管反流性疾病的食管运动已证实存在功能失调^[8], 有人用核素测定法发现此类患者也存在胃排空延迟^[9], 也有人用B超法发现反流性食管炎患者存在胃排空障碍^[4], 但国内外均鲜见针对老年反流性食管炎患者的胃排空报道。呼气实验是分析经肺呼出的气体的成分变化和峰值出现的时间来间接推测物质在胃肠道通过的时间或代紊乱的情况, 临床用于测定胃排空、小肠通过时间、幽门螺旋杆菌的感染、肠细菌增生等。T1/2和Tlag均可反映胃排空状况, T1/2更稳定, 通常作为胃排空的主要依据。本组患者T1/2和Tlag均较对照组明显升高, 提示老年反流性食管炎患者存在胃固体排空延迟, 原因可能与血浆胃动素水平下降^[4]及胃顺应性和感觉动能异常^[10]、自主神经功能紊乱^[11]有关。症状评分是反映患者临床症状轻重的量化指标, 是诊断GRED的一个良好的筛查项目^[12]。本研究结果症状评分6分以上组的T1/2和Tlag和症状评分6分以下组比较均升高明显, 提示老年反流性食管炎患者的胃固体排空功能可能与症状的严重程度有关。本研究的结果表明, 内镜I级的患者胃T1/2及Tlag与内镜II+III级的患者之间无显著性差别, 提示老年反流性食管炎患者的胃固体排空功能可能与内镜分级无关。我们已经证实, 社会心理因素和胃肠道的功能状况相关^[13]。Steinberg *et al*^[14]认为, 正确的心理健康状况的评估对疾病的诊断治疗会带来有利的辅助作用。而老年人生理机能衰退明显, 对外界事物的感觉能力减弱, 生活和社交范围均明显缩小, 使得老年人承受着比年轻人更大的心理和生理上的双重压力。生理上的衰退和疾病的躯体影响使老年人容易产生情绪消沉、抑郁、悲伤、情感脆弱等, 虽说老年人丰富的阅历和人生经验在一定程度上能弥补心理机能的

表 2 病例组症状评分与T1/2与Tlag关系

症状评分	≥6分(14例)	<6分(19例)
T1/2	161.6 ± 22.41 ^b	137.6 ± 16.7
Tlag	71.8 ± 11.8 ^b	52.9 ± 9.2

^b $P<0.01$ vs <6分组。

表 3 病例组食管炎分级与胃排空的关系

内镜分级	I级(17例)	II+III级(16例)	<i>t</i>	<i>P</i>
T1/2	142.4 ± 19.9	155.3 ± 17.7	1.96	$P>0.05$
Tlag	59.4 ± 9.2	66.5 ± 12.8	1.19	$P>0.05$

表 4 病例组与对照组焦虑、抑郁评分比较

分组	病例组	对照组
焦虑均分	56.8 ± 12.3 ^b	39.6 ± 9.8
抑郁均分	53.4 ± 10.9 ^b	37.7 ± 11.5

^b $P<0.01$ vs 对照组。

不足, 但另一方面, 数十年的生活也养成了非常固定的思维和价值取向模式, 使其外在干预下的心理自我调整趋向困难。在当前多变的社会背景下, 生理和心理的压力可想而知。对老年反流性食管炎患者来说, 症状对躯体和生活的影响是不可避免的, 本研究数据表明, 老年反流性食管炎患者的抑郁和焦虑评分与对照组有显著差异, 提示老年反流性食管炎患者存在着较重的抑郁和焦虑情绪。

总之, 老年反流性食管炎患者存在明显的胃排空延迟现象, 且与临床症状的轻重程度相关, 与内镜下分级无关; 焦虑和抑郁情绪是老年反流性食管炎患者的普遍现象, 需要引起临床工作者的高度重视。

4 参考文献

- 1 陈中和, 张梅, 莫略, 温永通, 汤宗示. 反流性食管炎的患病情况分析. 中华消化内镜杂志 1999; 16: 354-355
- 2 李泽民, 陈正言. 老年反流性食管炎78例临床特点分析. 实用老年医学 2001; 15: 93-94
- 3 王升, 吴本俨, 吴道宏. 老年例胃食管反流病98例5年随访报告. 解放军医学杂志 2004; 29: 358-359
- 4 真岩波, 张淑红, 孙晓辉. 反流性食管炎患者血浆胃动素、胃排空时间相关性研究. 临床荟萃 2003; 18: 1149-1150
- 5 Ghooos YF, Maes BD, Geypens BJ, Mys G, Hiele MI, Rutgeerts PJ, Vantrappen G. Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-

■应用要点

本文通过研究证实, 老年反流性食管炎患者存在胃排空障碍, 且伴有焦虑和抑郁心理, 而心理健康水平与胃排空障碍也存在联系, 这些结论对提高临床诊治实践水平提供了有益的参考。

■名词解释

¹³C-辛酸呼气试验: 是以稳定核素¹³C为示踪剂加入试验餐中, 患者在禁食12 h后服用, 因为¹³C标记物胃内不吸收, 在十二指肠被迅速吸收, 肝脏内氧化, 最后成为CO₂从呼吸道呼出。用气相色谱仪或放射性核素质谱仪, 根据服用试验餐后4 h内呼出的¹³CO₂的呼出情况确定胃排空时间。

■同行评价

本文采用 ^{13}C -辛酸呼吸试验检测,间接推测胃内容的存留情况,研究老年反流性食管炎患者胃排空状况,方法比较先进,有一定临床指导价值。

- labeled octanoic acid breath test. *Gastroenterology* 1993; 104: 1640-1647
- 6 Chitkara DK, Camilleri M, Zinsmeister AR, Burton D, El-Youssef M, Freese D, Walker L, Stephens D. Gastric sensory and motor dysfunction in adolescents with functional dyspepsia. *J Pediatr* 2005; 146: 500-505
- 7 van de Casteele M, Luybaerts A, Geypens B, Fevery J, Ghoo Y, Nevens F. Oxidative breakdown of octanoic acid is maintained in patients with cirrhosis despite advanced disease. *Neurogastroenterol Motil* 2003; 15: 113-120
- 8 吴道宏, 蔡昌豪, 吴本俨, 李园. 老人胃食管反流病患者食管测压和24小时pH监测分析. *中华老年医学杂志* 2001; 20: 299-300
- 9 李林, 杨晓川, 匡安仁, 李力霞, 欧阳钦. 胃食管反流病的胃排空功能研究. *中华核医学杂志* 2000; 20: 172-174
- 10 于凤海, 李兆申, 许国铭, 邹多武, 尹宁. 反流性食管炎患者的胃近端顺应性和感觉功能研究. *第二军医大学学报* 2001; 22: 213-215
- 11 郭丽鹃, 王彦卿, 李增平, 巩晓红. 反流性食管炎患者的心率变异性临床分析. *中国综合临床* 2005; 21: 871-872
- 12 中国胃食管反流病研究协作组. 反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值. *中华消化杂志* 2003; 23: 651-655
- 13 Schmitz N, Hartkamp N, Franz M, Buse S, Karig R, Tress W. Properties of the Symptom Check List (SCL-90-R) in a psychosomatic consultation-liaison setting. *Psychol Rep* 2002; 90: 1201-1207
- 14 Steinberg M, Barry DT, Sholomskas D, Hall P. SCL-90 symptom patterns: indicators of dissociative disorders. *Bull Menninger Clin* 2005; 69: 237-249

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

● 消息 ●

第十九届全国中西医结合消化会议征文通知

本刊讯 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会决定于2007-08下旬在石家庄市召开第十九届全国中西医结合消化学术交流会, 并同时举办全国中西医结合消化疾病诊治新进展学习班。

1 征文内容和要求

征文内容: (1)有关消化系统疾病包括食管、胃、肝、胰等诊疗、实验研究进展; (2)中西医结合对慢性肝炎(病)、肝纤维化临床诊治以及基础、实验研究; (3)中西医结合对消化系统肿瘤诊治经验与实验研究; (4)中西医结合对“淤血症”以及脾胃学说与脾虚证研究进展。征文要求: 来稿请附800字论文摘要, 并附软盘或发电子邮件至211zyke@163.com或czs.xiaohua@163.com(尽量以电子邮件发送)。征文请于2007-06-30前邮寄。

2 学习班招收对象

学习班招收对象: 从事中西医结合、中医或西医消化专业医师以上人员。参加学习班者授予国家继续教育学分12分; 在大会论文报告者另授继续教育学分6分。

3 联系方式

(1) 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路45号 解放军第211医院中医科(中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会), 邮编: 150080, 联系人: 李春雷, 贾云, 联系电话: 0451-57752440或86632450, 传真: 0451-86603878或0451-57752440; (2) 河北省石家庄和平西路215号河北医科大学附属第二医院, 邮编: 050000, 联系人: 姚希贤, 冯志杰, 联系电话: 0311-87222301或13333015658。

门脉CT血管造影成像和胃镜在门脉高压诊断中的价值

陈丽娜, 瞿晴, 孙波, 王蕾, 慎睿哲, 程时丹, 靳勇, 吴云林

陈丽娜, 瞿晴, 孙波, 王蕾, 慎睿哲, 程时丹, 吴云林, 上海交通大学医学院附属瑞金医院消化科 上海市 200025
靳勇, 上海交通大学医学院附属瑞金医院放射科 上海市 200025

通讯作者: 陈丽娜, 200025, 上海市瑞金二路197号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院消化科. anerkaisa@126.com

电话: 021-64379794-665246

收稿日期: 2006-08-28 接受日期: 2006-09-20

Values of endoscopy and computed tomographic angiography for portal vein in diagnosis of portal hypertension

Li-Na Chen, Qing Qu, Bo Sun, Lei Wang, Rui-Zhe Shen, Shi-Dan Cheng, Yong Jin, Yun-Lin Wu

Li-Na Chen, Bo Sun, Qing Qu, Lei Wang, Rui-Zhe Shen, Shi-Dan Cheng, Yun-Lin Wu, Department of Gastroenterology, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China
Yong Jin, Department of Radiology, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Li-Na Chen, Department of Gastroenterology, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, 197 Ruijiner Road, Shanghai 200025, China. anerkaisa@126.com

Received: 2006-08-28 Accepted: 2006-09-20

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of endoscopy and computed tomographic angiography for portal vein (PV-CTA) in the diagnosis of esophageal-gastric varices caused by portal hypertension.

METHODS: A total of 60 patients with suspected portal hypertension were enrolled in this study. All the patients were examined by endoscopy and PV-CTA, and the data were comparatively analyzed.

RESULTS: Esophageal varices diagnosed by PV-CTA covered a percentage of 70.0% ($n = 42$), while those diagnosed by endoscopy accounted for 75.0% ($n = 45$); the coincidence rate was 70.8%. However, for gastric varices, the diagnostic rate of PV-CTA was 86.7% ($n = 52$

cases), while that of endoscopy was 50.0% ($n = 30$); the coincidence rate was 26.7%. The etiology of all 60 cases was defined: 42 cases were with posthepatitis cirrhosis, 7 cases with schistosomal cirrhosis, 3 cases with alcoholic cirrhosis, 7 cases with pancreatic portal hypertension, and 1 case with portal foamy denaturation.

CONCLUSION: PV-CTA is efficient in the diagnosis of esophageal-gastric varices, not only for varices in submucosa, muscular layer, serosa, or extraserosa, but also varices caused by non-cirrhosis. Patients with suspected portal hypertension are suggested to be evaluated for portal tension and causes by combination of PV-CTA and endoscopy.

Key Words: Portal hypertension; Esophageal-gastric varices; Endoscopy; Computed tomographic angiography for portal vein

Chen LN, Qu Q, Sun B, Wang L, Shen RZ, Cheng SD, Jin Y, Wu YL. Values of endoscopy and computed tomographic angiography for portal vein in diagnosis of portal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3421-3425

摘要

目的: 了解门脉高压食管胃静脉曲张在门脉CT血管造影成像(CTA)和胃镜上的特点, 比较两者对于食管胃静脉曲张的检出正确性。

方法: 对60例临床疑为门脉高压食管的患者分别行门脉CTA和胃镜检查。所有检查均由消化科和放射科指定专业医师进行操作并作出诊断进行总结分析。

结果: 门脉CTA、胃镜两种方法检出食管静脉曲张42例和45例, 诊断率为70.0%和75.0%, 两者的诊断一致率为70.8%。门脉CTA和胃镜两种方法检出的胃静脉曲张分别为52例和30例, 诊断率分别为86.7%和30.0%, 两者的诊断一致率为26.7%。通过以上的检查和病史分析, 60例门脉高压患者均明确了病因, 包括肝炎后肝硬化42例, 血吸虫性肝硬化7例, 酒精性肝硬化3例, 胰源性门脉高压7例, 门脉海绵样

■背景资料

门脉高压的综合诊断主要包括临床、内镜、影像学及门脉-体循环血液动力学诊断, 用胃镜检查判断有无门脉高压食管胃静脉曲张, 观察充分, 临床上已广泛开展, CT血管造影成像, 放射学新技术可了解是否存在门脉系统各分支的静脉曲张或其他的病理情况。

■同行评价

本文立题目的明确,设计比较合理,方法基本正确,结论较客观。

变性1例。

结论: 门脉CTA对于食管和胃静脉曲张的检出率较高,对胃镜不能观察到的非黏膜面的曲张静脉及其他部位静脉均可作出诊断。对非肝硬化原因的门脉高压亦能作出正确诊断。对疑诊门脉高压的患者,结合门脉CTA和胃镜检查可以对门脉高压病因、病情进行全面的评估。

关键词: 门脉高压;食管胃静脉曲张;胃镜;门脉CTA

陈丽娜,瞿晴,孙波,王蕾,慎睿哲,程时丹,靳勇,吴云林. 门脉CT血管造影成像和胃镜在门脉高压诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3421-3425

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3421.asp>

0 引言

门脉高压是临床上常见的综合病征。他是于1880年由意大利病理学家Banti首先描述的。根据发病原因和病变部位的不同,可以分为肝前、肝内、肝后3型。门脉高压的综合诊断主要包括临床、内镜、影像学与门脉-体循环血液动力学诊断。用胃镜检查判断有无门脉高压食管胃静脉曲张,观察充分,临床上已广泛开展。CT血管造影成像(computed tomographic angiography, CTA)是近几年来迅速发展起来的依靠多层螺旋CT技术和实时3D等多种强大的后处理功能的放射学新技术^[1]。门脉CTA可以清楚的显现门脉系统及其各分支血管的形态、走向,精确测量门静脉主干、脾静脉、肠系膜上静脉的直径,并可了解是否存在门脉系统各分支的静脉曲张或其他的病理情况^[2-4]。本研究拟对一组临床上疑为门脉高压的患者,分别行门脉CTA检查与胃镜检查,了解门脉高压在CTA及胃镜上的表现特点,比较两者对食管和胃静脉曲张的检出率;探讨临床上结合这两种方法对于门脉高压患者的综合诊断价值及其对临床治疗的指导作用。

1 材料和方法

1.1 材料收集 上海瑞金医院消化科2004-08/2006-01疑为门脉高压的患者60例,其中男45例,女15例,年龄16-78(平均51.9±13.7)岁。消化道出血(呕血或黑便)46例,腹痛5例,发热或(及)黄疸4例,腹泻1例,无明显症状4例。通过血常规、肝功能、B超、腹部CT等检查明确肝硬化者52例,其中肝炎后肝硬化42例,血吸虫性肝硬化7例,酒精性肝硬化3例;发现胰腺炎及胰腺假性囊肿5例,

胰腺肿瘤占位2例。所有患者均行门脉CTA检查和胃镜检查。

1.2 方法

1.2.1 门脉CTA 采用GE Lightspeed 16多层螺旋CT进行扫描。检查前禁食4 h以上,扫描前20 min嘱患者饮水1500-2000 mL,使胃腔及小肠完全充盈。患者取仰卧位,平扫确定扫描范围后,经肘静脉注入非离子型造影剂1.5-2 mL/kg,注射速率3 mL/s,进行动脉期及门脉期薄层CT增强扫描,动脉期扫描范围从肝顶到双肾动脉水平,层厚、层间距为1.25 mm,动脉期的扫描采用肝门水平腹主动脉内smart prep智能启动,域值设为80 Hu,扫描启动时间大约为20-25 s;门脉期扫描范围从髂嵴至食管下段层面,层厚、层间距为2.5 mm,扫描开始时间为动脉期结束后30-35 s。仔细观察门静脉及门体侧枝血管并测量门静脉、脾静脉直径;着重观察食管和胃有无静脉曲张并记录其部位及深浅,观察曲张静脉来源;观察其他病理情况。

1.2.2 胃镜检查 采用Fujinon400型电子胃镜。检查前禁食12 h,检查前15 min口服盐酸利多卡因胶浆10 mL口咽部局部麻醉后,胃镜检查食管、胃及十二指肠球部,仔细观察有无静脉曲张、门脉高压性胃病、溃疡和其他疾病。若发现有食管胃静脉曲张,按照中华消化内镜学会2000-03在昆明通过的食管胃底静脉曲张胃镜下诊断治疗规范,记录其形态、基本色调、红色征(RC)、部位、有无黏膜糜烂,并进行轻中重分级^[5]。

统计学处理 应用SAS6.12统计分析软件,比较对门脉CTA检查、胃镜检查对食管和胃静脉曲张的整体检出率。 $P<0.05$,表示其差异存在统计学意义。门脉CTA检查食管胃静脉曲张有无与胃镜检查结果的一致率用Kappa值表示。Kappa值<40为高度不一致,Kappa值>75为高度一致。

2 结果

2.1 门脉高压在门脉CTA上的表现

2.1.1 对食管胃静脉曲张诊断 经过门脉CTA检查,60例患者中发现食管静脉曲张者42例,其中单纯食管静脉曲张1例;胃静脉曲张52例,其中单纯胃静脉曲张11例;7例未发现明显食管胃静脉曲张。42例食管静脉曲张患者中,发现食管下段静脉曲张40例,食管中段2例,未见明显食管上段静脉曲张。42例患者的食管曲张静脉在食管壁层次中的分布为:曲张静脉仅位于黏膜及黏膜下层的18例,位于黏膜层至浆膜层(即食管

壁全层)的6例,食管壁全层均有曲张静脉并向浆膜外延伸的11例,仅黏膜层和浆膜外有曲张静脉的4例,仅位于浆膜外的3例.52例胃静脉曲张患者中,发现胃底贲门部静脉曲张29例,孤立性胃底部静脉曲张18例,孤立性胃体部静脉曲张4例,孤立性胃窦部静脉曲张1例;11例单纯胃静脉曲张中,孤立性胃底部静脉曲张6例,孤立性胃体部静脉曲张4例,孤立性胃窦部静脉曲张1例.52例患者的胃静脉曲张在胃壁层次中的分布为:曲张静脉仅位于黏膜及黏膜下层者13例,位于黏膜层至浆膜层者(即胃壁全层)5例,胃壁全层均有曲张静脉并向浆膜外延伸者17例,黏膜层和浆膜外有曲张静脉者4例,位于肌层至浆膜层者2例,位于肌层至浆膜外者6例,仅位于浆膜外者5例.

2.1.2 对其他侧枝循环及分流道诊断 发现脐静脉形成5例,脾静脉中断或血栓伴周围侧支循环形成6例,门静脉血栓2例,肝内门静脉扭曲海绵样变性1例,空肠黏膜下静脉曲张1例,直肠黏膜下静脉曲张1例,腹壁静脉曲张1例.60例患者中,发现存在自发性胃肾静脉分流道的10例,占16.7%;自发性脾肾静脉分流道的1例,占1.7%.存在分流道的患者门静脉直径平均为 12.7 ± 3.2 mm (6.0-17.7 mm),无胃肾分流道的患者门静脉直径为 15.5 ± 3.0 mm (10.0-21.9 mm),两者间有显著统计学差异($P < 0.05$).

2.1.3 门脉CTA对血管直径测量 60例患者中,3例因门静脉迂曲明显,6例因门静脉显影欠佳,无法测量门静脉直径,其余51例完成了门静脉直径的测量,门静脉直径范围为6.0-21.9 mm,平均值为 14.8 ± 3.3 mm.60例患者中,6例因脾静脉栓塞形成,9例因已行脾脏切除术,无法行脾静脉直径测定,其余45例完成了脾静脉直径的测量,脾静脉直径范围为1.9-21.0 mm,平均值为 11.6 ± 4.1 mm.

2.1.4 对非肝硬化性食管胃静脉曲张病因的诊断价值 60例患者中,有8例经腹部CT、B超检查未见明显肝硬化征象.经过门脉CTA检查,发现7例为胰源性门脉高压患者,门脉CTA发现3例脾静脉变细,4例脾静脉中段,伴周围大量吻合支形成.6例发现胃静脉曲张,其胃静脉曲张特点均为孤立性胃静脉曲张,食管及贲门无明显静脉曲张;1例发现胃后静脉曲张.另1例为门脉海绵样变性,表现为肝内门静脉主干消失代之以迂曲、网状细小血管,同时伴有门脉双支变异,副门脉压迫胆总管造成肝内胆管扩张.

2.2 胃镜检查对食管胃静脉曲张诊断 经胃镜检

表 1 CTA与胃镜对食管、胃静脉曲张诊断的比较

		胃镜 (+)	胃镜 (-)
食管	CTA(+)	40 (66.7%)	2 (3.3%)
	CTA(-)	5 (8.3%)	13 (21.7%)
胃	CTA(+)	30 (50.0%)	22 (36.7%)
	CTA(-)	0 (0)	8 (13.3%)

查,60例患者中发现食管静脉曲张45例,其中单纯食管静脉曲张22例,合并胃静脉曲张23例;发现胃静脉曲张30例,其中单纯胃静脉曲张7例;8例未发现明显曲张静脉.52例食管胃静脉曲张中发现RC(-)36例(69.2%),RC(+)16例(30.8%).此外,发现门脉高压性胃病7例,胃、十二指肠溃疡6例,糜烂性胃炎5例,胃多发息肉1例.

2.3 门脉CTA与胃镜检查对食管胃静脉曲张诊断的比较 在对食管静脉曲张的诊断中,CTA与胃镜对食管静脉曲张的诊断率无显著差异($P = 0.5397$),诊断一致性较高($\kappa = 0.7083$);对胃静脉曲张的诊断,CTA与胃镜率有显著差异($P = 0.0000$),诊断一致性不高($\kappa = 0.2667$)(表1).

3 讨论

引起门脉高压的疾病有许多,主要包括肝硬化、肝癌、肝脏海绵样变性等肝脏疾病,以及胰腺炎症致脾静脉栓塞、门静脉周围肿瘤、Budd-Chiari综合征等肝外疾病等^[6].各种原因引起的门脉高压是临床上较常见的综合征,由此引起的“门脉高压三联征”即侧支循环形成、腹水、脾肿大也较普遍^[7].门体之间侧支循环形成主要包括食管胃静脉曲张、腹壁静脉曲张、痔静脉曲张、腹膜后静脉曲张,其中又以食管胃静脉曲张多见^[8].食管胃静脉曲张破裂出血多表现为大量呕鲜血和/或血便,出血量大,病情凶险,是门脉高压常见的致命性的并发症之一.尽管近几年出现了多种新的治疗方法和手段,但其死亡率仍高达15%-35%.此外,门脉高压症患者上消化道大量出血的原因,并非均是曲张静脉破裂出血,相当部分患者为溃疡病、胃良恶性肿瘤、胃黏膜病变等.如何明确门脉高压的原因,有效控制急性出血,降低再出血率,提高患者生活质量,是临床上有待解决的重要问题.

3.1 门脉高压食管胃静脉曲张门脉CTA的特点 我们发现,食管胃静脉曲张可以出现在食管壁和胃壁的各个层次.其中食管静脉曲张以黏膜和黏膜下层最常见(42.9%),其次是曲张静脉从

黏膜层一直延伸至浆膜层(16.2%),位于黏膜层至浆膜层(即食管壁全层)的14.3%,仅黏膜层和浆膜外有曲张静脉的0.9%。因此在黏膜层可观察到的曲张静脉占了绝大多数(92.9%)。本研究中仅有3例食管静脉曲张只位于浆膜外而不出现在黏膜层,这就是CTA可以发现、而胃镜无法发现的曲张静脉。大多数的食管静脉曲张在胃镜和门脉CTA上都可以观察到。两种诊断技术对于食管静脉曲张都有较高的检出率,经统计学检验,两种技术之间无显著差异。在胃静脉曲张中,最常见的是胃壁全层均有曲张静脉并向浆膜外延伸(33.3%)。本研究中,有25.5%的患者仅在黏膜层以外的其他层次出现曲张静脉。而胃镜只能观察到黏膜面的情况,对于胃壁其他层次有无静脉曲张无法作出判断。因此,在胃静脉曲张的诊断上,门脉CTA检查的检出率明显高于胃镜检查。60例接受门脉CTA检查的患者中,有10例患者(16.7%)的CTA显示存在自发性胃-肾分流道(spontaneous gastro-renal shunt, SGRS)。此类患者多表现为胃底有巨大扭曲的曲张静脉,并与左肾静脉之间形成自发的分流道。此分流道为经静脉气囊闭塞曲张静脉逆行栓塞术(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, B-RTO)所必需。文献报道, B-RTO对于单纯胃底静脉曲张的治疗效果理想,4 mo后胃镜复查可见胃底静脉曲张明显萎缩消失,肝性脑病患者的临床症状得到缓解,且再出血率与曲张静脉再通率较低,为胃静脉曲张治疗提供了新方法^[9-11]。门脉高压症时,门静脉及其属支均有不同程度的扩张(正常人门静脉主干内径一般为0.6-1.0 cm),当门静脉直径 ≥ 13 mm,可提示门脉高压的存在,而部分患者的脾静脉内径也增宽,可 ≥ 10 mm^[8,12]。门静脉主干及其属支的内径增宽是诊断门脉高压的有力指标^[13-14]。本研究中,患者的门静脉直径平均为 14.8 ± 3.3 mm,脾静脉直径平均为 11.6 ± 4.1 mm。另外,发现在存有自发性胃/脾-肾静脉分流道的患者中,其门静脉直径明显小于无该分流道的患者,说明自发性胃/脾-肾静脉分流道的产生是一种自发的代偿方式,在一定程度上起到降低门静脉压力的作用。门脉CTA不仅可以发现位于食管和胃壁各层的曲张静脉,且易发现其他部位的曲张静脉,例如脾静脉曲张,腹壁静脉曲张等。在本研究中,通过门脉CTA检查,发现脐静脉形成5例,脾静脉中断伴周围侧支循环形成5例。对于非肝硬化门脉高压的病因也有一定的判断作用。本研究中8例非

肝硬化门脉高压患者通过门脉CTA检查均明确了病因。门脉CTA检查操作简单、方便、无创,可以清晰的显示门静脉及其4-5级分支的走行和分布情况,并可精确的测量各血管的直径^[15]。对于门脉高压患者最常见的是食管胃静脉曲张。通过门脉CTA检查可以明确曲张静脉的部位和其在胃壁、食管壁各层次中的分布及与周围组织、脏器之间的关系。对于食管和胃静脉曲张的检出率较高,而且能对胃镜不能观察到的黏膜下、肌层、浆膜层或浆膜外的静脉曲张作出诊断,特别是对胃底静脉曲张尤其敏感。且门脉CTA容易发现其他部位的曲张静脉,例如脾静脉曲张、脐静脉曲张等,并可以将曲张静脉量化,进行门静脉、脾静脉、肠系膜静脉以及曲张静脉的直径测定,对于曲张静脉的来源也有一定判断作用。对于非肝硬化所致的门脉高压食管和/或胃静脉曲张,如胰源性门脉高压、门静脉海绵样变性等,门脉CTA亦能作出正确的病因诊断。但门脉CTA对于曲张程度轻且位置较表浅的曲张静脉不敏感,且无法明确曲张静脉的数目、程度、最近有无出血以及有无黏膜层的其他疾病,例如门脉高压性胃病、胃十二指肠溃疡等。

3.2 门脉高压食管胃静脉曲张在胃镜检查中的特点 本研究中经胃镜检查,绝大多数的食管静脉曲张在黏膜层可观察到(92.9%),与CTA相比无显著差异。在胃静脉曲张中,有25.49%的患者仅在黏膜层以外的其他层次出现曲张静脉。而胃镜只能观察到黏膜面的情况,对于胃壁其他层次有无静脉曲张无法作出判断,且胃静脉曲张常位于黏膜下及浆膜下较深部位,其表面黏膜色泽及外观常与正常黏膜相似,检查时若不仔细观察,容易漏诊。因此,在胃静脉曲张的诊断上,门脉CTA检查的检出率明显高于胃镜检查。此外,52例食管胃静脉曲张中发现红RC(-)36例(69.2%),RC(+)16例(30.8%)。另发现门脉高压性胃病7例,胃、十二指肠溃疡6例,糜烂性胃炎5例,胃多发息肉1例。

胃镜检查对于位于食管胃黏膜层的静脉曲张有很高的诊断价值,一旦在胃镜检查中发现存在食管胃静脉曲张,即可判断门脉高压。胃镜检查不仅能在直视下发现食管胃底有无静脉曲张、出血部位、病变性质、黏膜色泽等变化,也能了解静脉曲张的程度、范围、近期有无出血的危险。胃镜检查对于食管静脉曲张的判断尤为敏感,即使是处于门脉高压食管胃静

脉曲张的早期, 也可以清晰的观察到黏膜面有无血管显露或迂曲. 胃镜检查也可以观察是否存在由于门脉高压胃肠血管淤血引起的门脉高压性胃病以及其他病理情况如胃或十二指肠球部溃疡、胃肿瘤或息肉、糜烂出血性胃炎等作出诊断^[16]. 另外通过胃镜可以行食管胃静脉曲张的硬化剂、黏合剂或皮圈结扎等止血治疗. 但胃镜观察到的只是食管胃黏膜面的曲张静脉情况, 无法明确曲张静脉的深浅, 也无法明确肌层、浆膜层、浆膜外或其他部位有无曲张静脉形成. 本研究显示, 部分门脉高压患者胃镜下未见明确食管和或胃静脉曲张, 门脉CTA可明确显示肌层、浆膜层甚至浆膜外的曲张静脉, 这就是由于胃镜只能观察到食管和胃黏膜的缘故. 胃镜观察到的是有无门脉高压引起的食管胃静脉曲张, 只能对是否存在门脉高压作出判断, 无法对引起门脉高压的病因提供参考.

3.3 门脉CTA、胃镜结合对食管胃静脉曲张治疗的指导作用 对于临床疑诊门脉高压食管的患者, 行门脉CTA检查和胃镜检查, 能明确有无门脉高压及由此导致的食管胃和/或其他部位的静脉曲张, 并可对此进行全面的评估, 了解曲张静脉的部位、数目、程度、有无出血倾向、与周围脏器的关系等, 也可以了解有无门脉高压性胃病、胃十二指肠溃疡等其他疾病, 对引起门脉高压的原因也有一定提示作用. 门脉CTA、胃镜结合能全面评估门脉高压患者的病因及静脉曲张情况等, 为进一步的治疗提供可靠的临床依据.

4 参考文献

- 1 Mauser M, Billmann P, Wiedemer B, Ennker J, Fleischmann D. Regional lung edema in acute mitral valve insufficiency following chordae tendineae rupture with prolapse of the posterior mitral valve leaflet. *Rontgenpraxis* 2003; 55: 33-38
- 2 祝玉芬, 王小玲. CT血管造影(CTA)的方法及临床应用. *实用放射学杂志* 2003; 19: 381
- 3 Matsumoto A, Kitamoto M, Imamura M, Nakanishi T, Ono C, Ito K, Kajiyama G. Three-dimensional portography using multislice helical CT is clinically useful for management of gastric fundic varices. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 176: 899-905
- 4 Henseler KP, Pozniak MA, Lee FT Jr, Winter TC 3rd. Three-dimensional CT angiography of spontaneous portosystemic shunts. *Radiographics* 2001; 21: 691-704
- 5 丁大洪. 食管胃底静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案. *中华消化内镜杂志* 2000; 17: 198-199
- 6 萧树东. 胃肠病学和肝病学. 第一版. 上海: 上海世界图书出版公司 2004: 661-667
- 7 王吉耀. 现代肝病治疗理论与进展. 上海医科大学出版社 1999; 12: 219-230
- 8 李涛, 杨镇. 门脉高压性血管病变研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 64-68
- 9 Fukuda T, Hirota S, Sugimura K. Long-term results of balloon-occluded retrograde transvenous obliteration for the treatment of gastric varices and hepatic encephalopathy. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 327-336
- 10 Ninoi T, Nishida N, Kaminou T, Sakai Y, Kitayama T, Hamuro M, Yamada R, Nakamura K, Arakawa T, Inoue Y. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration of gastric varices with gastroduodenal shunt: long-term follow-up in 78 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184: 1340-1346
- 11 Matsumoto A, Hamamoto N, Nomura T, Hongou Y, Arisaka Y, Morikawa H, Hirata I, Katsu K. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration of high risk gastric fundal varices. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 643-649
- 12 李涛, 李海洋, 张彤. 门脉高压症脾血管病变的研究. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1616-1622
- 13 齐凤祥, 张志广, 张颖. 门脉宽度及血流峰速对门脉高压的诊断分析. *天津医科大学学报* 2003; 9: 122-123
- 14 漆德芳. 肝硬化. 北京: 北京科学技术出版社, 2000; 435-448
- 15 翟凤杰, 费晓璐, 熊武. CT血管造影的三维可视化与测量技术. *医疗设备信息* 2005; 20: 8-10
- 16 王帅, 闻炜, 姚鹏. 肝硬化并门脉高压性胃病的临床研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 533-535

电编 李琪 编辑 张焕兰

肝门胆管狭窄的病因分析与影像学诊断的临床评价

郝俊鸣, 李雪梅, 徐建民, 任元满, 武世荣, 崔永超

■背景资料

肝门部胆管狭窄是指胆囊管汇入胆总管以上的肝胆管狭窄, 在胆道外科并不少见, 随着医学影像学技术的发展, 超声(US)、逆行胰胆管造影(ERCP)、经皮肝穿胆道造影(PTC)、MRI和磁共振胰胆管造影(MRCP)等技术已应用于临床, 肝门胆管狭窄的诊断状况也有了很大改观。

郝俊鸣, 李雪梅, 徐建民, 首都医科大学康复医学院北京博爱医院 北京市 100068

任元满, 武世荣, 崔永超, 山西医科大学第二医院 山西省太原市 030001

通讯作者: 郝俊鸣, 100068, 北京市丰台区角门北路10号, 首都医科大学康复医学院北京博爱医院内镜室。

haojunming5@hotmail.com

电话: 010-87569745

收稿日期: 2006-09-10 接受日期: 2006-11-04

Etiological analysis of bile duct obstruction in porta hepatis and clinical evaluation of imaging diagnostic technique

Jun-Ming Hao, Xue-Mei Li, Jian-Min Xu,
Yuan-Man Ren, Shi-Rong Wu, Yong-Chao Cui

Jun-Ming Hao, Xue-Mei Li, Jian-Min Xu, Beijing Charity Hospital, Rehabilitation College of Capital University of Medical Sciences, Beijing 100068, China

Yuan-Man Ren, Shi-Rong Wu, Yong-Chao Cui, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Correspondence to: Jun-Ming Hao, Department of Endoscopy, Beijing Charity Hospital, Rehabilitation College of Capital University of Medical Sciences, 10 Jiaomen North Road, Beijing 100068, China. haojunming5@hotmail.com

Received: 2006-09-10 Accepted: 2006-11-04

Abstract

AIM: To summarize the causes of bile duct stricture in porta hepatis and probe into the diagnostic values of imaging techniques.

METHODS: The data of 82 patients with bile duct stricture in porta hepatic were collected, and the causes of the disease were analyzed, and the application and diagnostic coincidence rate of imaging techniques such as ultrasonography (US), magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP), endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP), percutaneous transhepatic cholangiography (PTC) were calculated.

RESULTS: The malignant stricture accounted for 87.80% of the bile duct strictures in porta hepatis, among which the majority was caused by bile duct cancer in porta hepatis, occupy-

ing 76.83% of the total; Secondly, the rate of gallbladder cancer was 7.32%, porta hepatis metastasis of colon cancer and tumor thrombus of hepatocellular carcinoma were 1.22% and 2.44%, respectively. Benign causes accounted for 12.20%, including common bile duct cyst, injured bile duct, primary sclerosing cholangitis, and bile duct calculi. The coincidence rates of US, ERCP, PTC, and MRCP in the diagnosis of bile duct stricture in porta hepatis were 84.15%, 92.86%, 100%, and 100%, respectively.

CONCLUSION: The malignant disease is the main cause of bile duct stricture in porta hepatis. Meanwhile, imaging techniques can help to make accurate diagnosis of this disease.

Key Words: Stricture of Bile duct in porta hepatis; Etiology; Ultrasonography; Magnetic resonance cholangiopancreatography; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Percutaneous transhepatic cholangiography; Diagnostic coincidence rate

Hao JM, Li XM, Xu JM, Ren YM, Wu SR, Cui YC. Etiological analysis of bile duct obstruction in porta hepatis and clinical evaluation of imaging diagnostic technique. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3426-3429

摘要

目的: 总结分析肝门胆管狭窄的病因并探讨各影像学诊断方法在肝门胆管狭窄疾病中的诊断符合率。

方法: 回顾分析我院及山西医科大学第二医院于1982-2004 82例资料完整的肝门胆管狭窄患者的主要病因以及超声(US)、磁共振胰胆管造影(MRCP)、逆行胰胆管造影(ERCP)、经皮肝穿胆道造影(PTC)等影像诊断结果, 分析各项影像技术在肝门胆管狭窄诊断中的适应症和诊断符合率。

结果: 恶性病变占肝门胆管狭窄病的87.80%, 其中大部分由肝门胆管癌引起, 占总例数的76.83%, 其次胆囊癌占7.32%, 结肠癌肝门转移1.22%, 肝细胞癌并发癌栓2.44%等。良性病变占12.2%, 主要为损伤性胆管、胆管囊肿、

硬化性胆管炎以及胆管结石等. US, ERCP, PTC, MRCP对肝门胆管狭窄的诊断准确率分别为84.15%, 92.86%, 100%, 100%.

结论: 恶性病变是肝门部胆管狭窄病的主要原因, 良性病变相对比例较小. 在肝门胆管狭窄的诊断中, 影像学诊断技术扮演着关键辅助作用的角色, 能协助临床迅速获得准确结论.

关键词: 肝门胆管狭窄; 病因学; 超声; 磁共振胰胆管造影; 逆行胰胆管造影; 经皮肝穿刺胆道造影; 诊断符合率

郝俊鸣, 李雪梅, 徐建民, 任元满, 武世荣, 崔永超. 肝门胆管狭窄的病因分析与影像学诊断的临床评价. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3426-3429
http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3426.asp

0 引言

随着医学影像学技术的发展, 超声(ultrasonography, US)、逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)、经皮肝穿胆道造影(percutaneous transhepatic cholangiography, PTC)、MRI和磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等技术已应用于临床, 肝门胆管狭窄的诊断状况也有了很大改观. 我们总结了近年来肝门胆管狭窄患者的病例资料, 分析其发病原因以及各种影像学诊断方法的应用情况, 以期提高临床肝门胆管狭窄的诊断水平.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾我院和山西医科大学第二医院1982-2004年资料完整的肝门胆管狭窄的病例82例, 其中男55例, 女27例, 年龄45-92(平均63.4)岁, 50-70岁年龄者居多, 占80.50%. 经病理诊断36例, 手术诊断22例, 临床诊断24例.

1.2 方法 所有肝门胆管狭窄患者, 均经B超、ERCP、PTC或者MRI+MRCP检查, 对各检查结果进行分析, 重点了解肝门胆管狭窄的常见原因并将各种影像诊断检查结果进行比较分析以探讨其诊断符合率.

2 结果

2.1 肝门胆管狭窄的病因分析 本组肝门胆管狭窄病变82例, 其中恶性狭窄72例, 良性狭窄10例, 分别占总数的87.80%与12.20%. 恶性胆管狭窄中肝门胆管癌63例, 占恶性病变比例最大, 为

表 1 肝门胆管狭窄的病因分析

分组	n	比例(%)
肝门胆管癌	63	76.83
胆囊癌	6	7.32
结肠癌肝转移	1	1.22
肝细胞癌	2	2.44
损伤性胆管	5	6.10
胆管囊肿	2	2.44
硬化性胆管炎	2	2.44
继发胆管结石	1	1.22
总计	82	100.00

表 2 肝门胆管狭窄影像学诊断符合率的比较

分组	US	ERCP	PTC	MRI+MRCP
恶性病例				
诊断数(n)	72	48	17	16
诊断符合数(n)	59	44	17	16
诊断符合率(%)	81.94	91.67	100.00	100.00
良性病例				
诊断数(n)	10	8	0	4
诊断符合数(n)	10	8	0	4
诊断符合率(%)	100.00	100.00	0	100.00
平均符合率(%)	84.15	92.86	0	100.00

87.50%, 其次为胆囊癌6例, 结肠癌肝转移1例, 肝细胞癌并发胆管癌栓2例; 良性狭窄中, 损伤性胆管5例, 胆管囊肿2例、硬化性胆管炎2例、继发胆管结石1例(表1).

2.2 肝门胆管狭窄的影像学诊断 在影像学诊断方面, 恶性狭窄的72例患者中全部行US检查, 诊断符合数为59例, 诊断符合率为81.94%; 对肝门胆管癌、胆囊癌、肝癌48例行ERCP检查, 诊断符合44例, 符合率为91.67%; 对肝门胆管癌、肝癌、胆囊癌17例行PTC检查, 符合率为100%; 肝门胆管癌、结肠癌肝门转移、肝癌肝门部胆管癌栓16例行MRI+MRCP检查, 符合率为100%. 全部10例良性病变患者均行US检查, 诊断符合数为10例, 诊断符合率为100%; 对损伤性胆管、胆管囊肿、硬化性胆管炎8例行ERCP检查, 符合率为100%; 损伤性胆管、胆管囊肿、继发胆管结石4例行MRI+MRCP检查, 符合率为100%(表2).

3 讨论

肝门部胆管狭窄是指胆囊管汇入胆总管以上的

■应用要点

本文总结了肝门胆管狭窄的常见原因并比较分析了各种影像诊断检查结果, 认为恶性病变是肝门部胆管狭窄病的主要原因, 影像学诊断技术具有重要的辅助诊断的作用, 此结论能协助临床迅速获得准确结论.

■名词解释

1 逆行胰胆管造影(ERCP): 本法于1968年由McCunne氏首先报道, 后由大井^{et al}使本法日趋完善, 是将纤维十二指肠插至十二指肠降部, 找到十二指肠主乳头(下简称乳头), 由活检管道内插入塑料导管至乳头开口部, 注入造影剂后X线摄片, 以显示胰胆管。

2 经皮肝穿胆道造影(PTC): 是胆道X线造影检查的一种方法。在X线电视荧光图像增强的监视下, 经胸部或腹部的皮肤将一根特殊的针头刺入肝脏, 当刺入肝内胆管后, 从穿刺针注入X线造影剂, 通过电视荧光屏可以显现肝内外胆管的图像, 再拍片检查。这种方法目前主要用于阻塞性黄疸的患者。

肝胆管狭窄, 在胆道外科并不少见, 其发生原因很多。胆管狭窄的病因可分为恶性病变和良性病变。本组82例中, 恶性72例, 良性10例, 恶良之比为36:5, 由此可见, 恶性病变是肝门部胆管狭窄病的主要原因。其中大部分由肝门胆管癌引起, 其次为胆囊癌、结肠癌转移、肝细胞癌并发癌栓, 其他腹腔肿瘤的肝门区转移等。本组中72例恶性病变中, 肝门胆管癌63例, 占87.50%, 胆囊癌6例, 占8.30%, 结肠癌转移1例, 占1.39%, 肝癌2例, 占2.80%, 与Khalili *et al*^[1]报道的恶性肝门狭窄的病因及发生率大体一致。良性病变多由医源性胆管损伤、胆管囊肿、肝胆管结石以及胆管炎反复发作所致。本组10例良性狭窄, 损伤性胆管5例, 占良性病变的50%, 胆管囊肿2例, 占20%, 硬化性胆管炎2例, 占20%, 继发胆管结石1例, 占10%, 这与何振平 *et al*^[2]报道76例良性狭窄中, 损伤性狭窄46例, 占60.5%; 继发性肝胆管结石及化脓性胆管炎18例, 占23.7%; MIRIZZI综合征所致7例, 占9.2%; 胆管囊肿并发肝门部狭窄3例, 占3.9%; 硬化性胆管炎所致者2例, 占2.6%的统计基本相符。国内外报道关于良性肝门部狭窄的病因大致相同, 医源性损伤都占有较重要地位, Monteiro *et al*^[3]报道57例瘢痕性胆管狭窄, 23例发生在胆囊切除术后, 8例发生在胆囊切除与胆管探索术后, 6例发生在T管引流术后, 16例为胆肠吻合术口狭窄, 发生在胆管整形术后及外伤后各2例, 其中41.1%部位在肝门胆管, 其余发生在中下肝外胆管。但相对于国外、国内肝胆管、结石并发者更为多见, 10 a前病因学调查居首位, 近10 a随着肝胆管结石治疗的进步才退居第2位。

肝门胆管狭窄其首发症状为阻塞性黄疸, 并反复胆道感染, 并狭窄以上胆管扩张为其特点。影像学检查虽然对早期肝门部狭窄的良、恶性鉴别比较困难, 但大多数情况下, 做出初步判断, 为减少盲目手术探索, 做好术前评估, 术前的影像学检查是非常必要的。在所有影像诊断技术中, US以无创、简便、经济、高效成为诊断胆道狭窄疾病的首选方法, 但常常需要诸如CT, MRI, MRCP, ERCP等检查进一步确定病变局部变化以及狭窄远端及近端发生的各种后果^[4]。

US检查是诊断肝门部胆管狭窄的首选及筛查手段。本组82例全部行US检查, 符合数69例, 符合率为84.15%。在检查中发现US不仅可以提供肝门部胆管狭窄的定位诊断, 还可以发现有

无肝内肿瘤转移或其他病变, 辅以彩色多普勒还可以判定肿瘤的供血情况及肝动脉和门静脉的关系, 甚至了解狭窄部位液流的成穴效应^[5]。亦有文献报道, 体位变化实时US能显著提高肝门胆管狭窄诊断的准确率并提高病因发现率^[6]。然而, US检查对早期肿瘤所致的肝门胆管狭窄诊断困难。特别是对某些胆系术后的患者、肥胖者、肠腔胀气较多者, US检查常常不满意, 对良、恶性狭窄的鉴别诊断漏诊率较高。

当US诊断肝门胆管狭窄有困难时, 应即行MRI+MRCP检查, MRCP是近年来出现的一种无创伤、安全、操作简便、不用造影剂的胰胆系疾病显像的新技术。几乎没有禁忌症和并发症, MRCP作为非损伤性检查成为一种在胆道外科被广泛应用的新显像技术。能获得类似与直接胆道造影的ERCP和/或PTC检查一样完整、直观的胆管树三维图像, 且不受左右肝管被肿瘤分隔的影响, 可显示胆管的狭窄及管内的充盈缺损和胆管梗阻远端、近端情况, 并明确肿瘤的部位、大小及肿瘤累及肝管的范围, 确定梗阻的原因, 准确率非常高。还可结合薄层或增强扫描仔细观察病变形态, 满足临床的需要。MRCP显影速度快, 运动性伪影少, 在计划手术方面也优于ERCP。本组72例恶性病变中, 16例行MRI和MRCP检查, 符合数16例, 符合率为100%, 其中胆管癌13例, 符合数为100%, 结肠癌转移1例, 肝癌2例均与诊断相符。良性病变10例, 4例行MRI和MRCP检查, 符合率在100%。其中损伤性胆管2例, 胆管囊肿1例, 继发性胆管结石1例均与诊断一致, 符合文献报道的MRCP的诊断符合率可达90%以上的数据资料。Yeh *et al*^[7]报道40例肝门部梗阻的病例MRCP与ERCP对照结果, MRCP优于ERCP。MRCP的局限性是在诊断的同时对病变不能进行活检和介入性治疗, 不具备ERCP, PTC的引流或放置支架等介入治疗的作用, 假如患者再行ERCP进行治疗的话, 那么初次选择MRCP的经济代价较之直接选择ERCP是显而易见的^[8]。

ERCP被视为诊断胰胆管阻塞的金标准, 不但能对病变进行诊断, 同时需要的话还能进行针对性的治疗。ERCP对肝门胆管狭窄但没有完全梗阻时, 能显示梗阻远端胆管的形态, 同时也能显示梗阻近端胆管的形态, 并能清楚的显示肝门胆管狭窄的部位、形态和范围。故ERCP对肝门胆管狭窄还是有很高的诊断价值。特别是对胆管结石、胆管癌等引起的肝门胆管狭窄。

本组72例恶性病变中, 48例行ERCP检查, 符合数44人, 符合率为91.67%, 其中胆管癌的符合率为90.40%, 胆囊癌、结肠癌转移均为100%; 良性病变10例, 8例行ERCP检查, 符合率为100%。ERCP另一个突出优势还在于造影的同时进行引流、乳头切开和放置内支架等治疗。当然, ERCP也存在着诸多缺点, 如插管失败、造影不满意、不适合碘过敏或食道狭窄及胃手术后病例, 对完全梗阻病例, ERCP不能显示梗阻以上部位, 对判断手术可切除的价值不大, 在不完全梗阻时, ERCP可将肠道细菌送至梗阻的肝内胆管, 诱发胆道感染, 其并发症发生率在3%-5%。最大的并发症莫过于ERCP术后的胰腺炎, 但文献报道此种胰腺炎均能得到良好的预后^[9]。

PTC能详尽显示梗阻以上肝内胆管形态, 直接显示狭窄并且明确部位、狭窄累及肝管的范围, 肿瘤与肝管汇合部的关系, 而且将PTC与ERCP联合起来进行检查更可互相补充, 完整显示梗阻点远近端的全部情况。PTC对早期病变有较高的显示率, 并可区分结石与肿瘤, 尤其对肝门部肿瘤其诊断准确率高达90%以上, 对术前确定手术方案具有重要意义。本组72例恶性病变中, 17例行PTC检查, 符合数17例, 符合率为100%, 其中胆管癌受检人数15人, 符合人数15人, 胆囊癌受检人数2例, 符合数2例, 符合率为100%。Rosch *et al*^[10]的统计显示, PTC的诊断准确率只有70%, 远远低于大多数90%以上的统计结果, 可能与样本量不同导致概率分析误差较大有关。PTC另一显著特点是可同时进行引流或放置支架治疗, 缓解或解除梗阻。虽然PTC有上述优点, 但相对于MRCP而言, 诊断成功率低, 创伤较大, 尤其对胆道完全梗阻者, 只能显示梗阻端以上的胆管, 对判断手术切除的价值有限。然而, 尽管PTC缺点相对较多, 但统计分析表明, PTC的劣势被人为的夸大了, PTC虽然为有创检查, 但其安全性较高, 很少发生出血感染等合并症。Burcharth *et al*^[11]博士总结了160例PTC检查的患者, 合并症只发生6例, 而且很多合并症和PTC本身并无直接联系, 所以PTC是安全系数很高的一项有创检查。

通过对本组病例的分析表明, 对肝门部胆管狭窄患者诊断的顺序, 我们的体会是: 应先采

用简便、无创的US对患者进行筛查, US检查结果不明确的, 应结合病情尽量采用MRI+MRCP检查, 对不适合做MRI+MRCP检查及需要做姑息治疗的患者, 应行ERCP和PTC检查, 以便进行置管引流和放置金属支架的处理。提醒一点, 设若初步判断需要行胆道支架或引流治疗的话, 则ERCP/PTC应优于MRCP, 如此, 以免加重患者的经济负担。

4 参考文献

- 1 Khalili K, Metser U, Wilson SR. Hilar biliary obstruction: preliminary results with Levovist-enhanced sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 687-693
- 2 何振平, 侯文林, 别平, 王曙光, 董家鸿, 韩本立, 蔡景修, 李智华, 陈平, 马宽生, 郑树国. 肝门部胆管狭窄的病因及外科治疗. *中华肝胆外科杂志* 2003; 9: 69-72
- 3 Monteiro da Cunha JE, Machado MC, Herman P, Bacchella T, Abdo EE, Penteado S, Jukemura J, Montagnini A, Machado MA, Pinotti HW. Surgical treatment of cicatricial biliary strictures. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 1452-1456
- 4 Rogoveanu I, Gheonea DI, Saftoiu A, Ciurea T. The role of imaging methods in identifying the causes of extrahepatic cholestasis. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 265-271
- 5 Gulati G, Pawa S, Chowdhary V, Kumar N, Mittal SK. Colour Doppler flow imaging findings in portal biliopathy. *Trop Gastroenterol* 2003; 24: 116-119
- 6 Laing FC, Jeffrey RB Jr, Wing VW, Nyberg DA. Biliary dilatation: defining the level and cause by real-time US. *Radiology* 1986; 160: 39-42
- 7 Yeh TS, Jan YY, Tseng JH, Chiu CT, Chen TC, Hwang TL, Chen MF. Malignant perihilar biliary obstruction: magnetic resonance cholangiopancreatographic findings. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 432-440
- 8 Vergel YB, Chilcott J, Kaltenthaler E, Walters S, Blakeborough A, Thomas S. Economic evaluation of MR cholangiopancreatography compared to diagnostic ERCP for the investigation of biliary tree obstruction. *Int J Surg* 2006; 4: 12-19
- 9 Bhatia V, Garg PK, Tandon RK, Madan K. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography-induced acute pancreatitis often has a benign outcome. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 726-731
- 10 Rosch T, Meining A, Fruhmorgen S, Zillinger C, Schusdziarra V, Hellerhoff K, Classen M, Helmberger H. A prospective comparison of the diagnostic accuracy of ERCP, MRCP, CT, and EUS in biliary strictures. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 870-876
- 11 Burcharth F, Christiansen L, Efsen F, Nielbo N, Stage P. Percutaneous transhepatic cholangiography in diagnostic evaluation of 160 jaundiced patients. Results of an improved technic. *Am J Surg* 1977; 133: 559-561

电编 张敏 编辑 张焕兰

多层螺旋CT三维胆系成像对胆道梗阻的诊断价值

钟 华, 张宗明, 朱建平, 宿砚明, 李 刚, 郭金星

■背景资料

早期普通CT检查对胆道梗阻原因诊断的准确率较低, 与MRCP检查的诊断准确率存在一定差距, 应用MSCT的检查对胆道梗阻原因进行诊断, 和早期普通CT检查进行对比, 其优越性被越来越多的研究报告。

钟华, 张宗明, 朱建平, 宿砚明, 李刚, 郭金星, 清华大学第一附属医院消化医学中心普外科 北京市 100016

通讯作者: 钟华, 100016, 北京市朝阳区酒仙桥一街坊6号, 清华大学第一附属医院消化医学中心普外科。

zhonghuabeijing@yahoo.com.cn

电话: 010-64372362 传真: 010-64361322

收稿日期: 2006-10-10 接受日期: 2006-10-14

Value of multislice helical CT cholangiography in diagnosis of biliary obstruction

Hua Zhong, Zong-Ming Zhang, Jian-Ping Zhu, Yan-Ming Su, Gang Li, Jin-Xing Guo

Hua Zhong, Zong-Ming Zhang, Jian-Ping Zhu, Yan-Ming Su, Gang Li, Jin-Xing Guo, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital of Tsinghua University, Beijing 100016, China

Correspondence to: Hua Zhong, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital of Tsinghua University, Beijing 100016, China. zhonghuabeijing@yahoo.com.cn

Received: 2006-10-10 Accepted: 2006-10-14

Abstract

AIM: To evaluate the value of multislice helical CT cholangiography (MSCTC) in the diagnosis for the obstruction of biliary duct.

METHODS: A total of 36 patients with obstructive jaundice received routine and enhanced CT scanning on midsection, and then three-dimensional image reconstruction cholangiography was performed. MSCTC findings were comparatively analyzed with the operational and pathological results.

RESULTS: In 18 patients with extrahepatic biliary stone, the accuracy rate of diagnosis by MSCTC was 100%. According to the operational and pathological results, 18 cases were found with biliary duct or pancreatic head carcinoma (12 bile duct cancers, 1 gallbladder carcinoma, 3 pancreatic head carcinomas and 2 congenital choledochal cysts), of which 17 cases were correctly diagnosed by MSCTC, and the accuracy rate was above 94.4%.

CONCLUSION: MSCTC is effective in the diag-

nosis of biliary obstruction, and it can be used to guide clinical therapy.

Key Words: Multislice helical computed tomography; Obstruction of biliary duct; Three-dimensional image reconstruction cholangiography

Zhong H, Zhang ZM, Zhu JP, Su YM, Li G, Guo JX. Value of multislice helical CT cholangiography in diagnosis of biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(35):3430-3432

摘要

目的: 探讨多层螺旋CT三维胆系成像(MSCTC)对胆道梗阻的诊断价值。

方法: 应用MSCT对36例梗阻性黄疸患者进行上腹部的常规及增强扫描, 并用增强扫描数据进行三维胆系成像, 对胆道梗阻原因进行定位和定性诊断, 并与手术所见及术后病理结果进行对比。

结果: 18例肝外胆管结石患者, 术前MSCTC定位、定性诊断准确率达到100%。18例胆道或胰头肿瘤患者(12例为胆管癌, 胆囊癌1例, 胰头癌3例, 先天性胆总管囊肿2例)中, 17例得到MSCTC正确诊断, 术前MSCTC定位、定性诊断准确率达到94.4%。

结论: MSCTC对胆道梗阻诊断有重要价值, 可进一步指导临床手术治疗。

关键词: 多层螺旋CT; 胆道梗阻; 三维胆系成像

钟华, 张宗明, 朱建平, 宿砚明, 李刚, 郭金星. 多层螺旋CT三维胆系成像对胆道梗阻的诊断价值. 世界华人消化杂志 2006;14(35):3430-3432

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3430.asp>

0 引言

胆道梗阻是外科一种常见疾病, 常见原因为肝外胆管结石、胆管肿瘤、胰头肿瘤等, 准确判断胆道梗阻原因及病变程度对于术前制定手术方案、减少手术探查时间、判断和评估患者预后具有重要意义。随着CT机的不断更新换代, 多层

螺旋CT(MSCT)的问世及其三维胆系成像等后处理功能,使之能更清晰显示胆道梗阻的部位和程度、胆道肿瘤与其周围血管的关系等,因而MSCT在胆道梗阻的诊断价值受到重视。

1 材料和方法

1.1 材料 我院2004-11/2006-02因梗阻性黄疸行术前MSCTC及手术治疗的患者36例。其中男性20例,女性16例,年龄35-78(平均62)岁;经手术证实和术后病理诊断明确,肝外胆管结石18例(1例伴左肝外叶肝内胆管结石);胆管癌13例(其中肝门部胆管癌4例,胆总管癌7例,胆囊癌1例,壶腹癌1例);胰头癌3例;先天性胆总管囊肿2例。

1.2 方法

1.2.1 MSCTC检查 使用GE公司产16排螺旋CT,高压注射器经肘前静脉团注入欧苏增强剂,剂量100 mL,注射速率3 mL/s。行平扫及动静脉双期增强扫描。扫描范围自膈顶至胰腺的钩突以下水平,准直器宽度5 mm,螺距0.875,扫描条件为120 kv/250 mAs。增强扫描动脉期的延迟时间为20 s,静脉期的延迟时间为60 s,余者与平扫相同;原始数据经内插重建后传递到工作站,进行三维胆系成像。

1.2.2 手术方法 将手术中探查所见将与手术前的MSCTC诊断结果、手术后病理结果进行对比。18例肝外胆管结石患者,行胆总管切开取石、术中胆道镜检查术(1例伴左肝外叶肝内胆管结石患者行左肝外叶切除术)。18例胆道或胰头肿瘤患者,5例行胰十二指肠切除(低位胆管癌或胰头癌),7例行胆管癌切除术,6例行肿瘤姑息性切除和/或单纯胆肠内引流术。肿瘤侵犯周围血管:主要血管包括肝动脉、门静脉、肠系膜上动脉、肠系膜上静脉等。根据肿瘤与血管之间的关系分为:(1)肿瘤与血管间有脂肪间隙或正常组织;(2)血管被肿瘤包绕小于管周1/2;(3)血管被肿瘤包绕大于管周1/2;(4)血管被肿瘤完全包埋;同时观察血管形态改变:管腔狭窄(包括向心性或偏心性狭窄);管壁浸润性改变(血管内壁毛糙、欠光滑)。肿瘤侵犯血管的手术探查标准为:手术暴露所见或触诊发现上述血管被肿瘤侵犯包绕或阻塞等;如只发现血管与肿瘤黏连,尚可分离,则不属血管受侵犯。

2 结果

2.1 胆管结石患者情况 术前MSCTC提示,肝外胆管结石患者18例,术中所见与术前MSCTC提示的结石部位及数量基本一致,有时甚至术中

取出的结石形态与术前MSCTC表现的结石影像完全一致。本组术前MSCTC定位、定性诊断准确率达到100%。

2.2 胆道或胰头肿瘤患者情况 术前MSCTC提示胆道或胰头肿瘤患者18例,术中所见与术后病理证实12例为胆管癌(其中肝门部胆管癌4例,胆总管癌7例,壶腹癌1例),胆囊癌1例,胰头癌3例,先天性胆总管囊肿2例。17例与术前MSCTC诊断一致,术前MSCTC定位、定性诊断准确率达到94.4%。1例胆囊癌术前MSCTC诊断为胆管癌。2例胰头癌患者,术前MSCTC诊断胰头病灶与肠系膜上静脉间存在脂肪间隙,术中明确肠系膜上静脉未受浸润,而行胰十二指肠切除术。另1例胰头癌患者,术前MSCTC诊断肠系膜上静脉与肿块相贴大于1/2周径,术中证实肿瘤浸润肠系膜上静脉严重,而行姑息性胆肠内引流减黄手术。

3 讨论

胆道梗阻是外科常见疾病,常见病因有良恶性之分,良性多见于肝外胆管结石,恶性多为胆管肿瘤、壶腹肿瘤、胰头肿瘤等,针对各种病因的手术处理及术后预后差异很大,因此术前准确判断胆道梗阻原因及病变程度对于术前制定手术方案、减少手术探查时间、判断和评估患者预后有重要意义。据报道CT, MRI及MRCP对胆道梗阻定位的诊断率分别为86.7%, 93.3%和100%^[1]。以往普通CT对胆道梗阻的诊断准确率较低,但随着MSCT的出现,使得CT连续扫描速度大大加快,可在短时间内进行多层面的薄层扫描,得到一段连续的容积数据,并通过三维重建图像,使胆总管及其周围组织结构的显示更为清楚,从而使CT对胆道梗阻的诊断准确性进一步提高,据报道MSCT术前对胰腺癌的不可切除的判断准确率为95%,可切除的判断准确率为70%-80%^[2]。

胆道结石可发生于肝内外胆管的任何部位,肝内胆管结石多为原发性,以胆色素性混合性结石多见,肝外胆管结石既可以是原发性的,也可以是继发性的。针对胆道结石,最常用的影像学检查是B超检查, B超对于胆囊内结石或胆囊炎诊断的检测率明显高于胆总管内结石,但由于腹腔内气体的影响,对胆总管内壶腹段的结石常常容易遗漏^[3-4], MSCTC在此方面充分弥补了B超的不足。MSCTC和ERCP相比较, ERCP对胆总管内结石诊断的敏感性及准确性均可达到98%,但ERCP检查过程复杂、患者痛苦多、时

■创新盘点

较多报道为应用MSCT的常规及增强扫描检查对胆道梗阻原因进行诊断,本研究进一步使用三维胆系重建技术,使诊断准确率得以进一步提高。

■应用要点

应用MSCT对患者进行上腹部的常规及增强扫描,并用增强扫描数据进行三维胆系成像,加强对胆道梗阻原因进行定位和定性诊断,对外科手术具有较大的指导意义。

间较长、检查可能不成功,且患者检查后可能出现胆道感染、胰腺炎等并发症;而MSCTC安全可靠、患者无痛苦,对胆总管结石诊断的敏感性为80%,但诊断准确率为100%^[5-7]。

胆管癌的CT表现依据肿瘤的生长部位和方式的不同而有不一样的表现,胆总管癌约占胆管癌的60%,多发生在胆总管远端和壶腹部,胆管癌以浸润型多见,表现为胆管壁的局部隆起或环形增厚、管腔狭窄甚至消失,增强扫描表现为轻度强化,梗阻上方的胆管扩张,少数梗阻近端可见小圆形腔内肿块影;壶腹部胆管癌病变早期多不能发现可识别的肿块,仅见胆管扩张、胆囊增大,若病变侵及胰头,引起胰管扩张,影像上出现类似胰头癌表现;肝门部胆管癌较常见,生长方式可分为浸润型、肿块型和息肉型,其中以浸润型最常见,表现为沿胆管壁生长,使胆管壁不规则增厚、管腔狭窄甚至闭塞,病灶上方的胆管可见扩张,增强扫描病灶可表现为轻中度强化;肿块型和息肉型多表现为腔外或腔内肿块,肿块有宽基底和管壁相连,增强扫描表现为轻中度强化,如为外凸较大的肿块,因浸润肝门结构和周围肝组织,有时难以区分肿块的来源。对于肿瘤可切除性判断是MSCT诊断的另一优点,在本组中不能进行肿瘤根治的主要原因是肝门部的广泛播散,对肝内转移和较多淋巴结的融合比较易判断,但对血管,特别是肝十二指肠韧带内各组成结构受累的情况判断仍显不足。

CT早已应用于胰头癌的诊断,随着MSCT的出现,应用双期薄层扫描对胰头癌的可切除性作出评估,国内外胰头癌不可切除的标准为:(1)胰周主要血管的中断、闭塞,半环形至环形包埋;(2)邻近脏器受侵(十二指肠除外);(3)发生了远处血行转移或腹腔广泛种植;(4)胰区域性或远处淋巴结肿大且融合成团包埋了邻近血管。胰头癌不可切除最常见的原因是肠系膜上血管受侵,因此准确判断肠系膜上血管是否受侵对判断胰头癌的可切除性尤为重要^[8]。应用MSCT双期薄层扫描能更清楚地显示胰头病灶与肠系膜上血管的关系,当胰头病灶与肠系膜上血管间存在脂肪间隙或正常胰腺组织时,提示血管未受侵犯;当肠系膜上血管半环形至环形包埋,甚至闭塞时,提示血管已受侵;当肠系膜上血管与肿块相贴(小于1/2周径)时,应鉴别血管是受侵或受压推移;此时应注意:(1)胰头癌往往合并胰周炎症,CT显示胰周脂肪间隙混浊肿胀,易导致

血管受侵的误诊;(2)正常情况下,肠系膜上动脉与胰头间往往有脂肪间隙存在,而在肠系膜上静脉与胰头间可无脂肪间隙而呈部分相贴(尤其在消瘦患者),因此,当肠系膜上血管与肿块相贴(小于1/2周径)时,肠系膜上动脉受侵的可能性较大,肠系膜上静脉是否受侵较难判断。目前,随着MSCT技术的成熟,MSCT及其血管成像后处理已越来越多的应用于胰腺癌的诊断和指导治疗中^[9-11]。

总之,多层螺旋CT扫描速度快、层厚薄、检查时间短,三维胆系重建的图像清晰、失真小,能准确的显示胆道梗阻的部位和程度、胆道肿瘤与其周围血管的关系等,对胆道梗阻诊断有重要价值,并可进一步指导临床手术治疗。

4 参考文献

- 1 陈育霞. CT、MRI、MRCP对胆道梗阻的诊断价值. 实用放射学杂志 2004; 20: 802-804
- 2 O'Malley ME, Boland GW, Wood BJ, Fernandez-del Castillo C, Warshaw AL, Mueller PR. Adenocarcinoma of the head of the pancreas: determination of surgical unresectability with thin-section pancreatic-phase helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 173: 1513-1518
- 3 Harvey RT, Miller WT Jr. Acute biliary disease: initial CT and follow-up US versus initial US and follow-up CT. *Radiology* 1999; 213: 831-836
- 4 Soto JA, Alvarez O, Munera F, Velez SM, Valencia J, Ramirez N. Diagnosing bile duct stones: comparison of unenhanced helical CT, oral contrast-enhanced CT cholangiography, and MR cholangiography. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1127-1134
- 5 Pickuth D, Spielmann RP. Detection of choledocholithiasis: comparison of unenhanced spiral CT, US, and ERCP. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1514-1517
- 6 Pickuth D. Radiologic diagnosis of common bile duct stones. *Abdom Imaging* 2000; 25: 618-621
- 7 Jimenez Cuenca I, del Olmo Martinez L, Perez Homs M. Helical CT without contrast in choledocholithiasis diagnosis. *Eur Radiol* 2001; 11: 197-201
- 8 Loyer EM, David CL, Dubrow RA, Evans DB, Charnsangavej C. Vascular involvement in pancreatic adenocarcinoma: reassessment by thin-section CT. *Abdom Imaging* 1996; 21: 202-206
- 9 Brugel M, Link TM, Rummeny EJ, Lange P, Theisen J, Dobritz M. Assessment of vascular invasion in pancreatic head cancer with multislice spiral CT: value of multiplanar reconstructions. *Eur Radiol* 2004; 14: 1188-1195
- 10 Brugel M, Rummeny EJ, Dobritz M. Vascular invasion in pancreatic cancer: value of multislice helical CT. *Abdom Imaging* 2004; 29: 239-245
- 11 Vargas R, Nino-Murcia M, Trueblood W, Jeffrey RB Jr. MDCT in Pancreatic adenocarcinoma: prediction of vascular invasion and resectability using a multiphasic technique with curved planar reformations. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 182: 419-412

■同行评价

本文对MSCT在对胆道梗阻的病因方面的诊断价值进行了肯定,临床资料可靠、研究方法科学、分析严谨、结论准确、可靠,具有较强的临床实用价值。

世界华人消化杂志投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 世界华人消化杂志®, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 大16开, 旬刊, 每期160页, 定价24元, 全年864元, 邮发代号82-262, 由世界胃肠病学杂志社出版。世界华人消化杂志主要报道消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化病理、消化预防医学、消化护理、消化医学、影像消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化诊断指南、消化治疗指南、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。世界华人消化杂志被国际权威检索系统美国《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(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》2004年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录。2005年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为2079, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第51位, 内科医学类28种期刊的第4位。2005年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.485, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第449位, 内科医学类28种期刊的第14位。《世界华人消化杂志》的即年指标0.070, 他引率0.66, 地区分布数26, 基金论文比0.43, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.46。

1.2 栏目 述评, 食管癌, 胃癌, 肝癌, 病毒性肝炎, 大肠癌, 幽门螺杆菌, 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。专家述评4 000字以内, 研究原著6 000字以内, 焦点论坛4 000字以内, 文献综述6 000字以内, 研究快报4 000字以内, 临床经验1 800字以内, 病例报告800字以内。

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, 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weixibanizhuanwan(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

《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。

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(国家科技部, 2003年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2004年版)收录的学术期刊。世界胃肠病学杂志社, 100023, 北京市2345信箱郎辛庄北路58号院怡寿园1066号, 电话: 010-85381901 Email: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com.

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

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30kDa(*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. 如37.6±1.2°C, 45.6±24岁, 56.4±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56±0.27 ng/L, 131.6±0.4 mmol/L, *t* =28.4±0.2°C. BP用kPa(mmHg), RBC数用×10¹²/L, WBC数用×10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M_r*明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一

律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 七年, 7 a; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU=16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10⁻³ g与5×10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10年, 10 a; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm=45×10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*v*; (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±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P* <0.05, ^b*P* <0.01(*P* >0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则^c*P* <0.05, ^d*P* <0.01; 第三套为^e*P* <0.05, ^f*P* <0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5±

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6 347意指6 000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mean \pm SD应考虑到个体的变差,一般以SD的1/3来定位数,例如3 614.5 \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 \pm 0.4 kg,过多的位数并无意义。又如8.4 \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 1 000,百分数到小数点后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1 486 800.475 65。完整的阿位伯数字不移行!

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个字左右,最好不超过26个字。避免用“的研究”或“的观察”等非特定词。

3.2 作者 论文署名作者不宜过多,一般不超过8人,主要应限于参加研究工作并能解答文章有关问题、能对文稿内容负责者,对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中。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。第一方面是直接参与,包括:(1)酝酿和设计实验;(2)采集数据;(3)分析/解释数据。第二方面是文章撰写,包括:(1)起草文章;(2)对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持,包括:(1)统计分析;(2)获取研究经费;(3)行政、技术或材料支持;(4)指导;(5)支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条,才能成为文章的署名作者。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,男,1966-02-26生,河北省定县人,汉族。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 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No.30224801

3.6 通讯作者 格式如:通讯作者:马连生, 030001, 山西省太原市双塔西街77号, 太原消化病研治中心。wcjd@wjgnet.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 接受日期:

3.7 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 署名一般不超过8人。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-

World Journal of Gastroenterology 自2005-01-01起为周刊发行,每月7、14、21、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号: 82-261。WJG出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起为旬刊发行,每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号:82-262。《世界华人消化杂志》出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wjcd@wjgnet.com

收稿及接受日期 格式如: Received: Accepted:

摘要 包括目的、方法、结果、结论,书写要求与中文摘要一致。格式如下:

Abstract

AIM:

METHODS:

RESULTS:

CONCLUSION:

Zhang XC, Gao RF, Li BQ, Ma LS, Mei LX, Wu YZ, Liu FQ, Liao ZL. Effects of Weixibao nizhuanwan on gastric precancerous lesions 300 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006; 14:

3.8 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),中文摘要格式如下:

摘要

目的:

方法:

结果:

结论:

张旭晨, 高瑞丰, 李炳庆, 马连生, 梅立新, 吴玉珍, 刘凤芹, 廖振林. 胃细胞逆转丸治疗胃癌前期病变300例. *世界华人消化杂志* 2006;14:

3.9 正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。

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 图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。

致谢 致谢后加冒号, 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 *et al*”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。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文

献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年核心期刊为准, 引用被PubMed收录的期刊文献用英文表达, 请附引用文献网上摘要打印件, 包括PMID编号(摘要的左下方). 按顺序编号装订, 并考入磁盘内. 在引用参考文献页码末尾注明PMID编号; 无PMID编号的期刊请删除(重要文献必须保留者, 请附首页复印件). 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. 参考文献格式如下:

- 1 Ma LS, Pan BR. Strengthen international academic exchange and promote development of gas-troenterology. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 1 [PMID: 11819215]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

4 投稿须知

4.1 投稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)可建议熟悉该专业的审稿人或因利益冲突而不适宜审阅该稿的审稿人姓名; (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, 所有来稿均需接受同行审阅.

4.2 审稿过程 所有来稿均经2位同行专家的严格评审, 所有审稿人的姓名对作者通常是保密的. 投稿时, 作者可以提出要求回避的同行专家名

单, 也可以推荐2位非本单位的审稿人, 尤其是本刊编委会成员. 审稿过程大约需要1 mo.

4.3 录用 来稿经本刊编辑部初审、2位同行专家评审, 将评审后的稿件分为优先发表、可以发表、修改后发表、修改后再审、退稿等项处理. 录用稿件作者需交纳发表费, 发表后可获得2本样刊及20套单行本(稿酬).

4.4 修改时间 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寄回给作者自行修改. 当原稿退还作者修改时, 作者必须于1 mo内将修改后的稿件及软盘寄回编辑部; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

4.5 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》、《中文生物医学期刊/会议文献数据库》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.

4.6 投稿清单 (1)投稿函; (2)第1部分为题名及作者, 作者及单位, 第1作者简介, 基金资助项目, 通讯作者Email, 电话, 传真, 收稿日期, 接受日期; (3)第2部分英文摘要; (4)第3部分中文摘要; (5)第4部分为0引言, 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法, 统计学处理, 2 结果, 3 讨论, 致谢, 4 参考文献.

4.7 投稿地址 在线投稿: <http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>. 邮局寄送(已在线提交的稿件不必再寄): 请将打印的稿件一式2份(附高质量的图)、存有全文(文字、图表)的磁盘和其他信息(全部文件的清单, 各文件的名称、格式和使用平台等)寄往: 100023, 北京市2345信箱, 世界胃肠病学杂志社.

世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
郎辛庄北路58号院怡寿园1066号
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

World Journal of Gastroenterology创刊于1995-10-01, 原刊名《China National of New Gastroenterology》, 1995-06-27 国科发信字(95)225号批准国内外公开发行. 1998-02-12经国家科学技术部和国家新闻出版总署批准更名为WJG, 国科发信字(1998)027号. 2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001158号.

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

曹洁 副教授
第二军医大学微生物学教研室

陈耀凯 副教授
第三军医大学西南医院全军感染病研究所

程英升 副教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科、上海交通大学影像医学研究所

杜群 副研究员
广州中医药大学脾胃研究所药理室

范建高 主任医师
上海市第一人民医院消化科

巩鹏 副教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

黄志勇 副教授
华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心

蒋龙元 副教授
中山大学附属第二医院急诊科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

匡安仁 教授
四川大学华西医院核医学科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李定国 教授
上海交通大学医学院附属新华医院消化内科

李涛 主治医师
北京大学人民医院肝胆外科

刘铁夫 教授
哈尔滨医科大学附属第四医院消化科

吕宾 教授
浙江中医学院附属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

马大烈 教授
上海市长海医院病理科

聂青和 副教授
第四军医大学唐都医院传染病科、全军感染病诊疗中心

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

唐文富 主治医师
四川大学华西医院中西医结合科

王正康 教授
北京中日友好医院普通外科

魏经国 教授
西安第四军医大学唐都医院放射科

闻勤生 教授
第四军医大学唐都医院消化科

许玲 副教授
第二军医大学长征医院中医科

许文燮 教授
上海交通大学生命科学院生物医学工程系文选医学楼328室

于颖彦 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心病理室

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

周丁华 主任医师
解放军二炮总医院普外科

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

周士胜 教授
大连大学医学院医学研究中心