

ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 12 月 8 日      第 27 卷      第 23 期      (Volume 27 Number 23)



## 23 / 2019

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



目次

2019年12月8日 第27卷 第23期 (总第643期)

述评

1407 肝细胞癌切除术后复发的原因与防治策略

秦建民

基础研究

1419 miR-10a-5p敲低通过靶向THBS2抑制胃癌细胞的生长和转移

任玲玲, 王立明, 朱雅碧

1427 miR-637靶向ERBB3对胃癌细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及分子机制研究

何孝明, 王金鑫, 杨剑

文献综述

1436 粪便钙卫蛋白在结直肠癌中的研究进展

陈宗冉, 刘刚

1441 肠碱性磷酸酶在肠黏膜屏障中的作用

万军, 田忠, 姚柏宇, 刘翀, 何静妮, 殷鑫, 史旻

1446 肠道菌群和免疫系统的发育相关性进展

王菲菲, 杨泽俊, 朱敏佳, 狄治杉, 尚宏伟, 徐敬东

研究快报

1454 老年胃食管反流患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性分析

童丽琴

病例报告

1460 门静脉-肠系膜上静脉广泛栓塞1例并文献复习

霍晓霞, 牛巍巍, 赵亦雯, 张晓岚

## 消 息

- 1426 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
1435 《世界华人消化杂志》正文要求  
1459 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1464 《世界华人消化杂志》栏目设置

## 封面故事

王凯峰, 男, 医学博士, 副主任医师, 兼职副教授, 硕士生导师. 上海交通大学医学院附属仁济医院宁波医院肿瘤科执行主任. 中国抗癌协会青年理事, 中国抗癌协会中西医整合肿瘤专委会秘书长, 浙江省数理医学学会副秘书长、理事, 数理医学平台主任委员. 先后负责科研项目10项. 作为通讯及第一作者SCI及核心论文23篇, 参与专著编写1部. 专利1项. 擅长恶性肿瘤的姑息治疗、微创治疗、特别是在中晚期消化道肿瘤方面有深入研究及诊治经验, 对癌症疼痛、肿瘤营养支持等方面也有较高造诣.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 王禹乔; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-12-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路  
62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 23 Dec 8, 2019

### EDITORIAL

1407 Postoperative recurrent factors and therapeutic and preventive strategies for hepatocellular carcinoma

*Qin JM*

### BASIC RESEARCH

1419 Knockdown of miR-10a-5p inhibits gastric cancer cell growth and metastasis by targeting THBS2

*Ren LL, Wang LM, Zhu YB*

1427 MiR-637 inhibits cell migration and invasion and promotes apoptosis in gastric cancer cells by targeting ERBB3

*He XM, Wang JX, Yang J*

### REVIEW

1436 Fecal calprotectin and colorectal cancer

*Chen ZR, Liu G.*

1441 Role of intestinal alkaline phosphatase in intestinal mucosal barrier

*Wan J, Tian Z, Yao BY, Liu C, He JN, Yin X, Shi Y.*

1446 Correlation between intestinal flora and gut immune system development

*Wang FF, Yang ZJ, Zhu MJ, Di ZS, Shang HW, Xu JD*

### RAPID COMMUNICATION

1454 Correlation of sleep quality with mental state and quality of life in elderly patients with gastroesophageal reflux

*Tong LQ*

### CASE REPORT

1460 Portal vein thrombosis with superior mesenteric venous thrombosis: A case report and review of the literature

*Huo XX, Niu WW, Zhao YW, Zhang XL*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 23 Dec 8, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wang Kai-Feng, Associate Chief Physician, Department of Oncology, Renji Hospital (Ningbo campus), Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, No. 1155 Binhaier Road, Ningbo 310000, Zhejiang Province, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang* Review Editor: *Yu-Qiao Wang* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu*  
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Xiang Li* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** December 8, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

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

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

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

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

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

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

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

## 肝细胞癌切除术后复发的原因与防治策略

秦建民

秦建民, 海军军医大学第三附属医院普外科 上海市 201805

秦建民, 教授, 主任医师, 研究方向为肝癌复发、转移机制与纳米靶向药物治疗。

作者贡献分布: 本文由秦建民独立完成。

通讯作者: 秦建民, 教授, 主任医师, 201805, 上海市嘉定区墨玉北路700号, 海军军医大学第三附属医院普外科, [jianminqin@yahoo.com](mailto:jianminqin@yahoo.com)  
电话: 021-81887682

收稿日期: 2019-08-02

修回日期: 2019-09-02

接受日期: 2019-09-03

在线出版日期: 2019-12-08

### Postoperative recurrent factors and therapeutic and preventive strategies for hepatocellular carcinoma

Jian-Min Qin

Jian-Min Qin, Department of General Surgery, the Third Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, Shanghai 201805, China

Corresponding author: Jian-Min Qin, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Third Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, No. 700, North Moyu Road, Shanghai 201805, Shanghai, China. [jianminqin@yahoo.com](mailto:jianminqin@yahoo.com)

Received: 2019-08-02

Revised: 2019-09-02

Accepted: 2019-09-03

Published online: 2019-12-08

### Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors in China. The recurrence rate is about 50% at 3 years and over 70% at 5 years after hepatectomy for HCC. The high recurrence rate seriously affects the curative effect and long-term

survival of patients with HCC, and is the primary cause of death after operation. Postoperative recurrence of HCC is a complex multi-step, multi-factorial process involving three factors: the body, microenvironment, and tumor tissue, which include body immunity, local pH value, interstitial pressure, vascular osmotic pressure, inflammatory reaction, tumor cell adhesion, extracellular matrix degradation, cell migration, cell proliferation, and tumor angiogenesis. HCC recurrence is closely related to abnormal gene expression and related molecular function changes, but the molecular mechanism has not been fully elucidated. How to treat the recurrence of HCC after operation directly affects the prognosis of patients with HCC, and treatments include reoperation, liver transplantation, local minimally invasive treatment, radiotherapy, molecular targeted drugs, immunotherapy, and traditional Chinese medicine treatment. It is difficult to cure or control tumor progression by a single therapy. Two or more therapeutic methods need to be combined organically to achieve a synergistic therapeutic effect. According to the specific situation of patients with HCC, it is key to analyze the individual characteristics of patients, to combine the clinical experience of clinicians and the best evidence, to adopt the individualized treatment plan, and to choose the appropriate treatment methods. For HCC patients with high-risk factors for recurrence, selecting the appropriate treatment is important to reduce the recurrence of HCC after operation and prolong the survival of patients.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Recurrence; Factors; Treatment; Prevention

Qin JM. Postoperative recurrent factors and therapeutic and preventive strategies for hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1407-1418

## 摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上常见的恶性肿瘤之一, HCC切除术后3年复发率约为50%, 5年复发率超过70%, 居高不下的复发率严重影响HCC患者手术疗效和长期生存, 是导致HCC患者术后死亡的首要原因. HCC术后复发是一个多步骤、多环节、多因素和多分子参与的复杂过程, 涉及机体、微环境和肿瘤组织三个方面因素, 包括机体免疫力、局部pH值、间质压力、血管渗透压、炎症反应、肿瘤细胞黏附、细胞外基质降解、细胞迁移、细胞增殖和肿瘤血管形成等, 与多个基因表达异常和相关分子功能改变密切相关, 但HCC术后复发的分子机制仍未完全阐明, 需要更深入的研究. HCC术后复发如何治疗直接影响HCC患者预后, 涉及再次手术、肝移植、局部微创治疗、放疗、分子靶向药物、免疫和中医药治疗, 单一治疗方法难以达到治愈或控制肿瘤进展, 需要两种或两种以上治疗方法有机地联合, 达到协同增效的治疗效果. 针对患者的具体情况, 分析其个体特性, 结合临床医生的临床经验和最佳证据, 采取个体化的治疗方案, 选择合适的治疗方法是提高疗效的关键. 对于存在高危复发因素的HCC患者, 术后选择适当的治疗方法预防HCC复发, 是降低HCC术后复发率, 延长患者生存期的重要措施, 才能使术后HCC患者最大程度获益.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; 复发; 原因; 治疗; 预防

**核心提要:** 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)术后复发是一个多步骤、多环节的复杂过程, 与患者、肿瘤和相关分子功能异常密切相关. HCC术后复发治疗包括再次手术切除、肝移植、局部微创治疗、放疗、分子靶向药物、免疫和中医药治疗, 针对患者的具体情况, 采取个体化的治疗方案是提高疗效的关键. 对于存在高危复发因素的HCC患者, 术后选择适当的方法预防治疗, 是降低HCC术后复发率, 延长患者生存期的重要措施.

秦建民. 肝细胞癌切除术后复发的原因与防治策略. 世界华人消化杂志 2019; 27(23): 1407-1418

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1407.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1407>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上常见的恶性肿瘤之一, 发病率居全球第五位, 死亡率为第三位<sup>[1]</sup>. HCC是我国第二大恶性肿瘤, 每年大约有30-40万

人死于HCC, 约占全球HCC病死率的51%<sup>[2]</sup>, HCC切除术后3年复发率约为50%, 5年复发率超过70%<sup>[3]</sup>. 小HCC术后5年复发率为40%-60%, 而大HCC术后5年复发率高达80%, 严重影响HCC患者预后<sup>[4]</sup>. HCC术后复发80%-90%源于肝内复发, 10%-20%为多中心发生, 复发性肝肿瘤75%来自手术残留或肝内转移灶导致的残癌生长, 属于单克隆起源, 25%来自残肝新生肿瘤细胞克隆性生长, 属于多克隆起源<sup>[5,6]</sup>. HCC术后复发分为早期(术后2年内)和晚期复发(2年以上), 早期复发肿瘤来源于原发肿瘤肝内转移, 而晚期复发肿瘤来源于剩余肝脏产生新的肿瘤, 早晚期复发的肿瘤生物学行为、临床进程、预后存在差异<sup>[7]</sup>. HCC术后复发转移有两个高峰, 第1个高峰出现在HCC根治术后1年, 而后呈下降趋势, 复发率维持在低水平, 第2个复发高峰出现在术后4年<sup>[8]</sup>. HCC术后1、2、3、4、5年累计复发率分别为43.3%、56.6%、66.2%、72.3%、72.3%; 术后1、2、3、4、5年逐年复发率分别为43.3%、25.2%、27.1%、24.3%、0%<sup>[9]</sup>. HCC术后1年内复发者1、3、5年生存率分别为75.7%、36.6%、28.3%, 显著低于2年后复发者(100%、92.2%、68.6%)<sup>[10]</sup>. HCC术后2年内死亡的主要原因是肿瘤的早期复发, HCC术后复发、转移是一个多步骤、多环节、多因素和多分子参与的复杂过程, 涉及机体、微环境和肿瘤组织三个方面因素, 包括机体免疫力、局部pH值、间质压力、血管渗透压、炎症反应、肿瘤细胞黏附、细胞外基质降解、细胞迁移、细胞增殖和肿瘤血管形成等, 与多个基因表达异常和相关分子功能改变密切相关. HCC术后复发与转移的分子机制仍未完全阐明, 居高不下的复发率严重影响HCC患者手术疗效和长期生存, 是导致HCC患者术后死亡的首要原因. 本文结合相关文献, 探讨HCC术后复发的原因及其防治策略.

## 1 HCC切除术后复发的原因

**1.1 患者因素** 与男性相比, 女性HCC患者术后复发率低, 有更好的预后, 可能与性激素受体差异性表达有关. 年轻HCC患者乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性率高, 肿瘤包膜不完整, 多呈浸润性生长, 术后复发机率高于年老患者<sup>[11]</sup>. 合并乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)/丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)肝硬化的HCC患者术后复发率显著高于无肝炎或肝硬化患者, 尤其HBV基因C型、HBV和HCV同时感染的HCC患者术后复发风险更高<sup>[12,13]</sup>. 有肝硬化HCC患者术后肿瘤复发风险是无肝硬化患者的2.79倍, 肝硬化是HCC患者术后中晚期复发的唯一危险因素<sup>[14,15]</sup>.

**1.2 肿瘤因素** 肿瘤直径<5 cm术后5年复发率为51.6%, 而肿瘤>5 cm术后5年复发率高达82.5%, 肿瘤>5 cm是HCC术后早期复发转移的危险因素<sup>[16,17]</sup>. 肿瘤数目>1个



HCC患者术后5年内几乎均出现肝内复发, 与HCC多中心起源有关<sup>[18]</sup>. HCC微血管侵犯(microvascular invasion, MVI)发生率为29%-45%, 瘤体越大癌栓形成率越高, 肿瘤直径 $\leq 3$  cm和 $> 3$  cm HCC的微血管癌栓发生率分别为6.9%和23.5%<sup>[19-21]</sup>. 肿瘤分化程度与发生MVI密切相关, 高分化HCC发生MVI为12%, 中分化HCC为29%, 低分化HCC高达50%, MVI是HCC术后早期复发的独立危险因素, 肿瘤 $> 2$  cm发生MVI对术后发生复发有预测作用<sup>[22,23]</sup>. MVI阳性HCC患者术后6 mo和1年肿瘤复发率分别为42.86%、51.02%, 术后1、3、5年累积生存率分别是86.5%、44.7%、35.8%; MVI阴性HCC患者术后6 mo和1年肿瘤复发率分别为22.06%、27.94%, 术后1、3、5年累积生存率分别是93.5%、84.5%、75.3% $(P<0.05)$ <sup>[24]</sup>. 与无血管侵犯者相比, 肿瘤血管侵犯的HCC术后早期复发风险为2.215倍, 肿瘤肝外侵犯患者的早期复发风险是无肝外侵犯患者的2.299倍<sup>[25]</sup>. 伴血管癌栓的HCC患者术后肿瘤复发风险是无血管癌栓的3.796倍<sup>[14]</sup>. 肿瘤包膜不完整的HCC患者术后早期转移复发率是肿瘤包膜完整的1.4倍<sup>[26]</sup>. 肿瘤间质比 $< 50\%$ 是HCC术后复发的高危因素<sup>[27]</sup>. 肿瘤直径、数目、卫星结节、脉管癌栓和血管侵犯等与HCC术后复发率呈正相关, 肿瘤分化程度等与肿瘤复发率呈负相关<sup>[28]</sup>.

**1.3 病毒因素** HBV或/和HCV感染的HCC患者在根治性切除术后较非肝炎病毒感染的患者有较高的早期复发率, 且HBV合并HCV双重感染患者早期复发率更高, 提示HBV合并HCV感染使肝细胞恶变作用协同加强, 是促进HCC术后早期复发的重要因素<sup>[29-31]</sup>. 高水平的HBsAg和高病毒载量( $\text{HBV-DNA} \geq 2000$  IU/mL)是HBV相关HCC术后复发转移的独立危险因素<sup>[32]</sup>. 术后晚期复发与HBV活动引起的残肝持续炎症损害有关<sup>[33]</sup>.

**1.4 复发转移相关分子** 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、p53蛋白表达与肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)呈正相关, p53基因突变导致HCC组织中VEGF表达上调, 促进肿瘤血管生成和术后肿瘤复发和转移<sup>[34,35]</sup>. HCC组织Syk基因启动子甲基化发生率为29.7%, 与Syk基因启动子无甲基化相比, HCC患者术后复发转移发生率显著增高(73.7% vs 42.2%)<sup>[36]</sup>. 肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)能调节肿瘤增殖, 促进肿瘤的侵袭和转移, 肝细胞生长因子受体在HCC细胞生长、侵袭和转移中具有重要作用<sup>[37]</sup>. E-钙黏素使肿瘤细胞相互粘附、不易脱落, E-钙黏素低表达促使肿瘤的复发和转移<sup>[38]</sup>. PKC- $\alpha$ 高表达的HCC患者术后3年累积复发率明显高于PKC- $\alpha$ 低表达者<sup>[39]</sup>. 整合素 $\alpha$ 和 $\beta$ 两个亚单位在HCC组织中表达较高时促进HCC复发转移. P和E选择素水平增高促进HCC细胞侵粘附, HCC术后具有较高的复发转移

率<sup>[40]</sup>. CD44促进肿瘤血管侵犯和波形蛋白的表达, 导致HCC术后复发转移<sup>[41]</sup>. 骨桥蛋白表达水平与HCC术后转移复发呈正相关<sup>[42]</sup>. 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3在HCC组织高表达, 促进术后肿瘤复发<sup>[43]</sup>. 与HCC术后复发转移正相关的分子: P16、H-ras、c-erbB-2、mdm-2、转化生长因子- $\alpha$ 、表皮生长因子受体、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、尿激酶型纤溶酶原激活剂、尿激酶型纤溶酶原激活剂受体、纤溶酶原激活物抑制因子-1、细胞间黏附分子-1、VEGF、血小板衍生内皮细胞生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等; 与HCC术后复发转移负相关的分子: nm23-H1、KAL1、基质金属蛋白酶-2抑制剂、整合素 $\alpha 5$ 、E-钙黏素等<sup>[44,45]</sup>.

**1.5 治疗因素(术式、术中操作、术后治疗措施)** 与开放手术相比, 腹腔镜下HCC切除术可明显减少术中出血, 患者术后并发症少、恢复快, 但二者术后HCC复发率无明显差异<sup>[46,47]</sup>. HCC行规则性和非规则性肝切除术后1年复发率分别为24.14%、51.72%, 1年生存率分别为81.03%、63.79%, 差异显著 $(P<0.05)$ <sup>[48]</sup>. 手术操作对瘤体的挤压、肿瘤破裂可造成癌细胞脱落播散入血或腹腔, 肝切除量、术中失血量 $> 1000$  mL、输血量 $\geq 800$  mL是HCC术后复发的独立危险因素<sup>[49-51]</sup>. HCC肿瘤切除时, 随着肝门阻断次数及时间的增加, 肝脏损伤逐渐加重, 导致肝脏局部VEGF mRNA、MMP-9 mRNA表达上调, 增加HCC细胞的侵袭性及转移, 是HCC术后复发的独立影响因素<sup>[52]</sup>. 间歇性肝门阻断的HCC患者, 术后1、2年的肿瘤复发率分别29.1%和46.8%, 均明显高于对照组患者的18.7%和35.5%<sup>[53]</sup>. 中央型HCC与第一、二肝门及较大血管相邻较近, 限制了肿瘤切缘距离, 易发生门静脉和胆道的播散, 术后复发率高于外周型HCC<sup>[54]</sup>. HCC手术切缘阴性且距离大于1 cm的患者术后复发率明显低于切缘低于1 cm患者<sup>[55]</sup>. 术中淋巴结是否清扫与HCC术后复发尚无确切定论<sup>[56]</sup>. HCC术后预防性TACE能够及时发现90%以上微小残留灶, 癌细胞在术后增殖的速度远高于术前, 对抗癌药物的敏感性最高, TACE使肝脏局部化疗药物浓度高, 有效抑制微转移灶及手术遗留下的微小残留病灶, 防治术后肿瘤复发<sup>[57,58]</sup>. HCC患者术后行TACE预防性治疗1、2、3年的累积复发率分别为10%、45%、67.5%, 显著低于未行TACE预防治疗者(45.1%、66.2%、84.5%)<sup>[59]</sup>.

**1.6 其它** (1)精神因素: 术前焦虑、抑郁情绪进一步破坏HCC患者术后的细胞免疫功能, 增加术后肿瘤复发风险<sup>[60]</sup>; (2)低蛋白血症: HCC术后晚期复发的危险因素, 表明机体的营养状态参与了肿瘤的发生发展<sup>[61]</sup>; (3)性激素: HCC术后复发与性激素比例失衡及雄激素受体阳性表达有关<sup>[62]</sup>. HCC术后复发患者E2/T值在术后6 mo、12 mo时再次显著升高, 雌激素受体 $\beta$ 基因在

术后复发的HCC组织中显著高表达, 参与HCC细胞增殖、RNA转录, 表明HCC术后复发与性激素比例失衡有关<sup>[63,64]</sup>; (4)术前血液甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP): AFP mRNA阳性的HCC患者较AFP mRNA阴性的HCC患者术后更容易产生复发或远处转移, 术前血AFP mRNA阳性的患者术后1、2、3年肿瘤复发率(58.3%、75%、100%)显著高于术前血AFP mRNA阴性的患者(23.6%、42.1%、68.4%), 术前血AFP水平越高, 术后早期复发率越高<sup>[65,66]</sup>; (5)血清脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原(de-gamma-carboxyl prothrombi, DCP): 血DCP $\geq 100$  AU/L与HCC切除术后肿瘤复发密切相关, 血清DCP $\geq 400$  AU/L与血清DCP水平在100-400 AU/L比较, 微血管浸润增加(62% vs 27%), 且肿瘤恶性程度更高(38% vs 16%)<sup>[67]</sup>; (6)HCC干细胞: HCC组织中HCC干细胞具有自我更新、多向分化能力, HCC干细胞增殖的不受控性、分化不成熟性和对常规治疗方法的抵抗性, 参与了HCC的发生、发展、转移和复发<sup>[68-70]</sup>. 术前外周血上皮细胞黏附因子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)阳性HCC细胞数目 $\geq 2$ 个的患者较术前EpCAM阳性HCC细胞数目 $< 2$ 个的患者具有更高的早期复发率, 术前EpCAM阳性HCC细胞数目 $\geq 2$ 个是患者术后HCC复发的独立危险因素<sup>[71]</sup>; (7)循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)手术前后CTC均阴性的HCC患者术后复发率为14.29%, 术前后CTC均阳性组HCC患者的术后复发率为46.15%, 术后CTC阴性患者术后复发率为17.65%, 术后CTC阳性患者术后复发率为35.59%. 术后CTC检测阳性的HCC患者复发率显著高于阴性患者<sup>[72]</sup>; (8)炎性细胞: 中性粒细胞通过释放各类趋化因子促进肿瘤细胞增殖、侵袭转移和定植, 帮助肿瘤细胞逃避免疫监视, 而淋巴细胞在抑制肿瘤增殖和转移, 肿瘤体积 $> 183.59 \text{ cm}^3$ 、术前血清中性粒细胞/淋巴细胞比值 $> 2.215$ 是HCC患者术后肿瘤复发的独立危险因素<sup>[73,74]</sup>; (9)MicroRNA: 是一类内源性非编码的小分子RNA, 长度为21-23 nt, 通过对靶基因转录后水平的负性调控作用, 降低靶基因表达水平, 参与调节肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡等多个生物学进程. 邓治亮等<sup>[75]</sup>采用microRNA芯片技术筛选出mir-144、mir-451、mir-486-5p、mir-602、mir-551b、mir-96、mir-502-3p与原发HCC术后早期复发密切相关. 促进HCC复发miRNA: miRNA-519a、miRNA-135a、miRNA-346; 抑制HCC复发miRNA: miRNA-214-3p、miRNA-30a、miRNA-589-5p、miRNA-126、miRNA-203、miRNA-630、miRNA-28-5p、miRNA-508-5p、miRNA-502-3p、miRNA-1258、miRNA-122. HCC组织中miRNA-9、miRNA-22、miRNA-155、miRNA-199a、miRNA-200a及miRNA-203, 以及血液中miRNA-148a、miRNA-192是预测HCC总生存期的潜在预后指标<sup>[76]</sup>.

## 2 HCC切除术后复发的治疗

复发性HCC的治疗包括手术、局部消融、血管内介入、放疗等方法, 治疗方法的选择应根据肿瘤的生物特征(部位、大小、数目、血管侵犯)、肝脏储备功能、残余肝体积以及病人的全身情况综合考虑.

**2.1 手术切除** 原发性HCC术后复发再次手术切除率为10%-31%, 再次手术术后5年生存率为22%-83%, 与首次切除相近, 明显好于未治疗患者(2年生存率为7.3%)<sup>[77,78]</sup>. 术后复发HCC再切除适用于肿瘤单发或多发( $\leq 3$ 个), 无大血管侵犯, 肝功能Child A级, 无明显门静脉高压, 残余肝体积应占标准肝体积的30%-40%以上, 全身情况能够耐受手术的复发性HCC患者. 由于复发肿瘤部位、数目、剩余肝脏储备功能及前次手术引起的粘连等因素, 导致复发性HCC再切除率仅为20%<sup>[77]</sup>. 复发性HCC患者再次手术切除, 围手术期死亡率为1%, 再切除术后1、3、5年存活率分别为75.8%、45.7%与37.5%, 是复发性HCC最有效的治疗方法<sup>[79-81]</sup>. HCC术后复发时间、手术切缘、复发肿瘤最大径与血管侵犯是影响再次手术后疗效和预后的显著性影响因素<sup>[82]</sup>.

**2.2 肝移植** 对于肝功能Child B/C级, 存在明显门静脉高压, 残余肝体积占标准肝体积的30%以下, 无血管侵犯和远处转移但不能耐受再次手术切除的术后复发性HCC, 肝移植是最佳的有效治疗方法. 首次手术切除后肿瘤复发时间 $< 1$ 年的复发性HCC行肝移植术后1、3、5年总生存率分别为47%、21%、21%, 而首次切除后复发时间 $> 1$ 年的复发性HCC行肝移植术后1、3、5年总生存率分别为81%、45%、45%, 表明首次切除术后肿瘤复发时间间隔越长, 肝移植术后预后较好<sup>[83]</sup>.

**2.3 局部消融治疗** 对于术后复发性HCC, 患者存在严重的心、肺、肾和肝功能障碍, 不能耐受手术, 或受肿瘤大小、数目、部位、剩余肝脏体积等因素影响无法再次手术切除, 或者有再次手术切除指证但患者/家属不愿意再次手术者, 可以选择肿瘤局部消融治疗(包括微波、射频、冷冻、无水酒精、不可逆性电穿孔等). 局部消融治疗适用于单个复发肿瘤, 最大径 $\leq 5 \text{ cm}$ ; 或复发肿瘤数目 $\leq 3$ 个, 最大径 $\leq 3 \text{ cm}$ , 同时无血管、胆管和邻近器官侵犯以及远处转移的术后复发HCC. 尤其对于单发、直径 $\leq 3 \text{ cm}$ 复发肿瘤疗效类似于手术切除, 避免再次手术, 而且局部消融可以反复、多次治疗, 能够最大限度地保护残余肝脏功能. 复发性HCC经局部射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗后1、3、5和10年总生存率分别为94.7%、65.1%、37.3%和33.4%<sup>[84,85]</sup>. 局部消融治疗对于不适合手术或不愿再次手术的复发性HCC患者是有效的治疗方法, 疗效仅次于手术切除, 但对于复发肿瘤邻近肝门、膈顶、胆囊、胃结肠、肝内



大血管等特殊部位, 肿瘤直径>5 cm, 数目>3个, 应慎重选择局部消融治疗, 以免引起大出血、胆漏、胃肠痿及癌残留等严重并发症。

**2.4 肝动脉栓塞化疗** 利用碘油、微球等栓塞剂栓塞肿瘤血管, 与肿瘤血管内注入化疗药物协同作用特点, 使肿瘤细胞缺血、缺氧、坏死、凋亡, 杀灭肿瘤细胞, 用于术后复发HCC的治疗。钟崇等<sup>[86]</sup>研究发现肝动脉栓塞化疗(transarterial chemoembolization, TACE)治疗术后复发性HCC中位生存期为18 mo, 1、3、5年生存率分别是70%、18%和6.8%。TACE栓塞形成的血流阻断或减少使栓塞远端动脉压力降低与近端动脉的压力差增加, 迫使小血管开放, 以减少两者间的压力差; 另外栓塞造成肿瘤组织缺血、缺氧导致血管活性物质增加, 促使侧枝血管开放。肝外侧支供血动脉在3-4次TACE后出现率为17.9%, 5-6次TACE后高达56.4%, 侧枝循环和交通支的开放、异位血供的形成造成肿瘤供血血管栓塞不完全, 导致TACE难以完全杀灭肿瘤<sup>[87]</sup>。由于TACE疗效取决于肿瘤滋养血管丰富和栓塞程度, 肿瘤侧枝循环和交通支的开放, 残癌的存在、局部缺氧致残癌细胞及血管内皮细胞的增殖、激活HBV的复制等因素严重影响TACE疗效, 导致TACE后3、5年存活率显著低于手术切除和RFA治疗<sup>[88]</sup>。因此单一TACE治疗复发性HCC疗效受限, 需要与其它治疗方法联合才能提高疗效。

**2.5 TACE联合局部消融治疗** 由于单纯TACE治疗肿瘤的完全坏死率仅20%左右, 肿瘤直径<3 cm与3-5 cm行RFA治疗一次毁损率分别为87.5%、80%, 肿瘤局部复发率为13.6%, 病灶的残留是影响TACE和局部消融治疗疗效的主要障碍<sup>[89-91]</sup>。因此对于肿瘤数目>3个和/或最大直径>3 cm, 不适合手术切除的复发HCC患者宜采用多种微创方法联合治疗, TACE联合RFA可使残留肿瘤组织进一步坏死, 尤其对缺乏血供的肿瘤组织, RFA可直接通过高温杀伤肿瘤细胞, 增强TACE术后的疗效<sup>[92]</sup>。先行TACE使HCC组织大部分血流被阻断, 减少肿瘤血供, 而后行射频/微波治疗, 能够降低热消融治疗时血流的“冷却效应”, 导致射频/微波产生的热效应增加, 增大热凝固范围, 同时减低肿瘤内阻抗, 纤维间隔分解使肿瘤内热弥散分布更容易, 缩短热消融治疗时间, 二者互相结合协同降低癌残留, 显著提高肿瘤灭活效果<sup>[93]</sup>。TACE+RFA和再手术切除治疗复发性HCC, 1、2、3年生存率分别为75.8%、63.2%、51.7%和69.4%、58.3%、47.2%, 疗效及预后无显著性差异( $P>0.05$ )<sup>[94]</sup>。TACE联合局部RFA治疗不仅拓宽了复发性HCC治疗的适应证, 而且术后肝功能损害恢复快, 是临床治疗复发性HCC有效治疗措施。

**2.6 放疗** 立体定向放射治疗(stereotactic body radiation

therapy, SBRT)对靶区精确定位, 按照三维治疗计划制定照射野的数目、角度, 对复发肝肿瘤进行聚集照射, 使肿瘤组织达到更高的局部照射剂量和更低的正常组织并发症, 治疗后1、3、5年生存率分别为71.6%、31.8%和13%<sup>[95]</sup>。<sup>125</sup>I 粒子置入肿瘤组织内持续发射X和 $\gamma$ 射线, 通过电离作用产生氧自由基直接杀灭肿瘤细胞, 或使肿瘤细胞DNA双链断裂、诱导细胞凋亡。<sup>125</sup>I 粒子置入肿瘤组织内治疗术后复发HCC, 1、3年生存率与手术切除无显著性差异<sup>[96,97]</sup>。李欢等<sup>[98]</sup>采用射波刀治疗复发性HCC, 放疗后中位生存期34 mo, 患者1、2、3年总体生存率分别为91.2%、70.6%和44.1%, 1、2、3年的无进展生存率分别为55.9%、38.2%、29.4%, 具有较好的肿瘤局部控制效果。SBRT适用于无法手术、局部微创治疗的复发性HCC患者, 或联合微创、分子靶向药物等治疗达到协同增效治疗复发性HCC。

**2.7 分子靶向药物** 分子靶向药物治疗是针对在肿瘤发生、发展及转移过程中起关键作用的靶分子及其相关信号通路, 干扰或阻断其功效, 抑制肿瘤生长、转移。分子靶向药物使原癌基因失活, 抑癌基因重激活, 阻断参与癌细胞生长、侵袭和转移相关信号传导通路分子, 干扰肿瘤细胞生长、侵袭的微环境, 激发机体免疫细胞杀灭肿瘤效应<sup>[99]</sup>。近年来研发用于HCC治疗的分子靶向药物如索拉非尼、舒尼替尼、瑞戈非尼、乐伐替尼等对于晚期HCC治疗具有一定的疗效, 疾病控制率为38%-69%, 延长总生存率为3-9 mo<sup>[100,101]</sup>。但对于晚期复发性HCC的治疗, 单一应用索拉非尼等分子靶向药物疗效有限, 索拉非尼联合TACE及RFA、放疗能够显著提高疗效, 延长患者生存率<sup>[102]</sup>。应用瑞戈非尼序贯治疗索拉非尼耐药的复发性HCC, 可使患者受益, 延长总生存期<sup>[103]</sup>。但由于复发或转移性HCC的异质性高, 单一分子靶向药物的作用有限, 随着HCC复发与转移机制研究的不断深入, 寻找新的参与HCC细胞侵袭转移的分子靶点, 研制出更加有效治疗HCC的分子靶向药物, 需要作用不同靶点多种药或联合, 才能提高疗效, 改善复发性HCC患者预后。

**2.8 免疫治疗** 由于手术创伤、麻醉、失血和围手术期输血等原因导致HCC患者术后早期细胞免疫功能进一步受到抑制, HCC细胞通过对自身表面抗原的修饰以及改变HCC组织周围的微环境来逃避机体的免疫识别与攻击, 抑制树突状细胞成熟, 影响调节性T细胞功能抑制免疫效应细胞功能, 导致HCC术后发生肿瘤免疫逃逸出现肿瘤复发与转移<sup>[104-106]</sup>。免疫检查点抑制剂(PD-1、PD-L1等)、肿瘤免疫疫苗、溶瘤病毒、免疫细胞(CAR-T、TCR-T等)等免疫治疗方法已经用于进展期HCC的治疗, 但用于复发性HCC治疗临床报道较少, 随

着临床应用实践,不久会有类似的临床研究结果报道. 单用免疫治疗方法用于复发性HCC疗效受限,临床上需要两种免疫抑制剂联合或免疫治疗联合化疗、放疗、分子靶向药物、TACE等方法,才能提高疗效.

2.9 中医药治疗 HCC术后患者在体质上是以气血两虚为主,治疗HCC术后复发主要采用补益正气、扶正固本、清热解毒、化瘀散结的治疗原则. 刘展华等<sup>[107]</sup>采用参桃软肝丸以益气健脾养血为原则,兼以活血化痰消癥,清热化湿解毒,改善HCC术后复发患者的临床症状及机体功能状态和肝脏储备功能,有效稳定瘤体,3 mo、6 mo、10 mo生存率分别为82.31%、70.42%、50.33%,显著高于对照组(72.7%、65.70%、46.33%),延长了患者的中位生存期和无进展生存期. 中医药充分发挥了中医辨证与辨病相结合的独特优势,把扶正和抗癌有机地结合起来,在复发性HCC治疗中具有显著的优势,不仅提高了带瘤患者的生存质量,而且延长了患者的生存时间.

### 3 HCC切除术后复发的预防

HCC术后复发高危因素: (1)单发病灶>5 cm; (2)病灶数>2处; (3)肿瘤无包膜或包膜不完整受累; (4)结节融合型肿瘤; (5)肿瘤紧贴大血管手术切缘<1 cm; (6)肉眼或术后病理检查镜下血管癌栓. 符合其中任意一条为术后高危复发患者<sup>[108-110]</sup>. 对于术后存在高危复发的HCC患者,围手术期必须采取积极的有效措施,才能有效降低术后肿瘤复发率.

3.1 术中处理 术后在残肝断面植入5-FU缓释剂,使局部药物浓度保持在全身药物浓度的20-500倍,大剂量、低毒性和高浓度化疗药物持续性作用于肝脏创面,在第一时间杀灭肿瘤细胞,提高术后抗复发效果<sup>[111]</sup>. HCC切除术后残肝断面植入5-Fu缓释剂对HCC的转移复发具有抑制作用,术后复发率显著低于创面未用5-FU患者(13% vs 27%),且不对肝功能造成影响,不良反应率低<sup>[112]</sup>. HCC术中切缘放置<sup>125</sup>I 粒子后局部复发率3、5年为28.2%、37.5%,明显低于单纯切除组(59.4%、87.5%),表明术中应用<sup>125</sup>I 粒子植入对局部复发有显著抑制作用<sup>[113]</sup>. 对于术中因肿瘤位置临近大血管、胆管和重要脏器无法保证足够切缘的HCC患者,术中切缘局部应用化疗药物、放射粒子等是降低术后肿瘤复发的重要措施.

3.2 门静脉化疗 HCC最常见的复发途径是经门静脉系统肝内播散, HCC术后行门静脉化疗能够最大程度地杀灭残存在门静脉内的微小癌栓或癌细胞,避免癌细胞经同侧门静脉系统转移,减少了HCC细胞在门静脉壁附着和生长,同时保护机体的免疫功能,降低术后肝内复发<sup>[114]</sup>. HCC术后4 wk左右,肝功能及免疫功能基本

恢复,而残癌和癌前病变仍处于快速增殖阶段,此时化疗为最最佳时机. HCC术后行门静脉化疗6 mo、1年、3年、5年的复发率分别为4%、30%、58%、76%,无门静脉化疗复发率分别为12%、56%、72.1%、100%, HCC术后门静脉化疗显著降低HCC术后复发率<sup>[115]</sup>. HCC术后行肝动脉、门静脉、肝动脉联合门静脉灌注化疗1、2、3年肿瘤复发率分别为4.6%、25%和40%, 1.5%、45%和60%, 5.0%、20.7%和45.9%, 未化疗1、2、3年肿瘤复发率分别为50%、50%和72.2%,表明不同化疗途径对肿瘤复发率无显著影响,但采用门静脉和/或肝动脉化疗能够显著降低术后肿瘤复发率<sup>[116]</sup>.

3.3 TACE预防治疗 HCC术后2 mo内,若有残留癌细胞开始向组织浸润定位着床,肿瘤血管生成,形成显微镜下浸润,此时进行肝动脉预防量的化疗栓塞治疗,能够阻断肿瘤血供,杀灭肿瘤细胞,因此术后第1年定期行肝动脉预防性栓塞化疗不仅能够早期发现转移复发灶(敏感性为92%)并及时给予有效的治疗,早期消灭HCC术后残留的微小病灶,减少肿瘤多中心生长的机会,而且又能延迟肿瘤复发时间,降低术后肿瘤转移复发率<sup>[117,118]</sup>. HCC根治性术后1-2 mo首次TACE,若无复发灶,则依次行第2、3次,治疗间隔时间为2-4 mo,既能及早有效的杀灭残癌细胞或癌前病变,又能最大限度的保护肝功能,覆盖了术后1年内的复发高峰期<sup>[119]</sup>. 行3次及3次以上TACE治疗的HCC患者中位生存时间明显高于1次或2次治疗的患者,但重复多次的TACE治疗在增加肿瘤坏死的同时,对肝功能产生损害,导致肝脏纤维化及引起或加重肝硬化<sup>[120]</sup>. 肝脏功能损害的程度与TACE介入治疗次数成正比,经过3次以上的TACE治疗易导致栓塞部位的血管闭锁,栓塞化疗药物无法积聚而影响疗效,同时形成新的肝外侧枝动脉血供,使肿瘤产生新的滋养血管,促使肿瘤的复发<sup>[121,122]</sup>. HCC术后≤3次预防性TACE治疗能够明显提高HCC术后患者3年生存率, >3次TACE治疗对HCC患者术后3年无瘤生存率无明显影响<sup>[123]</sup>. 因此TACE用于预防HCC术后高危复发患者治疗不宜超过3次,对于存在高危复发因素的乙肝病毒相关HCC患者术后TACE能够显著降低33%肿瘤复发率,术后3年总生存率增加7.8%,但对于肿瘤直径≤3 cm、有完整包膜、手术切缘距离≥2 cm,无血管侵犯的HCC患者, HCC术后预防性TACE对其复发和无瘤生存期无显著影响,术后不建议预防性TACE治疗<sup>[124,125]</sup>.

3.4 抗病毒治疗 HBeAg阳性、术前HBV-DNA水平可检测、Ishak炎症评分高、术前TACE、手术时间长、输血是乙肝相关HCC患者术后HBV再活化的独立危险因素. HCC根治性切除术后HBV病毒再激活率为28%,化疗使HCC患者HBV病毒再激活率为19%-55%,术后



HBV病毒的再激活显著影响HCC患者的预后<sup>[126]</sup>. HBV高负荷是HCC术后肿瘤复发的独立危险因素<sup>[127]</sup>. HBV感染进一步加重患者肝硬化程度, 程度较重的肝硬化患者术后肝脏的耐受能力较差, 而肝脏的基础炎性、纤维化和硬变加速术后残肝新癌灶的生长导致肿瘤复发. 另外HCV的感染使肝细胞性HCC分化性降低, HBV和HCV双重感染使术后复发率显著增加<sup>[128,129]</sup>. 外周血乙肝病毒含量 $>2000$  IU/mL, 抗乙肝病毒治疗能够减轻剩余肝脏慢性炎症, 改善肝功能, 降低肿瘤发展风险和晚期肿瘤复发, 提高术后无瘤生存, 抗乙肝病毒治疗是晚期肿瘤复发的独立保护因素<sup>[130-132]</sup>. 对于术前在基线水平低病毒载量HBV-DNA水平的HCC患者, 术后5年累积HCC复发率为67.7%, 抗病毒治疗不仅能预防HBV再激活, 降低术后晚期肿瘤复发率, 而且能提高术后生存率, 因此低病毒载量的HBV相关的HCC患者术后亦应立即进行抗病毒治疗<sup>[133]</sup>. 干扰素不仅可以增强HCC术后患者的细胞免疫功能, 而且通过抑制乙肝和丙肝病毒的复制, 降低乙型和丙型肝炎病毒导致的肝硬化患者的HCC发生率<sup>[134,135]</sup>, 从而有助于降低乙肝和丙肝相关HCC切除术后的复发率.

**3.5 免疫治疗** HCC术后无瘤生存期 $\leq 1$ 年的患者,  $CD4^+T$ 细胞数相对较低,  $CD8^+T$ 细胞数相对较高,  $CD4^+/CD8^+$ 比值低, 表明患者细胞免疫功能低下, 容易早期复发; 术后无瘤生存期 $\geq 2$ 年的HCC患者,  $CD4^+T$ 细胞数较高,  $CD8^+T$ 细胞数相对较低,  $CD4^+/CD8^+$ 比值增高, 表明患者细胞免疫功能较强, 不容易出现复发. 术后肿瘤复发前有一个细胞免疫功能逐渐下降的过程, 及时对HCC术后患者进行免疫增强治疗, 能够延缓肿瘤的复发、转移<sup>[136]</sup>. HCC术后行辅助过继免疫治疗, 3年复发率可降到52.6%-69%<sup>[137]</sup>, 表明术后严密监测HCC患者机体细胞和体液免疫功能变化, 及时给予相应的免疫治疗, 降低HCC术后肿瘤复发.

**3.6 分子靶向药物** 分子靶向药物通过阻断HCC细胞和相关细胞信号传导, 控制细胞致癌基因表达改变, 在不损伤正常细胞情况下抑制或杀灭肿瘤细胞<sup>[138]</sup>. 目前多激酶靶点抑制剂如索拉非尼、仑伐替尼、瑞戈非尼已用于不可手术切除HCC的靶向治疗药物, 提高HCC患者的生存率<sup>[139,140]</sup>. HCC患者术后服用索拉非尼4 mo, 复发时间为 $21.5 \text{ mo} \pm 2.0 \text{ mo}$ , 显著高于未服用索拉非尼者( $13.4 \text{ mo} \pm 2.7 \text{ mo}$ ), 术后复发率29.4%显著低于未服用索拉非尼者70.7%, 表明索拉非尼具有防止HCC术后早期复发的作用<sup>[141]</sup>. 但关于分子靶向药物用于预防HCC术后复发目前国内外尚缺乏多中心临床研究, 药物选择、应用时机、剂量、疗程、不同靶点药物联合及与其它治疗联合等均需要进一步深入研究, 才能有效降低HCC

术后肿瘤复发率.

**3.7 中医药治疗** 健脾化痰法通过调节机体免疫、改善残余肝脏功能、诱导细胞凋亡等多途径和多靶点抗HCC术后复发<sup>[142]</sup>.  $As_2O_3$ 通过诱导HCC细胞凋亡、抑制HCC细胞增殖和VEGF信号通路, 从而控制肿瘤血管形成以及抑制HCC细胞侵袭, 降低术后早期复发率(29.2%)<sup>[143,144]</sup>. 槐耳颗粒通过激活自然杀伤细胞活性, 诱导和产生 $\alpha$ 和 $\gamma$ 干扰素, 提高体液免疫能力, 改善HCC患者的免疫功能状态, 影响血管内皮细胞的增殖、迁移和附壁能力及血管生成, 下调患者血清VEGF表达. 服用槐耳颗粒HCC患者术后转移复发率40.9%显著低于未服用者61.7%<sup>[145]</sup>. 另外复方斑蝥胶囊、金龙胶囊、平消胶囊、贞芪扶正颗粒等中药亦可用于HCC术后患者, 能够不同程度改善HCC患者术后机体免疫功能, 破瘀散结, 扶正祛邪, 降低术后肿瘤复发率.

## 4 结论

复发性HCC的治疗以手术切除作为首先选择, 其次依据患者情况选择局部微创消融、TACE、放疗等治疗, 当单一治疗方式不能完全控制肿瘤时, 需要采用多种方法联合治疗模式, 以提高疗效(图1). 常用的联合治疗方式有手术+TACE、TACE+RFA/MCT、RFA/MCT+PEI、TACE/RFA/MCT+放疗/生物治疗/分子靶向药物治疗等. TACE联合RFA/MCT治疗的策略是目前比较常用的治疗模式, 这种互补性极强的双模式的序贯应用协同增效, 显著提高肿瘤的局部坏死率和疗效, TACE联合局部微波消融治疗后3年、5年生存率为50%、31%, 疗效显著高于单一TACE治疗<sup>[146]</sup>. RFA联合索拉非尼和干扰素治疗复发性HCC, 治疗后1、3和5年总体生存率分别为87.9%、45.1%和12%, 而RFA联合索拉非尼治疗后分别为84.3%、27.4%和6.8%( $P<0.05$ )<sup>[147]</sup>, 表明对于复发性HCC患者, 多种方法联合治疗是安全、协同增效, 不仅提高患者的生活质量, 而且延长患者的总体生存率. HCC术后复发的预防从术前、术中、术后三个环节进行, 针对HCC术后复发原因及高危因素, 依据患者的具体情况, 采用个体化的治疗方案. 对不能手术切除的复发性HCC, 术前采用TACE、放疗、分子靶向药物等降期治疗使肿瘤缩小, 提高再次手术切除率; 术中严格遵守外科手术基本原则, 掌握好手术切缘, 避免术中不必要的出血及输血; 术后抗病毒、预防性TACE、分子靶向药物、免疫和中医药等治疗, 定时、长期随访. HCC术后复发严重影响患者长期生存, 只有深入研究复发转移的机制和围手术期采取严格的防治措施, 才能降低术后肿瘤复发率, 改善术后HCC患者预后.

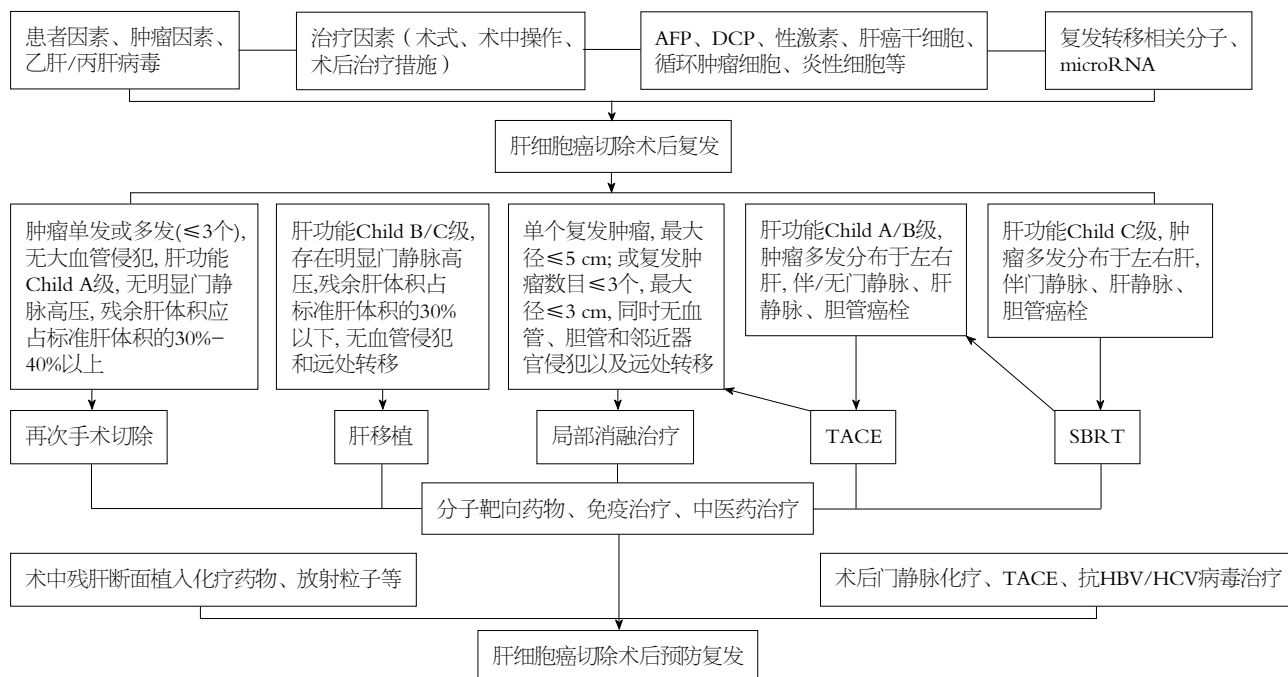


图 1 肝细胞癌切除术后复发原因与防治策略流程图。

## 5 参考文献

- de'Angelis N, Landi F, Carra MC, Azoulay D. Managements of recurrent hepatocellular carcinoma after liver transplantation: A systematic review. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 11185-11198 [PMID: 26494973 DOI: 10.3748/wjg.v21.i39.11185]
- Wang FS, Fan JG, Zhang Z, Gao B, Wang HY. The global burden of liver disease: the major impact of China. *Hepatology* 2014; 60: 2099-2108 [PMID: 25164003 DOI: 10.1002/hep.27406]
- Zou H, Zhu CZ, Wang C, Wang ZS, Ma X, Han B, Wu LQ. Recurrence of Barcelona Clinic Liver Cancer Stage A Hepatocellular Carcinoma After Hepatectomy. *Am J Med Sci* 2017; 354: 262-267 [PMID: 28918833 DOI: 10.1016/j.amjms.2017.05.014]
- Li D, Kang J, Golas BJ, Yeung VW, Madoff DC. Minimally invasive local therapies for liver cancer. *Cancer Biol Med* 2014; 11: 217-236 [PMID: 25610708 DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2014.04.001]
- 李德辉, 孙备. 肝细胞癌肝内转移与多中心发生的研究进展. *国际外科学杂志* 2006; 33: 28-31 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2006.01.009]
- 从文铭, 董辉, 王斌, 冼志红, 吴伟清, 俞花. 复发性肝癌临床病理特点与发生方式探讨. *中国实用外科杂志* 2009; 29: 71-73
- Wu JC, Huang YH, Chau GY, Su CW, Lai CR, Lee PC, Huo TI, Shen JJ, Lee SD, Lui WY. Risk factors for early and late recurrence in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2009; 51: 890-897 [PMID: 19747749 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.07.009]
- Imamura H, Matsuyama Y, Tanaka E, Ohkubo T, Hasegawa K, Miyagawa S, Sugawara Y, Minagawa M, Takayama T, Kawasaki S, Makuuchi M. Risk factors contributing to early and late phase intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Hepatol* 2003; 38: 200-207 [PMID: 12547409 DOI: 10.1016/s0168-8278(02)00360-4]
- 孙建, 简志祥, 区应亮, 侯宝华, 区金锐. 肝癌根治性切除术后早期复发时限和模式的确定及其对预后的影响. *实用医学杂志* 2011; 27: 1748-1750 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2011.10.015]
- Hayashi M, Shimizu T, Hirokawa F, Inoue Y, Komeda K, Asakuma M, Miyamoto Y, Takeshita A, Shibayama Y, Tanigawa N. Clinicopathological risk factors for recurrence within one year after initial hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Am Surg* 2011; 77: 572-578 [PMID: 21679590]
- Yeh CN, Lee WC, Jeng LB, Chen MF. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma in elderly patients. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 219-223 [PMID: 15011868]
- Chang CH, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, King KL, Wu CW. Long-term results of hepatic resection for hepatocellular carcinoma originating from the noncirrhotic liver. *Arch Surg* 2004; 139: 320-5; discussion 326 [PMID: 15006892 DOI: 10.1001/archsurg.139.3.320]
- Chen JD, Liu CJ, Lee PH, Chen PJ, Lai MY, Kao JH, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with tumor recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 64-71 [PMID: 15017634]
- 唐磊, 陈盛铎. 肝癌术后肝动脉化疗栓塞治疗患者肿瘤复发的影响因素分析. *癌症进展杂志* 2017; 15: 1464-1466 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2017.15.12.28]
- Yamamoto J, Kosuge T, Takayama T, Shimada K, Yamasaki S, Ozaki H, Yamaguchi N, Makuuchi M. Recurrence of hepatocellular carcinoma after surgery. *Br J Surg* 1996; 83: 1219-1222 [PMID: 8983610]
- 曾钦, 董志谊, 邹金金, 罗何三, 梁基韵, 曹传辉, 吴德华. 肝癌乙型肝炎病毒感染患者术后预后的多因素分析. *广东医学* 2011; 32: 2651-2654 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2011.20.012]
- Hirokawa F, Hayashi M, Asakuma M, Shimizu T, Inoue Y, Uchiyama K. Risk factors and patterns of early recurrence after curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Surg Oncol* 2016; 25: 24-29 [PMID: 26979637 DOI: 10.1016/j.suronc.2015.12.002]
- Geller DA, Tsung A, Marsh JW, Dvorchik I, Gamblin TC, Carr BI. Outcome of 1000 liver cancer patients evaluated at the UPMC Liver Cancer Center. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 63-68 [PMID: 16368492 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.06.032]
- Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Tomonaga T, Muraoka I, Kanematsu T. Predictor for histological microvascular invasion of hepatocellular carcinoma: a lesson from 229 consecutive cases of curative liver resection. *World J Surg* 2010; 34: 1034-1038 [PMID: 20127241 DOI: 10.1007/s00268-010-0424-5]
- Sumie S, Kuromatsu R, Okuda K, Ando E, Takata A, Fukushima N, Watanabe Y, Kojiro M, Sata M. Microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma and its predictable clinicopathological factors. *Ann Surg Oncol* 2008; 15:

- 1375-1382 [PMID: 18324443 DOI: 10.1245/s10434-008-9846-9]
- 21 Lu XY, Xi T, Lau WY, Dong H, Xian ZH, Yu H, Zhu Z, Shen F, Wu MC, Cong WM. Pathobiological features of small hepatocellular carcinoma: correlation between tumor size and biological behavior. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 567-575 [PMID: 20508947 DOI: 10.1007/s00432-010-0909-5]
- 22 Esnaola NF, Lauwers GY, Mirza NQ, Nagorney DM, Doherty D, Ikai I, Yamaoka Y, Regimbeau JM, Belghiti J, Curley SA, Ellis LM, Vauthey JN. Predictors of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma who are candidates for orthotopic liver transplantation. *J Gastrointest Surg* 2002; 6: 224-32; discussion 232 [PMID: 11992808]
- 23 乔国梁, 刘学, 刘光华, 樊啸, 夏勇, 沈锋. 早期肝癌病人术后复发危险因素分析. *外科理论与实践杂志* 2012; 17: 437-443 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9610.2012.05.010]
- 24 张小晶, 刘静, 刘坤, 岳树强, 陶开山, 王琳. 微血管侵犯对肝癌肝切除术后预后的影响. *中华消化外科杂志* 2018; 17: 483-487 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2018.05.012]
- 25 陈凯, 杨洪吉, 邓小凡, 张宇, 朱世凯, 赵冀, 刘兴超, 陈云飞. 肝癌根治性切除术后早期复发危险因素分析及预测模型构建. *中华肿瘤防治杂志* 2018; 25: 344-348
- 26 黄晓曦, 江雪梅, 刘英, 成建斌, 陈小朋, 余湘南, 林松挺, 陈正义. 原发性肝细胞癌术后早期转移复发的相关因素分析. *海南医学杂志* 2016; 27: 3857-3859 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2016.23.023]
- 27 Lv Z, Cai X, Weng X, Xiao H, Du C, Cheng J, Zhou L, Xie H, Sun K, Wu J, Zheng S. Tumor-stroma ratio is a prognostic factor for survival in hepatocellular carcinoma patients after liver resection or transplantation. *Surgery* 2015; 158: 142-150 [PMID: 25890776 DOI: 10.1016/j.surg.2015.02.013]
- 28 胡继科, 李雪梅, 张凡, 谷保红, 苏锐良, 马智军, 陈昊, 李玉民. 肝癌术后复发危险因素影响研究进展. *中华肝胆外科杂志* 2018; 24: 644-648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2018.09.019]
- 29 邱广平, 刘杰, 范华. HBV、HCV感染与肝癌术后预防性肝动脉化疗栓塞复发的临床研究. *中华医院感染学杂志* 2014; 22: 5613-5615 [DOI: 10.11816/cn.ni.2014-143115]
- 30 Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* 2011; 334: 1081-1086 [PMID: 22116877 DOI: 10.1126/science.1209038]
- 31 Song DS, Bae SH. Changes of guidelines diagnosing hepatocellular carcinoma during the last ten-year period. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 258-267 [PMID: 23091805 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.3.258]
- 32 Yan PG, Wang RY, Zhang J, Cong WM, Dong H, Yu HY, Lau WY, Wu MC, Zhou WP. Impact of Preoperative Hepatitis B Virus Levels on Prognosis After Primary and Repeat Hepatectomies for Hepatocellular Carcinoma Patients-a Retrospective Study. *J Gastrointest Surg* 2018; 22: 872-883 [PMID: 29313290 DOI: 10.1007/s11605-017-3638-0]
- 33 莫显伟, 林源. 原发性肝癌术后晚期复发相关因素的探讨. *国际肿瘤学杂志* 2007; 34: 640 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2007.08.027]
- 34 石明, 张昌卿, 冯凯涛, 张亚奇, 陈敏山, 郭荣平, 林小军, 李锦清. 肝细胞癌周围微小转移分布的研究. *中华肿瘤杂志* 2002; 24: 257-261 [DOI: 10.3760/j.issn.0253-3766.2002.03.014]
- 35 潘运龙, 覃莉. VEGF、P53蛋白表达和MVD在肝细胞肝癌术后转移复发的意义. *中国现代医学杂志* 2005; 15: 1223-1226 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2005.08.032]
- 36 曾庆黎, 傅平, 周凯, 邓奕昕, 王绚, 罗小江. Syk基因甲基化和肝癌术后复发转移关系的研究. *实用癌症杂志* 2006; 21: 158-160 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2006.02.014]
- 37 Gao J, Inagaki Y, Song P, Qu X, Kokudo N, Tang W. Targeting c-Met as a promising strategy for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res* 2012; 65: 23-30 [PMID: 22138044 DOI: 10.1016/j.phrs.2011.11.011]
- 38 Van den Bossche J, Van Ginderachter JA. E-cadherin: from epithelial glue to immunological regulator. *Eur J Immunol* 2013; 43: 34-37 [PMID: 23229729 DOI: 10.1002/eji.201243168]
- 39 牛志鹏, 杨会峰, 王春雨, 冯新献. PKC- $\alpha$ 在肝癌组织中的表达及与术后复发和生存的关系. *临床心身疾病杂志* 2018; 24: 12-17 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-187X.2018.01.004]
- 40 Ferroni P, Spila A, D'Alessandro R, Martini F, Iacovone F, Ettore GM, Vennarecci G, Santoro R, Puoti C, Guadagni F. Platelet activation and vascular endothelial growth factor 165 release in hepatocellular cancer. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 450-454 [PMID: 21111726 DOI: 10.1016/j.cca.2010.11.026]
- 41 Mima K, Okabe H, Ishimoto T, Hayashi H, Nakagawa S, Kuroki H, Watanabe M, Beppu T, Tamada M, Nagano O, Saya H, Baba H. CD44s regulates the TGF- $\beta$ -mediated mesenchymal phenotype and is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2012; 72: 3414-3423 [PMID: 22552294 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0299]
- 42 王代宏, 王伟, 王芳元. 联合检测VEGF、OPN对原发性肝癌术后复发转移及预后的意义. *湖北科技学院学报(医学版)* 2015; 29: 280-283
- 43 蒋国华, 廖维甲, 覃理灵, 梅铭惠, 陈谦, 袁晨光, 刘杰. 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3在肝细胞肝癌的表达及其与术后复发的相关性. *中国实验诊断学* 2011; 15: 1663-1668 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2011.10.018]
- 44 Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 385-392 [PMID: 12046056 DOI: 10.3748/wjg.v8.i3.385]
- 45 陈继安, 梁安民. 小肝癌中CD82和VEGF表达与术后复发关系. *肿瘤学杂志* 2007; 13: 146-149 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-170X.2007.02.024]
- 46 Lee JJ, Conneely JB, Smoot RL, Gallinger S, Greig PD, Moulton CA, Wei A, McGilvray I, Cleary SP. Laparoscopic versus open liver resection for hepatocellular carcinoma at a North-American Centre: a 2-to-1 matched pair analysis. *HPB (Oxford)* 2015; 17: 304-310 [PMID: 25297815 DOI: 10.1111/hpb.12342]
- 47 Kim H, Suh KS, Lee KW, Yi NJ, Hong G, Suh SW, Yoo T, Park MS, Choi Y, Lee HW. Long-term outcome of laparoscopic versus open liver resection for hepatocellular carcinoma: a case-controlled study with propensity score matching. *Surg Endosc* 2014; 28: 950-960 [PMID: 24149856 DOI: 10.1007/s00464-013-3254-3]
- 48 曾严, 张艳林, 张杰峰, 曾建挺, 张希, 何笑冬. 规则性肝切除与非规则性肝切除术后肝癌肝内复发状况比较分析. *中国临床解剖学杂志* 2018; 36: 90-93 [DOI: 10.13418/j.issn.1001-165X.2018.01.020]
- 49 李涛, 樊嘉, 钦伦秀, 周俭, 孙惠川, 叶青海, 邱双键, 王鲁, 汤钊猷. 透明细胞型肝癌术后早期及晚期复发的多因素分析. *中华肝胆外科杂志* 2012; 18: 578-581 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2012.08.003]
- 50 Katz SC, Shia J, Liao KH, Gonen M, Ruo L, Jamagin WR, Fong Y, D'Angelica MI, Blumgart LH, Dematteo RP. Operative blood loss independently predicts recurrence and survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2009; 249: 617-623 [PMID: 19300227 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31819ed22f]
- 51 王清睿, 胡赤丁, 吴琳, 李青, 孙奕琛, 汪佼佼. 原发性肝细胞癌切除术后复发的危险因素分析. *疑难病杂志* 2018; 17: 706-709 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.07.014]
- 52 Ishii Y, Nakasato Y, Kobayashi S, Yamazaki Y, Aoki T. A study on angiogenesis-related matrix metalloproteinase networks in primary hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2003; 22: 461-470 [PMID: 14582707]
- 53 郝胜华, 杨湘武, 杨文龙, 万赤丹. 间歇性肝门阻断是原发性肝癌术后早期肝内复发的一项危险因素. *中华肝胆外科杂志* 2013; 19: 321-324 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2013.05.001]
- 54 梁水庭, 彭民浩, 黎乐群, 覃晓, 周惠森, 覃忠. 155例外周及中央型肝癌切除术后疗效分析. *肝胆外科杂志* 2004; 12: 17-19 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2004.01.007]
- 55 Sun HC, Tang ZY. Preventive treatments for recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma--a literature



- review of randomized control trials. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 635-640 [PMID: 12679900 DOI: 10.3748/wjg.v9.i4.635]
- 56 胡继科, 李雪梅, 张凡, 谷保红, 苏锐良, 马智军, 陈昊, 李玉民. 肝癌术后复发危险因素影响研究进展. *中华肝胆外科杂志* 2018; 24: 644-648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2018.09.019]
  - 57 Li Z, Ni RF, Busireddy KK, Jin YH, Zhao X, Li MM, Yang C. Cerebral lipiodol embolism following transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a report of two cases and literature review. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 4355-4358 [PMID: 22340413]
  - 58 Ashoori N, Paprottka P, Trumm C, Bamberg F, Kolligs FT, Rentsch M, Reiser MF, Jakobs TF. Multimodality treatment with conventional transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation for unresectable hepatocellular carcinoma. *Digestion* 2012; 85: 18-26 [PMID: 22156507 DOI: 10.1159/000334714]
  - 59 文明波, 姚红兵, 黄高, 吴定国, 杨志坚, 练远书, 李桂花. 肝动脉栓塞化疗对肝癌术后复发的预防作用. *华南国防医学杂志* 2013; 27: 36-38
  - 60 袁克文, 王湘辉, 肖毅, 任彦顺, 党政. 原发性肝癌术后复发现状和影响因素分析. *检验医学与临床杂志* 2013; 17: 2248-2249, 2251 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.17.019]
  - 61 Du ZG, Wei YG, Chen KF, Li B. Risk factors associated with early and late recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma: a single institution's experience with 398 consecutive patients. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2014; 13: 153-161 [PMID: 24686542]
  - 62 邱应和, 姜小清, 刘辰, 张柏和, 罗祥基, 易滨, 刘辉, 吴孟超. 原发性肝癌术后复发与性激素失衡的关系研究. *中国现代医学杂志* 2008; 18: 2986-2989
  - 63 胡向东, 应选明, 谢建勇, 丁世华. 原发性肝癌患者术后性激素水平变化及意义. *实用临床医学杂志* 2009; 10: 14-16 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-8194.2009.05.005]
  - 64 吴其肯, 刘玉君, 王海江, 王利平, 梅勇. ER  $\beta$  基因表达与肝细胞肝癌术后复发的相关性及其机制研究. *肿瘤学杂志* 2015; 21: 835-838 [DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.10.B011]
  - 65 刘扬, 王跃如, 王龙, 周波, 宋振顺, Butterfield Lisa H., 张柏和, 吴孟超. 血液甲胎蛋白mRNA对肝癌术后复发转移的影响: 3年回顾性研究. *中华肝胆外科杂志* 2014; 20: 697-699 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2014.10.001]
  - 66 翁国爱, 邢红卫. 甲胎蛋白与原发性肝癌临床病理特征及早期复发的关系. *现代中西医结合杂志* 2007; 16: 3135-3137 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2007.22.005]
  - 67 Iguchi T, Shirabe K, Aishima S, Wang H, Fujita N, Ninomiya M, Yamashita Y, Ikegami T, Uchiyama H, Yoshizumi T, Oda Y, Maehara Y. New Pathologic Stratification of Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma: Predicting Prognosis After Living-donor Liver Transplantation. *Transplantation* 2015; 99: 1236-1242 [PMID: 25427164 DOI: 10.1097/TP.0000000000000489]
  - 68 Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T, Moriawaki H. Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351: 820-824 [PMID: 17097610 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.10.128]
  - 69 Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, Jia H, Ye Q, Qin LX, Wauthier E, Reid LM, Minato H, Honda M, Kaneko S, Tang ZY, Wang XW. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009; 136: 1012-1024 [PMID: 19150350 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.004]
  - 70 Oishi N, Yamashita T, Kaneko S. Molecular biology of liver cancer stem cells. *Liver Cancer* 2014; 3: 71-84 [PMID: 24944998 DOI: 10.1159/000343863]
  - 71 Sun YF, Xu Y, Yang XR, Guo W, Zhang X, Qiu SJ, Shi RY, Hu B, Zhou J, Fan J. Circulating stem cell-like epithelial cell adhesion molecule-positive tumor cells indicate poor prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Hepatology* 2013; 57: 1458-1468 [PMID: 23175471 DOI: 10.1002/hep.26151]
  - 72 李磊. 肿瘤循环细胞检测预测肝癌术后复发的临床研究. *现代肿瘤医学杂志* 2016; 24: 2554-2556 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2016.16.014]
  - 73 袁琳, 万磊, 陈佳佳, 刘建军, 阙和平, 谭永法. 术前TTV、NLR及HBV-DNA定量对预测肝癌术后复发的价值. *现代消化及介入诊疗杂志* 2015; 2: 99-102 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2015.02.006]
  - 74 Halazun KJ, Hardy MA, Rana AA, Woodland DC 4th, Luyten EJ, Mahadev S, Witkowski P, Siegel AB, Brown RS Jr, Emond JC. Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2009; 250: 141-151 [PMID: 19561458 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a77e59]
  - 75 邓治亮, 孙建, 区应亮, 侯宝华, 简志祥, 区金锐. 原发性肝癌术后早期复发密切相关 microRNA 的筛选及应用. *中山大学学报(医学科学版)* 2012; 33: 494-498
  - 76 赵英安, 李福军. microRNA 在肝癌复发转移中的研究进展. *中国普外基础与临床杂志* 2018; 25: 1403-1407 [DOI: 10.7507/1007-9424.201804075]
  - 77 Chan DL, Morris DL, Chua TC. Clinical efficacy and predictors of outcomes of repeat hepatectomy for recurrent hepatocellular carcinoma - a systematic review. *Surg Oncol* 2013; 22: e23-e30 [PMID: 23535302 DOI: 10.1016/j.suronc.2013.02.009]
  - 78 Cabibbo G, Enea M, Attanasio M, Bruix J, Craxi A, Cammà C. A meta-analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 1274-1283 [PMID: 20112254 DOI: 10.1002/hep.23485]
  - 79 Zou Q, Li J, Wu D, Yan Z, Wan X, Wang K, Shi L, Lau WY, Wu M, Shen F. Nomograms for Pre-operative and Post-operative Prediction of Long-Term Survival of Patients Who Underwent Repeat Hepatectomy for Recurrent Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2016; 23: 2618-2626 [PMID: 26903045 DOI: 10.1245/s10434-016-5136-0]
  - 80 Chen X, Chen Y, Li Q, Ma D, Shen B, Peng C. Radiofrequency ablation versus surgical resection for intrahepatic hepatocellular carcinoma recurrence: a meta-analysis. *J Surg Res* 2015; 195: 166-174 [PMID: 25724768 DOI: 10.1016/j.jss.2015.01.042]
  - 81 Wang DY, Liu L, Qi XS, Su CP, Chen X, Liu X, Chen J, Li HY, Guo XZ. Hepatic Re-resection Versus Transarterial Chemoembolization for the Treatment of Recurrent Hepatocellular Carcinoma after Initial Resection: a Systematic Review and Meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 5573-5578 [PMID: 26225712 DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.13.5573]
  - 82 邵子力, 梁惠宏, 曹良启, 焦兴元, 陈德, 彭和平. Cox 模型多因素分析影响复发性肝癌再切除的预后因素. *国际外科学杂志* 2011; 38: 451-455 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2011.07.007]
  - 83 Hu Z, Zhou J, Li Z, Xiang J, Qian Z, Wu J, Zhang M, Zheng S. Time interval to recurrence as a predictor of overall survival in salvage liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B virus. *Surgery* 2015; 157: 239-248 [PMID: 25616940 DOI: 10.1016/j.surg.2014.09.018]
  - 84 Fukuhara T, Aikata H, Hyogo H, Honda Y, Morio K, Morio R, Hatooka M, Kobayashi T, Naeshiro N, Kawaoka T, Tsuge M, Hiramatsu A, Imamura M, Kawakami Y, Chayama K. Efficacy of radiofrequency ablation for initial recurrent hepatocellular carcinoma after curative treatment: Comparison with primary cases. *Eur J Radiol* 2015; 84: 1540-1545 [PMID: 25979193 DOI: 10.1016/j.ejrad.2015.04.020]
  - 85 Peng ZW, Zhang YJ, Chen MS, Xu L, Liang HH, Lin XJ, Guo RP, Zhang YQ, Lau WY. Radiofrequency ablation with or without transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial. *J Clin Oncol* 2013; 31: 426-432 [PMID: 23269991 DOI: 10.1200/JCO.2012.42.9936]
  - 86 钟崇, 胡明利, 黄俊海, 吴健, 李惠东, 郭荣平. 健脾化痰法中药联合TACE治疗肝癌术后复发临床研究. *新中医杂志* 2016; 48:

- 208-210 [DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.05.080]
- 87 Wang YL, Li MH, Cheng YS, Shi HB, Fan HL. Influential factors and formation of extrahepatic collateral artery in unresectable hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2637-2642 [PMID: 15849825 DOI: 10.3748/wjg.v11.i17.2637]
  - 88 Wang K, Liu G, Li J, Yan Z, Xia Y, Wan X, Ji Y, Lau WY, Wu M, Shen F. Early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy treated with re-hepatectomy, ablation or chemoembolization: a prospective cohort study. *Eur J Surg Oncol* 2015; 41: 236-242 [PMID: 25434327 DOI: 10.1016/j.ejso.2014.11.002]
  - 89 吴沛宏, 张福君, 赵明, 范卫君, 黄金华, 顾仰葵, 李立. 肝动脉栓塞化疗联合CT导向射频消融术治疗中、晚期肝癌的评价. *中华放射学杂志* 2003; 37: 901-904
  - 90 Lu MD, Yin XY, Xie XY, Xu HX, Xu ZF, Liu GJ, Kuang M, Zheng YL. Percutaneous thermal ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Br J Surg* 2005; 92: 1393-1398 [PMID: 16044409 DOI: 10.1002/bjs.5102]
  - 91 Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Yoo BC, Paik SW, Joh JW, Park CK. Percutaneous radiofrequency ablation for recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy: long-term results and prognostic factors. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2319-2329 [PMID: 17522947 DOI: 10.1245/s10434-006-9220-8]
  - 92 Veltri A, Moretto P, Doriguzzi A, Pagano E, Carrara G, Gandini G. Radiofrequency thermal ablation (RFA) after transarterial chemoembolization (TACE) as a combined therapy for unresectable non-early hepatocellular carcinoma (HCC). *Eur Radiol* 2006; 16: 661-669 [PMID: 16228211 DOI: 10.1007/s00330-005-0029-9]
  - 93 Dodd GD 3rd, Soulen MC, Kane RA, Livraghi T, Lees WR, Yamashita Y, Gillams AR, Karahan OI, Rhim H. Minimally invasive treatment of malignant hepatic tumors: at the threshold of a major breakthrough. *Radiographics* 2000; 20: 9-27 [PMID: 10682768 DOI: 10.1148/radiographics.20.1.g00ja019]
  - 94 张辉, 徐新保, 何晓军, 刘承利, 张洪义. 肝动脉栓塞化学治疗联合射频消融与再次手术切除治疗原发性肝癌术后复发的疗效比较. *新乡医学院学报* 2014; 31: 928-930 [doi: 10.7683/xyxyxb.2014.11.018]
  - 95 庞军, 陈浩涛, 陈燕, 原锦, 李长青. 体部立体定向放射治疗肝细胞癌术后复发的临床探讨. *临床肿瘤学杂志* 2014; 19: 932-935
  - 96 郝忠臣. 碘125放射性粒子植入治疗原发性肝癌. *吉林医学* 2011; 32: 7805 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-0412.2011.36.138]
  - 97 张晓, 王亚东, 贾萌, 余淼, 薛焕洲. 放射性碘125治疗老年肝癌术后复发患者的有效性与安全性. *中国老年学杂志* 2014; 34: 4530-4532 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2014.16.056]
  - 98 李欢, 孙静, 张强, 范毓泽, 孙颖哲, 何卫平, 段学章. 射频刀治疗复发性肝癌患者的效果及预后分析. *临床肝胆病杂志* 2017; 33: 2337-2341 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.12.016]
  - 99 Finn RS. Emerging targeted strategies in advanced hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2013; 33 Suppl 1: S11-S19 [PMID: 23457035 DOI: 10.1055/s-0033-1333632]
  - 100 Faivre S, Raymond E, Boucher E, Douillard J, Lim HY, Kim JS, Zappa M, Lenzalone S, Lin X, Deprimo S, Harmon C, Ruiz-Garcia A, Lechuga MJ, Cheng AL. Safety and efficacy of sunitinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: an open-label, multicentre, phase II study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 794-800 [PMID: 19586800 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70171-8]
  - 101 Aprile G, Bonotto M, Ongaro E, Pozzo C, Giuliani F. Critical appraisal of ramucirumab (IMC-1121B) for cancer treatment: from benchside to clinical use. *Drugs* 2013; 73: 2003-2015 [PMID: 24277700 DOI: 10.1007/s40265-013-0154-8]
  - 102 Peng Z, Chen S, Wei M, Lin M, Jiang C, Mei J, Li B, Wang Y, Li J, Xie X, Chen M, Qian G, Kuang M. Advanced Recurrent Hepatocellular Carcinoma: Treatment with Sorafenib Alone or in Combination with Transarterial Chemoembolization and Radiofrequency Ablation. *Radiology* 2018; 287: 705-714 [PMID: 29390197 DOI: 10.1148/radiol.2018171541]
  - 103 Personeni N, Pressiani T, Santoro A, Rimassa L. Regorafenib in hepatocellular carcinoma: latest evidence and clinical implications. *Drugs Context* 2018; 7: 212533 [PMID: 30002715 DOI: 10.7573/dic.212533]
  - 104 甄作均, 王峰杰, 范国勇, 陈煥伟. 灵芝孢子粉对肝细胞肝癌患者术后细胞免疫功能的影响. *中华肝脏外科手术学电子杂志* 2013; 2: 31-34 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3232.2013.03.008]
  - 105 Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 263-274 [PMID: 15776005 DOI: 10.1038/nrc1586]
  - 106 Shevach EM, DiPaolo RA, Andersson J, Zhao DM, Stephens GL, Thornton AM. The lifestyle of naturally occurring CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Immunol Rev* 2006; 212: 60-73 [PMID: 16903906 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2006.00415.x]
  - 107 刘展华, 黄海福. 参桃软肝丸对术后复发性肝癌的治疗作用. *广州中医药大学学报* 2006; 23: 467-472 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3213.2006.06.006]
  - 108 陆进, 王卫东, 徐平, 范晨. 肝动脉化疗栓塞对肝癌术后高危复发患者的疗效分析. *现代消化及介入诊疗* 2011; 16: 239-241 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2011.04.008]
  - 109 顾国文, 李相成. 肝癌切除术后经肝动脉化疗栓塞对预防复发和提高生存率疗效的系统评价. *南京医科大学学报* 2008; 28: 726-732 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-4368.2008.06.008]
  - 110 刘艳, 温丽娟, 钟旭辉. 术后预防性栓塞化疗对乙肝相关小肝癌术后复发风险的影响. *现代消化及介入诊疗杂志* 2018; 23: 624-627 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2018.05.025]
  - 111 Torimura T, Ueno T, Taniguchi E, Masuda H, Iwamoto H, Nakamura T, Inoue K, Hashimoto O, Abe M, Koga H, Barresi V, Nakashima E, Yano H, Sata M. Interaction of endothelial progenitor cells expressing cytosine deaminase in tumor tissues and 5-fluorocytosine administration suppresses growth of 5-fluorouracil-sensitive liver cancer in mice. *Cancer Sci* 2012; 103: 542-548 [PMID: 22151662 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02182.x]
  - 112 刘旭斌, 吴勇平, 江红志, 王鹏, 王久善, 文军. 肝癌部分肝叶切除术后残肝断面植入5-氟尿嘧啶缓释剂对肝癌转移复发的影响. *山西医药杂志* 2015; 14: 1667-1669
  - 113 陈开运, 向国安, 王汉宁, 肖方联. 125I粒子切缘植入对降低肝癌术后复发的疗效评价. *中华外科杂志* 2009; 47: 65-66 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2009.01.022]
  - 114 Ng IO, Liu CL, Fan ST, Ng M. Expression of P-glycoprotein in hepatocellular carcinoma. A determinant of chemotherapy response. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 355-363 [PMID: 10705815 DOI: 10.1309/AC1M-4TY4-U0TN-EN7T]
  - 115 明凤. 肝癌术后门静脉植入泵化疗的临床效果. *实用癌症杂志* 2018; 33: 784-786 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2018.05.026]
  - 116 郭剑民, 张云利, 周立新. 肝动脉埋泵化疗预防肝癌术后复发的作用. *中国癌症杂志* 2002; 12: 433-434 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3639.2002.05.018]
  - 117 黄忠, 张陵武, 邹卫. 肝癌根治性切除术后肝动脉栓塞化疗在预防转移复发的疗效分析. *广西医科大学学报* 2004; 21: 755-756 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-930X.2004.05.061]
  - 118 Shah SA, Cleary SP, Wei AC, Yang I, Taylor BR, Hemming AW, Langer B, Grant DR, Greig PD, Gallinger S. Recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma: risk factors, treatment, and outcomes. *Surgery* 2007; 141: 330-339 [PMID: 17349844 DOI: 10.1016/j.surg.2006.06.028]
  - 119 张岳林, 孙军辉, 聂春晖, 陈黎明, 蔡丽霞, 何健娣, 章丽霞, 王伟林, 郑树森. 原发性肝癌根治术后多次 TACE方案预防复发的临床研究. *中国实用医药杂志* 2013; 8: 1-3 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7555.2013.07.001]
  - 120 王翔翔, 余华, 熊杰, 刘明忠, 孙建明, 赵宇. 肝动脉化疗栓塞对原发性肝癌患者术后生存及复发的影响. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 1204-1206
  - 121 李金鹏, 陈华, 宋金龙. 肝外动脉供血在TACE治疗原发性肝癌临床意义的探讨. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 19: 1894-1896
  - 122 张斌, 吴力群. 肝切除术前后肝动脉置管化疗栓塞治疗原发性肝癌. *山东医药杂志* 2003; 36: 56 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2003.36.045]

- 123 张庆, 于德升, 马克波, 王学松, 张斌. 原发性肝癌术后 TACE 治疗次数对患者生存及肿瘤复发的影响. 中国现代普通外科进展杂志 2018; 21: 741-743 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-9905.2018.09.022]
- 124 Wang Z, Ren Z, Chen Y, Hu J, Yang G, Yu L, Yang X, Huang A, Zhang X, Zhou S, Sun H, Wang Y, Ge N, Xu X, Tang Z, Lau W, Fan J, Wang J, Zhou J. Adjuvant Transarterial Chemoembolization for HBV-Related Hepatocellular Carcinoma After Resection: A Randomized Controlled Study. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 2074-2081 [PMID: 29420221 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2899]
- 125 Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Ng IO, Wong J. Long-term prognosis after resection of hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B-related cirrhosis. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1094-1101 [PMID: 10694562 DOI: 10.1200/JCO.2000.18.5.1094]
- 126 Huang G, Lai EC, Lau WY, Zhou WP, Shen F, Pan ZY, Fu SY, Wu MC. Posthepatectomy HBV reactivation in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma influences postoperative survival in patients with preoperative low HBV-DNA levels. *Ann Surg* 2013; 257: 490-505 [PMID: 22868358 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318262b218]
- 127 Kubo S, Hirohashi K, Tanaka H, Tsukamoto T, Shuto T, Yamamoto T, Ikebe T, Wakasa K, Nishiguchi S, Kinoshita H. Effect of viral status on recurrence after liver resection for patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 1016-1024 [PMID: 10699889 DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(20000301)88:5<1016::aid-cnrcr10>3.0.co;2-v]
- 128 Lu YY, Chen QL, Guan Y, Guo ZZ, Zhang H, Zhang W, Hu YY, Su SB. Transcriptional profiling and co-expression network analysis identifies potential biomarkers to differentiate chronic hepatitis B and the caused cirrhosis. *Mol Biosyst* 2014; 10: 1117-1125 [PMID: 24599568 DOI: 10.1039/c3mb70474b]
- 129 Dimitropoulou D, Karakantza M, Theodorou GL, Leonidou L, Assimakopoulos SF, Mouzaki A, Gogos CA. Serum cytokine profile in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic active hepatitis B and inactive hepatitis B virus carriers. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2013; 4: 24-27 [PMID: 23596552 DOI: 10.4291/wjg.v4.i1.24]
- 130 Chan HL, Tse CH, Mo F, Koh J, Wong VW, Wong GL, Lam Chan S, Yeo W, Sung JJ, Mok TS. High viral load and hepatitis B virus subgenotype cc are associated with increased risk of hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 177-182 [PMID: 18182659 DOI: 10.1200/JCO.2007.13.2043]
- 131 An HJ, Jang JW, Bae SH, Choi JY, Cho SH, Yoon SK, Han JY, Lee KH, Kim DG, Jung ES. Sustained low hepatitis B viral load predicts good outcome after curative resection in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1876-1882 [PMID: 21092000 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06416.x]
- 132 Huang G, Lau WY, Wang ZG, Pan ZY, Yuan SX, Shen F, Zhou WP, Wu MC. Antiviral therapy improves postoperative survival in patients with hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Ann Surg* 2015; 261: 56-66 [PMID: 25072444 DOI: 10.1097/SLA.0000000000000858]
- 133 Huang G, Li PP, Lau WY, Pan ZY, Zhao LH, Wang ZG, Wang MC, Zhou WP. Antiviral Therapy Reduces Hepatocellular Carcinoma Recurrence in Patients With Low HBV-DNA Levels: A Randomized Controlled Trial. *Ann Surg* 2018; 268: 943-954 [PMID: 29521740 DOI: 10.1097/SLA.0000000000002727]
- 134 Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, Kobayashi M, Tsubota A, Fukuda M, Koida I, Arase Y, Chayama K, Murashima N, Kumada H. Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus: a pilot study. *Cancer* 1998; 82: 827-835 [PMID: 9486570 DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19980301)82:5<827::aid-cnrcr5>3.0.co;2-g]
- 135 Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, Morimoto H, Takeda T, Nakajima S, Shiomi S, Seki S, Kobayashi K, Otani S. Randomised trial of effects of interferon-alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995; 346: 1051-1055 [PMID: 7564784 DOI: 10.1016/s0140-6736(95)91739-x]
- 136 覃英容, 林源, 莫显伟, 罗汉传, 刘绍平. 原发性肝癌患者术后细胞免疫功能状况与复发的相关性. 中国癌症防治杂志 2013; 5: 235-238 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2013.03.10]
- 137 钟鉴宏, 马良, 黎乐群. 过继免疫治疗在肝细胞性肝癌术后的应用. 医学综述 2011; 17: 527-529 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2011.04.017]
- 138 Chen C, Wang G. Mechanisms of hepatocellular carcinoma and challenges and opportunities for molecular targeted therapy. *World J Hepatol* 2015; 7: 1964-1970 [PMID: 26244070 DOI: 10.4254/wjh.v7.i15.1964]
- 139 Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G; RESORCE Investigators. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389: 56-66 [PMID: 27932229 DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32453-9]
- 140 Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S, Tamai T, Ren M, Cheng AL. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2018; 391: 1163-1173 [PMID: 29433850 DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30207-1]
- 141 Wang SN, Chuang SC, Lee KT. Efficacy of sorafenib as adjuvant therapy to prevent early recurrence of hepatocellular carcinoma after curative surgery: A pilot study. *Hepatol Res* 2014; 44: 523-531 [PMID: 23672310 DOI: 10.1111/hepr.12159]
- 142 苏小康, 叶小卫, 林谋清, 郑泽棠, 池建安, 郭亚雄, 郑东翔. 健脾化痰法抗肝癌术后复发 82 例临床研究. 中医杂志 2006; 47: 673-675 [DOI: 10.3321/j.issn:1001-1668.2006.09.023]
- 143 Liu ZM, Tseng JT, Hong DY, Huang HS. Suppression of TG-interacting factor sensitizes arsenic trioxide-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Biochem J* 2011; 438: 349-358 [PMID: 21649584 DOI: 10.1042/BJ20101653]
- 144 Zhang X, Jia S, Yang S, Yang Y, Yang T, Yang Y. Arsenic trioxide induces G2/M arrest in hepatocellular carcinoma cells by increasing the tumor suppressor PTEN expression. *J Cell Biochem* 2012; 113: 3528-3535 [PMID: 22730174 DOI: 10.1002/jcb.24230]
- 145 赵建军, 蔡建强, 毕新宇, 杨晓洁. 槐耳颗粒对原发性肝癌术后转移复发的影响. 中国综合临床杂志 2007; 23: 245-247 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6315.2007.03.025]
- 146 秦建民, 顾新刚, 王之, 吴旻, 倪雷, 赵威, 盖吉钦, 陈腾. 原发性肝癌术后复发或转移性肝癌微创治疗的指征与临床处理. 肝胆外科杂志 2016; 24: 365-369 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2016.05.011]
- 147 肖华, 许若才, 刘寒春, 李建良, 余志渊, 欧阳永忠, 邱晓昕, 李清龙, 李永国, 朱海珍, 谢文彪, 谢海龙, 单汉国, 刘景诗, 左朝晖. 射频消融联合索拉非尼和干扰素治疗复发性肝癌的临床研究. 中国现代手术学杂志 2015; 19: 338-342 [DOI: 10.16260/j.cnki.1009-2188.2015.05.004]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





# miR-10a-5p敲低通过靶向THBS2抑制胃癌细胞的生长和转移

任玲玲, 王立明, 朱雅碧

任玲玲, 王立明, 朱雅碧, 丽水市人民医院消化内科 浙江省丽水市 323000

任玲玲, 主治医师, 主要从事消化肿瘤方面的基础与临床研究.

**作者贡献分布:** 此课题由任玲玲与王立明设计; 研究过程由任玲玲与朱雅碧操作完成; 研究所用试剂由任玲玲与王立明提供; 数据分析由王立明完成; 本论文写作由任玲玲完成.

**通讯作者:** 任玲玲, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院消化内科. [zhangyanhuug@163.com](mailto:zhangyanhuug@163.com)  
电话: 0578-2780124

收稿日期: 2019-09-29

修回日期: 2019-11-14

接受日期: 2019-11-24

在线出版日期: 2019-12-08

## Knockdown of miR-10a-5p inhibits gastric cancer cell growth and metastasis by targeting THBS2

Ling-Ling Ren, Li-Ming Wang, Ya-Bi Zhu

Ling-Ling Ren, Li-Ming Wang, Ya-Bi Zhu, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China.

**Corresponding author:** Ling-Ling Ren, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, No. 15, Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. [zhangyanhuug@163.com](mailto:zhangyanhuug@163.com)

Received: 2019-09-29

Revised: 2019-11-14

Accepted: 2019-11-24

Published online: 2019-12-08

## Abstract

### BACKGROUND

Many microRNAs (miRNAs) have been found to play a role in inhibiting or promoting the pathogenesis and

progression of gastric cancer (GC). However, there are a large number of miRNAs whose roles in GC are still unclear. Therefore, it is still necessary to continue screening miRNAs that affect the growth and metastasis of GC cells.

### AIM

To investigate the effect of miR-10a-5p on the growth and metastasis of GC cells and the underlying mechanism.

### METHODS

The expression levels of miR-10a-5p in GC tissues and GC cells (MGC-803 and AGS) were detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR). After transfecting miR-10a-5p-inhibitor into MGC-803 and AGS cells, the proliferation, colony formation, migration, and invasion of GC cells were detected by CCK-8 assay, colony formation assay, and transwell assay. The protein and mRNA expression levels of THBS2 in GC tissues and GC cells (MGC-803 and AGS) were detected by Western blot and RT-qPCR, respectively. The potential target genes of miR-10a-5p were predicted with TargetScan software and further verified. After NC + pcDNA-Con, miR-10a-5p inhibitor + pcDNA-Con, or miR-10a-5p inhibitor + pcDNA-THBS2 were co-transfected into MGC-803 cells, the proliferation, colony formation, migration, and invasion of MGC-803 cells were detected by CCK-8 assay, colony formation assay, and transwell assay.

### RESULTS

The expression levels of miR-10a-5p were up-regulated in GC tissues as well as MGC-803 and AGS cells. Knockdown of miR-10a-5p significantly decreased the proliferation, colony formation, and migration and invasion of MGC-803 and AGS cells. THBS2 mRNA and protein levels were down-regulated in GC tissues as well as MGC-803 cells and AGS cells. THBS2 was identified

to be a target gene of miR-10a-5p. Overexpression of THBS2 could reverse the inhibitory effect of miR-10a-5p knockdown on the proliferation, colony formation, migration, and invasion of MGC-803 cells.

## CONCLUSION

Knockdown of miR-10a-5p inhibits the growth and metastasis of GC cells by targeting THBS2.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miR-10a-5p; THBS2; Gastric cancer; Proliferation; Invasion

Ren LL, Wang LM, Zhu YB. Knockdown of miR-10a-5p inhibits gastric cancer cell growth and metastasis by targeting THBS2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1419-1426  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1419.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1419>

## 摘要

### 背景

在胃癌(gastric cancer, GC)的发病和进展中, 已经发现许多miRNAs可发挥抑癌或促癌的作用. 但miRNAs数量众多, 在GC中仍有众多miRNAs的作用并不明确, 因此, 继续筛选具有影响GC细胞生长和转移的miRNAs仍十分必要.

### 目的

探究miR-10a-5p对GC细胞生长和转移的影响及其机制.

### 方法

采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, RT-qPCR)检测GC组织和GC细胞(MGC-803和AGS)中miR-10a-5p表达; miR-10a-5p-inhibitor转染入MGC-803和AGS细胞, CCK-8实验, 集落形成实验和Transwell实验分别检测细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭. 采用Western-blot和RT-qPCR检测GC组织和GC细胞(MGC-803和AGS)中THBS2表达; 采用TargetScan在线软件筛选miR-10a-5p的潜在靶基因THBS2, 并进一步验证. NC+pcDNA-Con, miR-10a-5p-inhibitor+pcDNA-Con和miR-10a-5p-inhibitor+pcDNA-THBS2共转染入MGC-803细胞, CCK-8实验, 集落形成实验和Transwell实验分别检测各组细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭.

### 结果

miR-10a-5p在GC组织, MGC-803和AGS细胞中表达异常上调; miR-10a-5p敲低显著降低了MGC-803和AGS细胞的增殖, 集落形成和侵袭. THBS2 mRNA和蛋白水平在GC组织、MGC-803和AGS细胞中表达

均异常下调; THBS2是miR-10a-5p的靶基因; 过表达THBS2能逆转miR-10a-5p敲低对MGC-803细胞增殖, 集落形成, 迁移和侵袭的抑制作用.

## 结论

miR-10a-5p敲低通过靶基因THBS2来抑制GC细胞的生长和转移.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-10a-5p; THBS2; 胃癌; 增殖; 侵袭

**核心提要:** miR-10a-5p在胃癌中高表达. miR-10a-5p敲低通过靶向THBS2抑制MGC-803和AGS细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭.

任玲玲, 王立明, 朱雅碧. miR-10a-5p敲低通过靶向THBS2抑制胃癌细胞的生长和转移. *世界华人消化杂志* 2019; 27(23): 1419-1426

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1419.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1419>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是一种常见的消化肿瘤<sup>[1]</sup>. 近年来我国GC的发病率呈增高趋势<sup>[2]</sup>. 探索GC的进展机制对于开发新的治疗方法至关重要. miRNA是短的(约19-24 nt)非编码单链RNA, 可通过调节其靶基因参与多种生物过程, 如增殖, 分化, 凋亡, 发育, 血管生成和免疫应答<sup>[3,4]</sup>. 目前, miRNA在肿瘤进展中的作用也得到了广泛的研究, 如, miR-10b和miR-126分别通过调节同源盒蛋白b3(Homeobox b3, HOXB3)和sry相关HMG盒蛋白2(sry-related HMG box 2, Sox2)表达来控制子宫内膜癌和肝细胞癌的细胞凋亡, 增殖, 迁移和侵袭<sup>[5,6]</sup>. 据报道<sup>[7,8]</sup>, miR-137, miR-421, miR-337-3p和miR-1等许多miRNAs可调节GC的发展. 因此, 发现调节GC细胞生长和转移能力的miRNAs是至关重要的, 这将为治疗该疾病提供有价值的靶标. 有文献<sup>[9,10]</sup>发现, 肝癌组织和肝癌细胞中miR-10a-5p高表达, 在肝癌细胞中过表达miR-10a-5p可影响肝癌细胞增殖与迁移. 而miR-10a-5p在GC中作用报道尚少.

因此, 本研究旨在探讨miR-10a-5p在GC中的表达以及其对GC细胞生长和转移的影响及其分子机制, 期望基于miR-10a-5p功能极其分子机制能为GC的治疗提供有用的线索.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要试剂: 胎牛血清(FBS), Opti-MEM培养基



(Gibco公司, 美国); RPMI-1640培养基, Lipofectamine 2000试剂和SYBER绿色探针(Invitrogen公司, 美国); Trizol试剂(Sigma公司, 美国); AMV逆转录酶(TaKaRa公司, 日本); 血小板反应蛋白2(thrombospondin 2, THBS2)抗体和GAPDH抗体(Santa Cruz公司, 美国); miR-10a-5p抑制剂(miR-10a-5p inhibitor), miRNA阴性对照(NC), 人THBS2全长cDNA序列和对照乱码序列(上海吉凯基因公司); CCK-8试剂盒, RIPA裂解缓冲液, BCA蛋白质测定试剂盒和ECL化学发光试剂(上海碧云天生物技术公司); 快速点定向突变试剂盒(Agilent公司, 美国); 双荧光素酶报告分析试剂盒(Promega公司, 美国)。

**1.1.2 人GC组织和细胞系:** 在浙江省丽水市人民医院随机选取10例接受GC切除手术的GC患者, 所有患者均提供书面同意, 本研究的各个方面均经过医院伦理委员会批准(No. 201812006)。收集GC组织和癌旁正常组织, 将组织储存在-80 °C备用。人正常胃上皮细胞(GES)和GC细胞(MGC-803和AGS)购自中国科学院上海细胞生物学研究所。将细胞在补充有10%FBS的RPMI-1640培养基中在5%CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养。

## 1.2 方法

**1.2.1 miR-10a-5p-inhibitor转染:** 将GC细胞(MGC-803和AGS)接种在6孔板中, 用补充有10%FBS的RPMI-1640培养基培养, 当细胞约60%-70%汇合时, 更换无血清Opti-MEM培养基培养6 h, 用Lipofectamine 2000试剂分别将miR-10a-5p inhibitor和NC转染入细胞。6 h后, 更换为补充有10% FBS的RPMI-1640培养基, 继续培养48 h后, 收集细胞。

**1.2.2 共转染细胞系构建:** 将人全长THBS2 cDNA序列和乱码序列克隆入pcDNA3.1质粒, 并分别构建pcDNA-THBS2和pcDNA-Con质粒。使用Lipofectamine 2000试剂分别将NC+pcDNA-Con, miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con和miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-THBS2共转染入MGC-803细胞。

**1.2.3 RNA提取和RT-qPCR:** 使用Trizol试剂分别从GC组织, 癌旁组织, GES细胞, MGC-803细胞和AGS细胞中提取总RNA。使用光度计(Eppendorf, 德国)测定总RNA浓度。使用oligo dT和AMV逆转录酶在反应中将1 μg总RNA逆转录成cDNA。SYBER绿色探针和miR-10a-5p, THBS2和GAPDH的特异性引物和cDNA使用Applied Biosystems 7300检测系统进行实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, RT-qPCR)反应。反应条件为95 °C温育5 min, 然后进行40个循环: 95 °C 30 s, 60 °C 30 s和72 °C 30 s。引物的序列: miR-10a-5p F: 5'-CGCTACCCTGTAGATCCGAA-3',

R: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'; THBS2 F: 5'-GGGGACACTTTGGACCTCAAC-3', R: 5'-GCAGCCACATACAGGCTA-3'; GAPDH F: 5'-ACAACTTTGTATCGTGGAAAG-3', R: 5'-GCCATCACGCCACAGTTTC-3'; U6 F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算miR-10a-5p相对于内部对照U6的表达量和THBS2 mRNA的相对于内部对照GAPDH mRNA的表达量。实验一式三份独立进行。

**1.2.4 细胞增殖测定:** 将仅转染miR-10a-inhibitor或NC的MGC-803或AGS细胞和共转染的MGC-803细胞接种到96孔板, 每孔接种5000个细胞, 继续培养24和48 h。每孔添加10 μL CCK-8检测试剂, 孵育2 h后, 用酶标仪检测(波长450 nm)吸光度。实验一式三份独立进行。

**1.2.5 集落形成测定:** 将仅转染miR-10a-5p inhibitor或NC的MGC-803或AGS细胞和共转染的MGC-803细胞接种到24孔板中并孵育12 d后, 用4%多聚甲醛固定细胞并用结晶紫染色, 对集落进行计数并拍照。实验一式三份独立进行。

**1.2.6 细胞迁移与侵袭测定:** 使用Transwell法检测细胞的迁移与侵袭。收集仅转染miR-10a-5p inhibitor或NC的MGC-803或AGS细胞和共转染的MGC-803细胞, 用无血清的RPMI-1640培养基制备单细胞悬浮液。将100 μL细胞悬浮液以 $5 \times 10^5$ 细胞/mL的密度接种到Transwell的上室(matrigel基质胶包被滤膜用于侵袭测定; 仅滤膜用于迁移测定)中, 将500 μL含补充有10% FBS的RPMI-1640培养基加入底室。孵育24后, 用PBS除去未通过滤膜的细胞, 用95%乙醇固定5 min, 结晶紫染色。在显微镜(200×)下对细胞计数并拍照。实验一式三份独立进行。

**1.2.7 蛋白提取和Western blot:** 使用RIPA裂解缓冲液从GC组织, 癌旁组织, GES细胞, MGC-803细胞, AGS细胞和已转染的细胞中提取总蛋白。通过10%SDS-PAGE分离蛋白并转至PVDF膜。在室温下用5%脱脂乳封闭1 h后, 将膜用一抗(THBS2和GAPDH)在4 °C下免疫反应过夜, 在TBST中洗涤三次, 然后在室温下与二抗孵育1 h。用增强的化学发光试剂检测条带信号。使用Image J软件量化每个条带的强度。通过用GAPDH标准化THBS2蛋白的相对表达。

**1.2.8 荧光素酶活性测定:** TargetScan在线软件预测的与miR-10a-5p具有结合效应的THBS2 3'UTR区域, 根据快速点定向突变试剂盒说明书步骤, 对该区域进行点突变, 并将THBS2 3'UTR点突变后的序列克隆至萤火虫荧光素酶基因的上游, 构建pGL3-Mut-THBS2 3'UTR荧光素酶报告质粒。用同样的方法, 将野生型THBS2的序

列构建pGL3-WT-THBS2 3'UTR荧光素酶报告质粒. 用Lipofectamine 2000试剂将miR-10a-5p inhibitor, NC, WT-THBS2 3'UTR, Mut-THBS2 3'UTR和海肾荧光素酶基因(phRL-TK)质粒共转染到MGC-803细胞中. 转染48 h后, 通过双荧光素酶报告分析试剂盒分析荧光素酶活性.

**统计学处理** 本实验数据用mean±SD表示, 采用SPSS 18.0软件将实验中所获得的数据进行统计分析. 多组之间比较采用单因素方差分析. 以 $P<0.05$ 为界定差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 miR-10a-5p在GC组织和GC细胞中表达情况** 如图1A显示, 与癌旁正常组织相比, miR-10a-5p在GC中的表达显著上调( $P<0.05$ ). 在细胞中(图1B), 与GES细胞比较, miR-10a-5p在GC细胞(MGC-803和AGS)中也显著上调( $P<0.05$ ).

**2.2 miR-10a-5p对GC细胞增殖, 集落形成, 迁移和侵袭的影响** 将miR-10a-5p-inhibitor转染到GC细胞(MGC-803和AGS)中, 抑制细胞中miR-10a-5p的表达(图2)后, 检测miR-10a-5p敲低后细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭, 结果显示, 相对于NC组, 转染 miR-10a-5p-inhibitor组中细胞的增殖(图3A、B), 集落数(图3C、D), 迁移细胞数(图3E、F)和侵袭细胞数(图3G、H)均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ).

**2.3 miR-10a-5p与THBS2基因的靶点验证** 在组织中, 相对于癌旁正常组织, GC组织中THBS2的蛋白和mRNA的表达水平均显著降低( $P<0.05$ )(图4A、B). 在细胞中, 相对于GES细胞, MGC-803细胞和AGS细胞中THBS2的蛋白和mRNA的表达水平也降低( $P<0.05$ )(图4C、D). TargetScan在线软件结果显示, THBS2 3'UTR预测存在miR-10a-5p的结合序列(图4E); 双荧光素酶报告基因检测结果显示(图4F), 在WT组中, miR-10a-5p inhibitor组的THBS2相对荧光素酶活性较NC组显著增加( $P<0.05$ ); 而Mut组中, 两组的THBS2相对荧光素酶活性无统计学意义, 证明 THBS2是miR-10a-5p的靶基因. 结果显示, 相对于NC组, miR-10a-5p inhibitor组THBS2蛋白和mRNA水平均显著增加( $P<0.05$ )(图4G、H). 综上所述, 在人GC细胞系中, THBS2是miR-10a-5p的靶基因.

**2.4 miR-10a-5p通过靶向THBS2影响MGC-803细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭** 将miR-10a-5p inhibitor和pcDNA-THBS2共转入MGC-803细胞, 检测过表达THBS2(图5A、B)对已转染miR-10a-5p inhibitor细胞的增殖, 集落形成, 迁移和侵袭的影响, 结果显示, 相对于转染miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con组, 转染miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-THBS2组中细胞的增殖(图5C), 集

落数(图5D、E), 迁移细胞数和侵袭细胞数(图5F-H)均显著增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 说明miR-10a-5p敲低通过靶向THBS2抑制人GC细胞的生长和转移.

## 3 讨论

GC是全球癌症相关死亡的主要原因, 由于缺乏特异性和敏感性的生物标志物, 总体5年生存率低于20%<sup>[11,12]</sup>. 因此, 对GC患者迫切需要一种可靠有效的治疗方法.

文献<sup>[13]</sup>报道, 在人体中约30%的基因表达受miRNAs控制, 广泛地参与细胞发育和生理过程. miRNAs的表达经常在肿瘤中失调<sup>[14,15]</sup>. 此外, miRNAs在肿瘤的诊断和治疗中均发挥了举足轻重的作用<sup>[16,17]</sup>. 其中, miR-10a-5p可影响肝癌<sup>[9]</sup>和乳头状甲状腺癌<sup>[18]</sup>等癌症的进展. miR-10a-5p可通过丝裂原活化蛋白激酶8相互作用蛋白1(mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1, MAPK8IP1)促进GC转移<sup>[19]</sup>. 而miRNA的作用是多方面的, 机制也是复杂的, 因此, miR-10a-5p在GC中的具体作用和机制仍需进一步鉴定. 在本研究中, 我们采用RT-qPCR检测了GC组织和GC细胞中miR-10a-5p的表达情况, 结果显示, miR-10a-5p在GC组织和GC细胞系中表达均显著上调. 接下来, 我们将miR-10a-5p-inhibitor转染入GC细胞MGC-803和AGS中, 结果显示, 敲低miR-10a-5p能抑制 MGC-803和AGS细胞的增殖, 集落形成, 迁移与侵袭.

miRNAs可通过靶基因发挥后续生物学作用<sup>[20]</sup>. 我们采用TargetScan在线软件筛选出THBS2为miR-10a-5p的潜在靶点之一. THBS2是基质细胞Ca<sup>2+</sup>结合糖蛋白家族的成员之一, 发现其与多种细胞受体, 生长因子和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白相互作用, 从而导致其在细胞粘附, 增殖和细胞凋亡中发挥功能<sup>[21]</sup>. THBS2在肿瘤中的表达与血管分布, 进展和转移的减少有关<sup>[22]</sup>. 有研究<sup>[23]</sup>发现, THBS2水平较高的GC患者预后较好, 而THBS2表达减少与较差的GC组织学分级和预后不良相关. 然而, 很少有研究探讨GC中miR-10a-5p与THBS2的关系. 我们采用双荧光素酶报告基因证明了THBS2是miR-10a-5p的靶基因. THBS2高表达有助于GC的进展<sup>[23]</sup>. 在本实验中, 敲低miR-10a-5p能促进THBS2表达; 我们进一步将miR-10a-5p inhibitor和THBS2共转染入MGC-803细胞, 结果显示, 转染THBS2后逆转了miR-10a-5p敲低对MGC-803细胞的增殖, 集落形成, 迁移与侵袭的抑制作用. 总之, 我们的数据进一步表明在GC中THBS2是miR-10a-5p的功能靶标.

本研究依然存在不足之处: 比如收集的临床样本量相对少, 造成无法分析miR-10a-5p与GC临床特征(临床分期、肿瘤分化、肿瘤大小、肿瘤位置和是否淋巴结

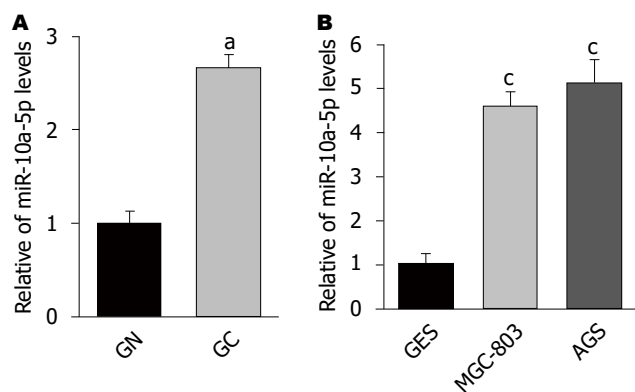


图 1 miR-10a-5p在GC组织和GC细胞中表达增加. A: miR-10a-5p在癌旁正常组织和GC组织中表达水平, 与癌旁正常组织相比,  $P < 0.05$ ,  $n = 10$ ; B: miR-10a-5p在正常胃上皮细胞GES和GC细胞MGC-803和AGS中表达水平, 与GES细胞相比,  $P < 0.05$ ,  $n = 3$ . GN: 癌旁正常组织; GC: 胃癌.

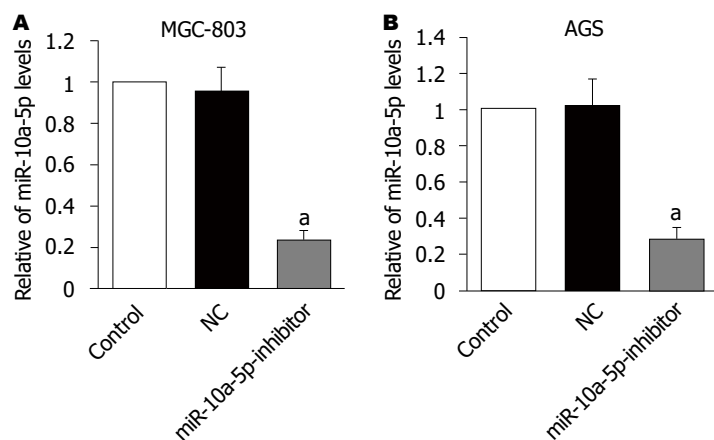
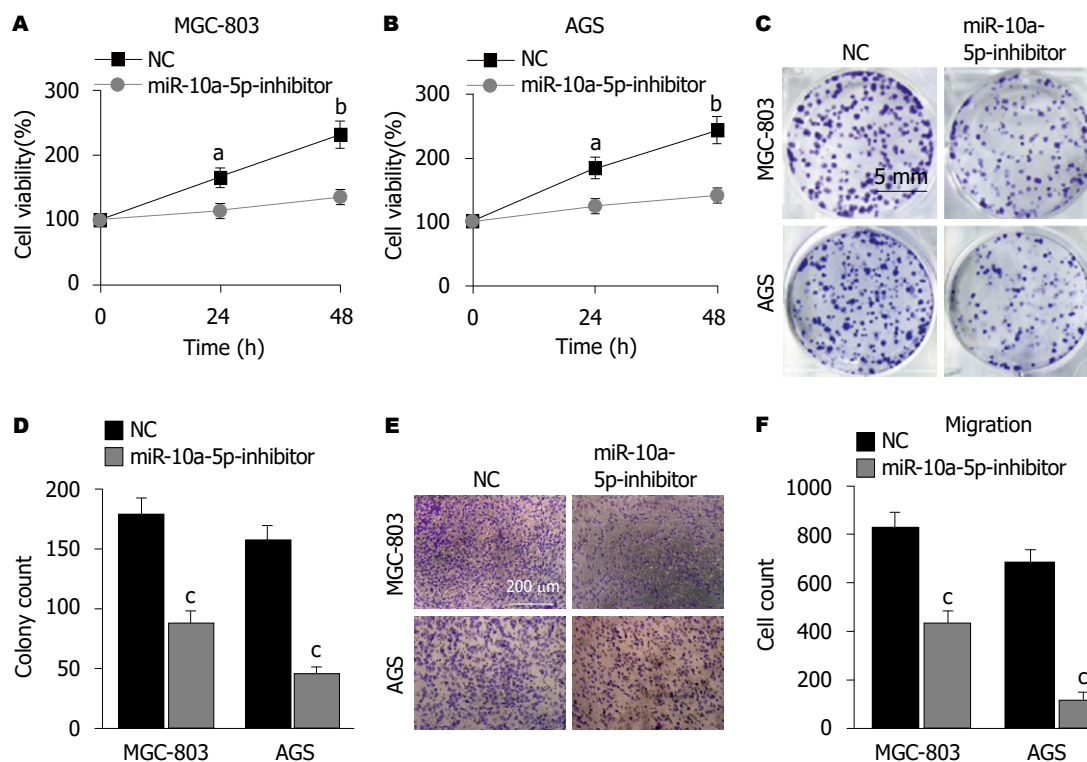


图 2 在胃癌细胞MGC-803和AGS中, miR-10a-5p inhibitor的转染效率鉴定. A: MGC-803细胞中; B: AGS细胞中. 与NC组相比,  $P < 0.05$ ,  $n = 3$ .





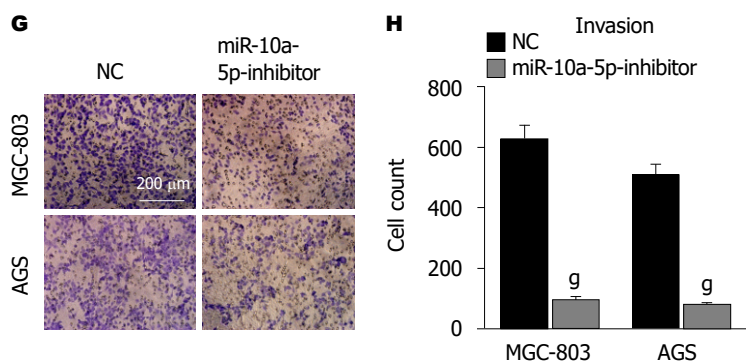


图 3 miR-10a-5p敲低抑制胃癌细胞增殖, 集落形成, 侵袭和侵袭。A, B: CCK-8法检测MGC-803细胞(A)和AGS细胞(B)的细胞活性, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ,  $n = 3$ ; C, D: 集落形成实验检测MGC-803细胞和AGS细胞的集落形成, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ ; E, F: Transwell法检测MGC-803细胞和AGS细胞的迁移能力, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ ; G, H: Transwell法检测MGC-803细胞和AGS细胞的侵袭能力, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ 。

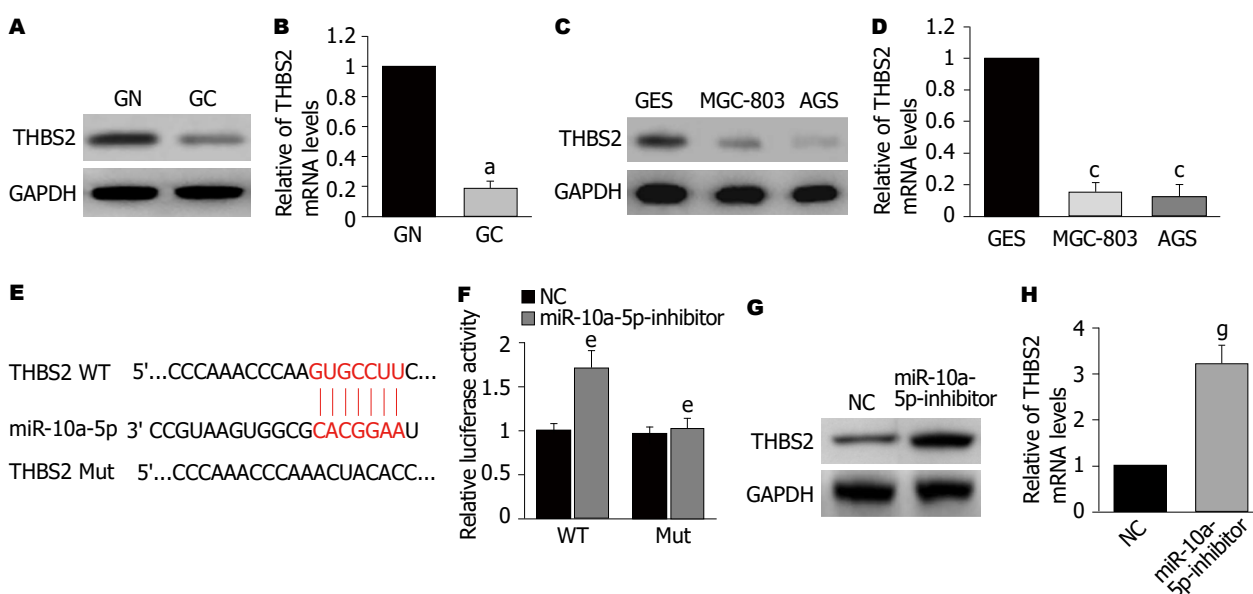


图 4 THBS2是miR-10a-5p的靶基因。A: Western blot法检测GN和GC组织中THBS2蛋白表达; B: RT-qPCR法检测GN和GC组织中THBS2 mRNA表达, 与癌旁正常组织相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 10$ ; C: Western blot法检测GES, MGC-803和AGS细胞中THBS2蛋白表达; D: RT-qPCR法检测GES, MGC-803和AGS细胞中THBS2 mRNA表达, 与GES细胞相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ ; E: TargetScan软件预测的THBS2 3'UTR与miR-10a-5p结合序列(红色)和点突变序列(下); F: 双荧光素酶报告基因法THBS2相对荧光酶活性, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ ; G: Western blot法检测敲低miR-10a-5p的MGC-803细胞中THBS2蛋白表达; H: RT-qPCR法检测敲低miR-10a-5p的MGC-803细胞中THBS2 mRNA表达, 与NC组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ,  $n = 3$ 。RT-qPCR: 实时荧光定量PCR; GC: 胃癌。

转移)的关系; THBS2下游与GC细胞生长与转移相关的具体信号通路尚未明了。这些未知的研究方向值得我们后期持续研究。

综上所述, 我们目前的结果显示, 敲低miR-10a-5p通过上调靶基因THBS2表达来发挥抑制GC细胞生长和转移的能力, miR-10a-5p可能是治疗GC的潜在靶点。

## 文章亮点

### 实验背景

我国胃癌(gastric cancer, GC)的发病率呈逐年增加趋势和低龄化趋势。而筛选影响GC进展的生物学靶点, 有助

于对GC治疗方法开发提供线索。miRNAs在GC的发病和进展中发挥重要作用。

### 实验动机

miR-10a-5p在肝癌组织高表达, 且其可促进肝癌细胞增殖与转移, 而miR-10a-5p对GC细胞增殖, 克隆集落形成, 迁移与侵袭的作用尚不清楚。

### 实验目标

本研究旨在检测miR-10a-5p在GC组织和GC细胞的表达, 并探索miR-10a-5p对GC细胞增殖, 克隆集落形成, 迁移与侵袭的影响, 并分析其中的机制。

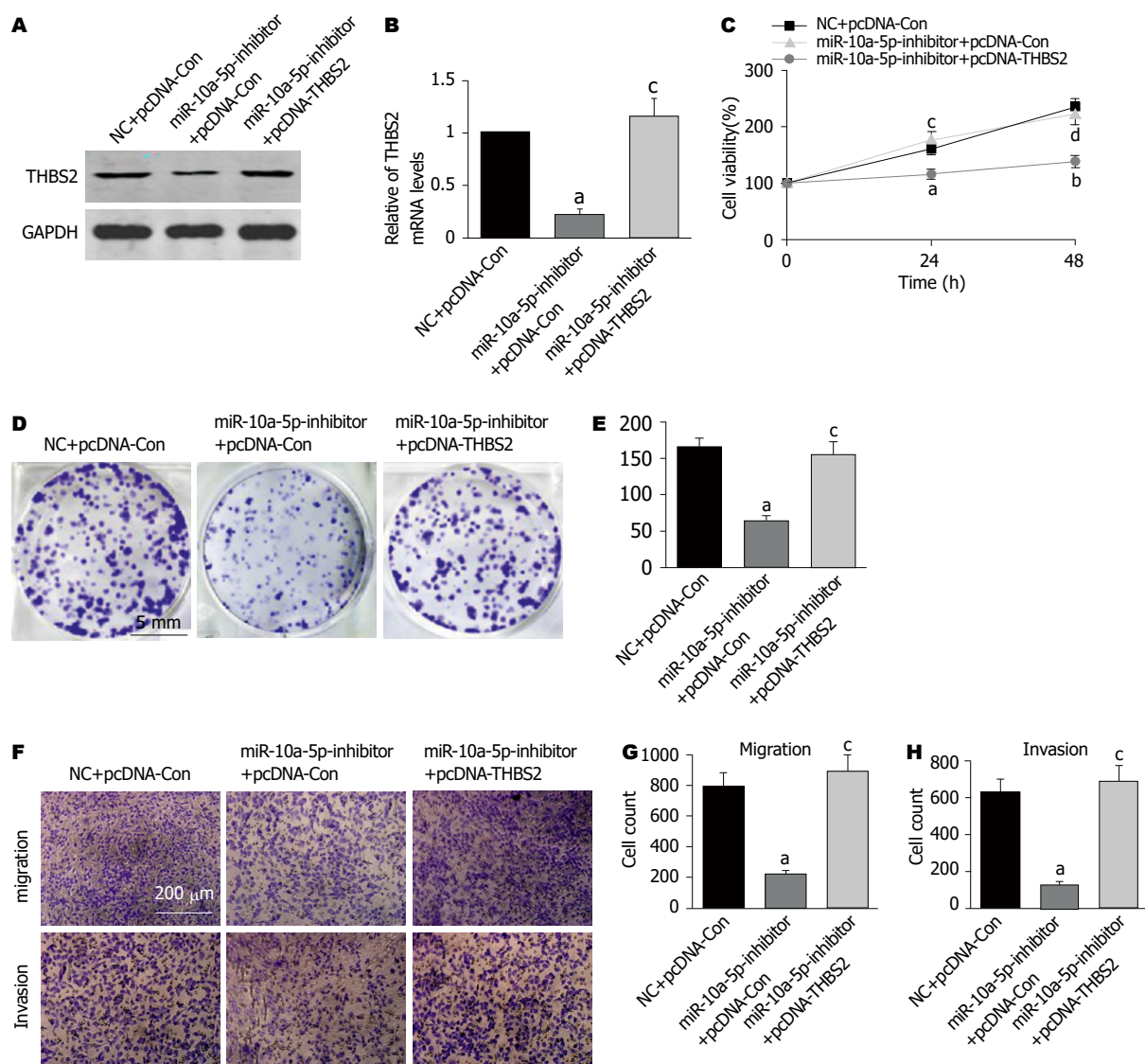


图 5 过表达THBS2逆转miR-10a-5p敲低对MGC-803细胞增殖, 集落形成, 迁移与侵袭的抑制作用. miR-10a-5p inhibitor和pcDNA-THBS2共转染入MGC-803后, A: Western blot法检测细胞中THBS2蛋白表达; B: RT-qPCR法检测细胞中THBS2 mRNA表达, 与NC+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ; 与miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ,  $n=3$ ; C: CCK-8法检测细胞活性, 与NC+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ; 与miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $n=3$ ; D、E: 集落形成实验检测细胞的集落形成, 与NC+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ; 与miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ,  $n=3$ ; F-H: Transwell法检测细胞的迁移与侵袭能力, 与NC+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ; 与miR-10a-5p inhibitor+pcDNA-Con组相比,  $P<0.05$ ,  $n=3$ . RT-qPCR: 实时荧光定量PCR.

## 实验方法

用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, RT-qPCR)检测miR-10a-5p在GC组织和细胞中表达. 用CCK-8法, 集落形成法和Transwell法评估miR-10a-5p敲低对GC细胞增殖, 集落形成, 迁移和侵袭的影响. 预测miR-10a-5p的靶基因, 并验证. 最后, 检测miR-10a-5p是否通过此靶基因在GC细胞上发挥作用.

## 实验结果

miR-10a-5p在GC组织和细胞中高表达; miR-10a-5p敲低能通过其靶基因THBS2发挥抑制GC细胞增殖, 克隆形成, 迁移与侵袭的作用.

## 实验结论

抑制miR-10a-5p表达能通过靶基因THBS2发挥抑制GC细胞生长和转移的作用.

## 展望前景

本研究为GC的治疗提供了参考靶点.

## 4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 7-30 [PMID: 29313949 DOI: 10.3322/caac.21442]
- 2 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185



- countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
- 3 Xiao Y, Xu J, Yin W. Aberrant Epigenetic Modifications of Non-coding RNAs in Human Disease. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1094: 65-75 [PMID: 30191488 DOI: 10.1007/978-981-13-0719-5\_7]
- 4 Ideozu JE, Zhang X, Rangaraj V, McColley S, Levy H. Microarray profiling identifies extracellular circulating miRNAs dysregulated in cystic fibrosis. *Sci Rep* 2019; 9: 15483 [PMID: 31664087 DOI: 10.1038/s41598-019-51890-7]
- 5 Chen H, Fan Y, Xu W, Chen J, Xu C, Wei X, Fang D, Feng Y. miR-10b Inhibits Apoptosis and Promotes Proliferation and Invasion of Endometrial Cancer Cells via Targeting HOXB3. *Cancer Biother Radiopharm* 2016; 31: 225-231 [PMID: 27447302 DOI: 10.1089/cbr.2016.1998]
- 6 Zhao C, Li Y, Zhang M, Yang Y, Chang L. miR-126 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis of hepatocellular carcinoma cells partially by targeting Sox2. *Hum Cell* 2015; 28: 91-99 [PMID: 25585946 DOI: 10.1007/s13577-014-0105-z]
- 7 Ge X, Liu X, Lin F, Li P, Liu K, Geng R, Dai C, Lin Y, Tang W, Wu Z, Chang J, Lu J, Li J. MicroRNA-421 regulated by HIF-1 $\alpha$  promotes metastasis, inhibits apoptosis, and induces cisplatin resistance by targeting E-cadherin and caspase-3 in gastric cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 24466-24482 [PMID: 27016414 DOI: 10.18632/oncotarget.8228]
- 8 Zheng L, Jiao W, Mei H, Song H, Li D, Xiang X, Chen Y, Yang F, Li H, Huang K, Tong Q. miRNA-337-3p inhibits gastric cancer progression through repressing myeloid zinc finger 1-facilitated expression of matrix metalloproteinase 14. *Oncotarget* 2016; 7: 40314-40328 [PMID: 27259238 DOI: 10.18632/oncotarget.9739]
- 9 Wu Y, Zhou Y, Huan L, Xu L, Shen M, Huang S, Liang L. LncRNA MIR22HG inhibits growth, migration and invasion through regulating the miR-10a-5p/NCOR2 axis in hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Sci* 2019; 110: 973-984 [PMID: 30680848 DOI: 10.1111/cas.13950]
- 10 Zhang Y, Liu J, Lv Y, Zhang C, Guo S. LncRNA meg3 suppresses hepatocellular carcinoma in vitro and vivo studies. *Am J Transl Res* 2019; 11: 4089-4099 [PMID: 31396320]
- 11 Song Z, Wu Y, Yang J, Yang D, Fang X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317714626 [PMID: 28671042 DOI: 10.1177/1010428317714626]
- 12 Ang TL, Fock KM. Clinical epidemiology of gastric cancer. *Singapore Med J* 2014; 55: 621-628 [PMID: 25630323 DOI: 10.11622/smedj.2014174]
- 13 Vishnoi A, Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. *Methods Mol Biol* 2017; 1509: 1-10 [PMID: 27826912 DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3\_1]
- 14 Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2017; 16: 203-222 [PMID: 28209991 DOI: 10.1038/nrd.2016.246]
- 15 Abreu FB, Liu X, Tsongalis GJ. miRNA analysis in pancreatic cancer: the Dartmouth experience. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55: 755-762 [PMID: 28343174 DOI: 10.1515/cclm-2017-0046]
- 16 Qadir MI, Faheem A. miRNA: A Diagnostic and Therapeutic Tool for Pancreatic Cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2017; 27: 197-204 [PMID: 29199604 DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019494]
- 17 Mansoori B, Mohammadi A, Shirjang S, Baradaran B. MicroRNAs in the Diagnosis and Treatment of Cancer. *Immunol Invest* 2017; 46: 880-897 [PMID: 29058545 DOI: 10.1080/08820139.2017.1377407]
- 18 Wang Z, Lv J, Zou X, Huang Z, Zhang H, Liu Q, Jiang L, Zhou X, Zhu W. A three plasma microRNA signature for papillary thyroid carcinoma diagnosis in Chinese patients. *Gene* 2019; 693: 37-45 [PMID: 30684524 DOI: 10.1016/j.gene.2019.01.016]
- 19 Lu Y, Wei G, Liu L, Mo Y, Chen Q, Xu L, Liao R, Zeng D, Zhang K. Direct targeting of MAPK8IP1 by miR-10a-5p is a major mechanism for gastric cancer metastasis. *Oncol Lett* 2017; 13: 1131-1136 [PMID: 28454224 DOI: 10.3892/ol.2016.5544]
- 20 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]
- 21 Zhuo C, Li X, Zhuang H, Tian S, Cui H, Jiang R, Liu C, Tao R, Lin X. Elevated THBS2, COL1A2, and SPP1 Expression Levels as Predictors of Gastric Cancer Prognosis. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40: 1316-1324 [PMID: 27997896 DOI: 10.1159/000453184]
- 22 Meng H, Zhang X, Hankenson KD, Wang MM. Thrombospondin 2 potentiates notch3/jagged1 signaling. *J Biol Chem* 2009; 284: 7866-7874 [PMID: 19147503 DOI: 10.1074/jbc.M803650200]
- 23 Sun R, Wu J, Chen Y, Lu M, Zhang S, Lu D, Li Y. Down regulation of Thrombospondin2 predicts poor prognosis in patients with gastric cancer. *Mol Cancer* 2014; 13: 225 [PMID: 25262009 DOI: 10.1186/1476-4598-13-225]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011 年开始不再收取审稿费

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

# miR-637靶向ERBB3对胃癌细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及分子机制研究

何孝明, 王金鑫, 杨剑

何孝明, 浙江省医疗健康集团杭州医院急诊科 浙江省杭州市 310022

王金鑫, 浙江省医疗健康集团杭州医院消化内科 浙江省杭州市 310022

杨剑, 浙江省医疗健康集团杭州医院肿瘤内科 浙江省杭州市 310022

何孝明, 主治医师, 医学硕士, 研究方向主要为急诊内科。

**作者贡献分布:** 此课题由何孝明, 王金鑫及杨剑设计; 研究过程由何孝明, 王金鑫及杨剑操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王金鑫与杨剑提供; 数据分析由王金鑫与杨剑完成; 本论文写作由何孝明与杨剑完成。

**通讯作者:** 杨剑, 副主任医师, 310022, 浙江省杭州市拱墅区半山康康弄1号, 浙江省医疗健康集团杭州医院肿瘤内科. [yang97124@sohu.com](mailto:yang97124@sohu.com)

收稿日期: 2019-10-22

修回日期: 2019-11-18

接受日期: 2019-12-03

在线出版日期: 2019-12-08

## MiR-637 inhibits cell migration and invasion and promotes apoptosis in gastric cancer cells by targeting ERBB3

Xiao-Ming He, Jin-Xin Wang, Jian Yang

Xiao-Ming He, Department of Medicine, Zhejiang Medical Health Group Hangzhou Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Jin-Xin Wang, Department of Gastroenterology, Zhejiang Medical Health Group Hangzhou Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Jian Yang, Department of Oncology, Zhejiang Medical Health Group Hangzhou Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Jian Yang, Associate Chief Physician, Department of Oncology, Zhejiang Medical Health Group Hangzhou Hospital, No. 1, Kangjian Lane, Banshan Road, Gongshu District, Hangzhou 310022, Zhejiang Province,

China. [yang97124@sohu.com](mailto:yang97124@sohu.com)

Received: 2019-10-22

Revised: 2019-11-18

Accepted: 2019-12-03

Published online: 2019-12-08

## Abstract BACKGROUND

Previous studies have found that miR-637 can inhibit the invasion and migration of colon cancer, papillary thyroid carcinoma, glioma, and other tumor cells. It has also been found that miR-637 is down-regulated in gastric cancer (GC), but whether it affects the migration, invasion, and apoptosis of GC cells and the underlying molecular mechanisms are still not clear.

## AIM

To investigate the effect of miR-637 on the migration, invasion, and apoptosis of GC cells and the underlying mechanisms.

## METHODS

According to the treatments given, SGC-7901 cells (a GC cell line) were divided into miR-NC group, miR-637 group, anti-miR-NC group, anti-miR-637 group, si-NC group, si-ERBB3 group, miR-637 + pcDNA3.1 group, miR-637 + pcDNA3.1-ERBB3 group, miR-NC + WT-ERBB3 group, miR-NC + MUT-ERBB3 group, miR-637 + WT-ERBB3 group, and miR-637 + MUT-ERBB3 group. The expression of miR-637 was detected by qRT-PCR. Western blot was used to detect protein expression. Transwell assay was used to detect cell migration and invasion. Flow cytometry was used to detect apoptosis. Dual luciferase reporter gene assay was used to detect fluorescence activity.

## RESULTS

Compared with tumor adjacent tissues, the expression of miR-637 was significantly decreased in GC tissues ( $P < 0.05$ ). Overexpression of miR-637 and inhibition of ERBB3 expression inhibited the expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), promoted the expression of epithelial cadherin (E-cadherin) and Bcl-2 associated X protein (Bax), suppressed the migration and invasion of SGC-7901 cells, and promoted apoptosis. MiR-637 can regulate the expression of ERBB3, and overexpression of ERBB3 can reverse the effect of miR-637 on the migration, invasion, and apoptosis of SGC-7901 cells.

## CONCLUSION

MiR-637 can inhibit cell migration and invasion and promote apoptosis in SGC-7901 cells via mechanisms that may be related to down-regulation of ERBB3 expression, which will provide new targets for the prevention and treatment of GC.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MiR-637; ERBB3; Gastric cancer; Migration; Invasion; Apoptosis

He XM, Wang JX, Yang J. MiR-637 inhibits cell migration and invasion and promotes apoptosis in gastric cancer cells by targeting ERBB3. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1427-1435  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1427.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1427>

## 摘要

### 背景

研究发现miR-637可抑制结肠癌、甲状腺乳头状癌、胶质瘤等多种肿瘤细胞的侵袭、迁移;其在胃癌(gastric cancer, GC)中下调表达,但对GC细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及分子机制尚不清楚。

### 目的

探讨miR-637对GC细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及其作用机制。

### 方法

实验设置miR-NC组、miR-637组、anti-miR-NC组、anti-miR-637组、si-NC组、si-ERBB3组、miR-637+pcDNA3.1组、miR-637+pcDNA3.1-ERBB3组、miR-NC+WT-ERBB3组、miR-NC+MUT-ERBB3组、miR-637+WT-ERBB3组、miR-637+MUT-ERBB3组; qRT-PCR检测miR-637的表达水平; Western blot检测蛋白表达; Transwell检测细胞迁移、侵袭; 流式细胞术检测细胞凋亡; 双荧光素酶报告基因检测实验检测荧光活性。

## 结果

相较于癌旁组织, GC组织中miR-637的表达水平显著降低( $P < 0.05$ ); 过表达miR-637和抑制人类表皮生长因子受体3(human epidermal growth factor receptor 3, HER3/ERBB3)表达可抑制基质金属蛋白酶2和B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)的表达, 促进上皮钙黏蛋白和Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)的表达; 抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡。miR-637靶向调控ERBB3的表达, 过表达ERBB3能逆转miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭抑制和凋亡促进的作用。

## 结论

miR-637可抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡, 其机制可能与靶向下调ERBB3的表达有关, 将可为GC的预防和治疗提供新靶点。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-637; ERBB3; 胃癌; 迁移; 侵袭; 凋亡

核心提要: miR-637可通过下调ERBB3的表达抑制胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭, 并促进细胞凋亡。

何孝明, 王金鑫, 杨剑. miR-637靶向ERBB3对胃癌细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及分子机制研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(23): 1427-1435  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1427.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1427>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)消化系统恶性肿瘤之一, 死亡率高, 严重威胁着人民的生命和健康, 其中侵袭和转移是导致GC患者死亡的重要原因, 探索GC侵袭、转移的相关机制, 对GC的诊断、治疗、预后评估具有重大意义<sup>[1]</sup>. 随着在分子水平上对GC生物学行为机制研究, 分子靶向治疗已成为治疗GC的研究热点<sup>[2]</sup>. miRNA是一类内源性非编码小RNA, 在转录后水平调控基因的表达, miRNA通过与GC相关的调控基因或mRNA结合, 使目的mRNA表达沉默或增强, 导致GC细胞的侵袭和转移<sup>[3]</sup>. 有研究利用高通量的miRNA芯片检测在GC中差异表达的miRNA, 发现miR-637在GC中下调表达, 是高转移潜能GC细胞中差异表达的miRNA分子<sup>[4]</sup>. miR-637过表达抑制了甲状腺乳头状癌细胞侵袭迁移能力<sup>[5]</sup>. miR-637还可以通过抑制周期素依赖性激酶4(Cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)和基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase2, MMP-2)的表达抑制结肠癌HCT116细胞的生长和迁移<sup>[6]</sup>. erb-b2受体酪氨酸激酶



3(erb-b2 receptor tyrosine kinase 3, ERBB3)是ERBB家族成员之一, 是一种癌基因, ERBB3蛋白在GC中过表达, 与患者预后不良相关, 其可能与其参与了GC的低分化病理过程<sup>[7]</sup>. ERBB3还可以抑制乳腺肿瘤细胞增殖<sup>[8]</sup>. 但目前miR-637对GC细胞生物行为的影响及其机制还不清楚. 本实验旨在研究miR-637对GC细胞迁移、侵袭及凋亡的影响及其分子机制是否与ERBB3有关.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** GC细胞SGC-7901购自中国科学院上海细胞库; 癌旁组织和GC组织取自当地肿瘤医院; 胎牛血清、RPMI-1640培养基、胰蛋白酶购自美国Gibico公司; Lipofectamine TM 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司; Trizol试剂、反转录试剂盒、荧光定量试剂盒购自日本TaKaRa公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自北京Solarbio公司; 膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)和碘化丙锭(PI)试剂盒、RIPA蛋白裂解液、SDS-PAGE试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 二甲基亚砜(DMSO)、BCA试剂盒、PBS缓冲液购自Sigma公司; Transwell小室、Matrigel胶购自美国BD公司; 抗体均购自上海焱翎生物科技有限公司. E-cadherin(货号12886R)、MMP-2(货号20705R)、ERBB3(货号1454R)、Bax抗体(货号20386R)、Bcl-2(货号20352R)购自上海彩佑实业有限公司; 山羊抗兔IgG-辣根过氧化物酶(货号BHR101)购自北京博尔西科技有限公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** GC细胞SGC-7901用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基于37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度条件下培养, 隔天换液一次, 待细胞融和至80%左右时, 加入胰蛋白酶进行消化传代, 选取处于对数生长期的细胞进行实验.

**1.2.2 细胞转染与分组:** 取对数生长期的GC细胞SGC-7901用0.25%胰蛋白酶消化后接种于96孔板中, 待细胞生长至80%融合, 更换为无血清培养基同步化12 h, 随后进行转染. 将miR-NC、miR-637、anti-miR-NC、anti-miR-637、si-NC、si-ERBB3分别转染至SGC-7901细胞中, 记为miR-NC组、miR-637组、anti-miR-NC组、anti-miR-637组、si-NC组、si-ERBB3组; 将miR-637分别与pcDNA3.1和pcDNA3.1-ERBB3共同转染至SGC-7901细胞中, 记为miR-637+pcDNA3.1组和miR-637+pcDNA3.1-ERBB3组, 转染均按照Lipofectamine TM 2000试剂盒进行操作.

**1.2.3 qRT-PCR检测miR-637表达水平:** 收集以上各组细胞, 研磨充分后加入Trizol试剂提取总RNA, 微量核酸测

定仪检测RNA纯度和浓度. 使用TaKaRa反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA, 按照TaKaRa荧光定量试剂盒使用说明配制反应体系, 以 $\beta$ -actin为内参进行PCR扩增, 每个样品重复3次, 循环条件为95℃ 30 s, 60℃ 30 s; 72℃ 30 s, 共40个循环; 72℃延长5 min. 相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算.

**1.2.4 Western blot检测蛋白表达:** 收集各组细胞, 加入RIPA裂解液裂解, 4℃, 12000 g离心15 min, 收集蛋白上清液, BCA试剂盒测定蛋白浓度. 将蛋白样品进行SDS-PAGE电泳后转至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭液室温封闭1 h. 分别加入一抗(1:800), 4℃孵育过夜, TBST洗膜; 加入二抗(1:1000)室温孵育2 h, TBST洗涤3次, 每次10 min, 后在暗室中曝光显影, 再浸入定影, 最后洗去残液晾干, 将胶片用Quantity One凝胶分析软件处理, 测定各组蛋白条带的吸光度, 以目的条带和GAPDH条带的比值作为蛋白表达水平.

**1.2.5 Transwell检测细胞迁移和侵袭:** 在各组细胞, 胰酶消化后使用无血清培养基重悬细胞, 调整浓度为 $2 \times 10^4$ 个/mL. 以1:5比例加入RPMI 1640培养液稀释Matrigel后, 铺于Transwell小室的上室, 室温下干燥后, 取200  $\mu$ L细胞悬液接种于Transwell小室上室中, 并置于含完全培养基的下室中, 37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养24 h, 取出小室, 去除培养基后用棉签轻轻擦去上层细胞, PBS洗涤, 加入4%多聚甲醛固定30 min, 0.1%结晶紫染色10 min, 显微镜观察并随机选取5个视野拍照. 最后显微镜下观察结晶紫染色细胞数即为侵袭细胞数.

**1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡:** 用不含EDTA的胰酶消化各组细胞, 离心收集各组细胞, PBS漂洗2次, 加结合缓冲液重悬细胞. 依据试剂盒说明书, 先后加入Annexin V-FITC和PI避光孵育. 流式细胞仪检测激发波长488 nm和发射波长530 nm处的荧光强度. 实验重复3次.

**1.2.7 荧光素酶报告基因检测实验检测miR-637对ERBB3的靶向调控:** TargetScan数据库显示ERBB3 3'UTR区域有miR-637结合位点. 构建野生型和突变型基因靶点ERBB3的3'UTR-荧光素酶表达载体(WT-ERBB3和MUT-ERBB3), 取对数生长期GC细胞SGC-7901接种于24孔板( $5 \times 10^4$ 个/孔), 待细胞生长至80%融合时, 用Lipofectamine TM 2000将WT-ERBB3和MUT-ERBB3分别与miR-NC和miR-637共转染至GC细胞SGC-7901中. 依据说明书要求, 使用荧光素酶报告基因检测仪进行双荧光素酶报告实验测定. 实验结果以荧光素酶活性和Renilla活性的比值进行统计学分析. 实验重复3次.

**统计学处理** 采用SPSS 20.00进行统计学分析. 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 两组比较行t检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学



意义。

## 2 结果

**2.1 miR-637在GC组织和癌旁组织中的表达** qRT-PCR检测结果(图1)显示, 与癌旁组织相比, GC组织中miR-637的表达水平显著降低( $P<0.05$ )。可见, miR-637在GC组织中低表达。

**2.2 过表达miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭的影响** qRT-PCR检测结果(图2A)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901中miR-637表达水平显著升高( $P<0.05$ )。Transwell法检测结果(图2B、C)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901迁移、侵袭数量显著降低( $P<0.05$ )。Western blot检测结果(图2D、E)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901中上皮钙黏蛋白(epithelial cadherin, E-cadherin)表达水平显著升高, MMP-2表达水平显著降低( $P<0.05$ )。可见, 过表达miR-637抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭。

**2.3 过表达miR-637对GC细胞SGC-7901凋亡的影响** 流式细胞仪检测结果(图3A、B)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901的凋亡率显著升高( $P<0.05$ )。Western blot检测结果(图3C、D)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901中Bax表达水平显著升高, Bcl-2表达水平显著降低( $P<0.05$ )。可见, 过表达miR-637促进GC细胞SGC-7901凋亡。

**2.4 miR-637靶向、调控ERBB3的表达** 通过starbase网站预测到ERBB3与miR-637存在结合位点(图4A)。荧光素酶报告基因检测实验结果(图4B)显示, 相较于miR-NC组, miR-637组WT-ERBB3GC细胞SGC-7901的荧光素酶活性显著降低( $P<0.05$ )；而MUT-ERBB3GC细胞SGC-7901的荧光素酶活性差异不显著。Western blot检测结果(图4C、D)显示, 相较于miR-NC组, miR-637组GC细胞SGC-7901中ERBB3表达水平显著降低；相较于anti-miR-NC组, anti-miR-637GC细胞SGC-7901中ERBB3表达水平显著升高( $P<0.05$ )。可见, miR-637可靶向调控ERBB3的表达。

**2.5 抑制ERBB3对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡的影响** 流式细胞仪检测结果(图5A)显示, 与si-NC组相比, si-ERBB3组细胞SGC-7901的凋亡率显著升高( $P<0.05$ )。Transwell法检测结果(图5B)显示, 与si-NC组相比, si-ERBB3组细胞SGC-7901迁移、侵袭数量显著降低( $P<0.05$ )。Western blot检测结果(图5C、D)显示, 与si-NC组相比, si-ERBB3组细胞SGC-7901中E-cadherin、Bax表达水平显著升高, ERBB3、MMP-2、Bcl-2表达水平显著降低( $P<0.05$ )。可见, 抑制ERBB3抑制细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡。

**2.6 过表达ERBB3能逆转miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡的作用** qRT-PCR检测结果(图6A)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901中miR-637表达水平显著升高；与miR-637+pcDNA3.1组相比, miR-637+pcDNA3.1-ERBB3组miR-637表达水平显著降低( $P<0.05$ )。流式细胞仪检测结果(图6B)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901的凋亡率显著升高；与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901的凋亡率显著降低( $P<0.05$ )。Transwell法检测结果(图6C)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901迁移、侵袭数量显著降低；与miR-637+pcDNA3.1组相比, miR-637+pcDNA3.1-ERBB3组细胞SGC-7901迁移、侵袭数量显著升高( $P<0.05$ )。Western blot检测结果(图6D、E)显示, 与miR-NC组相比, miR-637组细胞SGC-7901中E-cadherin、Bax表达水平显著升高, ERBB3、MMP-2、Bcl-2表达水平显著降低；与miR-637+pcDNA3.1组相比, miR-637+pcDNA3.1-ERBB3组细胞SGC-7901中E-cadherin、Bax表达水平显著降低, ERBB3、MMP-2、Bcl-2表达水平显著升高( $P<0.05$ )。可见, 过表达ERBB3能逆转miR-637对细胞SGC-7901迁移、侵袭抑制及凋亡促进的作用。

## 3 讨论

GC是发病率和死亡率较高的恶性肿瘤, 其异质性强, 易转移, 治疗预后效果差<sup>[9]</sup>。研究其发病的分子机制对于治疗GC具有重要意义。miRNA虽不编码蛋白, 但广泛参与细胞的各个生理过程, 与肿瘤的发生发展也密切相关, 大量研究证实miRNA通过参与肿瘤细胞的生长、迁移、侵袭以及凋亡等过程从而调控GC进程<sup>[10]</sup>。miR-637通过靶向调控CTSB从而显著降低了胆管癌QBC939细胞的增殖、迁移与侵袭能力, 并促进细胞凋亡<sup>[11]</sup>。上调miR-637抑制乳头状甲状腺癌细胞的增殖, 侵袭和迁移<sup>[12]</sup>。强制过表达miR-637显著抑制肝癌细胞生长并诱导细胞凋亡<sup>[13]</sup>。抑制miR-637转录还促进胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[14]</sup>。在本研究中也发现了相一致的研究结果, 本实验结果显示GC组织中miR-637的表达水平显著降低, 过表达miR-637可抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡。

ERBB3是一种促增殖基因, 可形成二聚体, 激活下游信号传导通路, 从而调控肿瘤的增殖、迁移、粘附、凋亡和血管生成等过程<sup>[15]</sup>。miR-148a-3p可以直接调控ERBB3基因的表达, 下调ERBB3能显著抑制膀胱癌细胞的增殖、体外克隆形成、促进G1期周期阻滞, 抑制迁移和侵袭能力<sup>[16]</sup>。下调ERBB3通过抑制MTK-1的表达来抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 从而

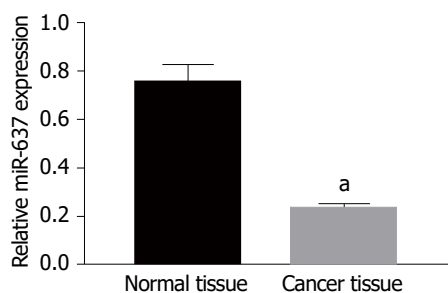


图 1 miR-637的表达. 与癌旁组织组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

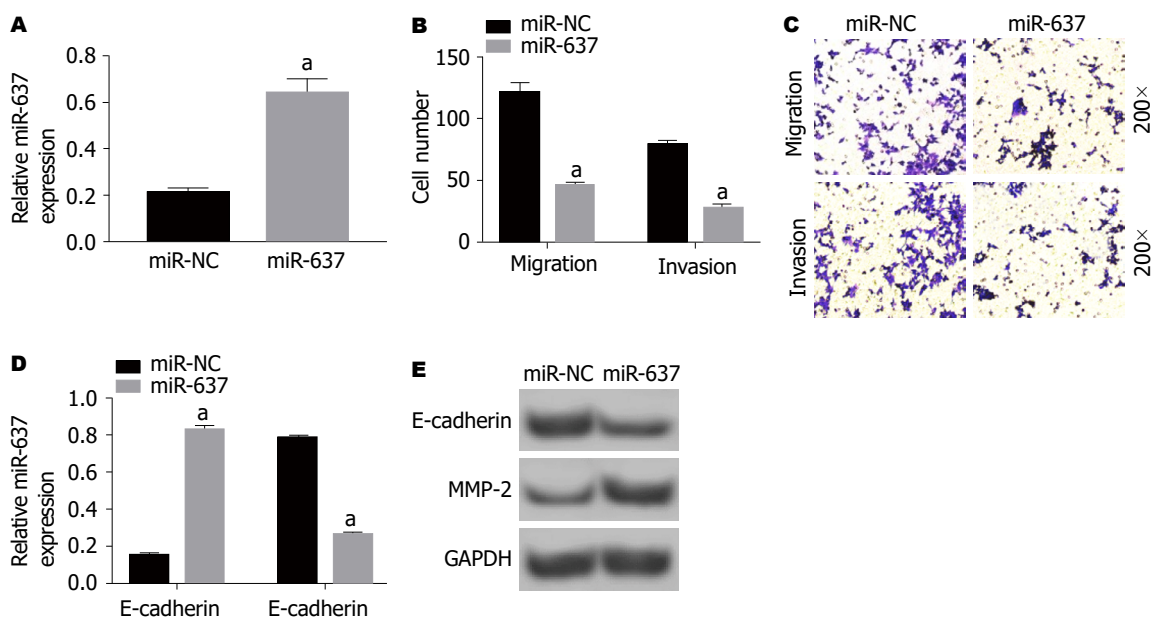


图 2 过表达miR-637对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭的影响. A: miR-637的表达; B、C: Transwell法检测结果; D、E: Western blot检测结果. 与miR-NC组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ . E-cadherin: 上皮钙黏蛋白; MMP-2: 基质金属蛋白酶2.

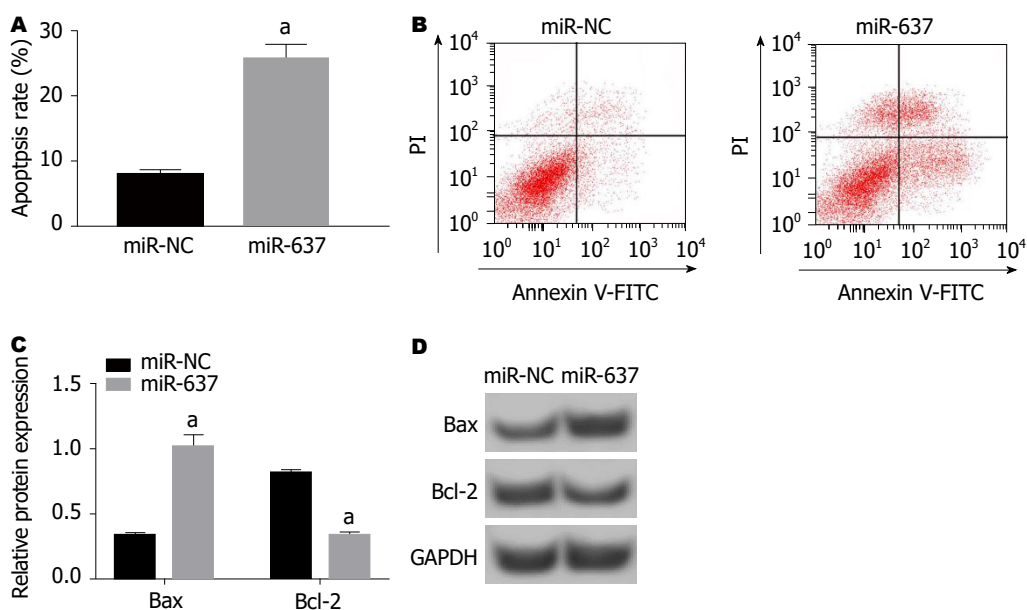


图 3 过表达miR-637对胃癌细胞SGC-7901凋亡的影响. A、B: 流式细胞仪检测结果; C、D: Western blot检测结果. 与miR-NC组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ . Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; Bax: Bcl-2相关X蛋白.

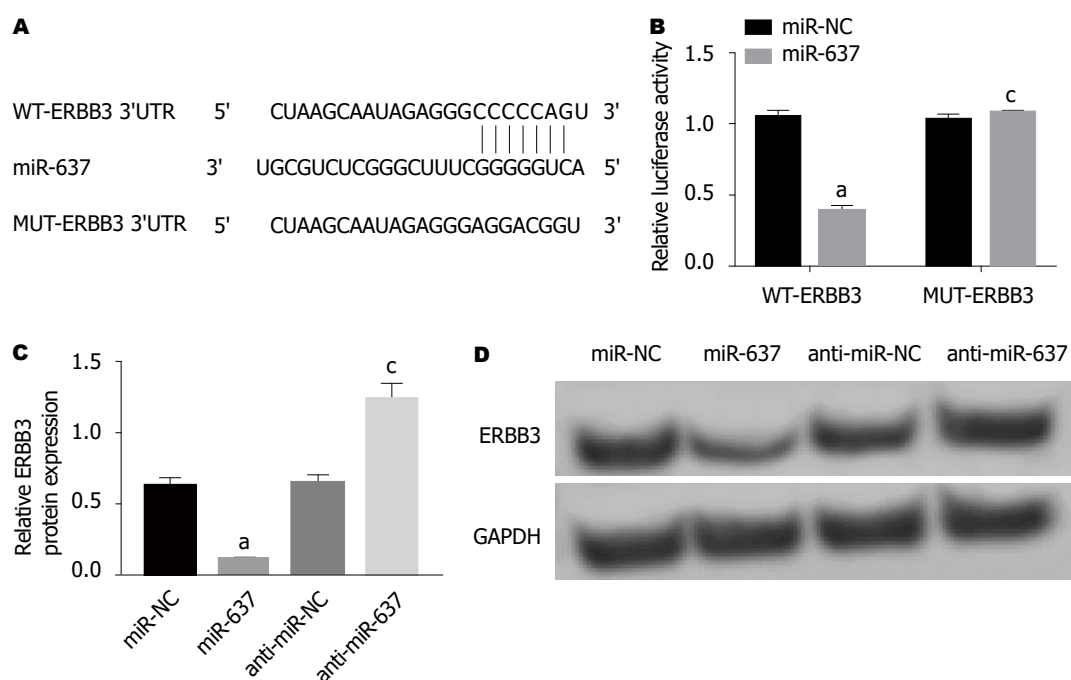


图 4 miR-637靶向、调控ERBB3. A: ERBB3的3' UTR含有miR-637的互补序列; B: 双荧光素酶报告实验; C, D: miR-637调控ERBB3的表达. 与miR-NC组比较,  $P<0.05$ ; 与anti-miR-NC组比较,  $P<0.05$ . ERBB3: 人类表皮生长因子受体3.

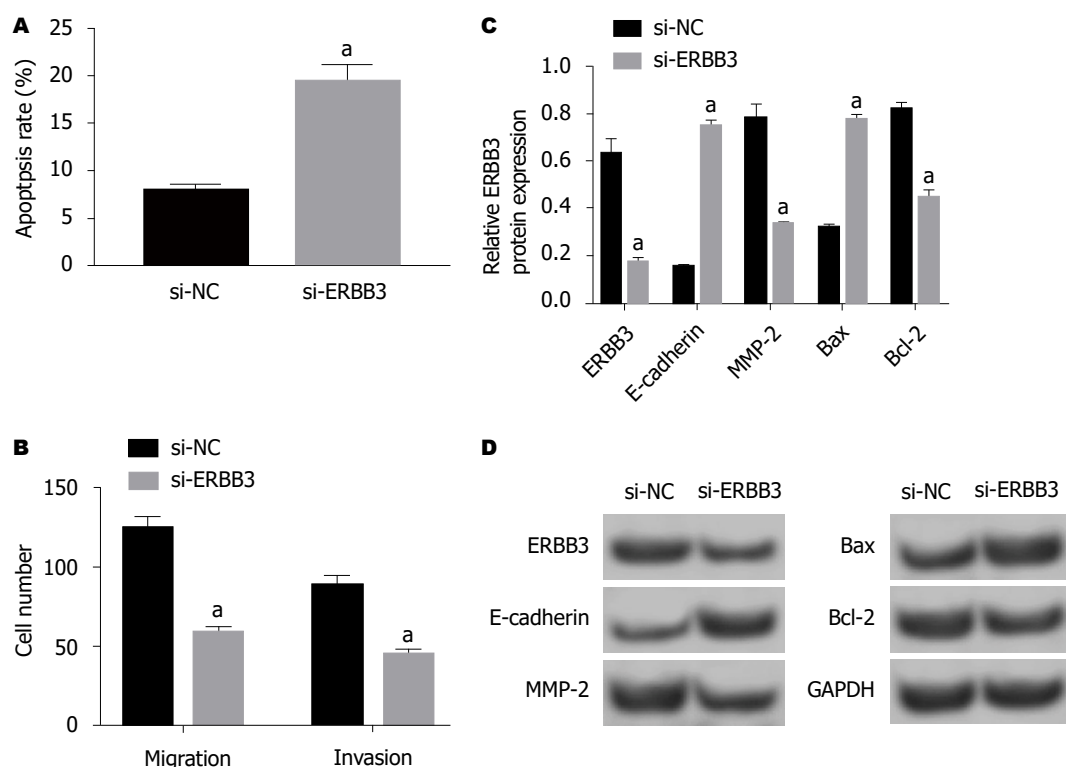


图 5 抑制ERBB3对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡的影响. A: 抑制ERBB3对胃癌细胞SGC-7901凋亡的影响; B: 抑制ERBB3对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭的影响; C, D: 抑制ERBB3对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡蛋白表达的影响. 与si-NC组比较,  $P<0.05$ . ERBB3: 人类表皮生长因子受体3; E-cadherin: 上皮钙黏蛋白; MMP-2: 基质金属蛋白酶2; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; Bax: Bcl-2相关X蛋白.

抑制肿瘤的发展<sup>[17]</sup>. miR-143/145负调控ERBB3基因表达水平从而抑制乳腺癌细胞的增殖及迁移能力<sup>[18]</sup>. 本实验结果显示, 抑制ERBB3表达可抑制GC细胞SGC-7901

迁移、侵袭, 促进细胞凋亡. 且ERBB3受miR-637靶向调控, 过表达ERBB3能逆转miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭抑制和凋亡促进的作用. 过表达miR-



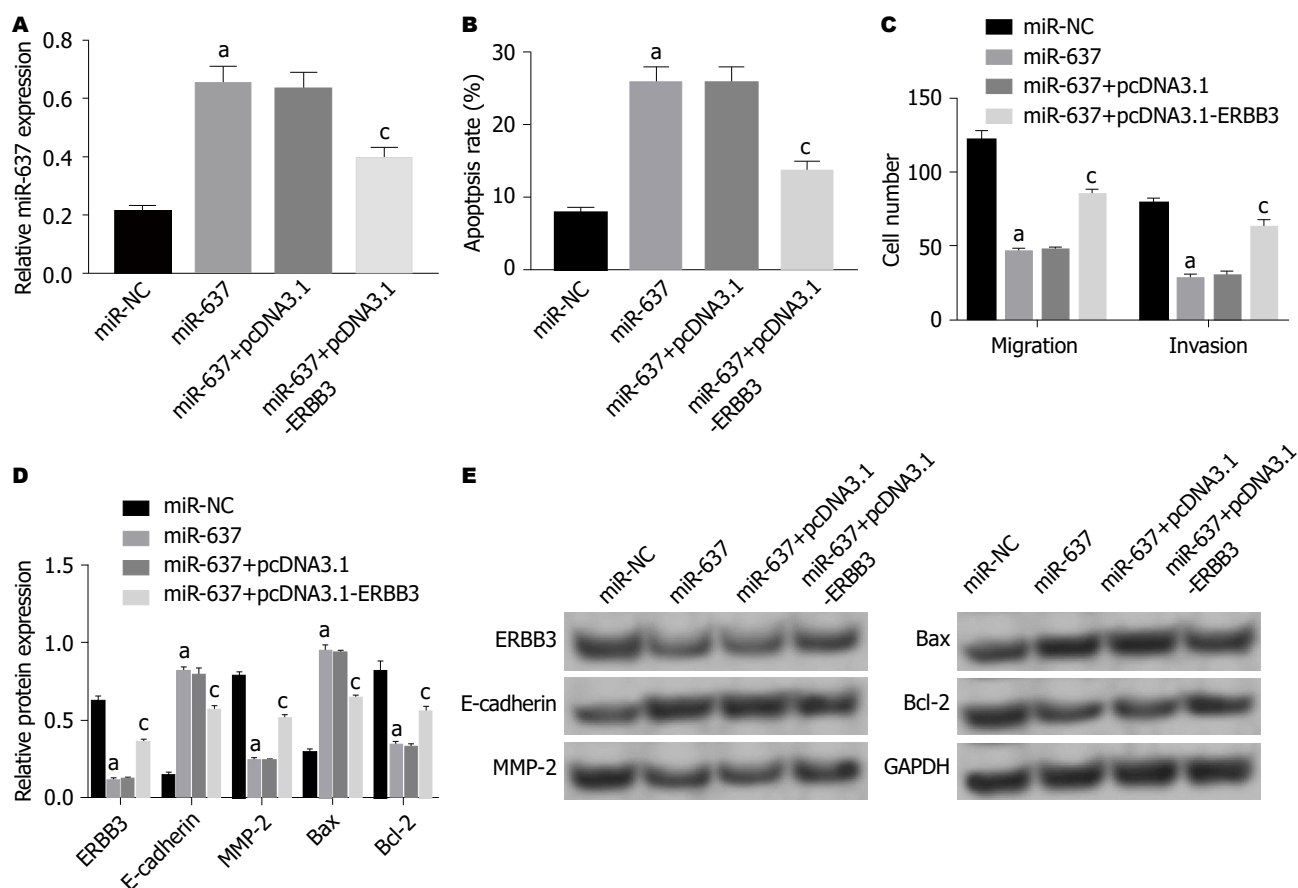


图 6 过表达ERBB3能逆转miR-637对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡的影响. A: miR-637的表达; B: 过表达ERBB3能逆转miR-637对胃癌细胞SGC-7901凋亡的影响; C: 过表达ERBB3能逆转miR-637对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭的影响; D、E: 过表达ERBB3能逆转miR-637对胃癌细胞SGC-7901迁移、侵袭及凋亡蛋白表达的影响. 与miR-NC组比较,  $^aP<0.05$ ; 与miR-637+pcDNA3.1组比较,  $^cP<0.05$ . ERBB3: 人类表皮生长因子受体3; E-cadherin: 上皮钙黏蛋白; MMP-2: 基质金属蛋白酶2; Bcl-2: B细胞淋巴瘤/白血病-2; Bax: Bcl-2相关X蛋白.

637和E-cadherin是上皮-间质转化过程中一种主要的蛋白标志物, E-cadherin表达减少或缺失是导致肿瘤细胞发生侵袭和转移的重要因素<sup>[19]</sup>. MMP-2是肿瘤转移和侵袭过程中重要的调控分子, MMP-2通过降解细胞外基质、促进新生血管形成、调节细胞间的粘附等机制, 促使肿瘤发生侵袭和转移<sup>[20]</sup>. 过表达miR-637和ERBB3抑制表达均抑制MMP-2的表达, 促进E-cadherin的表达, 说明其抑制了细胞侵袭和转移. 而Bcl-2和Bax是细胞凋亡相关蛋白, Bcl-2是抑凋亡因子, Bax是促凋亡因子, 过表达miR-637和抑制ERBB3表达均抑制了Bcl-2的表达, 促进Bax的表达; 说明其促进了细胞凋亡. 且进一步的研究也发现过表达miR-637和抑制ERBB3表达细胞迁移和侵袭数量显著降低, 细胞凋亡率显著升高. 且miR-637靶向调控ERBB3, 提示miR-637对GC细胞迁移、侵袭及凋亡的影响是通过调控ERBB3的表达进而影响迁移、侵袭及凋亡相关蛋白的表达而实现的.

综上所述, miR-637可抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡, 其机制可能与靶向下调

ERBB3及迁移、侵袭及凋亡相关蛋白表达有关, 将可为GC的预防和治疗提供新靶点. 本实验目前仅在体外细胞层面进行实验, 下一步需要在类似体内环境的动物模型中进行研究验证, 为以后可能的临床应用提供理论参考依据.

## 文章亮点

### 实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率、死亡率较高, 手术、放化疗是其主要治疗手段, 但术后易复发, 放化疗副作用高且易产生耐药性使得治疗效果不佳, 靶向治疗的出现给GC治疗提供了新方向. miR-637参与了结肠癌、胆管癌、甲状腺癌、卵巢癌等多种癌症的进展, 具有抑癌作用, 但miR-637对GC是的发生发展的影响和机制尚不清楚.

### 实验动机

本文主要研究miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭

和凋亡的影响, 并研究其作用机制是否与人类表皮生长因子受体3(human epidermal growth factor receptor 3, HER3/ERBB3)有关, 为GC的分子靶向治疗及预后等提供可能的靶点和生物标志物。

### 实验目标

阐明miR-637对GC细胞SGC-7901迁移、侵袭和凋亡的影响及其分子机制, 旨在为miR-637在GC靶向治疗及分子靶点药物研发中提供理论基础。

### 实验方法

体外培养人GC细胞SGC-7901, 分别采用qRT-PCR检测miR-637的表达水平; Western blot检测迁移、侵袭和凋亡相关蛋白表达; 流式细胞术检测细胞凋亡; 过表达miR-637和抑制ERBB3表达后, 观察其对GC细胞迁移、侵袭和凋亡的影响, 双荧光素酶报告基因实验验证miR-637和ERBB3的靶向关系。同时过表达miR-637和ERBB3, 观察ERBB3对过表达miR-637的GC细胞迁移、侵袭和凋亡的影响。

### 实验结果

miR-637可抑制GC细胞SGC-7901迁移、侵袭, 促进细胞凋亡, 且miR-637靶向负调控ERBB3, 过表达ERBB3逆转了miR-637对GC细胞迁移、侵袭抑制和凋亡促进作用。达到了本实验的目的, 对该领域GC的发病进展机制又增加了相关的理论依据, 以后可以进一步在临床方面进行研究应用。

### 实验结论

新发现: miR-637靶向负调控ERBB3; 过表达miR-637和抑制ERBB3表达均可抑制GC细胞迁移和侵袭、促进细胞凋亡; 新的理论: miR-637可以通过调控ERBB3影响GC迁移、侵袭和凋亡相关蛋白的表达进而影响GC的进展。从miRNA和其靶基因角度去研究其对GC恶性生物学行为的影响, 拓宽了研究的范围, 不同miRNA影响急性胰腺炎的进展的机制不同, 增加了其治疗的靶点。不同的miRNA在miR-637中的表达及其作用机制不同, 可通过研究不同的miRNA及其靶基因对GC的影响可拓展研究思路。miR-637通过靶向负调控ERBB3影响GC细胞迁移、侵袭和凋亡。通过上调或下调miRNA进而影响其靶基因的表达可以影响GC的进展。对未来临床诊断和治疗提供了新的标志物和新靶点。

### 展望前景

仅在体外细胞的理论层面上进行研究, 需要进一步在临床上进行相关研究和应用。未来进一步深入研究miR-

637和ERBB3对治疗GC的影响及其可能会产生的其他现象及是否会有副作用; 以及进一步向临床方向的研究靠拢。用更接近于真实GC的小鼠或其他受体为模型, 在其基础上进行实验治疗, 对其反应状况进行观察研究。

### 参考文献

- 李炜伟, 唐岱, 王振冉. 胃癌侵袭转移机制的研究现状及进展. 当代医学 2018; 24: 198-201 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2018.36.088]
- 葛羽慧, 徐卫国. 胃癌靶向治疗的研究进展. 河北医药 2017; 39: 3005-3010 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2017.19.037]
- 李厚雷, 吴宏. miRNA调控胃癌细胞侵袭和转移的研究进展. 世界最新医学信息文摘 2017; 60: 40-42
- 帖君. 胃癌转移相关microRNAs的筛选及功能研究. 西安: 第四军医大学 2010 [DOI: 10.7666/d.d219460]
- 袁青领. MicroRNA-637靶向调控AKT3对甲状腺乳头状癌细胞侵袭转移的影响及机制研究. 郑州: 郑州大学 2018
- 魏房, 王墨飞, 周勇. miR-637抑制结肠癌HCT116细胞生长和迁移的机制研究. 现代肿瘤医学 2019; 27: 1299-1303 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2019.08.005]
- 张修礼, 孙自勤, 徐东平, 曲建慧, 钟彦伟, 刘妍, 刘晓峰, 李文波, 刘长江, 任洪波, 周玮, 李兆申. 胃癌组织癌基因ERBB3过表达的免疫组化研究. 解放军医学杂志 2007; 32: 968-969 [DOI: 10.3321/j.issn:0577-7402.2007.09.023]
- Holbro T, Beerli RR, Maurer F, Koziczak M, Barbas CF 3rd, Hynes NE. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit: ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8933-8938 [PMID: 12853564 DOI: 10.1073/pnas.1537685100]
- 耿龙龙, 任鹏, 李延海, 蒋宏, 王荣华, 王琰, 李保松. 胃癌治疗现状与新进展. 医学理论与实践 2017; 30: 1744-1746 [DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2017.12.011]
- 胡君璧, 赵艳, 李雅睿, 任牡丹, 卢新兰, 张丹, 卢桂芳, 和水祥. MicroRNAs与胃癌早期诊断、化疗耐药及预后的作用机制研究进展. 临床医学研究与实践 2017; 2: 187-189 [DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.201735091]
- 李家新. MiR-637通过靶向调控CTSB抑制胆管癌QBC939细胞增殖与活力. 南京: 南京医科大学 2018
- Yuan Q, Liu Y, Fan Y, Liu Z, Wang X, Jia M, Geng Z, Zhang J, Lu X. LncRNA HOTTIP promotes papillary thyroid carcinoma cell proliferation, invasion and migration by regulating miR-637. *Int J Biochem Cell Biol* 2018; 98: 1-9 [PMID: 29474928 DOI: 10.1016/j.biocel.2018.02.013]
- Zhang JF, He ML, Fu WM, Wang H, Chen LZ, Zhu X, Chen Y, Xie D, Lai P, Chen G, Lu G, Lin MC, Kung HF. Primate-specific microRNA-637 inhibits tumorigenesis in hepatocellular carcinoma by disrupting signal transducer and activator of transcription 3 signaling. *Hepatology* 2011; 54: 2137-2148 [PMID: 21809363 DOI: 10.1002/hep.24595]
- 却天石. ZEB2通过miR-637靶向Akt1及HMGAI1促进胶质瘤细胞生长、侵袭及迁移的分子机制. 广州市: 南方医科大学 2016
- Yokoyama H, Ikehara Y, Kodera Y, Ikehara S, Yatabe Y, Mochizuki Y, Koike M, Fujiwara M, Nakao A, Tatematsu M, Nakanishi H. Molecular basis for sensitivity and acquired resistance to gefitinib in HER2-overexpressing human gastric cancer cell lines derived from liver metastasis. *Br J Cancer* 2006; 95: 1504-1513 [PMID: 17088902 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603459]
- 王潇. miR-148a-3p在膀胱癌中的抑癌作用及其分子机制研究. 杭州: 浙江大学 2017
- 杜景云, 周士华, 王利, 余木兰, 梅丽艳. ERBB3表达下调对宫颈癌细胞增殖迁移和侵袭的影响. 中华生殖与避孕杂志 2018; 38: 490-496 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.06.011]
- 演欣. MicroRNA-143/145通过调控ErbB-3在乳腺癌中发挥抑

癌作用. 天津: 天津医科大学 2013

- 19 杨森果, 毛大华, 杨海松, 陈腾祥, 张萌萌. E-cadherin与肿瘤侵袭、转移相关性研究进展. 医学信息(上旬刊) 2018; 31: 3-6

[DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2018.04.002]

- 20 付冬梅. MMP-2与肿瘤的研究进展. 大家健康(学术版) 2013; 7: 193-195

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

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



## 粪便钙卫蛋白在结直肠癌中的研究进展

陈宗冉, 刘刚

陈宗冉, 刘刚, 天津医科大学总医院普通外科 天津市 300052

陈宗冉, 研究方向主要为结直肠疾病。

作者贡献分布: 本文由陈宗冉完成初稿; 刘刚审核。

通讯作者: 刘刚, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院普通外科. [lg1059@tmu.edu.cn](mailto:lg1059@tmu.edu.cn)

收稿日期: 2019-11-06

修回日期: 2019-11-22

接受日期: 2019-12-03

在线出版日期: 2019-12-08

### Fecal calprotectin and colorectal cancer

Zong-Ran Chen, Gang Liu

Zong-Ran Chen, Gang Liu, Department of General Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Gang Liu, Chief Physician, Department of General Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154, Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. [lg1059@tmu.edu.cn](mailto:lg1059@tmu.edu.cn)

Received: 2019-11-06

Revised: 2019-11-22

Accepted: 2019-12-03

Published online: 2019-12-08

### Abstract

Fecal calprotectin (FC) is a bioactive protein secreted by inflammatory cells in the intestine, having anti-microbial and anti-infection activities. The content of FC reflects the inflammatory state of the intestine, and its role in inflammatory bowel disease has been translated into clinical practice. In recent years, the application of FC in

colorectal cancer (CRC) has been increasing. Previous research results show that FC can be used to screen colorectal cancer and differentiate it from other intestinal diseases, and the concentration of FC may be related to the stage, location, and resectability of CRC. However, its role still needs to be further clarified through high-quality, large-sample research. This paper reviews the application of FC in colorectal cancer.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Fecal calprotectin; Colorectal cancer; Screening; Discrimination

Chen ZR, Liu G. Fecal calprotectin and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1436-1440

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1436.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1436>

### 摘要

粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin, FC)是一种由肠腔内炎症细胞分泌的生物活性蛋白, 有抗微生物活性、抗感染等作用, 通过其含量高低可反映肠道的炎症状态, 其在炎症肠病中的作用已被应用于临床实践。近年来, 关于FC在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的应用研究逐渐增多, 相关研究结果显示FC可用于CRC的筛查以及和其他肠道器质性疾病的鉴别, 同时, FC的浓度与CRC的分期、发生部位以及手术可能有一定的相关性, 但仍需要进一步通过高质量、大样本研究以明确。本文就FC在CRC中的研究进展作一综述。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 粪便钙卫蛋白; 结直肠癌; 筛查; 鉴别

**核心提要:** 粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin, FC)是一种生物活性蛋白,可反映肠道炎症。本文是一篇关于FC在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中最新研究进展的文献综述,总结了FC可用于CRC的筛查、鉴别,以及其浓度与CRC的分期、手术等的关系。

陈宗冉, 刘刚. 粪便钙卫蛋白在结直肠癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(23): 1436-1440

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1436.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1436>

## 0 引言

1980年, Fagerhol等<sup>[1,2]</sup>从中性粒细胞中分离出一种与钙离子结合的蛋白, 命名为钙卫蛋白, 相关研究<sup>[3,4]</sup>显示, 钙卫蛋白存在于中性粒细胞及巨噬细胞等炎性细胞中, 具有抗微生物活性、诱导细胞凋亡、抗感染等生物学作用, 在血浆、尿液、粪便中均可被检测到<sup>[5]</sup>。当肠道处于炎症状态时可经炎性细胞脱颗粒排至肠腔, 称为粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin, FC)(图1), 含量约为血浆中的6倍<sup>[6]</sup>, 在室温下可稳定存在数天<sup>[7]</sup>。结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的消化道恶性肿瘤, 发病率和死亡率均位居我国恶性肿瘤前五位<sup>[8]</sup>。目前主要的筛查指标包括便潜血、血红蛋白、肿瘤标志物等, 由于粪便检查<sup>[9]</sup>的无创性, 便潜血试验在CRC筛查中使用最普遍。

一项多中心前瞻性研究<sup>[10]</sup>发现85%的CRC患者和81%的炎症肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的FC水平明显高于结肠镜检查正常或病变轻微者, 因此通过其含量高低可反映肠道的炎症状态。目前已有大量研究<sup>[11,12]</sup>明确了FC在IBD中较好的应用价值, 为IBD患者的诊治提供了新的检测手段。近些年来, 随着对FC的研究逐渐深入, 关于FC在CRC中的应用研究逐渐增多, 相关研究结果显示FC对CRC的筛查及鉴别作用, 同时, FC可能与CRC分期、部位及手术等具有一定的关系。本文就FC在CRC中的研究进展作一综述。

## 1 FC用于CRC筛查诊断

对于目前CRC的筛查指标, 各自有一定的不足之处, 便潜血作为最常用的筛查指标, 其敏感性与失血量及肿瘤间歇性出血有关<sup>[13]</sup>, 可能由于肿瘤间断出血, 低于潜血试验的检测阈值等原因, 使便潜血试验的敏感性较差; 关于肿瘤标志物, 有关研究结果显示癌胚抗原诊断CRC的敏感性只有30%-50%<sup>[14]</sup>, 并且对于早期患者, 阳性率相对较低, 不利于CRC的早期诊断。

CRC是一种发生在消化道的恶性肿瘤, 肿瘤细胞向周边组织浸润并释放趋化因子, 诱导中性粒细胞等炎性细胞聚集, 从而可引起FC的释放<sup>[15]</sup>, 目前相关研

究结果已经证实FC在CRC患者中的升高。在国内, 岳林等<sup>[16]</sup>的临床研究纳入了87例CRC患者和60例健康对照, 正常对照组FC浓度的中位数是5.3  $\mu\text{g/g}$ , CRC组FC浓度的中位数是121  $\mu\text{g/g}$ , 两者差异有统计学意义( $P<0.0001$ ), FC检测CRC的敏感性为88.51%、特异性为88.33%。在国外, Damms等<sup>[17]</sup>的研究也显示CRC患者的FC水平(164  $\mu\text{g/g}$ )相比于健康对照组(25.8  $\mu\text{g/g}$ )明显升高( $P<0.05$ )。Widlak等<sup>[18]</sup>的研究结果显示FC检测CRC的敏感性为68%, 特异性为84%, 曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.82(95%CI: 0.71-0.92), 阴性预测值(negative predictive value, NPV)为98%(95%CI: 96-99%)。另一项前瞻性研究<sup>[19]</sup>通过纳入373名受试者, 发现FC检测CRC的灵敏度在79%到95%之间。

与便潜血类似, FC也不是CRC特异性的标志物, 肿瘤组织破溃出血导致便潜血阳性, 向周边浸润引起肠道炎症, 导致FC的升高, 因此两者联合可能提高对CRC的诊断率。Tibble等<sup>[13]</sup>纳入62例CRC患者分别对FC和便潜血的筛查作用进行评价, 结果显示CRC患者的FC中位数为101  $\text{mg/L}$ (95%CI: 57-133  $\text{mg/L}$ ), 而纳入的96名健康受试者的FC中位数为2.3  $\text{mg/L}$ (95%CI: 1.6-5.0  $\text{mg/L}$ ), 两者有统计学差异( $P<0.05$ ); FC的筛查阳性率为90%, 而便潜血只有58%(36/62)呈阳性( $P<0.05$ ), 可见FC对CRC的筛查作用优于便潜血。在另一项Kim等<sup>[20]</sup>的研究中, 当对CRC患者单纯使用便潜血模型时, 诊断的敏感性为75.31%, 特异性为90.2%, 当使用FC+便潜血时, 在相同的特异性(90.2%)下, 联合指标对CRC的敏感性更高(82.72%)。其他研究<sup>[21]</sup>显示FC联合免疫化学法检测粪便血红蛋白(fecal immunochemical test, FIT)诊断CRC的敏感性为0.80, 特异性为0.93, NPV为0.99, 阳性预测值为0.43, AUC为0.91。近期还有一项横断面诊断研究<sup>[22]</sup>的结果也证实了在结直肠疾病的诊断模型中进行FC试验的益处, 联合应用FC和便潜血试验可提高疾病筛查的准确性。但也有的研究结果<sup>[23]</sup>发现FC对CRC的诊断准确性比FIT检测低, 联合使用两者时未发现明显益处, 因此对于两者在CRC筛查中的作用仍需要通过进一步的研究以明确。

## 2 FC用于CRC鉴别

CRC的临床表现主要包括腹痛、便血、排便习惯改变等非特异性的消化道症状<sup>[10]</sup>, 相关研究结果显示不同肠道疾病的FC浓度有所差异, 因此FC还可用于CRC与其他肠道疾病的鉴别。Summerton等<sup>[24]</sup>通过研究不同肠道疾病患者FC的大小, 发现正常受试者的FC中位数为4.5  $\text{mg/L}$ 、胃溃疡患者的中位数为6.5  $\text{mg/L}$ 、胃炎/十二指肠炎患者的FC中位数为5.2  $\text{mg/L}$ , 均无明显统计学差异; 对于克罗恩病和溃疡性结肠炎患者, FC的中

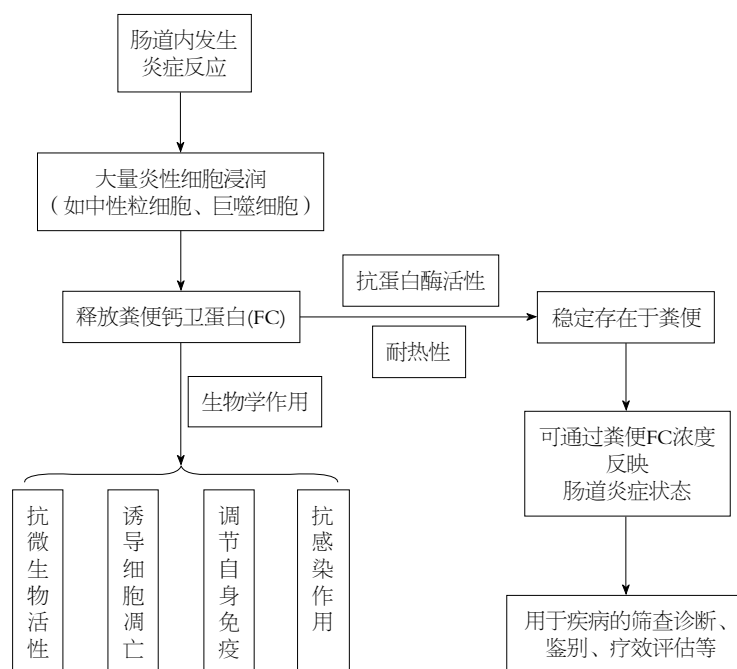


图1 粪便钙卫蛋白的产生及作用. FC: 粪便钙卫蛋白.

位数分别为31.2 mg/L和116.2 mg/L, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 在结直肠疾病中, 结肠息肉组的FC中位数为3.7 mg/L、腺瘤组为3.8 mg/L, CRC组的FC中位数则为53.4 mg/L ( $P<0.05$ ), 由此可见, FC在炎症肠病和CRC中明显升高 ( $P<0.05$ ), 而在结肠息肉和腺瘤中未见明显升高.

秦宝山等<sup>[25]</sup>通过免疫组化的方法检测了正常大肠黏膜(28例)、大肠腺瘤(41例)及CRC(41例)标本中钙卫蛋白的浓度, 发现钙卫蛋白表达于上述三种组织的间质细胞, 主要为中性粒细胞胞质中, 三者的阳性表达率分别为3.57%(1/28)、4.87%(2/41)、75.61%(31/41), CRC标本中钙卫蛋白表达显著高于前两者 ( $P<0.05$ ), 可能与CRC组织可向周围组织浸润有关. Ye等<sup>[26]</sup>发表的Meta分析纳入了20项前瞻性研究, 包括CRC 427例、腺瘤1806例, 其中18项研究评估了FC对CRC的诊断效能, 合并敏感性为0.83、AUC为0.81, 其中15项研究评估了FC对结直肠腺瘤的诊断效能, 合并敏感性仅为0.49、AUC为0.55. 因此相比于结直肠腺瘤, FC对CRC的诊断效能更高.

同时, 关于FC在CRC和IBD中的作用比较, von Roon等<sup>[27]</sup>的一项荟萃分析纳入了30项前瞻性研究, 其中12项有关FC诊断CRC准确性的研究, 发现与非癌对照组相比, CRC患者的FC水平升高132.2  $\mu\text{g/g}$ 、IBD患者的FC水平比非IBD患者高219.2  $\mu\text{g/g}$  ( $P<0.001$ ), 由此可见CRC患者的FC升高水平相比于IBD略低. 另一项苏连明等<sup>[28]</sup>的研究纳入了CRC患者、IBD患者及肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者各30例, 于术前或肠镜活检前检测上述3组的FC值, 结果显示: IBD组的FC中位数为811.43  $\mu\text{g/g}$ , CRC组的FC中位数为211.23

$\mu\text{g/g}$ , IBS组的FC中位数为29.97  $\mu\text{g/g}$ , 差异均有统计学意义; 通过绘制ROC曲线, 确定诊断IBD的FC最佳截断值为378.8  $\mu\text{g/g}$ , 此时AUC为0.939, 灵敏度和特异度分别为86.7%和90.0%; 诊断CRC的FC最佳截断值为55.99  $\mu\text{g/g}$ , 此时AUC为0.516, 灵敏度和特异度分别为83.3%和50.0%. 因此可根据FC截断值的不同用于CRC和其他肠道疾病的鉴别, 但基于引起肠道炎症的疾病种类较多, 应联合其他指标(如ESR、CRP)及临床症状综合评估.

### 3 FC浓度与CRC分期、部位及手术等的关系

目前, 较多研究已证实FC在CRC患者中升高, 并且可用于CRC的筛查以及和其他肠道疾病的鉴别, 同时, 部分研究还发现CRC的分期、发生部位及手术等可能对FC浓度有所影响. Lehmann等<sup>[29]</sup>的研究纳入了80例CRC患者, 发现T3、T4期患者的FC值明显高于T1、T2期患者 ( $P=0.022$ ), 可能是由于肿瘤分期越高, 浸润的深度越深, 从而吸引更多的炎性细胞以释放FC<sup>[30]</sup>; 而对于其他肿瘤参数(如位置、大小), FC浓度无显著差异. 除了FC, 尿中钙卫蛋白水平还可作为膀胱癌诊断和分期的标志物<sup>[31]</sup>, 与健康对照组相比, 患者尿钙卫蛋白水平显著升高, 肌肉浸润性肿瘤(T2-4)的尿钙卫蛋白水平明显高于低分期肿瘤(Ta和T1).

但也有相关研究未显示出不同肿瘤分期的FC差异, 一项临床研究<sup>[16]</sup>纳入了87例CRC患者, 依据不同分期(Dukes分期)及不同部位分组, 结果显示: 在不同分期的患者中, FC的阳性率没有明显差异; 不同部位的CRC与FC检测的阳性率也无显著差异. 国外Tibble等<sup>[13]</sup>



的研究纳入了62例CRC患者, 通过检测粪便中的FC, 发现FC的浓度与肿瘤分期、肿瘤部位也无明显相关性。Widlak等<sup>[18]</sup>的研究结果显示左半结肠癌和右半结肠癌的FC浓度分别为143  $\mu\text{g/g}$ 和175  $\mu\text{g/g}$ , 两者无显著差异( $P = 0.7068$ )。Kristinsson等<sup>[32]</sup>的研究纳入了155例新诊断的CRC患者, 发现不同肿瘤阶段的FC浓度无显著差异, 而与肿瘤的部位、大小和组织学分级也没有差异。因此关于FC水平与肿瘤分期等的关系仍需要通过高质量、大样本的试验研究以明确。

对于CRC, 通过对术后患者的随访, 有关研究显示术后FC的浓度呈下降趋势。Lehmann等<sup>[29]</sup>的研究纳入了80例CRC患者, 分别检测其术前及术后3 mo时的FC浓度, 结果显示术前有57例(71.2%)患者的FC呈阳性(注: 将 $\text{FC} \geq 50 \mu\text{g/g}$ 认定为阳性), 中位数为205  $\mu\text{g/g}$ , 范围为50-2405  $\mu\text{g/g}$ , 术后3 mo时FC的水平显著下降, FC中位数降为46  $\mu\text{g/g}$ , 范围为10-384  $\mu\text{g/g}$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Kristinsson等<sup>[32]</sup>的研究显示FC浓度从术前的45  $\text{mg/L}$ 下降到术后的14  $\text{mg/L}$ ( $P < 0.05$ )。日本的Koga等<sup>[33]</sup>的研究结果也显示: CRC患者在接受手术治疗后, FC水平明显下降。但对于FC在CRC患者术后的趋势变化以及应用价值仍需要相关研究进一步明确。

除此之外, 其他研究还显示了FC与CRC相关生活方式危险因素之间的相关性, Poullis等<sup>[34]</sup>招募了320名具有CRC相关生活方式危险因素的受试者, 通过测定每名受试者的FC浓度以反映肠道炎症, 结果显示: FC与年龄增长( $P = 0.002$ )、肥胖( $P = 0.04$ )、缺乏运动( $P = 0.01$ )呈显著正相关, 而与纤维摄入量( $P = 0.02$ )、蔬菜消费量( $P = 0.04$ )呈负相关, 低水平无症状性肠道炎症可能是生活方式与CRC发病机制之间的联系。

## 4 结论

FC作为一种反映肠道炎症的指标, 在CRC患者中的浓度有所升高, 相关研究结果显示出FC对CRC的筛查作用, 并可根据截断值的不同和其他肠道疾病进行鉴别; 同时, 通过对术后患者的随访, 发现术后患者的FC水平相比于术前会有所降低, 分析术后的病理分期发现FC浓度可能与肿瘤浸润的深度相关, 但也有研究显示FC水平与CRC分期及部位无关。因此, 目前FC在CRC中的相关研究仍有所争议, 需要进一步通过高质量、大样本的临床试验以明确。

## 5 参考文献

- 1 Fagerhol MK, Dale I, Anderson T. Release and Quantitation of a Leucocyte Derived Protein (L1). *Scand J Haematol* 1980; 24: 393-398 [DOI: 10.1111/j.1600-0609.1980.tb02754.x]
- 2 Fagerhol MK, Dale I, Andersson T. A radioimmunoassay for a granulocyte protein as a marker in studies on the turnover of

- such cells. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1980; 16 Suppl: 273-282 [PMID: 7225633 DOI: 10.1016/B978-0-08-027379-2.50028-4]
- 3 Zou X, Sorenson BS, Ross KF, Herzberg MC. Augmentation of epithelial resistance to invading bacteria by using mRNA transfections. *Infect Immun* 2013; 81: 3975-3983 [PMID: 23940207 DOI: 10.1128/IAI.00539-13]
- 4 Hsu K, Champaiboon C, Guenther BD, Sorenson BS, Khammanivong A, Ross KF, Geczy CL, Herzberg MC. ANTI-INFECTIVE PROTECTIVE PROPERTIES OF S100 CALGRANULINS. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2009; 8: 290-305 [PMID: 20523765 DOI: 10.2174/187152309789838975]
- 5 Johne B, Fagerhol MK, Lyberg T, Prydz H, Brandtzaeg P, Naess-Andresen CF, Dale I. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol* 1997; 50: 113-123 [PMID: 9292145 DOI: 10.1136/mp.50.3.113]
- 6 Fagerberg UL, Löf L, Merzoug RD, Hansson LO, Finkel Y. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 468-472 [PMID: 14508218 DOI: 10.1097/00005176-200310000-00013]
- 7 Lasson A, Stotzer PO, Öhman L, Isaksson S, Sapnara M, Strid H. The intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2015; 9: 26-32 [PMID: 25008478 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.06.002]
- 8 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 9 Davies RJ, Miller R, Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 199-209 [PMID: 15738983 DOI: 10.1038/nrc1545]
- 10 Meucci G, D'Inca R, Maieron R, Orzes N, Vecchi M, Visentini D, Minoli G, Dal Pont E, Zilli M, Benedetti E, Virgilio T, Tonutti E. Diagnostic value of faecal calprotectin in unselected outpatients referred for colonoscopy: A multicenter prospective study. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 191-195 [PMID: 19695969 DOI: 10.1016/j.dld.2009.07.002]
- 11 Heida A, Park KT, van Rheenen PF. Clinical Utility of Faecal Calprotectin Monitoring in Asymptomatic Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Practical Guide. *Inflamm Bowel Dis* 2017; 23: 894-902 [PMID: 28511198 DOI: 10.1097/MIB.0000000000001082]
- 12 Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, Hamilton AL, Ritchie KJ, Krejany EO, Leach S, Gorelik A, Liew D, Prideaux L, Lawrance IC, Andrews JM, Bampton PA, Jakobovits SL, Florin TH, Gibson PR, Debinski H, Macrae FA, Samuel D, Kronborg I, Radford-Smith G, Selby W, Johnston MJ, Woods R, Elliott PR, Bell SJ, Brown SJ, Connell WR, Day AS, Desmond PV, Gearry RB. Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery. *Gastroenterology* 2015; 148: 938-947.e1 [PMID: 25620670 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.01.026]
- 13 Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut* 2001; 49: 402-408 [PMID: 11511563 DOI: 10.1136/gut.49.3.402]
- 14 Rai AJ, Chan DW. Cancer proteomics: Serum diagnostics for tumor marker discovery. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1022: 286-294 [PMID: 15251974 DOI: 10.1196/annals.1318.044]
- 15 Røseth AG, Kristinsson J, Fagerhol MK, Schjønby H, Aadland E, Nygaard K, Roald B. Faecal calprotectin: a novel test for the diagnosis of colorectal cancer? *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 1073-1076 [PMID: 8303210 DOI: 10.3109/00365529309098312]
- 16 岳林, 崔梅花, 牟方宏, 魏红, 杨桂彬. 粪便钙卫蛋白检测诊断结直肠癌87例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2557-2561 [DOI: 10.11569/wcjd.v16.i22.2557]
- 17 Damms A, Bischoff SC. Validation and clinical significance

- of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 985-992 [PMID: 18629518 DOI: 10.1007/s00384-008-0506-0]
- 18 Widlak MM, Thomas CL, Thomas MG, Tomkins C, Smith S, O'Connell N, Wurie S, Burns L, Harmston C, Evans C, Nwokolo CU, Singh B, Arasaradnam RP. Diagnostic accuracy of faecal biomarkers in detecting colorectal cancer and adenoma in symptomatic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 354-363 [PMID: 27910113 DOI: 10.1111/apt.13865]
- 19 Högberg C, Karling P, Rutegård J, Lilja M. Diagnosing colorectal cancer and inflammatory bowel disease in primary care: The usefulness of tests for faecal haemoglobin, faecal calprotectin, anaemia and iron deficiency. A prospective study. *Scand J Gastroenterol* 2017; 52: 69-75 [PMID: 27623716 DOI: 10.1080/00365521.2016.1228120]
- 20 Kim BC, Joo J, Chang HJ, Yeo HY, Yoo BC, Park B, Park JW, Sohn DK, Hong CW, Han KS. A predictive model combining fecal calgranulin B and fecal occult blood tests can improve the diagnosis of colorectal cancer. *PLoS One* 2014; 9: e106182 [PMID: 25188229 DOI: 10.1371/journal.pone.0106182]
- 21 Widlak MM, Neal M, Daulton E, Thomas CL, Tomkins C, Singh B, Harmston C, Wicaksono A, Evans C, Smith S, Savage RS, Covington JA, Arasaradnam RP. Risk stratification of symptomatic patients suspected of colorectal cancer using faecal and urinary markers. *Colorectal Dis* 2018; 20: O335-O342 [PMID: 30248228 DOI: 10.1111/codi.14431]
- 22 Elias SG, Kok L, de Wit NJ, Witteman BJ, Goedhard JG, Romberg-Camps MJ, Muris JW, Moons KG. Is there an added value of faecal calprotectin and haemoglobin in the diagnostic work-up for primary care patients suspected of significant colorectal disease? A cross-sectional diagnostic study. *BMC Med* 2016; 14: 141 [PMID: 27666114 DOI: 10.1186/s12916-016-0684-5]
- 23 Turvill J, Mellen S, Jeffery L, Bevan S, Keding A, Turnock D. Diagnostic accuracy of one or two faecal haemoglobin and calprotectin measurements in patients with suspected colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53: 1526-1534 [PMID: 30621475 DOI: 10.1080/00365521.2018.1539761]
- 24 Summerton CB, Longlands MG, Wiener K, Shreeve DR. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 841-845 [PMID: 12172403 DOI: 10.1097/00042737-200208000-00005]
- 25 秦宝山, 马应杰, 王水红. 钙卫蛋白在大肠癌中的表达及意义. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 1081-1083 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2010.12.007]
- 26 Ye X, Huai J, Ding J. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin for screening patients with colorectal cancer: A meta-analysis. *Turk J Gastroenterol* 2018; 29: 397-405 [PMID: 30249553 DOI: 10.5152/tjg.2018.17606]
- 27 von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP, Paraskeva P, Tekkis PP. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 803-813 [PMID: 17324124 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01126.x]
- 28 苏连明, 贾红玲, 金大伟, 董爱莲, 刘秋梅, 黄丽红, 沙瑞华, 刘永梁, 冯丹丹. 3种肠道疾病粪便钙卫蛋白水平变化及意义. *中华实用诊断与治疗杂志* 2018; 32: 761-763 [DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2018.08.010]
- 29 Lehmann FS, Trapani F, Fueglistaler I, Terracciano LM, von Flüe M, Cathomas G, Zettl A, Benkert P, Oertli D, Beglinger C. Clinical and histopathological correlations of fecal calprotectin release in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4994-4999 [PMID: 24803811 DOI: 10.3748/wjg.v20.i17.4994]
- 30 D'Incà R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, Martines D, Sturmiolo GC. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 429-437 [PMID: 16838143 DOI: 10.1007/s00384-006-0159-9]
- 31 Yasar O, Akcay T, Obek C, Turegun FA. Significance of S100A8, S100A9 and calprotectin levels in bladder cancer. *Scand J Clin Lab Invest* 2017; 77: 437-441 [PMID: 28609200 DOI: 10.1080/00365513.2017.1336567]
- 32 Kristinsson J, Armbruster CH, Ugstad M, Kriwanek S, Nygaard K, Tøn H, Fuglerud P. Fecal excretion of calprotectin in colorectal cancer: relationship to tumor characteristics. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 202-207 [PMID: 11252414 DOI: 10.1080/003655201750065979]
- 33 Koga Y, Yamazaki N, Matsumura Y. [Fecal Biomarker for Colorectal Cancer Diagnosis]. *Rinsho Byori* 2015; 63: 361-368 [PMID: 26524859]
- 34 Poullis A, Foster R, Shetty A, Fagerhol MK, Mendall MA. Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: a link between lifestyle factors and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 279-284 [PMID: 14973103 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-03-0160]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 肠碱性磷酸酶在肠黏膜屏障中的作用

万军, 田忠, 姚柏宇, 刘翀, 何静妮, 殷鑫, 史旻

万军, 田忠, 姚柏宇, 刘翀, 何静妮, 殷鑫, 史旻, 中国医科大学附属盛京医院第十普通外科 辽宁省沈阳市 110000

万军, 研究方向为胃肠肝胆.

基金项目: 肠碱性磷酸酶在胆汁丢失引起的肠屏障受损中的作用研究, No. 20170541017.

作者贡献分布: 万军与田忠对此文所作贡献两均等; 此课题由田忠、万军、姚柏宇、刘翀、何静妮、殷鑫及史旻设计; 研究过程由万军、田忠、姚柏宇及刘翀操作完成; 本论文写作由万军与田忠完成.

通讯作者: 田忠, 教授, 主任医师, 110000, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路中国医科大学附属盛京医院滑翔院区, 中国医科大学附属盛京医院第十普通外科. [tianz@sj-hospital.org](mailto:tianz@sj-hospital.org)  
电话: 96615-31711

收稿日期: 2019-10-31

修回日期: 2019-11-15

接受日期: 2019-11-29

在线出版日期: 2019-12-08

### Role of intestinal alkaline phosphatase in intestinal mucosal barrier

Jun Wan, Zhong Tian, Bai-Yu Yao, Chong Liu, Jing-Ni He, Xin Yin, Yang Shi

Jun Wan, Zhong Tian, Bai-Yu Yao, Chong Liu, Jing-Ni He, Xin Yin, Yang Shi, the Tenth Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Supported by: Study on The Role of Intestinal Alkaline Phosphatase in Intestinal Barrier Damage Caused by Bile Loss, No. 20170541017.

Corresponding author: Zhong Tian, Professor, the Tenth Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University (Huaxiang Section), Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. [tianz@sj-hospital.org](mailto:tianz@sj-hospital.org)

Received: 2019-10-31

Revised: 2019-11-15

Accepted: 2019-11-29

Published online: 2019-12-08

### Abstract

Intestinal alkaline phosphatase (IAP) is an alkaline phosphatase that plays an important role in maintaining the stability of the bowel function and the intestinal mucosal barrier, including adjusting the duodenal pH, participating the development of the intestinal tract, regulating the absorption ability of intestinal epithelial cells, reducing the toxicity of lipopolysaccharide, preventing and reducing the intestinal inflammation, regulating intestinal flora, improving intestinal calcium absorption, etc. In this paper, we will review the role of IAP in intestinal mucosal barrier.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal alkaline phosphatase; Intestinal mucosal barrier; Literature review

Wan J, Tian Z, Yao BY, Liu C, He JN, Yin X, Shi Y. Role of intestinal alkaline phosphatase in intestinal mucosal barrier. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1441-1445

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1441.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1441>

### 摘要

肠碱性磷酸酶(intestinal alkaline phosphatase, IAP)是一种碱性磷酸酶,在维持肠黏膜屏障的稳定和肠道功能具有重要作用,其中包括调节十二指肠pH、反映肠道的发育情况及小肠上皮细胞的吸收能力,降低肠道脂多糖毒力、预防和减少肠道炎症、调节肠道菌群分布、抑制细菌位移、改善肠道钙吸收等功能.本文对近年来IAP在肠黏膜屏障中的作用研究进展做一综述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing



Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠碱性磷酸酶; 肠黏膜屏障; 综述文献

**核心提要:** 肠黏膜屏障是机体抵御外界病原侵袭和维持肠道稳态的重要屏障结构。肠碱性磷酸酶参与调节十二指肠pH、反映肠道的发育情况及小肠上皮细胞的吸收能力, 降低肠道脂多糖毒力、减低肠道炎症、调节肠道菌群分布、抑制细菌位移。

万军, 田忠, 姚柏宇, 刘翀, 何静妮, 殷鑫, 史畅. 肠碱性磷酸酶在肠黏膜屏障中的作用. 世界华人消化杂志 2019; 27(23): 1441-1445

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1441.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1441>

## 0 引言

肠黏膜屏障是机体抵御外界病原侵袭和维持肠道稳态的重要屏障结构, 主要由机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障四个部分构成<sup>[1]</sup>。其中肠黏膜上皮细胞间的紧密连接蛋白构成机械屏障; 肠黏膜上皮细胞分泌黏液, 胃肠道分泌消化液和肠道共生菌产生抑菌物质共同构成肠黏膜化学屏障; 肠道共生菌群及宿主肠道微环境相互作用, 互相影响构成了肠黏膜生物屏障; 肠道淋巴系统及其分泌的免疫活性物质抑制肠道炎症构成肠黏膜免疫屏障<sup>[2,3]</sup>。完整的肠黏膜屏障是维持肠黏膜屏障功能的重要条件, 四个部分缺一不可, 任何一部分损伤都会破坏肠黏膜屏障稳定性, 威胁机体的生命健康。相关研究发现<sup>[4]</sup>肠碱性磷酸酶(intestinal alkaline phosphatase, IAP)在维持肠黏膜完整和改善功能上发挥着一定的作用。

## 1 IAP

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)是广泛分布于人体组织器官的单磷脂水解酶, 它本身是一种膜结合金属糖蛋白, 由两个亚单位组成, 作为同源二聚体酶, 包括四种同工酶, 主要分为组织非特异性AKP和组织特异性AKP, 前者主要在肝、肾和骨组织中表达, 后者包括IAP、胎盘碱性磷酸酶(placental alkaline phosphatase, PLAP)和生殖细胞碱性磷酸酶(germ cell alkaline phosphatase, GCAP)<sup>[5]</sup>。IAP是一种能水解单磷酸酯的刷状缘蛋白, 存在于肠细胞刷状缘的顶端微绒毛中, 并分泌到肠腔和血液中, 是维持肠道稳态所必需的肠黏膜防御因子<sup>[6-9]</sup>。IAP参与调节肠道脂类物质吸收, 在脂肪酸通过质膜进入肠上皮细胞过程中起到限速作用<sup>[10,11]</sup>, Zhou等<sup>[12]</sup>研究发现IAP蛋白及mRNA的表达量与肥胖相关。

Narisawa等<sup>[13]</sup>研究发现通过高脂肪饮食喂养小鼠,

对比IAP基因敲除的实验鼠与野生型小鼠, IAP基因敲除小鼠在高脂肪饮食条件下体重增加更多。以往研究发现IAP主要在十二指肠表达, 在碱性条件下发挥作用<sup>[13]</sup>, 该位置IAP的mRNA表达水平及酶的活性最高, 在空肠和回肠低表达<sup>[14]</sup>, 但IAP在胃中几乎不表达<sup>[15]</sup>。肠道细菌在胃十二指肠缺乏但在空回肠菌量增多, 体现了IAP表达量与肠道细菌定植水平相反的特性<sup>[16]</sup>。为进一步研究IAP对肠道微生物影响提供了思路。

有研究证实<sup>[17]</sup>, 通过比较喂养0-28 d的同窝不同生长天数的仔猪, 老龄仔猪相比新生仔猪肠道IAP表达量更多, 认为仔猪小肠中的IAP活性与动物生存时间具有相关性。同时也有研究<sup>[18,19]</sup>观察到啮齿类动物哺乳期IAP表达水平最低, 随着动物成长到断奶年龄, IAP表达量增至成年正常水平。以上研究提示啮齿类动物IAP的表达及生物活性随饮食及年龄变化而改变。同时也有相关研究<sup>[4]</sup>证明人体饥饿时可导致肠道IAP的表达及活性下降, 增加肠道炎症的易感性。总之IAP在改善肠道功能上发挥了作用。

## 2 IAP与肠道屏障

**2.1 IAP维护肠黏膜机械屏障** 肠道机械屏障作为肠黏膜屏障重要的一部分, 其肠上皮细胞间紧密连接蛋白发挥着重要的作用, 而IAP在维持细胞间紧密连接发挥作用。相关研究证实基因敲除小鼠与野生型小鼠相比, IAP基因缺失导致了紧密连接蛋白ZO-1、ZO-2和Occludin水平显著降低, 在细胞实验中通过刺激IAP过表达紧密连接蛋白ZO-1、ZO-2的mRNA水平增加了2倍, 证实了IAP通过调节紧密连接蛋白改善肠黏膜通透性进而维持肠黏膜屏障功能<sup>[20]</sup>。Rentea等<sup>[21]</sup>的研究也发现, 给予低剂量外生型牛IAP, 可以更好的降低肠黏膜的通透性, 保护肠道屏障完整。Hamarneh等<sup>[22]</sup>首先通过研究IAP基因敲除小鼠和野生型小鼠, 结果发现基因敲除小鼠紧密连接蛋白表达量较野生型小鼠低, 证实肠道屏障受损与IAP表达缺失相关。再研究给予持续缺乏肠内营养48 h的饥饿模型小鼠肠道补充外源性IAP, 发现缺乏肠内营养喂养IAP表达也会降低, 进而造成屏障紧密连接蛋白缺乏, 补充外源性的IAP可逆转肠道屏障功能障碍和改善肠内喂养不足导致的紧密连接蛋白损害。从以上研究结果可以得出, IAP在维护肠黏膜机械屏障, 改善肠道通透性中确实发挥了作用, 但目前研究对IAP、黏膜屏障及紧密连接蛋白间的具体分子机制尚不明确, 还需同时要进一步研究。

**2.2 IAP支持肠黏膜免疫屏障** 肠道免疫屏障由获得免疫和固有免疫两部分构成, 免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)和抗菌肽及黏蛋白分别构成获得免疫和固有免

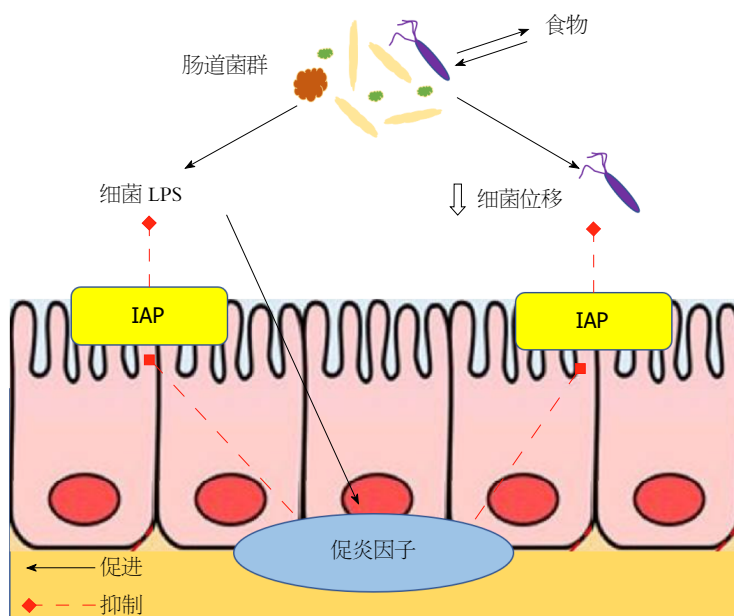


图1 刷状缘IAP对肠道菌群和LPS诱导的炎症的释放的作用机制. 炎症状态下, 促炎因子可抑制有保护性作用的IAP的含量和活性. IAP使细菌LPS脱磷, 从而使LPS解毒, 从而阻止下游免疫细胞的激活和炎症反应. IAP对多种细菌的生长和存活有抑制作用, 并能抑制细菌位移. IAP: 肠碱性磷酸酶; LPS: 脂多糖.

疫的重要效应分子和活性成分<sup>[23]</sup>. Lassenius等<sup>[24]</sup>研究证实患有1型糖尿病的患者表现出肠道炎症的迹象. 与对照组相比, 糖尿病患者的粪便钙防卫蛋白水平较高, 粪便IAP活性较低, 伴较低的丙酸盐和丁酸盐浓度. 此外, 1型糖尿病患者的粪便IgA含量和与氧化LDL结合的抗体水平降低. 在小鼠中, 口服IAP补充剂显著增加肠IgA水平. 人体肠道中存在大量的革兰阴性细菌, 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 作为革兰阴性细菌细胞壁重要组成部分, 是引发肠道炎症反应的重要因素. Bates等<sup>[25]</sup>和Bentala等<sup>[26]</sup>的研究发现IAP可通过激活肠上皮细胞Toll样受体 (Toll-like receptors, TLR) 4基因表达, 识别革兰氏阴性细菌外膜中的LPS并诱导宿主进行免疫应答和损伤修复, 巨噬细胞募集 (级联诱导嗜中性粒细胞) 激活诱导核因子- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 和TLR3基因, 并通过 MyD88 依赖途径抑制炎症性细胞因子白细胞介素 (interleukin, IL)-1、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-6和IL-12的表达, 从而抵抗肠道感染. TLR4的大量激活可能进一步抑制了TNF- $\alpha$ 的表达, 抑制LPS诱导的炎症反应, 从而降低LPS的毒性. Hwang等<sup>[27]</sup>研究发现也表明, IAP通过TLR4/NF- $\kappa$ B介导途径维护肠黏膜屏障功能的正常.

2.3 IAP调节肠黏膜化学屏障 作为肠黏膜屏障中重要的一部分, 化学屏障受损也会增加肠道炎症的易感性. IAP主要在十二指肠中表达, 而空肠和回肠的AKP mRNA水平和酶活性显著降低. IAP的最适pH值>8, 其表达量及酶的活性最高<sup>[28]</sup>, 十二指肠长期暴露在胃液及食糜下,

十二指肠上皮细胞通过分泌 $\text{HCO}_3^-$ 形成十二指肠黏膜pH梯度, 保护十二指肠黏膜<sup>[29]</sup>. 而IAP在其调控上可能发挥了重要作用. Mizumori等<sup>[30]</sup>研究发现, 当黏膜表面pH较低时, 降低了IAP所具有的ATP酶活性, 细胞外堆积的ATP刺激肠上皮细胞分泌 $\text{HCO}_3^-$ , 结合肠道内的 $\text{H}^+$ 合成碳酸释放 $\text{CO}_2$ , 后者扩散入肠上皮细胞, 在碳酸酐酶的作用下重新合成 $\text{HCO}_3^-$ 进入肠腔, 升高肠道pH, 同时IAP的ATP酶活性也随之升高. 上述实验结论提示IAP作为肠道pH调节的碱性传感器, 在调节肠黏膜化学屏障、在改善肠内酸碱环境维持肠道稳态, 维持肠黏膜屏障功能的关键作用.

2.4 IAP调节肠黏膜生物屏障 肠黏膜生物屏障的完整对维持肠道共生菌稳态及抑制肠道炎症具有重要的作用. IAP在维持肠道共生菌的稳定中表现出了一定的作用, 在调节肠道菌群种类, 抑制菌群位移上发挥作用<sup>[31]</sup> (图1).

LPS存在于肠道细菌的细胞壁, AKP对LPS去磷酸化降低其毒性的能力似乎是一种保守进化的功能, 在最近研究涉及的无脊椎动物鱿鱼-弧菌共生模型共生识别和稳态中也发现了这点. 随着人们对动物是由微生物一步步演化发展而来的这一认识越来越清晰<sup>[32]</sup>, 这种生物继续进化的能力造就了动物内源性微生物种群和功能的多样性. 事实上, 已有研究证明IAP表达的变化会影响肠道微生物菌群组成<sup>[33]</sup>, Wang等<sup>[34]</sup>的相关研究发现, 运用荧光标记的两种大肠杆菌予小鼠口服构建腹膜炎模型, 并予以IAP干预, 检测细菌移植, 证实外源性IAP能

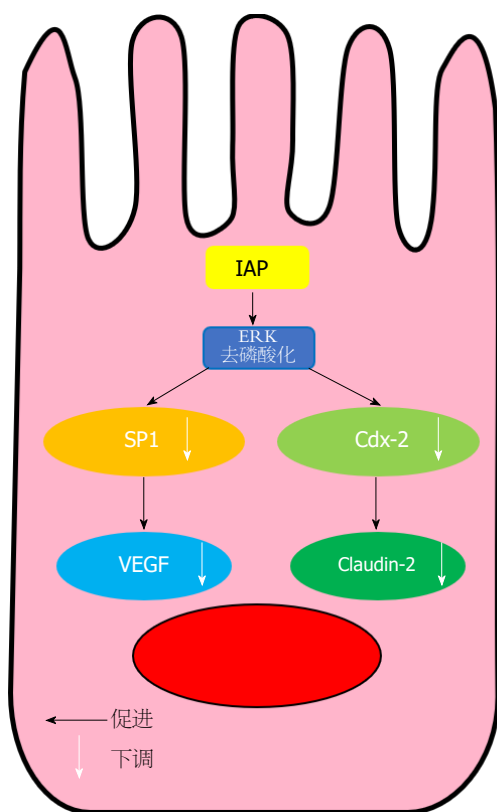


图2 刷状缘IAP发挥作用的分子机制. IAP首先降低ERK磷酸化水平, 进而下调ERK下游的转录因子SP-1. 随后SP-1与VEGF启动子的结合减少, 降低VEGF基因启动子的活性, 最终VEGF表达降低. 同时, IAP使ERK去磷酸化, 进一步减低下游与Claudin-2启动子结合的尾型同源异型核基因2分子数量, 最终形成通道的Claudin-2蛋白表达下降. IAP: 肠碱性磷酸酶; ERK: 细胞外调节蛋白激酶; SP-1: 特异性蛋白-1; VEGF: 血管内皮生长因子; Claudin-2: 紧密连接蛋白-2.

够抑制腹膜炎模型小鼠炎症反应, 并抑制肠道细菌位移, 同时阐明了IAP发挥作用的分子机制, 检测细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulatory protein kinase, ERK)磷酸化水平和ERK-特异性蛋白-1(specificity protein 1, SP-1)-血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和ERK-尾型同源异型核基因2(caudal type homeobox transcription factor 2, Cdx-2)-紧密连接蛋白2(Claudin-2)通路蛋白的表达水平, 发现IAP抑制了Claudin-2和VEGF的表达, 降低了肠黏膜通透性, 并通过维持肠黏膜屏障功能稳定来抑制肠道菌群位移(图2).

Malo等<sup>[35]</sup>研究发现, IAP基因敲除小鼠, 在肠局部或远处缺血损伤时, 细菌转移到肠系淋巴结的数量增加, IAP这一作为肠道黏膜防御因子的特性与肠道微生物群存在潜在相互作用. IAP的作用在于维持肠道微生物群的正常稳态, 具有预防和治疗因致病菌引起的菌群失调和肠道感染的潜力. 以上研究均证实IAP在改善肠黏膜生物屏障中发挥了作用, 并为肠道菌群失调提供了新的治疗方向和广阔的思路.

### 3 结语

IAP在维持肠道黏膜机械屏障、化学屏障、免疫屏障、生物屏障的功能具有重要的作用, 对维持机体健康和肠道微生物稳态发挥重要作用, 同时参与调控肠道营养物质的吸收. 然而近年来对IAP的在肠黏膜保护作用机制的研究还不是很多, 具体机制还待继续研究, 相信随着人们对IAP保护肠黏膜屏障作用机制的进一步研究, 会为改善肠道稳态寻找到新的治疗方向, 并提供更多的理论依据和更广阔的思路.

### 4 参考文献

- Hurley BP, McCormick BA. Intestinal epithelial defense systems protect against bacterial threats. *Curr Gastroenterol Rep* 2004; 6: 355-361 [PMID: 15341710 DOI: 10.1007/s11894-004-0050-1]
- Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 821-834 [PMID: 28650209 DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143]
- 于晓明, 金宏, 糜漫天. 肠屏障功能的损伤与营养素防护. *解放军预防医学杂志* 2006; 24: 68-70 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5248.2006.01.028]
- Goldberg RF, Austen WG Jr, Zhang X, Munene G, Mostafa G, Biswas S, McCormack M, Eberlin KR, Nguyen JT, Tatlidede HS, Warren HS, Narisawa S, Millán JL, Hodin RA. Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 3551-3556 [PMID: 18292227 DOI: 10.1073/pnas.0712140105]
- Fishman WH. Alkaline phosphatase isozymes: recent progress. *Clin Biochem* 1990; 23: 99-104 [PMID: 2197029 DOI: 10.1016/0009-9120(90)80019-f]
- Henthorn PS, Raducha M, Edwards YH, Weiss MJ, Slaughter C, Lafferty MA, Harris H. Nucleotide and amino acid sequences of human intestinal alkaline phosphatase: close homology to placental alkaline phosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 1234-1238 [PMID: 3469665 DOI: 10.1073/pnas.84.5.1234]
- Goldstein DJ, Rogers C, Harris H. Evolution of alkaline phosphatases in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79: 879-883 [PMID: 6950431 DOI: 10.1073/pnas.79.3.879]
- Alpers DH, Mahmood A, Engle M, Yamagishi F, DeSchryver-Kecsckemeti K. The secretion of intestinal alkaline phosphatase (IAP) from the enterocyte. *J Gastroenterol* 1994; 29 Suppl 7: 63-67 [PMID: 7921156]
- Alpers DH, Zhang Y, Ahnen DJ. Synthesis and parallel secretion of rat intestinal alkaline phosphatase and a surfactant-like particle protein. *Am J Physiol* 1995; 268: E1205-E1214 [PMID: 7611397 DOI: 10.1152/ajpendo.1995.268.6.E1205]
- Clark SB, Holt PR. Rate-limiting steps in steady-state intestinal absorption of triolein-1-14C. Effect of biliary and pancreatic flow diversion. *J Clin Invest* 1968; 47: 612-623 [PMID: 5637147 DOI: 10.1172/JCI105757]
- Narisawa S, Hoylaerts MF, Doctor KS, Fukuda MN, Alpers DH, Millán JL. A novel phosphatase upregulated in Akp3 knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G1068-G1077 [PMID: 17901166 DOI: 10.1152/ajpgi.00073.2007]
- Zhou W, Davis EA, Dailey MJ. Obesity, independent of diet, drives lasting effects on intestinal epithelial stem cell proliferation in mice. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)* 2018; 243: 826-835 [PMID: 29932373 DOI: 10.1177/153537021877762]



- 13 Narisawa S, Huang L, Iwasaki A, Hasegawa H, Alpers DH, Millán JL. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7525-7530 [PMID: 14560000 DOI: 10.1128/MCB.23.21.7525-7530.2003]
- 14 Molnár K, Vannay A, Szebeni B, Bánki NF, Sziksz E, Cseh A, Györffy H, Lakatos PL, Papp M, Arató A, Veres G. Intestinal alkaline phosphatase in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3254-3259 [PMID: 22783049 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3254]
- 15 Tuin A, Poelstra K, de Jager-Krikken A, Bok L, Raaben W, Velders MP, Dijkstra G. Role of alkaline phosphatase in colitis in man and rats. *Gut* 2009; 58: 379-387 [PMID: 18852260 DOI: 10.1136/gut.2007.128868]
- 16 Akiba Y, Mizumori M, Guth PH, Engel E, Kaunitz JD. Duodenal brush border intestinal alkaline phosphatase activity affects bicarbonate secretion in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G1223-G1233 [PMID: 17916646 DOI: 10.1152/ajpgi.00313.2007]
- 17 Huygelen V, De Vos M, Willemen S, Franssen E, Casteleyn C, Van Cruchten S, Van Ginneken C. Age-related differences in mucosal barrier function and morphology of the small intestine in low and normal birth weight piglets. *J Anim Sci* 2014; 92: 3398-3406 [PMID: 25006062 DOI: 10.2527/jas.2014-7742]
- 18 Kozakova H, Kolinska J, Lojda Z, Rehakova Z, Sinkora J, Zakostelecka M, Splichal I, Tlaskalova-Hogenova H. Effect of bacterial monoassociation on brush-border enzyme activities in ex-germ-free piglets: comparison of commensal and pathogenic *Escherichia coli* strains. *Microbes Infect* 2006; 8: 2629-2639 [PMID: 16949322 DOI: 10.1016/j.micinf.2006.07.008]
- 19 Detel D, Baticic L, Varljen J. The influence of age on intestinal dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26), disaccharidases, and alkaline phosphatase enzyme activity in C57BL/6 mice. *Exp Aging Res* 2008; 34: 49-62 [PMID: 18189167 DOI: 10.1080/03610730701761957]
- 20 Liu W, Hu D, Huo H, Zhang W, Adiliaghdam F, Morrison S, Ramirez JM, Gul SS, Hamarneh SR, Hodin RA. Intestinal Alkaline Phosphatase Regulates Tight Junction Protein Levels. *J Am Coll Surg* 2016; 222: 1009-1017 [PMID: 27106638 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.006]
- 21 Rentea RM, Liedel JL, Welak SR, Cassidy LD, Mayer AN, Pritchard KA Jr, Oldham KT, Gourlay DM. Intestinal alkaline phosphatase administration in newborns is protective of gut barrier function in a neonatal necrotizing enterocolitis rat model. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 1135-1142 [PMID: 22703783 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2012.03.018]
- 22 Hamarneh SR, Mohamed MM, Economopoulos KP, Morrison SA, Phupitakphol T, Tantillo TJ, Gul SS, Gharedaghi MH, Tao Q, Kaliannan K, Narisawa S, Millán JL, van der Wilden GM, Fagenholz PJ, Malo MS, Hodin RA. A novel approach to maintain gut mucosal integrity using an oral enzyme supplement. *Ann Surg* 2014; 260: 706-14; discussion 714-5 [PMID: 25203888 DOI: 10.1097/SLA.0000000000000916]
- 23 Heneghan AF, Pierre JF, Kudsk KA. JAK-STAT and intestinal mucosal immunology. *JAKSTAT* 2013; 2: e25530 [PMID: 24416649 DOI: 10.4161/jkst.25530]
- 24 Lassenius MI, Fogarty CL, Blaut M, Haimila K, Riittinen L, Paju A, Kirveskari J, Järvelä J, Ahola AJ, Gordin D, Härma MA, Kumar A, Hamarneh SR, Hodin RA, Sorsa T, Tervahartiala T, Hörkö S, Pussinen PJ, Forsblom C, Jauhiainen M, Taskinen MR, Groop PH, Lehto M; FinnDiane Study Group. Intestinal alkaline phosphatase at the crossroad of intestinal health and disease - a putative role in type 1 diabetes. *J Intern Med* 2017; 281: 586-600 [PMID: 28393441 DOI: 10.1111/joim.12607]
- 25 Bates JM, Akerlund J, Mittge E, Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. *Cell Host Microbe* 2007; 2: 371-382 [PMID: 18078689 DOI: 10.1016/j.chom.2007.10.010]
- 26 Bentala H, Verweij WR, Huizinga-Van der Vlag A, van Loenen-Weemaes AM, Meijer DK, Poelstra K. Removal of phosphate from lipid A as a strategy to detoxify lipopolysaccharide. *Shock* 2002; 18: 561-566 [PMID: 12462566 DOI: 10.1097/00024382-200212000-00013]
- 27 Hwang SW, Kim JH, Lee C, Im JP, Kim JS. Intestinal alkaline phosphatase ameliorates experimental colitis via toll-like receptor 4-dependent pathway. *Eur J Pharmacol* 2018; 820: 156-166 [PMID: 29247612 DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.12.026]
- 28 Gibson PR, Nov R, Fielding M, McIntyre A, Finch CF, Rosella O, Mariadason JM, Barkla DH, Young GP. Relationship of hydrolase activities to epithelial cell turnover in distal colonic mucosa of normal rats. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 866-872 [PMID: 10535467 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.01973.x]
- 29 Allen A, Flemström G. Gastrointestinal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C1-19 [PMID: 15591243 DOI: 10.1152/ajpcell.00102.2004]
- 30 Mizumori M, Ham M, Guth PH, Engel E, Kaunitz JD, Akiba Y. Intestinal alkaline phosphatase regulates protective surface microclimate pH in rat duodenum. *J Physiol* 2009; 587: 3651-3663 [PMID: 19451200 DOI: 10.1113/jphysiol.2009.172270]
- 31 Bilski J, Mazur-Bialy A, Wojcik D, Zahradnik-Bilska J, Brzozowski B, Magierowski M, Mach T, Magierowska K, Brzozowski T. The Role of Intestinal Alkaline Phosphatase in Inflammatory Disorders of Gastrointestinal Tract. *Mediators Inflamm* 2017; 2017: 9074601 [PMID: 28316376 DOI: 10.1155/2017/9074601]
- 32 McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC, Carey HV, Domazet-Lošo T, Douglas AE, Dubilier N, Eberl G, Fukami T, Gilbert SF, Hentschel U, King N, Kjelleberg S, Knoll AH, Kremer N, Mazmanian SK, Metcalf JL, Neelson K, Pierce NE, Rawls JF, Reid A, Ruby EG, Rumpho M, Sanders JG, Tautz D, Wernegreen JJ. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 3229-3236 [PMID: 23391737 DOI: 10.1073/pnas.1218525110]
- 33 Fawley J, Koehler S, Cabrera S, Lam V, Fredrich K, Hessner M, Salzman N, Gourlay D. Intestinal alkaline phosphatase deficiency leads to dysbiosis and bacterial translocation in the newborn intestine. *J Surg Res* 2017; 218: 35-42 [PMID: 28985873 DOI: 10.1016/j.jss.2017.03.049]
- 34 Wang W, Chen SW, Zhu J, Zuo S, Ma YY, Chen ZY, Zhang JL, Chen GW, Liu YC, Wang PY. Intestinal alkaline phosphatase inhibits the translocation of bacteria of gut-origin in mice with peritonitis: mechanism of action. *PLoS One* 2015; 10: e0124835 [PMID: 25946026 DOI: 10.1371/journal.pone.0124835]
- 35 Malo MS, Alam SN, Mostafa G, Zeller SJ, Johnson PV, Mohammad N, Chen KT, Moss AK, Ramasamy S, Faruqi A, Hodin S, Malo PS, Ebrahimi F, Biswas B, Narisawa S, Millán JL, Warren HS, Kaplan JB, Kitts CL, Hohmann EL, Hodin RA. Intestinal alkaline phosphatase preserves the normal homeostasis of gut microbiota. *Gut* 2010; 59: 1476-1484 [PMID: 20947883 DOI: 10.1136/gut.2010.211706]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 肠道菌群与肠道免疫系统的发育相关性进展

王菲菲, 杨泽俊, 朱敏佳, 狄治杉, 尚宏伟, 徐敬东

王菲菲, 杨泽俊, 朱敏佳, 狄治杉, 徐敬东, 首都医科大学基础医学与病理生理学系 北京市 100069

尚宏伟, 首都医科大学基础医学院机能实验中心 北京市 100069

王菲菲, 研究方向为消化生理学与临床医学.

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 81274173, 81673671, 81270443; 首都医科大学创新基金, Nos. XSKY2018008, CXZDS2018011.

作者贡献分布: 本文综述由王菲菲、尚宏伟及徐敬东完成; 图片由王菲菲与徐敬东绘制; 杨泽俊、朱敏佳及狄治杉负责部分文献搜集与整理; 尚宏伟与徐敬东审校.

通讯作者: 徐敬东, 副教授, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条10号, 首都医科大学基础医学与病理生理学系. [xu\\_jdd@ccmu.edu.cn](mailto:xu_jdd@ccmu.edu.cn)  
电话: 010-83911469

收稿日期: 2019-11-06

修回日期: 2019-11-20

接受日期: 2019-12-03

在线出版日期: 2019-12-08

### Correlation between intestinal flora and gut immune system development

Fei-Fei Wang, Ze-Jun Yang, Min-Jia Zhu, Zhi-Shan Di, Hong-Wei Shang, Jing-Dong Xu

Fei-Fei Wang, Ze-Jun Yang, Min-Jia Zhu, Zhi-Shan Di, Jing-Dong Xu, Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Hong-Wei Shang, Morphological Experiment Center, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81673671, No. 81270443, and No. 81274173; Innovation Foundation of Capital Medical University, No. XSKY2018008 and No. CXZDS2018011.

Corresponding author: Jing-Dong Xu, Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, 10 Xitoutiao, You'anmen Wai, Fengtai District, Beijing 100069,

China. [xu\\_jdd@ccmu.edu.cn](mailto:xu_jdd@ccmu.edu.cn)

Received: 2019-11-06

Revised: 2019-11-20

Accepted: 2019-12-03

Published online: 2019-12-08

### Abstract

The gut contains a complex array of intestinal bacteria, especially in the colon. A large number of studies have proved that the amount of intestinal flora and the development of the intestinal immune system have a certain parallel relationship, which is vital for the regulation for the intestinal function. This article reviews the correlation between the gut microbiota and the development of the intestinal immune system as well as the regulation of intestinal function by intestinal microbiota and immune system, with an aim to provide new clues to the treatment of immune-related diseases.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal flora; Immune system; Development; Correlation

Wang FF, Yang ZJ, Zhu MJ, Di ZS, Shang HW, Xu JD. Correlation between intestinal flora and gut immune system development. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1446-1453  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1446.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1446>

### 摘要

消化道内生存有纷繁复杂的肠道菌群, 尤其以结肠中的细菌尤为复杂. 大量的实验表明, 肠道菌群的数量和肠道免疫系统的发育具有一定相互平行关系. 这对肠道功能的调节具有重要意义. 本文综述肠道微生物群的发生发展过程与肠道免疫系统发育特征

的比较以及肠道微生物群与免疫系统对肠道功能的调节作用, 该研究为免疫相关疾病的治疗途径开辟了新的前景。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道菌群; 免疫系统; 发育; 相关性

**核心提要:** 肠道菌群在机体的免疫系统的发生发展过程中发挥重要的作用, 而肠道免疫系统的发育与肠道菌群数量及多样性具有相关性, 该研究引起了科学家的高度重视。

王菲菲, 杨泽俊, 朱敏佳, 狄治杉, 尚宏伟, 徐敬东. 肠道菌群和免疫系统的发育相关性进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(23): 1446-1453

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1446.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1446>

## 0 引言

近来大量文献报道, 肠道菌群的构成影响机体黏膜免疫系统、免疫应答与免疫交流、免疫系统与其互惠互利。这提示了二者的发育过程可能具有平行关系。此外, 肠道菌群和免疫系统还调节肠神经网络<sup>[1]</sup>。当肠道菌群紊乱, 可引起多种相关疾病。本文将详述肠道菌群与肠道免疫系统的发育之间的关联性。

## 1 肠道菌群的形成及其多样性的分布特征

肠道里共生着约1013个细菌组成的菌落, 它们参与机体营养代谢, 产生身体必需维生素, 调节人体的健康状态, 其复杂的功能引起了科学家的关注。尤其是肠道菌群与肠道相关疾病的关系成为研究热点<sup>[2]</sup>。而肠道菌群的发育的过程有望为治疗相关疾病提供可能。

过去一直认为胎儿的消化道内保持无菌状态, 微生物群在出生时通过皮肤、口腔、肠道或阴道开始定殖<sup>[3]</sup>。然而, 有研究表明微生物可能起源于子宫<sup>[4]</sup>。但胎儿胃肠道微生物的起源、最初定殖的时间、不同菌种的比例还不清楚, 目前有“阴道播种”、来自阴道的位置上移或者是子宫起源等<sup>[5]</sup>。值得注意的是, 这些微生物群落与羊水的微生物群相似<sup>[6]</sup>, 很有可能是胎儿在子宫母体口腔微生物通过血液进入羊水, 胎儿吞咽羊水完成微生物定殖。出生后, 胎儿突然暴露于富含各种细菌的外部环境使大量微生物群即刻定殖在肠腔<sup>[7]</sup>, 此时肠道呈现以肠球菌和葡萄球菌主导的兼性厌氧和耐氧微生物<sup>[8]</sup>。出生后数小时内由于阴道微生物从母体到婴儿垂直传播, 乳酸杆菌占主导地位<sup>[9]</sup>。出生后1-7 d, 肠道菌群迅速而有序地“爆炸式”增殖形成双歧杆菌、拟杆

菌和梭状杆菌为主的厌氧菌<sup>[10]</sup>, 在出生后第7天形成主要由拟杆菌、放线菌和奇异杆菌定殖的生态系统(表1)。同在第7天时, 母乳中开始出现双歧杆菌为婴儿肠道和母乳之间共享<sup>[11]</sup>, 这类特定菌株还包括乳酸杆菌等有益菌和葡萄球菌、肠球菌等有害菌<sup>[12]</sup>。出生后第30天, 婴儿的特殊微生物生态系统已趋向于以厚壁菌和拟杆菌为主导的成人胃肠道特征<sup>[13]</sup>。第60天到第130天胃肠道微生物增殖减缓, 变为以双歧杆菌为主导而厚壁菌减少, 放线菌平均相对丰度增加的微生物生态系统<sup>[14]</sup>。出生后第90天, 婴儿和母乳共享菌株在母乳和婴儿粪便中比例均很高<sup>[15]</sup>, 提示母乳影响了婴儿肠道微生物的发展, 推测断奶期的菌群变化可能与婴儿对细菌的需求有关。出生后170-290 d, 由于奶粉和豌豆等固体食物的摄入使机体对利用乳酸的细菌需求减少, 而有助合成维生素B、K与吸收碳水化合物的细菌需求加大<sup>[16]</sup>, 同时断奶后小鼠不能继续获得母乳中SIgA以及低聚糖来辅助结肠中的发酵以产生短链脂肪酸<sup>[17]</sup>, 以上种种原因导致断奶期变形杆菌和乳酸杆菌逐渐减少, 拟杆菌和梭状芽孢杆菌逐渐呈主导地位, 细菌总量显著增加<sup>[7,18]</sup>(图1), 新生儿微生物生态系统逐步达到“肠型”, 即由拟杆菌、普氏菌和厚壁菌主导的微生态系统<sup>[19]</sup>。目前普遍认为, 其他一些因素也影响肠道及其微生物共生体的起源、组成和发展, 如孕期母亲的饮食<sup>[20]</sup>、抗生素<sup>[21]</sup>、分娩方式<sup>[22]</sup>以及母乳喂养等<sup>[23]</sup>。在婴儿2岁时, 拟杆菌门和厚壁菌门丰度大于细菌总量的90%, 肠道菌群逐步发育为类似成人的水平<sup>[24,25]</sup>。

## 2 肠道免疫系统与肠道微生物的相互作用

胃肠道微生物是人和动物体内最复杂和最大的微生态系统。成人肠道内含有超过500种细菌。而新生儿出生时胃肠道是无菌的, 免疫系统几乎没有发育, 但很快由于细菌定植和其多样性的出现, 刺激肠道产生大量的淋巴细胞和淋巴组织, 以适应肠道生态环境的稳态<sup>[26]</sup>。

**2.1 固有免疫系统与年龄的相关性** 肠道中固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)在胎儿出生时已发育完全, 作为入侵病原体的第一道防线。胎儿期3 mo末, 中性粒细胞最初成熟, 树突状细胞在脐带血中发育并且初步成熟<sup>[23]</sup>。出生时, 新生儿IL-6的水平急速上升, 使白介素(interleukin, IL)-6诱导性肝细胞产生C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)<sup>[27]</sup>。新生儿先天免疫细胞活性较成人低, 婴儿却拥有比成年期的更高活性的ILCs、更高水平的单核细胞和抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)产生的IL-6, IL-10和IL-23<sup>[28]</sup>, 这提示了肠道中固有淋巴细胞或许对特定情况有可变的敏感性。出生后1-7 d, 单



表 1 肠道菌群与肠道免疫系统发育的时间性

	肠道菌群	肠道免疫系统发育	Ref.
起源	子宫内起源, 为厚壁菌门细菌(以乳酸菌为主)	骨髓中的造血干细胞祖细胞产生淋巴细胞	[4]
妊娠7 wk	无	表达CD34受体的T细胞祖细胞迁移至胸腺并分化成CD4 <sup>+</sup> T细胞、CD8 <sup>+</sup> T细胞和 $\alpha\beta$ T细胞	[28]
妊娠8 wk	无	HSC定殖在未成熟胸腺上皮	
妊娠12 wk	无	产生次级淋巴组织, 嗜中性粒细胞最初成熟	[23]
妊娠16–20 wk	无	HSC向BM转移, T细胞发育正在进行中并且T细胞移出以形成外周T细胞库	
妊娠31 wk	无	中性粒细胞出现	
出生	肠腔中形成肠杆菌、葡萄球菌为主导的兼性厌氧和耐氧微生物	NK细胞数量达到最高水平, CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Tregs丰富并且已经可以良好执行其功能	[7,8]
1–7 d	微生物“爆炸式”增殖	中性粒细胞呈“指数式”增长, 单核细胞和巨噬细胞不断发育	[9]
7 d	形成厚壁菌、拟杆菌、放线菌、变形杆菌等为主导的相对成熟的微生物生态系统	单核细胞、经典M $\phi$ 和M $\phi$ 均达到成熟状态	[29]
30 d	厚壁菌和拟杆菌为主导, 趋于成人胃肠道的特征	CD20 <sup>+</sup> 细胞占外周血B细胞的比例保持较高水平	[10,55]
60–130 d	以长双歧杆菌和短双歧杆菌为主的放线菌平均相对丰度增加, 厚壁菌门减少		[14]
170–290 d断奶期	双歧杆菌逐渐减少, 拟杆菌和厚壁菌逐渐呈主导地位, 细菌总量也显著增加	CD19 <sup>+</sup> B220 <sup>low</sup> B细胞进行免疫球蛋白基因重排、开始表达核基因重组激活基因2	[11,30]

核细胞和巨噬细胞(macrophages, M $\phi$ )不断发育, 在出生后的第7天达到成熟状态<sup>[29]</sup>. 在出生后的18–24 d, 有4%的CD19<sup>+</sup>B220<sup>low</sup>B细胞中表达核基因重组激活基因(recombination activation gene, RAG)2, 但在小鼠出生后7 d内至5–6 wk, RAG2几乎不表达<sup>[30]</sup>, 提示断奶期是骨髓中RAG调节V(D)J基因重排形成BCR的关键时期. 新生儿期, 肠道固有免疫系统具有一定的可塑性, 经典M $\phi$ 和M $\phi$ 未达到成熟状态, TLR4样受体4(Toll-like receptors, TLR4)的低表达和其不完善的信号通路导致组织修复不良、对潜在病原体的吞噬作用较差、生物活性分子分泌量不足令促炎细胞因子产生较少<sup>[31]</sup>. 新生儿期与胎儿期不同, 此时产生丰富的Th2细胞而合成少量Th1极化细胞因子, 其中包括肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、 $\gamma$ -干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和IL-12<sup>[32]</sup>. 出生7 d以后, 新生儿M $\phi$ 和APC中TNF、IL-12和IFN- $\gamma$ 的产生减少, 但IL-6、IL-10和IL-23的产生十分稳定<sup>[33]</sup>. 由此观之, 新生儿肠道免疫处于由分子和细胞成分网络精细调节中, 固有免疫通过识别“自身”和“非己”, 不但成为机体抵御微生物侵袭的第一道防线, 而且参与特异性免疫应答, 甚至影响非感染性疾病的发生发展.

2.2 肠道PC的成熟与外界刺激的相关性 众所周知, B细胞体液免疫系统发挥重要作用, 而B细胞以持续合成和分泌抗体参与机体的体液免疫而备受关注. 成熟B细胞群主要有三类即B1细胞、边缘区B细胞、滤泡B细胞. 已经已知Notch通路等信号转导和表观遗传调控调节下<sup>[34]</sup>, 转录因子IKAROS、PU.1、E2A、早期B-细胞

因子1(early B-cell factor1, EBF1)、配对盒5(paired box 5, PAX5)通过前馈、反馈环以及交叉拮抗作用相互连接, 构成复杂的网络来调节淋巴祖细胞产生B细胞功能性外周亚群<sup>[35]</sup>. 在胎儿肝脏中, B细胞是免疫细胞中最早发育的, 在RAG和IL-7信号的调节下,  $\mu$ H链和替代L链(SLCs)配对形成前B细胞受体(pre-BCR)<sup>[36–38]</sup>. miR-17-miR-92通过抑制PTEN基因(gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)的表达, 促使pre-B细胞经历第一个自身反应检查点, 建立中枢耐受转化为未成熟B细胞<sup>[39]</sup>. 作为未成熟的“过渡性”B细胞到达脾脏即和CD21、CD22同时获得IgD, 成熟后进入卵泡或边缘区. 妊娠31 wk, 胎儿嗜中性粒细胞开始产生<sup>[40]</sup>. 在出生后1–7 d, 在粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, GCSF)刺激下, 中性粒细胞呈“指数式”急剧增长<sup>[41]</sup>, 出生后第7天, 中性粒细胞数量恢复到稳定水平, 但此时它们的杀菌功能、炎性刺激的反应较弱, 对内皮细胞的粘附性和趋化性较差<sup>[42]</sup>, 这是由于B细胞共同受体低表达使B细胞的抗体反应能力较弱导致的. 此时B细胞在脾、卵泡外和生发中心增殖分化为PC(图2). 此时卵泡外分化相对不受控制, 产生分泌低亲和力抗体的短寿命浆细胞(short-lived plasma cell, SLPC)<sup>[43]</sup>. 然而, 生发中心允许外部信号整合以延迟浆细胞分化, 最终产生可以分泌高亲和力抗体的PC<sup>[44]</sup>. SIgM与B细胞上的Fc $\mu$ R相互作用, 促进早期B细胞活化<sup>[45]</sup>, 通过iLS细胞和B细胞诱导发现B细胞发育的编程是根据转录特征进行排序, 首

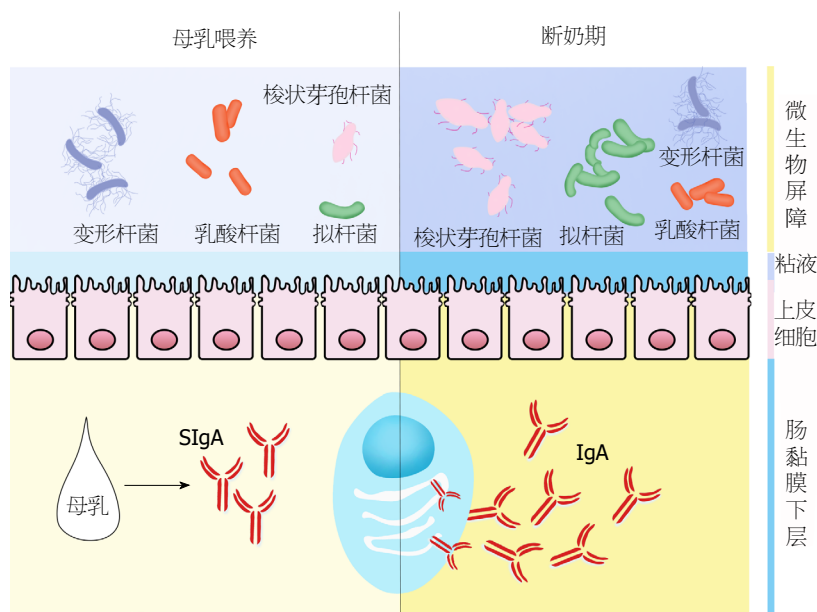


图1 断奶期肠道B细胞与肠道菌群发育相关性模式图。断奶前, 肠道中的抗体来自母乳中的SIgA, B细胞不产生抗体, 肠道菌群以变形杆菌和乳酸杆菌为主导; 断奶后, 肠道中原本由母乳提供的SIgA缺失, 肠道菌群总量增加, 产生的代谢产物刺激B细胞分化为成熟的浆细胞, 产生IgA, 此时肠道菌群以梭状芽孢杆菌和拟杆菌为主导, 逐渐趋向成人肠道菌群。

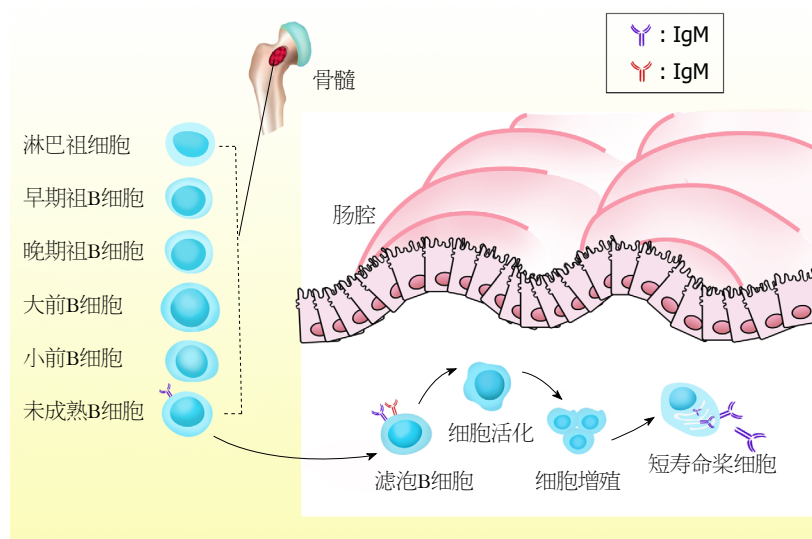


图2 肠道B细胞增殖发育模式图。B细胞由淋巴祖细胞分化而来, 在骨髓中经过早期祖B细胞、晚期祖B细胞、大前B细胞、小前B细胞形成未成熟B细胞, 其中1%~3%进入成熟B细胞库, 成熟B细胞进入肠淋巴结的淋巴滤泡, B细胞接触滤泡树突细胞上的抗原, 细胞活化增殖, 启动生发中心反应, 形成短寿命浆细胞。

先是基因表达涉及抑制与多能性相关的增强子和与替代细胞谱系相关的增强子或启动子, 其次激活与细胞周期进程和细胞代谢相关的基因, 再次建立一个B细胞分化因子的调节通路, 如E2A、Forkhead转录因子(forkhead box O1, FoxO1), EBF1和PAX5<sup>[46]</sup>。活化B细胞表达IL-6受体与Th2细胞产物IL-10共同作用, 增加PC数量、抑制Th1细胞产生细胞因子并诱导肠道PC分泌大量的IgG、SIgA和IgM。记忆B细胞(memory B cell, MB)活化后, CD27和CD20相互作用使B细胞产生Ig的作用

增强。另外B细胞通过转录因子和信号分子完成分化的分子机制包括下游信号蛋白布鲁氏酪氨酸激酶(bruton tyrosine kinase, Btk)、TLR<sup>[47]</sup>、B淋巴细胞诱导成熟蛋白(B-lymphocyte induced maturation protein1, Blimp-1), X-框结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP-1)和干扰素调节因子4(interferon regulation factor 4, IRF4)等转录因子的相互作用<sup>[48]</sup>, 其中尤为重要是IRF4, 其指导生发中心(germinal center, GC)的B细胞进行细胞自主性的分化, 与XBP1、Blimp-1共同决定PC的特性和功能, IRF4

瞬时爆发表达诱导表达Bcl-6的B细胞群产生<sup>[47]</sup>并介导PC分化<sup>[49]</sup>. 出生后, 新生儿接触大量外界抗原, IgG<sup>+</sup>和IgA<sup>+</sup> B细胞比例大量增加. 当B细胞受到抗原刺激后, 通过Ig基因座中的类别转换, 依次分泌IgM、IgG、IgA. 在1岁时, 儿童的IgG水平已达到成人水平的约70%, 但仅为成人IgA水平的30%, 说明肠道的B细胞还需继续分化和成熟.

### 3 肠道菌群和免疫系统的发育相关性

在子宫内, 胎儿免疫系统需要对母体同种异体抗原保持耐受. 出生后, 新生儿进入复杂抗原环境中. 在出生时, 肠腔中形成肠杆菌、葡萄球菌为主导的兼性厌氧和耐氧微生物, 同时CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Tregs数量丰富且可以良好执行其功能<sup>[50]</sup>, 这是由于微生物定殖影响肠道CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞数、T细胞活化状态、CD4亚群和肠微结构<sup>[51]</sup>. 更有趣的是, 出生后1-7 d内, 肠腔内微生物“爆炸式”增殖, 肠道免疫细胞中性粒细胞也呈“指数式”增长, 伴有单核细胞和巨噬细胞的发育. 最终在出生后第7天肠道形成厚壁菌、拟杆菌、放线菌、变形杆菌等为主导的微生物生态系统, 同时单核细胞和巨噬细胞也达到成熟状态, 肠道免疫细胞与肠道菌群二者的成熟相互平行, 从而适应肠道复杂的环境<sup>[52-55]</sup>.

在婴儿期之后, 肠道微生物群与免疫系统相互作用, 在平行发育中共同构建一个和谐有序的肠道微环境<sup>[56]</sup>. 断奶前, 肠道中的抗体来自母乳中的SIgA, B细胞不产生抗体, 肠道菌群以变形杆菌和乳酸杆菌为主导; 断奶后, 肠道中原本由母乳提供的SIgA缺失, 肠道菌群总量增加, 产生的代谢产物刺激B细胞分化为成熟的浆细胞, 产生IgA<sup>[57]</sup>, 此时肠道菌群以梭状芽孢杆菌和拟杆菌为主导, 逐渐趋向成人肠道菌群<sup>[58]</sup>. 小鼠出生后第14-21天(断奶期), 小肠固有层绒毛和上皮内的B细胞和T细胞数目显著增多, 与此同时, 肠道拟杆菌逐渐呈主导地位, 细菌总量也显著增加, 免疫细胞和肠道微生物的数量变化平行. 一项关于断奶期肠道免疫细胞和拟杆菌的研究可为上述平行性提供理论依据. 经多形拟杆菌或是肠道微生物群定殖的GF小鼠血管生成素(angiotensin 4, Ang4)可恢复至正常水平, 这表明在断奶期间诱导Ang4表达需要肠道微生物群, 推测断奶期由于母乳免疫球蛋白介导的被动免疫逐步减弱, 肠道菌群改变, 刺激肠道免疫细胞和抗菌成分的改变, 从而参与肠道上皮宿主免疫<sup>[42]</sup>. 免疫系统中PC和细菌的分布具有平行性, 从肠道近端到远端, 免疫系统中PC的逐渐增多, 在结肠内达到峰值. 与此相平行地, 从上到下, 细菌的数量逐渐递增, 十二指肠约为10<sup>2</sup> cfu/mL, 空肠约为10<sup>2</sup> cfu/mL, 近端回肠约为10<sup>3</sup> cfu/mL, 远端回肠约为10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> cfu/mL, 结

肠约为10<sup>11</sup>-10<sup>22</sup> cfu/mL, 细菌数量与PC一样在结肠处达到峰值<sup>[59]</sup>, 这是由于细菌数量呈通过抗原特异性和非特异性方式使得肠道免疫系统发育完善, 使得肠道菌群定植于肠道中, 此时肠道免疫系统已经具有维持宿主与这些高度多样化和不断发展的微生物的共生关系的手段<sup>[60]</sup>.

### 4 肠道菌群与慢性免疫疾病

4.1 新生儿肠道微生物与哮喘 在出生后的第一年, 肠道微生物群的组成不断成熟, 微生物可能影响宿主的免疫成熟的能力. 在此阶段, 如果肠道微生物的紊乱会导致哮喘、过敏和其他免疫疾病的发生. 因此, 肠道微生物可能是一个重要的环境因素, 决定了从健康到疾病的过渡. 事实上, 一些研究结果显示婴儿体内的微生物群落会因为出生方式、饮食、环境和抗生素使用等原因而有所不同, 而这种差异可能会影响这些孩子们患病的几率, 比如哮喘和过敏<sup>[61]</sup>. 而婴儿粪便中如含有拉希诺皮拉菌、韦荣球菌、粪细菌、罗斯氏菌四种肠道细菌, 即可较为准确的预测患哮喘的风险明显增加, 而且通过控制这些肠道细菌的组成还有可能找到预防儿童哮喘的方法<sup>[62]</sup>. 提示肠道菌群数量和丰度降低时, 其患哮喘的可能性增大.

4.2 抗生素与肠道菌群紊乱 越来越多的医务工作者发现抗生素的滥用往往导致肠道菌群的失调. 实验证明围产期抗生素给药后第7天, 婴儿肠道中放线菌属和拟杆菌类比例降低, 而变形菌和厚壁菌比例增加, 出现肠道菌群失调<sup>[63]</sup>, 出生后3-9 mo内瘤胃球菌(*ruminococcus*)和梭状杆菌(*clostridium*)数量大幅下降, 微生物群成熟延迟<sup>[10]</sup>, T细胞、B细胞发生紊乱, 中性粒细胞和巨噬细胞的数量均不再增加<sup>[64]</sup>, DC轴突变小萎缩, 甚至无法在粪便中检测到微生物群而当肠道以假单胞菌属为主时, 多样性的减少尤为突出<sup>[65]</sup>. 在一项为期7 d的克林霉素疗程后2年, 人类粪便微生物依旧没有完全恢复并持续发生变化<sup>[66]</sup>, 这提示即使是短暂的抗生素扰动也会导致微生物群恒久的改变. 当然, 也有相反的研究认为, 婴儿接触抗生素对肠道微生物组的影响并不明显<sup>[67]</sup>. 抗生素、肠道菌群和免疫三者之间复杂的相互作用引发了临床工作者的广泛关注, 而肠道菌群与慢性免疫疾病的相关性也对未来以广大临床工作者微生物为基础的诊断和治疗提供了更进一步的可能性. 许多炎症性疾病受到先天免疫系统和微生物菌群之间交叉信号转导异常的影响, 包括代谢类疾病、肿瘤疾病和自身免疫性疾病或自身炎症性疾病, 比如溃疡性结肠炎、自身免疫性肝病等<sup>[68]</sup>. 通过饮食干预及其调节微生物菌群与免疫系统相互作用, 机



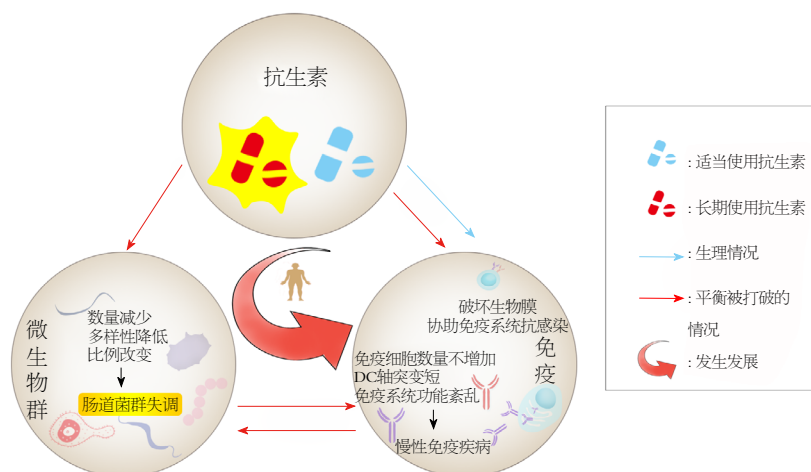


图3 人体中抗生素、微生物群和免疫关系模式图。适当使用抗生素, 可通过破坏生物膜, 协助免疫系统抗感染; 若长期使用抗生素, 可引起微生物群数量减少、多样性降低、比例改变, 肠道菌群失调进一步导致DC轴突变短、免疫系统功能紊乱, 导致慢性免疫疾病<sup>[63,69,70]</sup>。

体菌群失衡, 此时应该多补充有益菌, 恢复菌群平衡, 强化先天免疫系统, 这样才有希望成为健康、强壮的“先天高手”。

## 5 结论

在健康人群以及其它动物的肠道中有数以万亿计的细菌生存, 肠道细菌对于维持机体消化和维生素代谢以及对于宿主的健康功不可没。肠道微生物菌群在肠道免疫系统的形成上扮演着重要作用, 当遇到有害刺激时, 肠道菌群可以迅速通过与免疫系统相协同发挥调节作用, 同时这些变化也可多种疾病的研究提供潜在帮助(图3<sup>[63,69,70]</sup>)。由此可见, 肠道菌群和肠道免疫的相互依存成为人体肠道健康的“守护者”。

## 6 参考文献

- Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res* 2017; 4: 14 [PMID: 28465831 DOI: 10.1186/s40779-017-0122-9]
- Jost T, Lacroix C, Braegger C, Chassard C. Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutr Rev* 2015; 73: 426-437 [PMID: 26081453 DOI: 10.1093/nutrit/nuu016]
- Obata Y, Pachnis V. The Effect of Microbiota and the Immune System on the Development and Organization of the Enteric Nervous System. *Gastroenterology* 2016; 151: 836-844 [PMID: 27521479 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.07.044]
- Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med* 2017; 23: 314-326 [PMID: 28112736 DOI: 10.1038/nm.4272]
- Stinson LF, Payne MS, Keelan JA. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Crit Rev Microbiol* 2017; 43: 352-369 [PMID: 27931152 DOI: 10.1080/1040841X.2016.1211088]
- Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int* 2017; 66: 515-522 [PMID: 28826938 DOI: 10.1016/j.alit.2017.07.010]
- Del Chierico F, Vernocchi P, Petrucca A, Paci P, Fuentes S, Praticò G, Capuani G, Masotti A, Reddel S, Russo A, Vallone C, Salvatori G, Buffone E, Signore F, Rigon G, Dotta A, Miccheli A, de Vos WM, Dallapiccola B, Putignani L. Phylogenetic and Metabolic Tracking of Gut Microbiota during Perinatal Development. *PLoS One* 2015; 10: e0137347 [PMID: 26332837 DOI: 10.1371/journal.pone.0137347]
- Matsuki T, Yahagi K, Mori H, Matsumoto H, Hara T, Tajima S, Ogawa E, Kodama H, Yamamoto K, Yamada T, Matsumoto S, Kurokawa K. A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. *Nat Commun* 2016; 7: 11939 [PMID: 27340092 DOI: 10.1038/ncomms11939]
- Hansen R, Scott KP, Khan S, Martin JC, Berry SH, Stevenson M, Okpapi A, Munro MJ, Hold GL. First-Pass Meconium Samples from Healthy Term Vaginally-Delivered Neonates: An Analysis of the Microbiota. *PLoS One* 2015; 10: e0133320 [PMID: 26218283 DOI: 10.1371/journal.pone.0133320]
- Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, D Lieber A, Wu F, Perez-Perez GL, Chen Y, Schweizer W, Zheng X, Contreras M, Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med* 2016; 8: 343ra82 [PMID: 27306664 DOI: 10.1126/scitranslmed.aad7121]
- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6: 237ra65 [PMID: 24848255 DOI: 10.1126/scitranslmed.3008599]
- 荫士安. 母乳中微生物及在婴儿免疫系统启动与发育中的作用. *中国妇幼健康研究* 2017; 28: 619-624 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-5293.2017.06.001]
- Zhao XQ, Guo S, Lu YY, Hua Y, Zhang F, Yan H, Shang EX, Wang HQ, Zhang WH, Duan JA. Lycium barbarum L. leaves ameliorate type 2 diabetes in rats by modulating metabolic profiles and gut microbiota composition. *Biomed Pharmacother* 2019; 121: 109559 [PMID: 31734581 DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109559]
- de Muinck EJ, Trosvik P. Individuality and convergence of the infant gut microbiota during the first year of life. *Nat Commun* 2018; 9: 2233 [PMID: 29884786 DOI: 10.1038/s41467-018-04641-7]
- Makino H, Martin R, Ishikawa E, Gawad A, Kubota H, Sakai T, Oishi K, Tanaka R, Ben-Amor K, Knol J, Kushi A. Multilocus sequence typing of bifidobacterial strains from infant's faeces and human milk: are bifidobacteria being

- sustainably shared during breastfeeding? *Benef Microbes* 2015; 6: 563-572 [PMID: 25691099 DOI: 10.3920/BM2014.0082]
- 16 Vallès Y, Artacho A, Pascual-García A, Ferrús ML, Gosalbes MJ, Abellán JJ, Francino MP. Microbial succession in the gut: directional trends of taxonomic and functional change in a birth cohort of Spanish infants. *PLoS Genet* 2014; 10: e1004406 [PMID: 24901968 DOI: 10.1371/journal.pgen.1004406]
  - 17 Laursen MF, Bahl MI, Michaelsen KF, Licht TR. First Foods and Gut Microbes. *Front Microbiol* 2017; 8: 356 [PMID: 28321211 DOI: 10.3389/fmicb.2017.00356]
  - 18 Ma J, Prince AL, Bader D, Hu M, Ganu R, Baquero K, Blundell P, Alan Harris R, Frias AE, Grove KL, Aagaard KM. High-fat maternal diet during pregnancy persistently alters the offspring microbiome in a primate model. *Nat Commun* 2014; 5: 3889 [PMID: 24846660 DOI: 10.1038/ncomms4889]
  - 19 Costea PI, Hildebrand F, Arumugam M, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman FD, de Vos WM, Ehrlich SD, Fraser CM, Hattori M, Huttenhower C, Jeffery IB, Knights D, Lewis JD, Ley RE, Ochman H, O'Toole PW, Quince C, Relman DA, Shanahan F, Sunagawa S, Wang J, Weinstock GM, Wu GD, Zeller G, Zhao L, Raes J, Knight R, Bork P. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol* 2018; 3: 8-16 [PMID: 29255284 DOI: 10.1038/s41564-017-0072-8]
  - 20 Chassaing B, Vijay-Kumar M, Gewirtz AT. How diet can impact gut microbiota to promote or endanger health. *Curr Opin Gastroenterol* 2017; 33: 417-421 [PMID: 29019865 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000401]
  - 21 Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy* 2013; 43: 198-211 [PMID: 23331561 DOI: 10.1111/cea.12063]
  - 22 Martin R, Makino H, Cetinyurek Yavuz A, Ben-Amor K, Roelofs M, Ishikawa E, Kubota H, Swinkels S, Sakai T, Oishi K, Kushi A, Knol J. Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota. *PLoS One* 2016; 11: e0158498 [PMID: 27362264 DOI: 10.1371/journal.pone.0158498]
  - 23 Murphy K, Curley D, O'Callaghan TF, O'Shea CA, Dempsey EM, O'Toole PW, Ross RP, Ryan CA, Stanton C. The Composition of Human Milk and Infant Faecal Microbiota Over the First Three Months of Life: A Pilot Study. *Sci Rep* 2017; 7: 40597 [PMID: 28094284 DOI: 10.1038/srep40597]
  - 24 Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015; 26: 26191 [PMID: 25651997 DOI: 10.3402/mehd.v26.26191]
  - 25 Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, Belzer C, Delgado Palacio S, Arboleya Montes S, Mancabelli L, Lugli GA, Rodriguez JM, Bode L, de Vos W, Gueimonde M, Margolles A, van Sinderen D, Ventura M. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev* 2017; 81 [PMID: 29118049 DOI: 10.1128/MMBR.00036-17]
  - 26 Sánchez B, Gueimonde M, Peña AS, Bernardo D. Intestinal microbiota as modulators of the immune system. *J Immunol Res* 2015; 2015: 159094 [PMID: 25821835 DOI: 10.1155/2015/159094]
  - 27 石春卫, 陈毅秋, 胡静涛, 杨桂连, 王春风. 肠道微生物群对宿主免疫系统发育和功能的调节. *中国免疫学杂志* 2016; 32: 1536-1540 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2016.10.028]
  - 28 Basha S, Surendran N, Pichichero M. Immune responses in neonates. *Expert Rev Clin Immunol* 2014; 10: 1171-1184 [PMID: 25088080 DOI: 10.1586/1744666X.2014.942288]
  - 29 孙冬岩, 王文娟, 孙笑非. 肠道菌群的建立及其与免疫系统发育和成熟的关系. *饲料研究* 2018; 01: 37-39,43 [DOI: 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2018.01.010]
  - 30 Nagalingam NA, Kao JY, Young VB. Microbial ecology of the murine gut associated with the development of dextran sodium sulfate-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 917-926 [PMID: 21391286 DOI: 10.1002/ibd.21462]
  - 31 Förster-Waldl E, Sadeghi K, Tamandl D, Gerhold B, Hallwirth U, Rohrmeister K, Hayde M, Prusa AR, Herkner K, Boltz-Nitulescu G, Pollak A, Spittler A. Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatr Res* 2005; 58: 121-124 [PMID: 15879290 DOI: 10.1203/01.PDR.0000163397.53466.0F]
  - 32 Blahnik MJ, Ramanathan R, Riley CR, Minoo P. Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha and IL-10 production by lung macrophages from preterm and term neonates. *Pediatr Res* 2001; 50: 726-731 [PMID: 11726731 DOI: 10.1203/00006450-200112000-00016]
  - 33 Yu JC, Khodadadi H, Malik A, Davidson B, Salles ÉDSL, Bhatia J, Hale VL, Baban B. Innate Immunity of Neonates and Infants. *Front Immunol* 2018; 9: 1759 [PMID: 30105028 DOI: 10.3389/fimmu.2018.01759]
  - 34 Rossi D. Notch signaling in peripheral T-cell lymphoma: revelations from immunohistochemistry. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 480-481 [PMID: 24093834 DOI: 10.3109/10428194.2013.842993]
  - 35 Boller S, Grosschedl R. The regulatory network of B-cell differentiation: a focused view of early B-cell factor 1 function. *Immunol Rev* 2014; 261: 102-115 [PMID: 25123279 DOI: 10.1111/imr.12206]
  - 36 Hardy RR, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 595-621 [PMID: 11244048 DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.595]
  - 37 Milne CD, Paige CJ. IL-7: a key regulator of B lymphopoiesis. *Semin Immunol* 2006; 18: 20-30 [PMID: 16303314 DOI: 10.1016/j.smim.2005.10.003]
  - 38 Melchers F. The pre-B-cell receptor: selector of fitting immunoglobulin heavy chains for the B-cell repertoire. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 578-584 [PMID: 15999097 DOI: 10.1038/nri1649]
  - 39 Lai M, Gonzalez-Martin A, Cooper AB, Oda H, Jin HY, Shepherd J, He L, Zhu J, Nemazee D, Xiao C. Regulation of B-cell development and tolerance by different members of the miR-17~92 family microRNAs. *Nat Commun* 2016; 7: 12207 [PMID: 27481093 DOI: 10.1038/ncomms12207]
  - 40 杜蕾, 孙静, 葛良鹏, 刘作华. 肠道菌群对动物免疫系统早期发育的影响. *中国畜牧杂志* 2017; 53: 10-14 [DOI: 10.19556/j.0258-7033.2017-06-010]
  - 41 张贺, 王玉娥, 陈洪岩. 肠道菌群参与宿主免疫应答的作用及机制研究进展. *微生物学报* 2019; 1-14 [DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20190318]
  - 42 Nussbaum C, Gloning A, Pruenster M, Frommhold D, Bierschenk S, Genzel-Boroviczeny O, von Andrian UH, Quackebush E, Sperandio M. Neutrophil and endothelial adhesive function during human fetal ontogeny. *J Leukoc Biol* 2013; 93: 175-184 [PMID: 23233729 DOI: 10.1189/jlb.0912468]
  - 43 陈毅秋, 石春卫, 姜延龙, 叶丽萍, 王春风. 肠道菌群与B细胞发育的相互调节作用. *中国免疫学杂志* 2017; 33: 140-143 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2017.01.030]
  - 44 Oracki SA, Walker JA, Hibbs ML, Corcoran LM, Tarlinton DM. Plasma cell development and survival. *Immunol Rev* 2010; 237: 140-159 [PMID: 20727034 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00940.x]
  - 45 Nguyen TTT, Graf BA, Randall TD, Baumgarth N. sIgM-FcγR Interactions Regulate Early B Cell Activation and Plasma Cell Development after Influenza Virus Infection. *J Immunol* 2017; 199: 1635-1646 [PMID: 28747342 DOI: 10.4049/jimmunol.1700560]

- 46 Miyai T, Takano J, Endo TA, Kawakami E, Agata Y, Motomura Y, Kubo M, Kashima Y, Suzuki Y, Kawamoto H, Ikawa T. Three-step transcriptional priming that drives the commitment of multipotent progenitors toward B cells. *Genes Dev* 2018; 32: 112-126 [PMID: 29440259 DOI: 10.1101/gad.309575.117]
- 47 Ochiai K, Maienschein-Cline M, Simonetti G, Chen J, Rosenthal R, Brink R, Chong AS, Klein U, Dinner AR, Singh H, Sciammas R. Transcriptional regulation of germinal center B and plasma cell fates by dynamical control of IRF4. *Immunity* 2013; 38: 918-929 [PMID: 23684984 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.04.009]
- 48 Nutt SL, Taubenheim N, Hasbold J, Corcoran LM, Hodgkin PD. The genetic network controlling plasma cell differentiation. *Semin Immunol* 2011; 23: 341-349 [PMID: 21924923 DOI: 10.1016/j.smim.2011.08.010]
- 49 Sciammas R, Shaffer AL, Schatz JH, Zhao H, Staudt LM, Singh H. Graded expression of interferon regulatory factor-4 coordinates isotype switching with plasma cell differentiation. *Immunity* 2006; 25: 225-236 [PMID: 16919487 DOI: 10.1016/j.immuni.2006.07.009]
- 50 尹晓岚, 王凤云, 田亚欣, 段园志, 唐旭东. 肠易激综合征肠道菌群失调与脑-肠轴调节紊乱的相关性. *胃肠病学* 2017; 22: 59-62 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2017.01.014]
- 51 Gomez de Agüero M, Ganai-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y, Li H, Steinert A, Heikenwalder M, Hapfelmeier S, Sauer U, McCoy KD, Macpherson AJ. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science* 2016; 351: 1296-1302 [PMID: 26989247 DOI: 10.1126/science.aad2571]
- 52 Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 2012; 489: 231-241 [PMID: 22972296 DOI: 10.1038/nature11551]
- 53 Wesemann DR, Portuguese AJ, Meyers RM, Gallagher MP, Cluff-Jones K, Magee JM, Panchakshari RA, Rodig SJ, Kepler TB, Alt FW. Microbial colonization influences early B-lineage development in the gut lamina propria. *Nature* 2013; 501: 112-115 [PMID: 23965619 DOI: 10.1038/nature12496]
- 54 Ygberg S, Nilsson A. The developing immune system - from foetus to toddler. *Acta Paediatr* 2012; 101: 120-127 [PMID: 22003882 DOI: 10.1111/j.1651-2227.2011.02494.x]
- 55 Hanne I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyère M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today* 1992; 13: 215, 218 [PMID: 1627249 DOI: 10.1016/0167-5699(92)90157-3]
- 56 Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Schrenzel MD, Knight R, Gordon JI. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 2008; 320: 1647-1651 [PMID: 18497261 DOI: 10.1126/science.1155725]
- 57 Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, Kuzeljevic B, Gold MJ, Britton HM, Lefebvre DL, Subbarao P, Mandhane P, Becker A, McNagny KM, Sears MR, Kollmann T; CHILd Study Investigators, Mohn WW, Turvey SE, Finlay BB. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med* 2015; 7: 307ra152 [PMID: 26424567 DOI: 10.1126/scitranslmed.aab2271]
- 58 Ober C, Sperling AI, von Mutius E, Vercelli D. Immune development and environment: lessons from Amish and Hutterite children. *Curr Opin Immunol* 2017; 48: 51-60 [PMID: 28843541 DOI: 10.1016/j.coi.2017.08.003]
- 59 Sevelsted A, Stokholm J, Bønnelykke K, Bisgaard H. Cesarean section and chronic immune disorders. *Pediatrics* 2015; 135: e92-e98 [PMID: 25452656 DOI: 10.1542/peds.2014-0596]
- 60 Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014; 157: 121-141 [PMID: 24679531 DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011]
- 61 Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5: e177 [PMID: 17594176 DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177]
- 62 李岷, 吴信华, 曹园. 采用高通量测序技术研究抗生素对小鼠肠道菌群的影响. *中国微生态学杂志* 2019; 31: 993-999,1004 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201909001]
- 63 Nogacka A, Salazar N, Suárez M, Milani C, Arbolea S, Solís G, Fernández N, Alaez L, Hernández-Barranco AM, de Los Reyes-Gavilán CG, Ventura M, Gueimonde M. Impact of intrapartum antimicrobial prophylaxis upon the intestinal microbiota and the prevalence of antibiotic resistance genes in vaginally delivered full-term neonates. *Microbiome* 2017; 5: 93 [PMID: 28789705 DOI: 10.1186/s40168-017-0313-3]
- 64 Ray A, Basu S, Gharaibeh RZ, Cook LC, Kumar R, Lefkowitz EJ, Walker CR, Morrow CD, Franklin CL, Geiger TL, Salzman NH, Fodor A, Dittel BN. Gut Microbial Dysbiosis Due to Helicobacter Drives an Increase in Marginal Zone B Cells in the Absence of IL-10 Signaling in Macrophages. *J Immunol* 2015; 195: 3071-3085 [PMID: 26324769 DOI: 10.4049/jimmunol.1500153]
- 65 Dellacecca ER, Cosgrove C, Mukhatayev Z, Akhtar S, Engelhard VH, Rademaker AW, Knight K, Le Poole IC. Antibiotics drive microbial imbalance and vitiligo development in mice. *J Invest Dermatol* 2019 [PMID: 31472106 DOI: 10.1016/j.jid.2019.08.435]
- 66 李娜, 赵玉民, 陈正元, 王碧君, 罗霞, 王青, 何国林, 熊天琴, 桑传兰. 抗生素诱导肠道菌群失调对肠黏膜屏障和肝脏功能的动态影响. *动物营养学报* 2019; 31: 1278-1287 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2019.03.033]
- 67 Liu Y, Qin S, Song Y, Feng Y, Lv N, Xue Y, Liu F, Wang S, Zhu B, Ma J, Yang H. The Perturbation of Infant Gut Microbiota Caused by Cesarean Delivery Is Partially Restored by Exclusive Breastfeeding. *Front Microbiol* 2019; 10: 598 [PMID: 30972048 DOI: 10.3389/fmicb.2019.00598]
- 68 朱元民, 李琳. 肠道菌群研究进展对相关疾病诊治的新认识. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 2095-2101 [DOI: 10.11569/wjcd.v25.i23.2095]
- 69 Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med* 2016; 8: 39 [PMID: 27074706 DOI: 10.1186/s13073-016-0294-z]
- 70 Götz F, Perconti S, Popella P, Werner R, Schlag M. Epidermin and gallidermin: Staphylococcal lantibiotics. *Int J Med Microbiol* 2014; 304: 63-71 [PMID: 24119540 DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.08.012]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





# 老年胃食管反流患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性分析

童丽琴

童丽琴, 浙江省金华市第二医院 浙江省金华市 322000

童丽琴, 主管护师, 主要从事老年睡眠临床研究.

作者贡献分布: 本文由童丽琴独立完成.

通讯作者: 童丽琴, 主管护师, 322000, 浙江省金华市婺城区宾虹路方岩街158号, 浙江省金华市第二医院. tongliqin0101@126.com  
电话: 0579-82271716

收稿日期: 2019-11-04

修回日期: 2019-11-21

接受日期: 2019-11-25

在线出版日期: 2019-12-08

## Correlation of sleep quality with mental state and quality of life in elderly patients with gastroesophageal reflux

Li-Qin Tong

Li-Qin Tong, The Second Hospital of Jinhua City, Jinhua 322000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Li-Qin Tong, Chief Nurse, The Second Hospital of Jinhua City, No. 158, Fangyan Street, Binhong Road, Wucheng District, Jinhua 322000, Zhejiang Province, China. tongliqin0101@126.com

Received: 2019-11-04

Revised: 2019-11-21

Accepted: 2019-11-25

Published online: 2019-12-08

## Abstract

### BACKGROUND

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is one of the

common diseases of the digestive system, and long-term and repeated attacks of the disease greatly affect the quality of life and sleep quality of patients. It is of important significance to improve the sleep quality and mental state of these patients to improve their treatment compliance and quality of life.

### AIM

To investigate the correlation of sleep quality with mental state and quality of life in elderly patients with GERD.

### METHODS

One hundred and twenty elderly patients with GERD treated at the Second Hospital of Jinhua City, Zhejiang Province from January 2018 to September 2019 were enrolled, including 70 without sleep disorders (control group) and 50 with sleep disorders (observation group). Sleep quality, mental status, and quality of life scale scores were evaluated in all patients, and Pearson and Spearman correlation analyses were performed.

### RESULTS

Compared with the control group, the scores of all dimensions of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) scale increased significantly in the observation group ( $P < 0.05$ ), with the increase in the scores of time to sleep, sleep duration, and sleep disorders more prominent ( $P < 0.01$ ). Compared with the control group, the scores of somatization, anxiety, depression, paranoia, force, and psychosis of the SCL-90 were significantly higher in the observation group ( $P < 0.05$ ), while those of hostile, terror, and interpersonal sensitivity showed no significant change ( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, the scores of physical functioning, physical role, general health, vitality, social function,

emotional function, and mental health of the SF-36 were significantly lower in the observation group ( $P < 0.05$ ), while the score of bodily pain increased significantly ( $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that the scores of the eight dimensions of the SF-36 were negatively correlated with the scores of somatization, anxiety, depression, paranoia, force, and psychosis of the SCL-90 ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Sleep disorder in elderly GERD patients is an important factor affecting psychological state and quality of life, and quality of life is negatively correlated with somatization, anxiety, depression, paranoia, compulsion, and psychosis of the SCL-90. Therefore, attention should be paid to patients' mental state to improve their quality of life and sleep in clinical practice.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Old age; Gastroesophageal reflux; Sleep quality; Mental state; Quality of life; Correlation

Tong LQ. Correlation of sleep quality with mental state and quality of life in elderly patients with gastroesophageal reflux. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1454-1459

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1454.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1454>

## 摘要

### 背景

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是消化系统常见疾病之一,病情长期反复发作将影响患者生活质量和睡眠质量.改善GERD患者睡眠质量和减轻负面心理情绪,对提高治疗依从性和生活质量具有重要指导意义.

### 目的

旨在探讨老年GERD患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性分析.

### 方法

选择2018-01/2019-09在浙江省金华市第二医院就诊的老年GERD患者120例为研究对象,其中不伴有睡眠障碍70例为对照组,伴有睡眠障碍50例为观察组.对所有患者进行睡眠质量评估,心理状态及生活质量量表评分,并采用Pearson相关和Spearman相关分析各变量与生活质量相关性.

### 结果

与对照组比较,观察组患者匹兹堡睡眠质量指数量表(pittsburgh sleep quality index, PSQI)各项因子评分

均升高,差异比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中入睡时间,睡眠时间,睡眠障碍三项因子得分明显升高( $P < 0.01$ ).与对照组比较,观察组SCL-90中躯体化,焦虑,抑郁,偏执,强迫和精神病性各维度评分均升高( $P < 0.05$ ),而敌对,恐怖及人际关系敏感评分变化不显著( $P > 0.05$ ).与对照组比较,观察组SF-36中的生理机能,生理职能,一般健康状况,精力,社会功能,情感职能以及精神健康等评分均降低( $P < 0.05$ ),而躯体疼痛评分明显升高( $P < 0.05$ ).采用Pearson相关性分析,SF-36中8个维度与SCL-90中躯体化,焦虑,抑郁,偏执,强迫和精神病性均呈负相关( $P < 0.05$ ).

## 结论

老年GERD患者睡眠障碍是影响心理状态和生活质量的重要因素,且生活质量和SCL-90中躯体化,焦虑,抑郁,偏执,强迫和精神病性均呈负相关,在临床中应关注患者心理状态,提高生活质量和睡眠质量.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 老年; 胃食管反流; 睡眠质量; 心理状态; 生活质量; 相关性

**核心提要:** 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)病情易反复发作,增加患者经济负担和负面情绪,严重影响患者生活质量和睡眠质量.对老年GERD患者的睡眠质量与心理状态和生活质量进行分析,对改善GERD患者睡眠质量和减轻负面心理情绪,提高治疗依从性和生活质量具有重要意义.

童丽琴. 老年胃食管反流患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(23): 1454-1459

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1454.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1454>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是消化系统常见疾病之一,主要以烧心、反流为临床表现,病情长期反复发作将影响患者生活质量,在一定程度上增加患者经济负担和负面情绪,进而影响睡眠质量<sup>[1,2]</sup>.睡眠是人体必有的一种生理现象,良好的睡眠能帮助患者恢复体力和精力,对维持人体生命活动具有重要意义.有研究表明<sup>[3,4]</sup>,睡眠障碍是影响老年GERD患者心理状态和生活质量的重要因素之一.因此,本研究对我院收治的120例老年GERD患者的睡眠质量与心理状态和生活质量进行分析,旨在改善GERD患者睡眠质量和减轻负面心理情绪,提高治疗

依从性和生活质量. 现报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2018-01/2019-09在浙江省金华市第二医院就诊的老年GERD患者120例为研究对象, 其中不伴有睡眠障碍为对照组, 共70例, 其中男36例, 女24例; 年龄62-79岁, 平均69.2岁 $\pm$ 9.4岁; 病程1-9年, 平均5.2年 $\pm$ 2.6年. 伴有睡眠障碍者为观察组, 共50例, 其中男26例, 女24例; 年龄61-78岁, 平均68.2岁 $\pm$ 9.1岁; 病程1-10年, 平均5.7年 $\pm$ 2.8年. 2组患者性别、年龄及病程等资料比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ). 诊断均符合GERD标准. 纳入标准: (1)近3 mo内行内镜检查发现有糜烂性食管炎者; (2)质子泵抑制剂经验性治疗阳性者; (3)具有一定的沟通交流能力者; (4)均知情同意者; (5)均经过医院伦理委员会批准同意者. 排除标准: (1)胃食管有器质性病变者, 或手术史者; (2)非老年患者; (3)既往有精神疾病史和严重神经系统疾病者; (4)依从性差者.

**1.2 方法** 发放量表, 在调查问卷前认真细心向患者讲解研究目的, 注意事项等, 要求患者均独立完成问卷调查, 完成后当场回收量表. (1)睡眠质量的测量采用匹兹堡睡眠质量指数量表(pittsburgh sleep quality index, PSQI)<sup>[5]</sup>, 该量表由睡眠质量, 睡眠潜伏期, 睡眠持续时间, 睡眠效率, 睡眠紊乱, 服用药物情况和白天功能状态7个维度组成, 每个维度按0-3分等级计分, 总分21分, PSQI $>7$ 分表示睡眠质量下降, PSQI $\leq 7$ 分表示睡眠质量正常, 得分越高睡眠质量越差; (2)心理状态采用症状自评量表(symptom checkli-90, SCL-90)<sup>[6]</sup>, 共90个项目, 包括躯体化, 敌对, 焦虑, 抑郁, 恐怖, 偏执, 强迫, 人际关系敏感和精神病性9个因子. 每个项目按0-4分评分, 评分越高心理状态越差; (3)生活质量采用国际普适生活质量量表(SF-36)测评<sup>[7]</sup>, 由36个因子组成, 包括生理机能, 生理职能, 躯体疼痛, 一般健康状况, 精力, 社会功能, 情感职能以及精神健康8个维度, 各维度总分100分, 除躯体疼痛外, 得分越高健康状况越好.

**统计学处理** 采用SPSS 23.0软件分析数据. 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 采用 $t$ 检验; 采用Pearson相关和Spearman相关分析各变量与生活质量相关性.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 有效问卷调查结果分析** 发放调查问卷120份, 当场回收问卷120份, 问卷有效回收率为100%.

**2.2 2组GERD患者睡眠质量评分比较** 与对照组比较, 观察组患者PSQI各项因子评分均升高, 差异比较有统计学意义( $P<0.05$ ), 其中入睡时间, 睡眠时间, 睡眠障碍

三项因子得分明显升高( $P<0.01$ )(表1).

**2.3 2组GERD患者SCL-90评分比较** 与对照组比较, 观察组SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性各维度评分均升高( $P<0.05$ ), 而敌对, 恐怖及人际关系敏感评分变化不显著( $P>0.05$ )(表2).

**2.4 2组GERD患者SF-36各维度评分比较** 与对照组比较, 观察组SF-36中的生理机能, 生理职能, 一般健康状况, 精力, 社会功能, 情感职能以及精神健康等评分均降低( $P<0.05$ ), 而躯体疼痛评分明显升高( $P<0.05$ )(表3).

**2.5 老年GERD患者睡眠障碍与焦虑抑郁和生活质量相关性分析** 采用Pearson相关性分析, SF-36中8个维度与SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性均呈负相关( $P<0.05$ )(表4).

## 3 讨论

GERD是指胃、十二指肠内容物反流至食管引起的不适症状和(或)并发症, 以老年患者多见<sup>[8]</sup>. 本研究对120例老年GERD患者睡眠情况进行调查分析, 结果表明, 老年GERD患者伴有睡眠障碍70例(58.33%), 且患者PSQI各项因子评分均升高( $P<0.05$ ), 其中入睡时间, 睡眠时间, 睡眠障碍三项因子得分明显升高( $P<0.01$ ), 由此说明, 难以入睡, 易醒、睡眠时间不足和严重睡眠障碍是影响老年GERD患者睡眠质量的重要因素. 在临床工作中针对影响睡眠质量的因素进行干预是提高睡眠质量的关键所在.

有学者研究表明<sup>[9,10]</sup>, 心理因素是影响老年GERD患者睡眠质量的重要因素. 由于GERD病情反复, 受环境、饮食多种因素的影响, 再加上长期服药, 病情控制欠佳, 患者总感到身体不舒服, 担心病情加重, 或有并发症发生, 从而出现焦虑、抑郁、担心、害怕等负面心理. 患者长期到医院就诊, 感觉自己成为家人的累赘, 对恢复疾病失去信心, 意志消沉, 甚至不愿意与家人、朋友及亲戚交流病情, 沉默寡言, 害怕别人讥笑. 研究结果表明, 观察组SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性各维度评分均升高( $P<0.05$ ), 而敌对, 恐怖及人际关系敏感评分变化不显著( $P>0.05$ ). 所以在临床工作中要针对患者可能出现的担心、害怕采取合理的干预, 消除患者对疾病治疗的怀疑, 增强患者对医生治疗的信任, 相信医生, 认真接受治疗.

睡眠障碍和长期负面心理情绪是影响老年GERD患者生活质量的重要因素之一, 采取个体化的干预方案能有效改善患者睡眠质量和负面情绪<sup>[11]</sup>. 有学者研究表明<sup>[12,13]</sup>, 心理护理能有效改善老年GERD患者心理健康状况, 树立患者战胜疾病的信心, 促使疾病早日康复. 本研究表明, 观察组SF-36中的生理机能, 生理职



表 1 2组患者睡眠质量情况分析(mean ± SD)

项目	<i>n</i>	睡眠质量	入睡时间	睡眠时间	睡眠效率	睡眠障碍	催眠药物	日间功能	总分
对照组	50	1.02 ± 0.63	1.02 ± 0.75	0.87 ± 0.23	0.68 ± 0.25	1.01 ± 0.55	0.22 ± 0.08	1.08 ± 0.43	5.87 ± 2.02
观察组	70	1.34 ± 0.62	1.27 ± 0.58	1.25 ± 0.36	1.73 ± 0.24	1.62 ± 0.45	0.34 ± 0.13	1.52 ± 0.38	7.45 ± 1.92
<i>t</i> 值		2.336	2.763	6.325	8.762	12.641	2.908	1.892	3.764
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 2组患者SCL-90各维度评分比较(mean ± SD)

项目	<i>n</i>	躯体化	敌对	焦虑	抑郁	恐怖	偏执	强迫	人际关系敏感	精神病性
对照组	50	1.29 ± 0.44	1.98 ± 0.73	1.22 ± 0.35	1.55 ± 0.49	1.01 ± 0.52	1.64 ± 0.31	1.48 ± 0.37	1.26 ± 0.76	1.28 ± 0.65
观察组	70	3.38 ± 0.28	2.07 ± 0.59	3.86 ± 0.46	3.76 ± 0.56	1.52 ± 0.64	3.36 ± 0.42	3.12 ± 0.56	2.28 ± 0.92	3.37 ± 0.59
<i>t</i> 值		2.318	0.761	2.983	3.021	0.045	3.902	2.876	0.029	2.563
<i>P</i> 值		<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

表 3 2组患者SF-36各维度评分比较(mean ± SD)

项目	<i>n</i>	生理机能	生理职能	躯体疼痛	一般健康	精力	社会功能	情感职能	精神健康
对照组	50	72.98 ± 12.65	51.29 ± 4.68	49.27 ± 12.65	75.34 ± 12.69	52.36 ± 5.83	70.58 ± 10.24	52.45 ± 9.26	56.87 ± 7.12
观察组	70	60.12 ± 10.98	38.76 ± 4.89	63.42 ± 11.73	66.82 ± 11.03	43.92 ± 6.17	64.89 ± 9.78	43.27 ± 8.65	46.82 ± 6.54
<i>t</i> 值		3.654	4.027	5.232	6.122	7.673	4.086	4.829	5.322
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 4 老年胃食管反流患者睡眠障碍与焦虑抑郁和生活质量相关性分析

生活质量量表	躯体化		焦虑		抑郁		偏执		强迫		精神病性	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
生理机能	-0.312	<0.05	-0.278	0.001	-0.218	0.001	-0.226	<0.01	-0.325	<0.01	-0.287	<0.01
生理职能	-0.294	0.001	-0.235	0.001	-0.329	0.001	-0.278	<0.01	-0.273	<0.01	-0.186	<0.01
躯体疼痛	-0.143	0.024	-0.291	0.001	-0.322	0.001	-0.352	<0.01	-0.265	<0.01	-0.328	<0.01
一般健康状况	-0.278	0.001	-0.245	0.013	-0.817	<0.01	-0.283	<0.01	-0.342	<0.01	-0.425	<0.01
精力	-0.325	0.001	-0.365	<0.01	-0.485	<0.01	-0.179	<0.01	-0.278	<0.01	-0.371	<0.01
社会功能	0.386	0.001	-0.264	<0.01	-0.522	<0.01	-0.203	<0.01	-0.249	<0.01	-0.672	<0.01
情感职能	-0.927	0.002	-0.238	<0.01	-0.265	<0.01	-0.291	<0.01	-0.372	<0.01	-0.384	<0.01
精神健康	-0.562	<0.01	-0.345	<0.01	-0.342	<0.01	-0.427	<0.01	-0.316	<0.01	-0.452	<0.01

能,一般健康状况,精力,社会功能,情感职能以及精神健康等评分均降低( $P<0.05$ ),而躯体疼痛评分明显升高( $P<0.05$ ).由此可见,老年GERD患者伴有睡眠障碍者生活质量明显下降,在临床工作中要加强健康宣教和心理疏导,鼓励患者多参与社会活动,与家人多交流病情,减轻担心、害怕心理情绪<sup>[14,15]</sup>.本研究对老年GERD患者伴有睡眠障碍的心理状态和生活质量进行相关分析,结果表明,SF-36中8个维度与SCL-90中躯体化,焦虑,抑郁,偏执,强迫和精神病性均呈负相关( $P<0.05$ ).所以

在临床中要老年GERD患者保持良好的心理状态,提高生活质量和睡眠质量.

本研究为调查研究,在评分时可能存在一定的主观因素,在量表评分前要认真告知患者评分标准和注意事项,以尽可能减少人为因素对统计结果的影响;在今后的而研究中将进一步增加样本量,并采用多中心研究以提高研究结果的可信性.综上所述,老年GERD患者睡眠障碍是影响心理状态和生活质量的重要因素,且生活质量和SCL-90中躯体化,焦虑,抑郁,偏执,强迫

和精神病性均呈负相关, 在临床中应关注患者心理状态, 提高生活质量和睡眠质量.

## 文章亮点

### 实验背景

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是消化系统常见疾病之一, 病情易反复发作, 增加患者经济负担和负面情绪, 进而影响睡眠质量. 睡眠是人体必有的一种生理现象, 良好的睡眠能帮助患者恢复体力和精力, 对维持人体生命活动具有重要意义.

### 实验动机

旨在探讨老年GERD患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性, 对改善GERD患者睡眠质量和减轻负面心理情绪具有重要意义.

### 实验目标

探讨老年GERD患者睡眠质量与心理状态和生活质量的相关性.

### 实验方法

通过回顾性分析对我院老年GERD患者为研究对象, 对所有患者进行睡眠质量评估, 心理状态及生活质量量表评分.

### 实验结果

观察组患者PSQI各项因子评分均升高( $P<0.05$ ), 其中入睡时间, 睡眠时间, 睡眠障碍三项因子得分明显升高( $P<0.01$ ). 观察组SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性各维度评分均升高( $P<0.05$ ), 而敌对, 恐怖及人际关系敏感评分变化不显著( $P>0.05$ ). 观察组SF-36中的生理机能, 生理职能, 一般健康状况, 精力, 社会功能, 情感职能以及精神健康等评分均降低( $P<0.05$ ), 而躯体疼痛评分明显升高( $P<0.05$ ). 采用Pearson相关性分析, SF-36中8个维度与SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性均呈负相关( $P<0.05$ ).

### 实验结论

睡眠障碍是影响老年GERD患者心理状态和生活质量的重要因素, 且生活质量和SCL-90中躯体化, 焦虑, 抑郁, 偏执, 强迫和精神病性均呈负相关.

### 展望前景

睡眠障碍是影响老年GERD患者心理状态和生活质量的重要因素, 在临床中应关注患者心理状态, 提高生活

质量和睡眠质量.

## 4 参考文献

- Kawai T, Hirayama Y, Oguchi A, Ishii F, Matsushita M, Kitayama N, Morishita S, Hiratsuka N, Ohata K, Konishi H, Kishino M, Nakamura S. Effects of rikkunshito on quality of life in patients with gastroesophageal reflux disease refractory to proton pump inhibitor therapy. *J Clin Biochem Nutr* 2017; 60: 143-145 [PMID: 28366995 DOI: 10.3164/jcbn.16-77]
- Javadi SAHS, Shafikhani AA. Anxiety and depression in patients with gastroesophageal reflux disorder. *Electron Physician* 2017; 9: 5107-5112 [PMID: 28979749 DOI: 10.19082/5107]
- Choi KD, Jung HK, Youn YH, Min BH, Song KH, Huh KC. Mo1103 Quality of Life, Patient Satisfaction and Disease Burden in Patients With Gastroesophageal Reflux Disease With or Without Laryngopharyngeal Reflux Symptoms. *Gastroenterology* 2015; 148: S-607 [DOI: 10.1016/S0016-5085(15)32048-5]
- Zhang L, Tu L, Chen J, Song J, Bai T, Xiang XL, Wang RY, Hou XH. Health-related quality of life in gastroesophageal reflux patients with noncardiac chest pain: Emphasis on the role of psychological distress. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 127-134 [PMID: 28104988 DOI: 10.3748/wjg.v23.i1.127]
- Song KW, Choi WS, Jee HJ, Yuh CS, Kim YK, Kim L, Lee HJ, Cho CH. Correlation of occupational stress with depression, anxiety, and sleep in Korean dentists: cross-sectional study. *BMC Psychiatry* 2017; 17: 398 [PMID: 29233107 DOI: 10.1186/s12888-017-1568-8]
- Fidler L, Sitzler N, Shapera S, Shah PS. Treatment of Gastroesophageal Reflux in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Chest* 2018; 153: 1405-1415 [PMID: 29559309 DOI: 10.1016/j.chest.2018.03.008]
- Arponen H, Waltimo-Sirén J, Valta H, Mäkitie O. Fatigue and disturbances of sleep in patients with osteogenesis imperfecta - a cross-sectional questionnaire study. *BMC Musculoskelet Disord* 2018; 19: 3 [PMID: 29310646 DOI: 10.1186/s12891-017-1922-5]
- Li B, Zhang Y, Yang QM. [Umbilical moxibustion for patients with idiopathic pulmonary fibrosis complicated with gastroesophageal reflux of lung-spleen qi deficiency]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2019; 39: 241-245 [PMID: 30942008 DOI: 10.13703/j.0255-2930.2019.03.004]
- Dabrowski A, Štabuc B, Lazebnik L. Meta-analysis of the efficacy and safety of pantoprazole in the treatment and symptom relief of patients with gastroesophageal reflux disease - PAN-STAR. *Prz Gastroenterol* 2018; 13: 6-15 [PMID: 29657605 DOI: 10.5114/pg.2018.74556]
- Li P, Wang F, Ji GZ, Miao L, You S, Chen X. The psychological results of 438 patients with persisting GERD symptoms by Symptom Checklist 90-Revised (SCL-90-R) questionnaire. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e9783 [PMID: 29384872 DOI: 10.1097/MD.0000000000009783]
- Castelijns PSS, Ponten JEH, Vd Poll MCG, Bouvy ND, Smulders JF. Quality of life after Nissen fundoplication in patients with gastroesophageal reflux disease: Comparison between long- and short-term follow-up. *J Minim Access Surg* 2018; 14: 213-220 [PMID: 28928332 DOI: 10.4103/jmas.JMAS\_75\_17]
- Gunter RL, Shada AL, Funk LM, Wang X, Greenberg JA, Lidor AO. Long-Term Quality of Life Outcomes Following Nissen Versus Toupet Fundoplication in Patients with Gastroesophageal Reflux Disease. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2017; 27: 931-936 [PMID: 28737451 DOI: 10.1089/lap.2017.0232]
- Lee SW, Lee TY, Lien HC, Peng YC, Yeh HJ, Chang CS. Correlation Between Symptom Severity and Health-Related Life Quality of a Population With Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology Res* 2017; 10: 78-83 [PMID: 28496527 DOI: 10.14740/gr753w]

- 14 王学勤, 年媛媛, 古巧燕, 程妍, 景富春. GERD患者夜间反流特点及其影响因素. 胃肠病学 2017; 22: 610-615 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2017.10.007]
- 15 Riley CA, Wu EL, Hsieh MC, Marino MJ, Wu XC, McCoul

ED. Association of Gastroesophageal Reflux With Malignancy of the Upper Aerodigestive Tract in Elderly Patients. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 144: 140-148 [PMID: 29270624 DOI: 10.1001/jamaoto.2017.2561]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

#### 1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

#### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

#### 3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须经得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录。



## 门静脉-肠系膜上静脉广泛栓塞1例并文献复习

霍晓霞, 牛巍巍, 赵亦雯, 张晓岚

霍晓霞, 牛巍巍, 赵亦雯, 张晓岚, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

霍晓霞, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病、内镜诊疗方面的研究.

作者贡献分布: 论文撰写由霍晓霞完成; 病例资料收集由牛巍巍与赵亦雯完成; 疾病诊治由霍晓霞与张晓岚完成; 论文审核由张晓岚完成.

通讯作者: 张晓岚, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. xiaolanzh@126.com  
电话: 0311-66007374

收稿日期: 2019-11-12

修回日期: 2019-11-23

接受日期: 2019-12-03

在线出版日期: 2019-12-08

### Portal vein thrombosis with superior mesenteric venous thrombosis: A case report and review of the literature

Xiao-Xia Huo, Wei-Wei Niu, Yi-Wen Zhao, Xiao-Lan Zhang

Xiao-Xia Huo, Wei-Wei Niu, Yi-Wen Zhao, Xiao-Lan Zhang, Department of Gastroenterology, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

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

Received: 2019-11-12

Revised: 2019-11-23

Accepted: 2019-12-03

Published online: 2019-12-08

### Abstract

#### BACKGROUND

Endoscopic variceal ligation is a first-line treatment for esophagogastric variceal bleeding patients. Portal vein thrombosis (PVT) with superior mesenteric venous thrombosis (MVT) after intensive endoscopic variceal

band ligation is extremely rare.

#### CASE SUMMARY

We report a rare case developing PVT and superior MVT after intensive endoscopic variceal band ligation. The thrombosis disappeared after full anticoagulation therapy.

#### CONCLUSION

Our case suggested that, when ligation is required to treat esophagogastric variceal bleeding patients with a history of splenectomy caused by liver cirrhosis, especially those with chronic portal vein thrombosis, if ligation is required, too dense ligation and blocking entire blood flow should be avoided to prevent the development of PVT or MVT.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cirrhosis; Varices; Intensive endoscopic variceal band ligation; Portal vein; Superior mesenteric vein; Thrombosis

Huo XX, Niu WW, Zhao YW, Zhang XL. Portal vein thrombosis with superior mesenteric venous thrombosis: A case report and review of the literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(23): 1460-1464  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1460.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i23.1460>

#### 摘要

##### 背景

内镜下套扎术是食管胃静脉曲张出血的一线治疗方法. 食管胃静脉曲张密集套扎后形成门静脉-肠系膜上静脉广泛新发血栓临床罕见.

#### 病例简介

本文回顾性分析1例乙肝肝硬化脾切除术后食管胃静脉曲张出血患者, 经食管胃底曲张静脉密集套扎

治疗后出现门静脉-肠系膜上静脉广泛新发血栓, 积极给予抗凝治疗后, 新发血栓消失。

## 结论

对于肝硬化脾切除术后食管胃静脉曲张出血, 尤其同时存在慢性门静脉血栓者, 如需行套扎治疗, 勿使套扎范围过密, 不要追求一次性全部阻断血流, 以防门静脉-肠系膜上静脉新发血栓形成。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝硬化; 静脉曲张; 密集套扎; 门静脉; 肠系膜上静脉; 血栓

**核心提要:** 通过1例罕见乙肝肝硬化食管胃静脉曲张出血密集套扎后出现门静脉-肠系膜上静脉广泛新发血栓诊治过程, 提醒对于肝硬化脾切除术后食管胃静脉曲张出血, 尤其同时存在慢性门静脉血栓者, 如需行套扎治疗, 勿使套扎范围过密, 以防门静脉-肠系膜上静脉新发血栓形成。

霍晓霞, 牛巍巍, 赵雯雯, 张晓岚. 门静脉-肠系膜上静脉广泛栓塞1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2019; 27(23): 1460-1464

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i23/1460.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i23.1460>

## 0 引言

内镜下套扎术是食管胃静脉曲张出血的一线治疗方法, 相比较于硬化剂及组织胶注射术, 安全系数大. 食管胃静脉曲张密集套扎后门静脉-肠系膜上静脉广泛新发血栓形成临床罕见. 现将我院1例乙肝肝硬化脾切除术后食管胃静脉曲张出血密集套扎后出现门静脉-肠系膜上静脉新发广泛血栓病例报道如下。

## 1 病例简介

患者女, 49岁, 主因发现乙肝病毒标记物阳性18年, 间断呕血、黑便3年入院. 18年前因小便黄查乙肝五项示HBsAg+、HBsAb+、HBcAb+, 肝功能及HBV-DNA结果不详, 口服药物2年(具体不详), 尿色正常. 16年前因血小板降低, 脾大, 诊断为“脾功能亢进”, 行脾动脉栓塞术. 9年前因血小板持续性低水平行脾切除术, 术后复查血小板升至 $400-500 \times 10^9/L$ . 查胃镜示食管胃底静脉曲张, 查HBV-DNA示病毒复制活跃. 予拉米夫定抗病毒、阿司匹林肠溶片抗血小板凝聚. 3年前及2年前因呕血行2次食管胃底静脉曲张套扎治疗. 1 mo前再次间断出现黑便, 停用阿司匹林后收入我科. 查体贫血貌, 肝病面容, 心肺腹查体无明显阳性体征. 血常规: WBC  $4.07 \times 10^9/L$ 、N% 38.59%、HGB 75 g/L、PLT  $254 \times 10^9/L$ .

L, HBV-DNA未检测到. 骨穿: 缺铁性骨髓象. 腹部CT: (1)肝脏形态不规则, 左叶相对较大, 肝裂稍增宽; (2)门静脉主干血栓形成, 肝门血管走行区多发钙化斑块, 门脉左右支迂曲, 粗细不均, 肝门、门静脉左右支周围、食管下段、贲门及胃小弯侧多发侧枝血管. 电子胃镜: (1)食道: 距门齿约25 cm始可见3-4条结节状、瘤状曲张静脉延伸至贲门, 红色征阳性; (2)胃底: 环贲门可见曲张静脉, 红色征阴性, 胃体、胃窦黏膜充血水肿, 散在点片状红斑(图1). 初步诊断: (1)乙肝肝硬化失代偿期食管、胃底静脉曲张套扎治疗术后; (2)脾切除术后; (3)缺铁性贫血; (4)门脉高压性胃病; (5)门静脉主干血栓形成. 入院后行食管胃底静脉曲张密集套扎术, 食管曲张静脉套扎10环, 胃底曲张静脉套扎8环(图2). 术后第7天出现发热、腹痛, 体温最高 $38.4^\circ C$ , 伴畏冷, 腹痛部位以右腹部为重, 进食后加重, 无便血. 复查腹部增强CT: 考虑门静脉主干及左右支、肠系膜上静脉主干及属支多发栓塞, 并门静脉海绵样变, 门静脉管壁多发钙化, 并部分肠管缺血性改变, 肠系膜多发渗出性病变(图3).

## 2 最终诊断

门静脉-肠系膜上静脉广泛血栓形成。

## 3 治疗

依诺肝素抗凝(6000 IU, qd, 皮下注射)、罂粟碱扩张血管(30 mg, bid, 静脉注射)以及抗感染治疗。

## 4 结果和随访

治疗3 d后体温正常, 腹痛缓解, 2 wk后病情好转出院, 院外继续口服利伐沙班抗凝(10 mg, qd). 1.5 mo后我院门诊复查腹腔血管彩超示肠系膜上静脉新发血栓消失, 门静脉主干遗留陈旧血栓(图4).

## 5 讨论

食管胃底静脉曲张破裂出血是肝硬化门静脉高压最常见的并发症, 起病急骤, 出血量大, 病情凶险, 死亡率高. 每年静脉曲张出血发生率为5%-10%<sup>[1]</sup>, 每次静脉曲张出血的6 wk死亡率在15%-25%之间<sup>[2,3]</sup>. 这些出血病人中大约有60%-70%的未治疗者还会发生晚期出血, 时间通常是在首次出血后的1-2年内<sup>[4]</sup>. 因此, 对于静脉曲张出血的防治是目前诊治的难点与重点。

内镜治疗食管胃静脉曲张破裂出血有效率可达90%以上, 可以有效降低病人死亡率<sup>[5]</sup>. 内镜治疗方法主要包括套扎术、硬化术、组织胶注射术. 套扎曲张静脉可即刻阻断血流, 使曲张静脉封闭, 建立缺血性坏死组织、肉芽组织, 从而实现止血, 降低再出血风险. 国内外指南<sup>[6,7]</sup>推荐, 内镜下套扎术是食管静脉曲张出血的一线

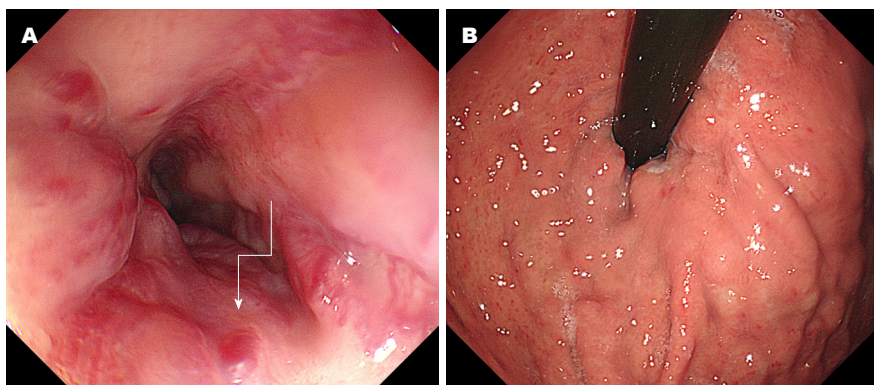


图 1 套扎治疗前胃镜. A: 距门齿约25 cm始可见3-4条结节状、瘤状曲张静脉延伸至贲门, 红色征阳性; B: 胃底环贲门可见曲张静脉, 红色征阴性.

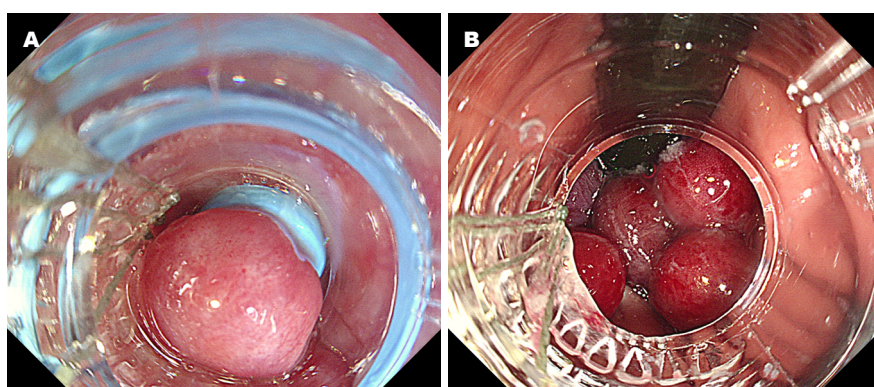


图 2 套扎治疗后胃镜. A: 食管曲张静脉套扎10环; B: 胃底曲张静脉套扎8环.

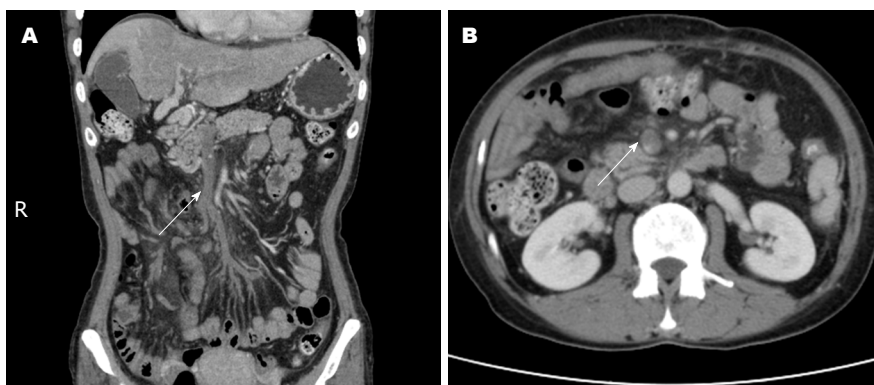


图 3 套扎治疗后腹部CT. A: 门静脉-肠系膜上静脉广泛血栓形成; B: 肠系膜上静脉血栓.

治疗方法, 包括一级预防、紧急止血及二级预防. 相比于传统螺旋式套扎术, 密集套扎术可提高静脉曲张消失率, 减少套扎次数<sup>[8]</sup>. 与食管静脉曲张联通的胃静脉曲张的一级、二级预防出血方法同食管静脉曲张. 对于孤立胃静脉曲张急性出血首选内镜下注射组织胶如氰基丙烯酸酯闭塞血管, 虽然该方法疗效确切, 但其并发症可见异位栓塞或排胶出血, 异位栓塞以全身性栓塞为主, 包括脑栓塞、门静脉栓塞、脾梗死、冠状动脉栓塞等, 后果十分严重, 尤其对于伴有胃肾分流或脾肾分流

通道者, 组织胶注射治疗栓塞风险更大. 目前对于套扎术治疗孤立胃静脉曲张报道较少, 一些研究<sup>[9,10]</sup>表明套扎对胃静脉曲张治疗效果明显有效, 但需要重复性套扎治疗. 另有一些研究<sup>[11]</sup>则表明, 由于胃黏膜较食管黏膜厚, 增加套扎过程中吸入胃曲张静脉的难度, 而且传统套扎技术中, 部分曲张静脉很难完全进入套扎器内, 易引起术后再出血或曲张静脉再生, 从而导致内镜下套扎术治疗相比组织胶有较高的再出血率及再复发率. 为此, 我们创新开展食管(及/或)胃静脉曲张密集套扎术数



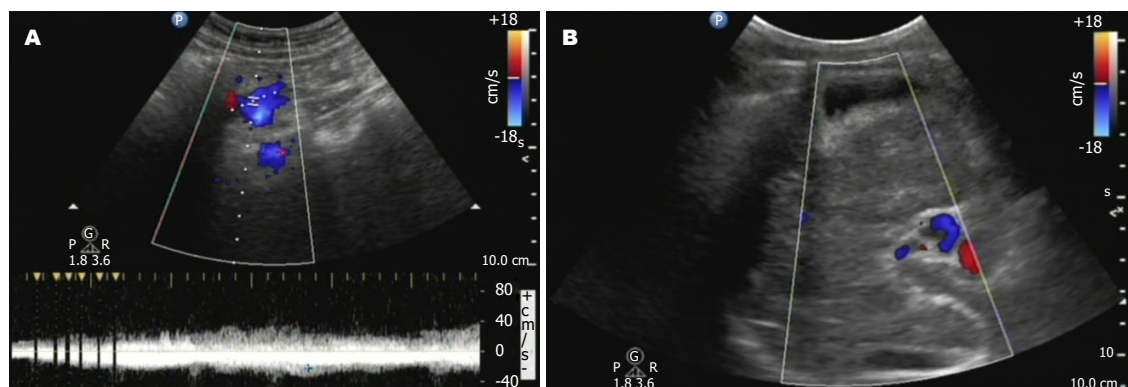


图 4 抗凝治疗1.5 mo后腹部血管彩超. A: 肠系膜上静脉血栓消失; B: 门静脉主干陈旧血栓.

百例, 一次性将食管胃所有表露的曲张静脉尽可能全部套扎, 实现曲张静脉的串通支阻断, 4 wk左右复查胃镜, 如有残余血管, 再次行食管胃静脉曲张补充套扎治疗, 有效弥补了传统套扎术易复发的不足, 并且避免了组织胶注射异位栓塞、排胶出血等风险, 效果良好. 基于我们前期工作的基础, 且本病例胃底静脉曲张呈条索状, 与食管静脉曲张联通, 适合行食管胃静脉曲张套扎治疗, 但术后却发生了广泛门脉属枝血栓形成.

查阅文献, 食管胃静脉曲张套扎治疗术后并发门静脉属枝广泛血栓形成个案鲜有报道. 黎俊报道<sup>[12]</sup>1例脾切除术后再出血伴慢性门静脉血栓急性加重病例, 套扎术前存在门静脉主干血栓, 密集套扎术后10 h出现剧烈腹痛, 腹部CT提示门静脉、肠系膜上静脉及脾静脉广泛血栓, 给予低分子肝素抗凝及抗感染支持治疗, 终因病情持续恶化、多脏器功能衰竭自动出院. 日本学者也报道<sup>[13]</sup>1例食管静脉曲张破裂出血套扎术后出现肠系膜上静脉血栓病例, 给予抗凝改善循环治疗后病情缓解. 关于食管胃静脉曲张其他内镜治疗方法与门静脉系统血栓的关系, Wang等<sup>[14]</sup>报道1例食管静脉曲张序贯硬化剂注射后出现急性肠系膜上静脉血栓, 经积极抗凝治疗后腹痛缓解, 肠系膜上静脉血栓消失. 指出不论哪一种内镜治疗方法, 因为都会增加门静脉压力, 导致门静脉系统湍流, 都有形成门静脉系统血栓的可能.

有研究报道<sup>[15]</sup>, 肝硬化病人形成门静脉血栓公认的危险因素包括门静脉流速降低、肝功能恶化、脾切除术、肝移植、因子V Leiden和凝血酶原G20210 A突变, 新认识的危险因素包括门体侧支血管流量增加、血小板生产素受体促凝剂和非选择性 $\beta$ 受体阻滞剂. 促凝与抗凝因子异常对肝硬化门静脉血栓形成无明显作用.

门静脉血栓形成脾切除术后常见并发症之一, 尽管给予了预防门静脉血栓形成的措施, 但门静脉血栓发生率仍高达33.9%. 研究认为<sup>[16]</sup>, 当存在门静脉血栓时, 门静脉血流速度明显下降, 可以延迟套扎治疗消除静脉

曲张的时间, 加重肝损伤, 增加再出血的风险, 反过来, 门静脉血栓病人套扎治疗后也会因门静脉血流速度变慢导致门脉属枝广泛血栓形成. 按照发生时间的不同, 门静脉血栓有急性和慢性之分. 本例病人9年前行脾切除术, 本次入院时腹部CT提示存在门静脉血栓, 门静脉左右支周围多发侧枝循环, 考虑为慢性门静脉血栓, 套扎治疗后7 d门静脉血栓加重, 并出现肠系膜上静脉及其属枝血栓形成, 考虑为慢性门静脉血栓基础上出现的急性加重. 本例门静脉高压症突出, 食管胃静脉曲张为其主要侧枝循环, 行多处密集套扎治疗后, 该侧枝循环途径被阻断, 内脏血流瘀滞缓慢, 兼其存在高凝状态, 故而出现门静脉属枝血栓加重.

## 6 结论

对于肝硬化脾切除术后食管胃静脉曲张破裂出血, 若其存在慢性门静脉血栓形成, 需要行套扎治疗时, 勿使套扎范围过大, 可采用分次治之, 不要追求一次尽可能全部阻断血流. 若存在高凝状态, 权衡再出血风险的同时给予抗凝治疗, 预防门静脉及肠系膜上静脉新发血栓形成.

## 7 参考文献

- 1 Miñano C, Garcia-Tsao G. Clinical pharmacology of portal hypertension. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 681-695 [PMID: 20951924 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.08.015]
- 2 Abrahdes JG, Villanueva C, Bañares R, Aracil C, Catalina MV, Garcí A-Pagán JC, Bosch J; Spanish Cooperative Group for Portal Hypertension and Variceal Bleeding. Hepatic venous pressure gradient and prognosis in patients with acute variceal bleeding treated with pharmacologic and endoscopic therapy. *J Hepatol* 2008; 48: 229-236 [PMID: 18093686 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.10.008]
- 3 Augustin S, Muntaner L, Altamirano JT, González A, Saperas E, Dot J, Abu-Suboh M, Armengol JR, Malagelada JR, Esteban R, Guardia J, Genescà J. Predicting early mortality after acute variceal hemorrhage based on classification and regression tree analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1347-1354 [PMID: 19699816 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.08.011]
- 4 Bosch J, García-Pagán JC. Prevention of variceal rebleeding.

- Lancet* 2003; 361: 952-954 [PMID: 12648985 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12778-X]
- 5 Hwang JH, Shergill AK, Acosta RD, Chandrasekhara V, Chathadi KV, Decker GA, Early DS, Evans JA, Fanelli RD, Fisher DA, Foley KQ, Fonkalsrud L, Jue T, Khashab MA, Lightdale JR, Muthusamy VR, Pasha SF, Saltzman JR, Sharaf R, Cash BD; American Society for Gastrointestinal Endoscopy. The role of endoscopy in the management of variceal hemorrhage. *Gastrointest Endosc* 2014; 80: 221-227 [PMID: 25034836 DOI: 10.1016/j.gie.2013.07.023]
- 6 中华医学会肝病学会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会内镜学会. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血防治指南(2015). *中华胃肠内镜电子杂志* 2015; 2: 1-21 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-7157.2015.04.001]
- 7 de Franchis R; Baveno VI Faculty. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol* 2015; 63: 743-752 [PMID: 26047908 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.05.022]
- 8 韩文, 郝婷婷, 郑军, 冯义朝, 马莹, 戴光荣. 内镜下密集套扎治疗重度食管静脉曲张疗效研究. *安徽医药* 2018; 22: 1739-1742 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.09.026]
- 9 Lee TH, Shih LN. Clinical experience of endoscopic banding ligation for bleeding gastric varices. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 766-769 [PMID: 18613450]
- 10 Seleem WM, Hanafy AS. Management of different types of gastric varices with band ligation: a 3-year experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017; 29: 968-972 [PMID: 28471827 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000893]
- 11 Qiao W, Ren Y, Bai Y, Liu S, Zhang Q, Zhi F. Cyanoacrylate Injection Versus Band Ligation in the Endoscopic Management of Acute Gastric Variceal Bleeding: Meta-Analysis of Randomized, Controlled Studies Based on the PRISMA Statement. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1725 [PMID: 26469912 DOI: 10.1097/MD.0000000000001725]
- 12 黎俊. 脾切除术后再出血伴慢性门静脉血栓急性加重1例报告. *吉林医学* 2012; 33: 4465-4466 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-0412.2012.20.139]
- 13 Tachibana I, Yoshikawa I, Sano Y, Tabaru A, Murata I, Otsuki M. A case of mesenteric venous thrombosis after endoscopic variceal band ligation. *J Gastroenterol* 1995; 30: 254-257 [PMID: 7773357 DOI: 10.1007/bf02348674]
- 14 Wang L, Xu X, Hou Y, Shao X, Guo X, Qi X. Acute mesenteric vein thrombosis after endoscopic injection sclerotherapy for esophageal varices in a patient with liver cirrhosis. *Drug Discov Ther* 2019; 13: 118-121 [PMID: 31080203 DOI: 10.5582/ddt.2019.01014]
- 15 Qi X, Li H, Liu X, Yao H, Han G, Hu F, Shao L, Guo X. Novel insights into the development of portal vein thrombosis in cirrhosis patients. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; 9: 1421-1432 [PMID: 26325361 DOI: 10.1586/17474124.2015.1083856]
- 16 Dell'Era A, Iannuzzi F, Fabris FM, Fontana P, Reati R, Grillo P, Aghemo A, de Franchis R, Primignani M. Impact of portal vein thrombosis on the efficacy of endoscopic variceal band ligation. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 152-156 [PMID: 24084343 DOI: 10.1016/j.dld.2013.08.138]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 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.

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, WCJD, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569)是一份国际性同行评议和开放获取(Open Access, OA)的学术出版物. 本刊创刊于1993年1月15日, 半月刊, 每月8和28号在线出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会由719位专家组成, 来自中国31个省、市、自治区以及香港特别行政区.

1.2 目的 《世界华人消化杂志》的目的是发表高质量的胃肠病学和肝病领域多学科的前沿进展和原创文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展和消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

1.3 范围 《世界华人消化杂志》的范围涵盖消化内科学、消化外科学、消化感染病学、消化中医药学、消化肿瘤学、消化影像学、消化内镜及介入治疗学、消化中西医结合学、消化基础研究、消化病理学和消化护理学.

1.4 栏目 《世界华人消化杂志》的栏目包括述评、基础研究、临床研究、文献综述、研究快报、临床实践和病例报告. 手稿应具有科学性、先进性、可读性和实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范且表达准确.

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录. 《世界华人消化杂志》在Scopus数据库的2017年期刊评价指标包括: CiteScore: 0.04; SJR: 0.109; SNIP: 0.020. 本刊是由美国百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份中文印刷版、电子版和网络版的国际核心学术刊物.

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [yj.ma@wjgnet.com](mailto:yj.ma@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<http://www.wjgnet.com>

1.9 编委 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员具体名单见: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>.

1.10 审稿 同行评议过程需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

1.11 投稿 《世界华人消化杂志》在线投稿网址见: <https://www.baishideng.com/>.

1.12 主页 《世界华人消化杂志》主页网站见: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/index.htm>.

1.13 稿酬 文章在《世界华人消化杂志》出版后, 作者可获得高质量的PDF和样刊两份作为稿酬. PDF包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底.

1.14 版权 著作权归作者所有. 出版版权归Baishideng Publishing Group Inc所有.



## 2 手稿要求

2.1 总体标准 手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以及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), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 前后统一. 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准; 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准; 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为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PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括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, 概率*P*和相关系数*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*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq),  $\rho$  (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分数, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应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 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是*u* (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 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、尿酸用μmol/L; 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. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5

wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>应为50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)应用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 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*ν*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中, 在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用<sup>a</sup>*P*<0.05或<sup>b</sup>*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用<sup>c</sup>*P*<0.05和<sup>d</sup>*P*<0.01; 第三套为<sup>e</sup>*P*<0.05和<sup>f</sup>*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±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, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可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→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写

作1985-04-12; 1985年4月写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486 800.47565. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2和3, 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》要求所有署名人名写清楚自己对文章的贡献, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称, 空1格后再写省市及邮政编码, 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

作贡献两均等;此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计;研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成;研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供;数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成;本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成。

3.6 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com 电话: 0351-4078656

传真: 0351-4086337

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、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, 应阐明其临床表现和诊断标准, 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、准确和具体, 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). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 0 引言; 1 材料和方法 (1.1 材料, 1.2 方法); 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3), 以下逐条陈述.

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选, 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化.

A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用<sup>a</sup> $P<0.05$ 或<sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则用<sup>c</sup> $P<0.05$ 和<sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ 和<sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01, t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^{\circ}\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号, 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 研究<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献<sup>[8]</sup>. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊引用格式为: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍引用格式为: 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.

#### 4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



首字母大写; 双名之间用半字线“-”分开; 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”.

4.3 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

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致.

## 5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224>

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225>

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227>

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228>

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229>

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230>

5.7 研究快报写作格式实例: 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231>



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8242  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

