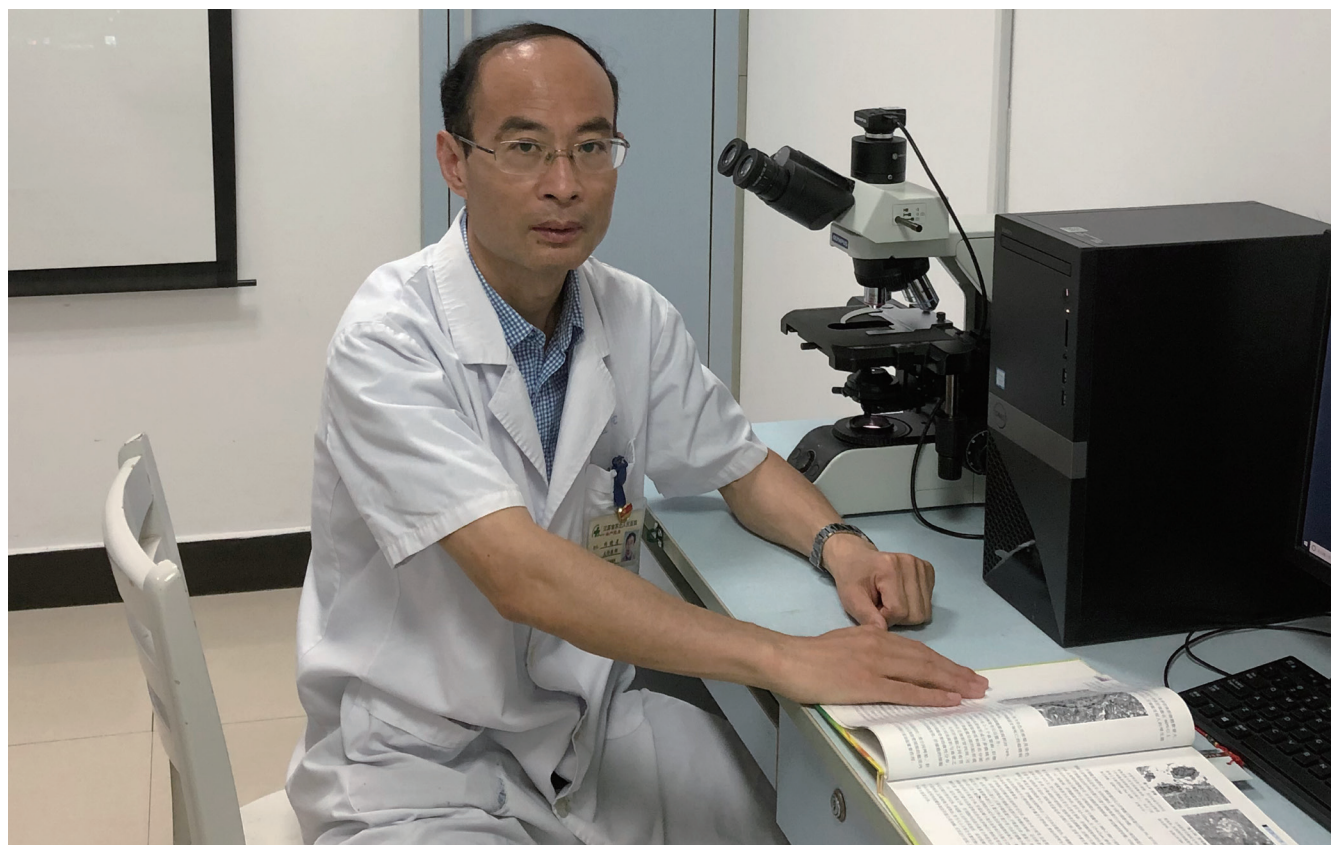


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2020 年 9 月 28 日      第 28 卷      第 18 期      (Volume 28 Number 18)



**18/2020**

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.



### 述评

- 873 人类免疫缺陷病毒的传播途径及影响因素  
杨贵波
- 884 生物大分子的“液-液”相分离及其在生理与疾病中的作用  
陈娅婧, 杨金娥

### 临床研究

- 891 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义  
岳爱君, 尹宇杰, 李莹
- 898 不同营养方式在腹腔镜远端胃癌根治术后的临床疗效  
吴国珍, 高胜强, 毛根军, 罗建生

### 文献综述

- 904 肝细胞癌缺氧微环境中低氧诱导因子-1 $\alpha$ 促进癌细胞免疫逃逸及治疗耐受的发生机制  
杨焕珍, 周喜汉
- 914 胰十二指肠切除术胰瘘的相关危险因素及预防措施的最新进展  
杨均兴, 叶思严, 戴东
- 920 肠道黏膜岩藻糖基化与炎症性肠病研究进展  
陈鑫, 李国熊, 方家恒, 徐思楠, 高宇飞, 孙倚天
- 925 正电子发射计算机断层显像在结直肠癌的临床应用及研究进展  
吴彩霞, 王荣福

## 消 息

- 883 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
890 《世界华人消化杂志》栏目设置  
903 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
913 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯

## 封面故事

向晓星, 主任医师, 消化内科主任, 苏北人民医院, 扬州大学临床医学院. 上海第二医科大学内科学博士学位. 扬州大学和大连医科大学硕士生导师. 江苏省临床医学重点专科学术带头人, 扬州市“十三五”临床医学创新团队领军人才. 核心期刊发表论著和综述60余篇, 主持或主要参与国家、省市级科研课题5项, 获得省市级科技进步奖4项. 科研专长为肝脏疾病的应用基础和临床研究.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 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 吴云晓健; 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 2020-09-28

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

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



**EDITORIAL**

- 873 Transmission routes of human immunodeficiency virus and affecting factors

*Yang GB*

- 884 Role of liquid-liquid phase separation in cell physiology and diseases

*Chen YJ, Yang JE*

**CLINICAL RESEARCH**

- 891 Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease

*Yue AJ, Yin YJ, Li Y*

- 898 Clinical efficacy of different nutritional methods in patients after laparoscopic radical surgery for distal gastric cancer

*Wu GZ, Gao SQ, Mao GJ, Luo JS*

**REVIEW**

- 904 Mechanism for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  to promote immune escape and therapeutic tolerance in hepatocellular carcinoma under hypoxic microenvironment

*Yang HZ, Zhou XH*

- 914 Risk factors and preventive measures for postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy

*Yang JX, Ye SY, Dai D*

- 920 Fucosylation in the intestinal mucosa and inflammatory bowel disease

*Chen X, Li GX, Fang JH, Xu SN, Gao YF, Sun YT*

- 925 Clinical application and research advancement of positron emission tomography/computed tomography in colorectal cancer

*Wu CX, Wang RF*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 28 Number 18 September 28, 2020

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Xing Xiang, Medical Doctor, Postgraduate Tutor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Northern Jiangsu People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, No. 98 West Nantong Road, Yangzhou 225001, Jiangsu 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: *Han Zhang*

Production Editor: *Ji-Hong Liu*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** September 28, 2020

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

**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

**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

Telephone: +1-925-3991568

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

Telephone: +1-925-3991568

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

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2020 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.

# 人类免疫缺陷病毒的传播途径及影响因素

杨贵波

**杨贵波**, 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心 北京市 102206

杨贵波, 教授, 主要从事黏膜免疫、神经内分泌免疫和艾滋病研究。

**基金项目:** 国家自然科学基金, No. 81571607; “十三五”科技重大专项, No. 2017ZX10202102003005.

**作者贡献分布:** 本文由杨贵波完成。

**通讯作者:** 杨贵波, 博士, 教授, 102206, 北京市昌平区昌百路155号, 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心. [guiboyang@chinaaids.cn](mailto:guiboyang@chinaaids.cn)

**收稿日期:** 2020-05-13

**修回日期:** 2020-06-24

**接受日期:** 2020-07-05

**在线出版日期:** 2020-09-28

## Transmission routes of human immunodeficiency virus and affecting factors

Gui-Bo Yang

**Gui-Bo Yang**, National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China, No. 81571607; National Major Project for Infectious Diseases Prevention and Treatment, No. 2017ZX10202102003005.

**Corresponding author:** Gui-Bo Yang, PhD, Professor, National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, No. 155 Changbai Road, Changping District, Beijing 102206, China. [guiboyang@chinaaids.cn](mailto:guiboyang@chinaaids.cn)

**Received:** 2020-05-13

**Revised:** 2020-06-24

**Accepted:** 2020-07-05

**Published online:** 2020-09-28

## Abstract

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) was first

reported more than 30 years ago among homosexuals in the United States. The epidemiology of this disease indicates that there are three modes of transmission: Blood, mother-to-child, and sexual contact transmission. The pathogen of AIDS is human immunodeficiency virus (HIV), primarily HIV-1. HIV-1 could not break through the structurally and functionally integral skin, and primarily invades the human body through the mucosa irrespective of their integrity. Therefore, the mucosae are the natural transmission routes for HIV-1. The mucosae involved in HIV-1 transmission include the mucosae of the gastrointestinal tract and the urogenital tract. The risks of HIV-1 transmission vary significantly between mucosal sites and individuals, and are associated with mucosal integrity, abundance of target cells, immune status of the host, commensal microbes, and host genetic background. Many factors are closely related to the barrier function of the mucosa, and studies on their roles in HIV-1 invasion could promote the prevention and control of mucosal transmission of HIV-1.

© **The Author(s) 2020.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Human immunodeficiency virus; Acquired immunodeficiency syndrome; Route of transmission; Affecting factors

**Citation:** Yang GB. Transmission routes of human immunodeficiency virus and affecting factors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 873-883

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/873.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i18.873>

## 摘要

在30多年前美国首次报道了同性恋人群中发现的获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndromes, AIDS), 其流行特征表明AIDS通过性接

触、母婴和血液三种方式传播. AIDS的病原体为人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV), 主要为HIV-1. HIV-1几乎不能突破结构和功能完整的皮肤, 主要由黏膜(包括结构和功能完整的黏膜)侵入人体. 因此, 黏膜是HIV-1的自然传播途径. 与HIV-1传播有关的黏膜包括消化道黏膜和泌尿生殖道黏膜. 黏膜传播风险存在显著的部位和个体差异, 黏膜结构和功能的完整性、黏膜中靶细胞的丰度、机体免疫状态、黏膜表面共生微生物及宿主遗传背景等都与黏膜传播有关. 许多因素与黏膜屏障功能密切相关, 关于它们在HIV-1入侵中的作用的研究将促进HIV-1黏膜传播的预防和控制.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 人免疫缺陷病毒; 艾滋病; 传播途径; 影响因素

**核心提要:** 黏膜是人免疫缺陷病毒入侵人体的主要途径. 不同个体及不同黏膜部位的病毒传播风险差异极大. 多种黏膜屏障结构和功能的影响因素可能与人免疫缺陷病毒黏膜传播风险有关, 相关研究将为艾滋病的防控提供新思路.

**文献来源:** 杨贵波. 人类免疫缺陷病毒的传播途径及影响因素. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 873-883

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/873.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.873>

## 0 引言

艾滋病是人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV), 主要是HIV-1, 感染引发的免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndromes, AIDS). 据UNAIDS官方网站(2020-03-18), 2018年新发生的HIV-1感染人数170万, 存活HIV-1感染者3700万, 死于艾滋病相关疾病者77万. 艾滋病自被发现以来, 一直在全球流行, 是全球公共卫生和人类健康的重大挑战. 虽然对艾滋病的研究已开展了三十多年, 各相关领域也取得了长足的进展, 但仍然缺乏安全、有效、经济适用的艾滋病治愈方法、疫苗或局部杀微生物剂. 虽然近年有零星的治愈报道, 但治愈病例数少, 不仅费用高, 风险极大, 且需要特殊设施和资源, 难以大规模开展<sup>[1-3]</sup>. 事实上, 已有报道观察到CXCR4嗜性HIV-1在CCR5Delta32干细胞治疗后出现反弹<sup>[4]</sup>. 由于HIV/AIDS主要的自然传播方式是性接触传播, 流行病学干预方法的效果已经很难有大幅提升的空间. 显然, 要从根本上遏制艾滋病必需依靠新的生物学干预措施, 包括能够有效阻止HIV-1传播的方法(保护未感染者)或能够全面清除感染者体内病毒

(治愈感染者)的方法<sup>[3,5]</sup>. 而前者(预防)既可免去罹患疾病的困扰, 又不大量耗费个人财富和国家医疗资源, 应是最为经济有效的方法.

阻止人免疫缺陷病毒感染预防艾滋病传播的潜在措施包括使用疫苗和局部杀微生物剂<sup>[6-12]</sup>. 虽然疫苗是在感染性疾病预防中被证明最为经济有效的方法, 但由于HIV-1具有复杂的免疫逃逸机制(如潜伏和突变)使得疫苗研究仍然任重道远<sup>[13]</sup>. 由于HIV-1主要经性途径传播, 黏膜疫苗、局部杀微生物剂及抗病毒药物局部应用等都有大量研究, 但绝大多数在临床试验显示无效, 有的甚至有促进感染的效果<sup>[14]</sup>. 暴露前用药的“预防”效果不仅有限, 且受多种因素影响, 并存在耐药和毒副作用等问题<sup>[11]</sup>. 因此, 迄今仍然缺乏能够完全阻断HIV-1性接触传播的安全、有效和经济适用的方法. 抗病毒药物阻止HIV-1母婴传播(mother-to-child transmission, MTCT)似乎较为成功, 能将围产期MTCT风险从大约25%-30%降低到2%-5%<sup>[15,16]</sup>; 但近年研究发现, 尽管抗病毒药物可以使许多婴儿不被HIV-1感染, 但那些接触过HIV-1和抗病毒药物的HIV-1未感染的儿童比未接触HIV-1和药物的未感染儿童具有显著增高(70%)的死亡风险<sup>[17,18]</sup>.

尽管人们至今尚未找到预防HIV/AIDS的方法, 但反复接触病毒而未被感染的HIV-1接触未感染者(HIV-1 exposed seronegative, HESN)个体的存在说明人类的免疫系统中存在完全阻止HIV-1黏膜入侵的机制<sup>[19-21]</sup>. 意味着有可能发现并利用HESN保护机制使更多的人具有HIV-1免疫力. 由于获得与HESN中同样有效的HIV-1感染阻止方法的唯一途径是深入了解HIV-1的传播过程及相关的生物因素. 因此几十年来人们对HIV-1传播早期的病毒宿主相互作用、病毒入侵事件、病毒特征及游离与细胞携带病毒传播效率、各种免疫和天然限制因子等进行了大量研究<sup>[22]</sup>. 绝大部分对HESN(以及进展速度不同的HIV-1/AIDS患者)的HIV-1相关免疫保护因素的研究仅为相关性研究, 缺乏实验验证. 如对HESN抵抗HIV-1感染的生物学因素的研究中, 发现许多因素与保护相关, 但由于不可能在人体上进行实验验证, 这些保护性因素的实际作用并未得以实验验证. 另一方面, 由于黏膜保护因素复杂, 而大部分研究只是聚焦单一因子, 与体内的实际情况相差甚远. 如一些研究发现CCR5配体水平与HESN有关, 但并非所有HESN中CCR5配体水平都高<sup>[23,24]</sup>; 又如抗体和细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL), 虽然它们各自都具有保护作用, 但无论是诱导抗体的疫苗还是诱导CTL的疫苗在临床试验中都不能显示很好的保护作用<sup>[9,25,26]</sup>. 另外已有的研究几乎都是聚焦HIV-1与其靶细胞, 很少聚焦



黏膜上皮细胞屏障. 本文将对黏膜传播相关生物学因素研究的主要结果进行综述.

## 1 黏膜是HIV-1入侵人体的主要途径, 具有阻止HIV-1感染的能力

关于HIV-1入侵人体的途径及相关影响因素的知识是理性设计阻断HIV-1感染预防艾滋病传播的干预措施的科学基础. 要有效阻断HIV-1传播, 必须要针对性地干预HIV-1传播主要途径上的关键节点. 流行病学调查表明艾滋病有三种不同的传播方式(血液途径、性接触途径和MTCT), 而性接触传播是艾滋病的自然传播方式, 也是最主要的传播方式<sup>[27]</sup>. 尽管我国曾经是以血液途径传播为主, 但世界范围内性接触传播一直是主要的传播方式<sup>[28-30]</sup>. 而近年我国艾滋病传播的主要方式也已经与世界上的主要传播方式一致, 即以性接触传播为主.

艾滋病性接触传播包括同性间性接触传播和异性间性接触传播, 是最先确认的艾滋病传播方式<sup>[27,29]</sup>. 世界范围内大多数HIV-1感染是通过性接触发生的, 约占所有HIV-1感染的80%<sup>[27,30]</sup>. 性接触传播的病毒(HIV-1)来自于HIV-1阳性个体的黏膜分泌液或精液. 研究表明精液、宫颈和阴道分泌液中均含有游离的病毒和HIV-1感染过的细胞, 游离病毒可以感染未感染的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞, HIV-1感染细胞可释放病毒或直接通过细胞与细胞之间的直接传播感染新的靶细胞<sup>[31]</sup>. 另外, 在唾液、乳汁和泪液中也可检出病毒<sup>[29,31]</sup>. HIV-1感染者与未感染个体在性接触过程中, 携带游离病毒和HIV-1感染细胞的黏膜分泌液或精液与未感染者的黏膜(主要包括直肠黏膜、宫颈和阴道黏膜等)接触, 病毒跨越黏膜侵入未感染者的上皮及上皮下组织, 完成对新个体的感染. 口腔黏膜也可能在性接触传播中发挥作用<sup>[29]</sup>.

MTCT又称垂直传播, 指HIV-1感染母亲将病毒直接传给其孩子的传播方式. MTCT可发生在子宫内、婴儿生产过程中或哺乳过程中<sup>[31,32]</sup>. 病毒污染的乳汁及其它液体可以接触到婴儿的口腔、咽喉、食道和胃黏膜. 虽然成人的上消化道接触HIV-1后感染风险较低, 但婴儿上消化道发育尚不成熟, 病毒及感染细胞携带的病毒能够通过婴儿的上消化道黏膜侵入体内.

艾滋病血液传播是HIV-1通过携带病毒血液或血液制品的传播. 主要见于静脉吸毒者、血友病患者、接受输血的患者和职业暴露者. 大多数血液传播发生在医疗、静脉吸毒或意外事件中锐器(针具或刀片)刺破皮肤之后, 因此许多文献中称之为经皮肤途径的传播或医源性传播<sup>[33]</sup>. 我国HIV-1传播一度以血液传播, 包括输血、静脉吸毒等为主要传播方式. 随着血液传播的控制, 近年我国90%以上的新发感染都是经性接触途径传

播的, 血液传播已不再是主要的传播方式.

由于艾滋病的主要传播方式为性接触传播<sup>[30]</sup>, 且性接触传播和MTCT中HIV-1都通过黏膜入侵宿主, 而血液传播所占比例越来越小, 因此黏膜是HIV-1入侵人体的主要途径, 是HIV-1入侵的门户.

有证据表明, 黏膜具有阻止HIV-1入侵的能力, 但个体差异较大, 部分个体的黏膜具有完全阻止HIV-1入侵的能力. 首先, 一些个体经黏膜反复接触HIV-1而能长期保持血清学检测和病毒核酸检测阴性, 称HESN. 据Jennes等<sup>[34]</sup>(2004)报道, 40位HESN中仅8位(20%)具有低水平的HIV-1特异的T淋巴细胞, 而100%的HIV-1阳性个体具有HIV-1特异的T淋巴细胞, 表明生殖道黏膜具有天然抗HIV-1感染的抵抗力, 尽管并不是所有个体都具备. 其次, 流行病学研究发现HIV-1经血液传播的风险可高达100%<sup>[35]</sup>, 而黏膜传播风险则相对较低, 直肠接触传播风险为1:20到1:300, 阴道接触传播风险为1:1000到1:10000<sup>[36-38]</sup>, 表明虽然大部分个体的黏膜未能完全阻止HIV-1感染, 但黏膜屏障显著降低了HIV-1感染风险, 而病毒进入机体之后几乎未遇到任何抵抗. 第三, 在灵长类动物攻毒实验中, 黏膜攻毒导致动物感染所需的病毒剂量或攻毒次数都显著大于血液途径. 第四, 体外组织细胞培养实验证明黏膜上皮具有HIV-1屏障作用, HIV-1不能自由跨越肠道上皮<sup>[39]</sup>. 这些数据不仅证明黏膜具有天然抵抗HIV-1感染的能力, 更重要的是它表明在黏膜部位可以有效(HESN中100%)阻止HIV-1感染, 预防HIV/AIDS传播.

## 2 黏膜上皮屏障是黏膜免疫系统的重要成分, 是在HIV-1入侵路径上最重要的分水岭

HIV-1能否跨越黏膜上皮在很大程度上决定着HIV-1感染是否成功. 虽然宿主遗传因素可影响靶细胞抵抗HIV-1感染的能力和宿主针对HIV-1的免疫应答, 少数个体(如携带CCR5Delta32的个体)具有HIV-1抗性; 但研究表明, 虽然体内都具有抑制HIV-1感染靶细胞和复制的各种因素, 但由于HIV-1具有逃逸甚至利用宿主天然和获得性免疫保护机制的能力, 绝大多数宿主都未能阻止侵入体内的HIV-1感染靶细胞和复制<sup>[40-45]</sup>. 由于黏膜, 尤其是肠道黏膜, 具有十分丰富的HIV-1靶细胞, 包括巨噬细胞、树突状细胞和CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞, 一旦病毒跨越黏膜上皮屏障, 感染几乎是不可避免的<sup>[5,46]</sup>. 这也可从血液传播风险可高达100%得到印证.

HIV-1黏膜传播的主要过程包括HIV-1污染精液或黏膜分泌液沉淀在黏膜表面, 病毒跨越黏膜上皮, 然后病毒与黏膜中的靶细胞通过受体结合, 进入靶细胞. 由于黏膜中HIV-1的靶细胞, 包括树突状细胞、巨噬细胞



和CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞十分丰富, HIV-1一旦跨越上皮层便有足够的机会与靶细胞相遇<sup>[47,48]</sup>。近年有研究发现黏膜中几乎无处不在的成纤维细胞也能促进HIV-1感染CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞<sup>[49]</sup>。因此, 虽然对于大多数病原体黏膜上皮屏障是机体的第一道屏障, 但对于HIV-1来说几乎是HIV-1与靶细胞间的最后一道屏障。

经黏膜途径反复接触HIV-1的HESN可能是黏膜上皮屏障成功地阻止HIV-1感染的最好例证。在这些HESN中, 有感染和复制能力的HIV-1很可能未能跨越黏膜上皮, 因为虽然在部分HESN个体中能够检测到HIV-1特异的T淋巴细胞, 但并无证据表明具有感染能力的HIV-1成功地进入了这些个体。而HIV-1特异T淋巴细胞的存在可能是HIV-1分解后的抗原通过抗原摄取机制进入黏膜, 活化黏膜B淋巴细胞, 或通过树突状细胞交叉呈递活化T淋巴细胞<sup>[34]</sup>。另外, 动物体内实验证明用抗体阻止SIV跨越黏膜就能够阻止SIV感染, 而无论是抗体还是CTL在感染个体中的作用都非常有限<sup>[50,51]</sup>。这些结果表明阻止HIV-1跨越上皮屏障就有可能成功地阻止HIV-1和艾滋病传播。而当病毒跨越黏膜屏障后, 无论是抗体还是CTL都无法完全控制或清除体内的病毒。

与HIV-1入侵有关的黏膜包括泌尿生殖道和消化道黏膜, 上皮层为单层柱状上皮(如直肠黏膜上皮、子宫内膜、和子宫内颈黏膜)或复层扁平上皮(如口腔黏膜、阴道和子宫颈)。其中单层柱状上皮仅由一层柱状上皮细胞及紧密连接蛋白连接而成, 是物理屏障最薄弱的黏膜上皮<sup>[52]</sup>。由于在艾滋病同性、异性和MTCT中都涉及单层上皮细胞屏障, 对单层上皮屏障在阻止HIV-1入侵中的作用和影响因素的认识可促进艾滋病预防研究<sup>[19]</sup>。现有的报道包括基于体外培养人肠上皮细胞单层和肠黏膜组织培养模型的研究<sup>[53,54]</sup>、基于HESN及不同进展人群的相关性研究和基于各种实验动物模型的研究<sup>[19,55,56]</sup>, 所得结果表明HIV-1可能通过上皮细胞之间的缝隙和上皮细胞胞体跨越肠上皮屏障<sup>[57]</sup>。上皮细胞之间的细胞间隙具有紧密连接封闭, 是肠黏膜上皮阻止病原体及其产物的重要屏障; 迄今未见关于HIV-1跨越结构和功能完整的紧密连接的报道。但HIV-1有可能通过破坏紧密连接实现跨黏膜屏障入侵<sup>[58,59]</sup>。HIV-1经肠上皮细胞内跨越上皮屏障的研究表明HIV-1至少存在两条潜在的路径穿越上皮细胞: 一是HIV-1感染肠上皮细胞并释放病毒到体内<sup>[60,61]</sup>, 二是肠上皮细胞摄取HIV-1通过穿胞转运跨越上皮屏障<sup>[39,53,54]</sup>。

### 3 多种因素参与上皮屏障完整性调节, 是HIV-1跨越上皮屏障的潜在影响因素

在MTCT(尤其是HIV-1阳性母亲哺乳)和性接触(尤其是

男男性接触)传播中胃肠道黏膜上皮都是HIV-1入侵的主要屏障。胃肠道黏膜上皮主要由位于黏膜最外层的柱状上皮细胞构成。已有研究表明肠上皮细胞不仅是肠上皮物理屏障的主要结构成分, 也是肠上皮屏障的主要调节者<sup>[62]</sup>。由于肠黏膜上皮细胞位于黏膜最表浅层, 可以直接与肠腔内的各种物质接触, 通过其表达的各种受体感知肠腔内的共生微生物及其代谢产物和食物及其携带的病原微生物及其它有害物质。肠上皮细胞可表达能够识别微生物的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)如Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)、NOD样受体和RIG-1样受体等, 微生物表达的微生物相关分子模式(microorganism-associated molecular patterns, MAMPs), 病原微生物表达的常称为病原相关分子模式分子, 如脂多糖、脂磷壁酸、肽聚糖和双链病毒RNA等<sup>[63-65]</sup>。肠道微生物可通过MAMPs与PRRs的相互作用调节肠上皮细胞的基因表达, 包括PRRs自身(如两歧双歧杆菌上调TLR3)的表达<sup>[64,66]</sup>, 从而影响肠道屏障结构和免疫功能。例如通过肠上皮细胞内的TLR2信号通路, 肠道微生物可以影响抗微生物肽的表达和紧密连接的完整性<sup>[67,68]</sup>。另外, 一些微生物成分(如phenazines和naphthoquinone phthiocol)可以直接与宿主细胞核转录调控因子AhR相结合诱导固有免疫抗菌反应<sup>[69]</sup>。

肠道微生物除通过MAMP与肠上皮细胞相互作用外, 还可以通过其代谢产物影响那些能够调节上皮屏障功能的免疫细胞[如辅助性T细胞17 (T helper 17, Th17)], 进而影响肠上皮屏障功能<sup>[63,70]</sup>。例如, 胆酸是肝脏合成释放到十二指肠的胆固醇衍生物, 其在肠道共生微生物等的作用下可产生次生物如3-OxoLCA。最新研究发现3-OxoLCA能够与ROR  $\gamma$  t结合从而抑制Th17细胞分化<sup>[71]</sup>。由于Th17细胞可以通过表达IL-17A和IL-22等细胞因子参与上皮屏障(如紧密连接)功能的维持。一些共生微生物的代谢产物, 如短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs), 不仅能够调节黏膜调节性T细胞<sup>[72]</sup>, 还能为结肠的肠细胞提供能量(如丁酸盐), 并且可以直接与肠上皮细胞内的PPAR- $\gamma$ 相互作用调节肠上皮细胞的多种基因的表达<sup>[73]</sup>。早有研究表明SCFA可以直接影响肠上皮屏障通透性<sup>[74]</sup>, 丁酸盐(重要SCFA之一)可以通过升高AMPK活性来促进紧密连接组装<sup>[75]</sup>从而促进肠上皮的屏障功能。因此, 肠腔内容物(包括共生微生物及其代谢产物)可能是肠道上皮屏障调节的重要因素之一。

神经内分泌物质对黏膜免疫系统的影响已经研究了很多年, 虽然生殖系统激素与HIV-1性接触传播的关系已基本确立<sup>[48,76,77]</sup>, 但肠道神经内分泌物质与艾滋病相关肠道免疫功能关系的研究几乎是空白。越来越多的研究表明神经和内分泌系统对黏膜免疫系统的影响是

不容忽视的. 尤其是近年越来越多的关于脑-肠轴、肠道菌群与肠道免疫及大脑关系的研究表明黏膜免疫系统并非独立的, 与肠道菌群(如上述)、神经和内分泌系统密切相关<sup>[78,79]</sup>. 如研究显示VIP(血管活性肠肽: 肠道内分泌细胞和神经元都可分泌)可以通过固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILC) 3表达的VIP受体促进肠黏膜中ILC3表达IL-22. 而IL-22不仅参与肠黏膜抗感染免疫, 而且参与维持肠上皮屏障的完整性<sup>[79,80]</sup>. 虽然神经内分泌因素参与肠道黏膜屏障功能的调节, 但在抗HIV-1入侵的免疫屏障中的作用尚待研究.

精液不仅是艾滋病性接触传播中HIV-1的载体, 也是HIV-1传播效率的重要影响因素<sup>[81,82]</sup>. 精液中含有游离的HIV-1病毒粒子、HIV-1感染的白细胞和附着在精子上的HIV-1病毒, 游离病毒和感染过的白细胞在病毒传播中发挥主要作用. 精液一方面可以促进HIV-1感染: 如精子可以促进HIV-1传给树突状细胞(dendritic cells, DC)、精液可以改变阴道内的pH值而促进HIV-1感染、精液可以诱导女性生殖道炎症反应促进HIV-1感染、精液中的淀粉样原纤维可促进HIV-1感染、精液中含有高浓度免疫调节因子可通过抑制对HIV-1的免疫应答促进HIV-1感染<sup>[81,83-85]</sup>. 另一方面精液也可能抑制HIV-1感染: 如精液可以抑制HIV-1与DC-SIGN的结合及HIV-1从DC向CD4+T细胞的传播<sup>[86]</sup>. 精液中也含有多种能够影响黏膜屏障的激素和细胞因子等成分<sup>[48]</sup>, 是否和如何参与HIV-1跨上皮入侵缺乏系统深入的研究.

#### 4 结论

近四十年来人们就HIV-1感染相关生物学因素进行了海量的研究<sup>[87-92]</sup>. 不仅研究了HESN, 还研究了长期不进展者、高级控制者和进展快慢不同的各种人群<sup>[93]</sup>. 研究涉及(1)获得性免疫应答各环节, 如抗原呈递(ERAP2)、免疫调节及体液和细胞免疫保护; (2)固有免疫应答各环节, 如模式识别受体(TLR3)、调节和效应分子(如抗菌肽); (3)各种宿主限制因子(APBEC3G、TRIM5和Mx2等); (4)病毒生物学特性及感染过程各个环节, 如病毒定向转运到靶细胞、病毒进入(CCR5)和复制等. 接触未感染者在反复接触HIV-1后并不被感染<sup>[94-96]</sup>, 可能的保护机制包括: (1)病毒辅助受体CCR5的表达缺乏或低表达<sup>[97]</sup>; (2)趋化因子MIP- $\alpha/\beta$ 、RANTES或SDF-1表达水平高<sup>[98]</sup>; (3)靶细胞凋亡<sup>[99]</sup>; (4)SLPI、Defensins、Cathelicidin、TRIM5 $\alpha$ 、APOBEC-3G、SAMHD1、Serpina1和Elafin等宿主抗病毒因子或限制因子<sup>[100]</sup>; (5)IRF-1表达水平低<sup>[101]</sup>; (6)自然杀伤细胞和DC细胞活性高<sup>[102,103]</sup>; (7)存在具中和活性的IgA<sup>[104]</sup>; (8)存在有效的多功能性CD4+T和CD8+T细胞应答<sup>[105-107]</sup>. 虽然大部分结果来自相关性研究, 但一些保护

性机制, 特别是中和抗体、CTL和CCR5突变的保护作用可以说是进行了机制性研究和概念验证<sup>[11]</sup>. 然而随着基于抗体和CTL的各种疫苗的相继失败和CCR5突变细胞移植治愈病例数量十分有限的客观现实<sup>[1,108-111]</sup>摆在人们面前, 我们应该清楚地认识到, 虽然研究了近40年, 也取得了长足的进展<sup>[1-3]</sup>, 但目前对许多关键的保护因素及其相互作用的认识仍然不足, 成为研发HIV-1感染预防措施的主要科学障碍<sup>[21]</sup>.

由于黏膜是HIV-1入侵人体的主要门户, 关闭HIV-1入侵的大门<sup>[112]</sup>使病毒无门可入, 是预防HIV-1感染和艾滋病的理想方法. 疫苗是阻止和预防病原体黏膜传播的重要手段. 对HIV-1疫苗的研究自HIV-1发现以来从来没有间断过. 几乎是人们能够想到的可以作为疫苗靶点的HIV-1组分和宿主分子都进行过研究, 包括那些在HIV-1感染过程中与HIV-1相互作用的宿主分子或病毒携带宿主分子, 如CCR5和MHC分子等<sup>[113,114]</sup>. 疫苗形式包括蛋白疫苗、核酸疫苗、载体疫苗等, 疫苗效应机制包括抗体和CTL等. 但无一例外地, 所有疫苗要么没能进入临床试验, 要么在临床试验中未显示出足够的临床保护效果, 有的甚至具有促进感染的作用<sup>[25,26,109,115]</sup>. 被动免疫的方法也有不少尝试. 分泌型IgA和IgM是黏膜保护的主要免疫效应分子, 在临床观察和体外研究中都证明其与黏膜保护有关. 但能够诱导黏膜HIV-1特异分泌型抗体的疫苗并未能100%地阻止病毒经黏膜途径感染受试动物, 中和抗体(包括广谱中和抗体)也未能100%阻止病毒经黏膜途径感染受试动物<sup>[116]</sup>. 事实上, 临床研究中也发现一些接触未感染者黏膜分泌液中检测不到HIV-1特异的IgA或IgM<sup>[21]</sup>. 体外上皮细胞模型研究证明HIV-1 Env特异的dIgA和IgM可以阻止HIV-1跨越上皮屏障, 但其抑制作用分别为60%和80%, 不能100%阻止HIV-1跨越完整的上皮屏障, 且在上皮顶端加入抗体几乎无阻断作用<sup>[53]</sup>. 即使是广谱中和抗体(2F5、2G12和IgG1b12)也不一定能够有效阻止病毒的穿胞转运<sup>[117,118]</sup>. 至于CTL是否及如何阻止HIV-1跨上皮入侵尚不清楚<sup>[119,120]</sup>.

局部杀微生物剂也是人类阻断黏膜传播的重要方法. 对HIV-1局部杀微生物剂的研究也从来没有停止过. 按效应机制抗HIV-1的微生物杀菌剂包括: 直接灭活HIV-1病毒(如N-9和BufferGel), 抑制病毒复制(如UC-781和TMC120), 阻止病毒进入(如PRO2000、CV-N和BMS378806), 阻止宿主分子与病毒相互作用(如APO-RANTES和TNX355)等<sup>[121]</sup>, 但绝大多数未能通过临床试验. 虽然抗病毒药物[如替诺福韦(tenofovir, TFV)和达匹维林(dapivirine, DPV)等]在局部杀微生物剂中的应用虽然显示出一定的效果, 但临床实验显示其效果(TFV: 39%-54%; DPV: 27%-37%)也大有提升空间<sup>[122,123]</sup>.



值得特别注意的是, 由于TFV和DPV等抗病毒药物也是HIV-1治疗用药, 存在加快耐药株产生和对耐药株黏膜传播无阻止作用的风险<sup>[124]</sup>。因此, 虽然许多候选局部杀微生物剂进入了临床试验, 但人们依然缺乏安全、完全有效和适合临床应用的局部杀微生物剂<sup>[47]</sup>。另外, 虽然口服抗病毒药物也用于“预防”性传播, 但效果尚不如安全套<sup>[125,126]</sup>, 不仅需要较高的药物依从性, 而且还存在毒副作用、促进耐药株流行、甚至感染上耐药株的风险<sup>[124,127]</sup>。

虽然HESN的存在告诉我们存在阻止HIV-1传播的方法, 但人们通过近40年的探索并未找到。充分说明人们关于HIV-1传播、感染和复制等生物学过程的知识存在明显缺口。虽然黏膜上皮屏障在HIV-1传播路径上占据着十分独特的位置, 可能是HIV-1性接触(尤其是经直肠黏膜)传播和MTCT中病毒入侵的关键部位<sup>[128]</sup>; 成功阻止HIV-1跨越这些部位的黏膜上皮, 将有望显著降低HIV-1的感染率<sup>[112,129]</sup>。但人们对影响HIV-1跨越这些薄弱部位的影响因素研究薄弱, 缺乏人为干预的靶点, 因此亟待研究。

## 5 参考文献

- Hütter G, Nowak D, Mossner M, Ganepola S, Müssig A, Allers K, Schneider T, Hofmann J, Kücherer C, Blau O, Blau IW, Hofmann WK, Thiel E. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009; 360: 692-698 [PMID: 19213682 DOI: 10.1056/NEJMoa0802905]
- Gupta RK, Abdul-Jawad S, McCoy LE, Mok HP, Peppia D, Salgado M, Martinez-Picado J, Nijhuis M, Wensing AMJ, Lee H, Grant P, Nastouli E, Lambert J, Pace M, Salasc F, Monit C, Innes AJ, Muir L, Waters L, Frater J, Lever AML, Edwards SG, Gabriel IH, Olavarria E. HIV-1 remission following CCR5Δ32/Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature* 2019; 568: 244-248 [PMID: 30836379 DOI: 10.1038/s41586-019-1027-4]
- Ndung'u T, McCune JM, Deeks SG. Why and where an HIV cure is needed and how it might be achieved. *Nature* 2019; 576: 397-405 [PMID: 31853080 DOI: 10.1038/s41586-019-1841-8]
- Kordelas L, Verheyen J, Beelen DW, Horn PA, Heinold A, Kaiser R, Trenchel R, Schadendorf D, Dittmer U, Esser S; Essen HIV AlloSCT Group. Shift of HIV tropism in stem-cell transplantation with CCR5 Delta32 mutation. *N Engl J Med* 2014; 371: 880-882 [PMID: 25162903 DOI: 10.1056/NEJMc1405805]
- Haase AT. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu Rev Med* 2011; 62: 127-139 [PMID: 21054171 DOI: 10.1146/annurev-med-080709-124959]
- Notario-Pérez F, Ruiz-Caro R, Veiga-Ochoa MD. Historical development of vaginal microbicides to prevent sexual transmission of HIV in women: from past failures to future hopes. *Drug Des Devel Ther* 2017; 11: 1767-1787 [PMID: 28670111 DOI: 10.2147/DDDT.S133170]
- Anderson DJ, Politch JA, Zeitlin L, Hiatt A, Kadasia K, Mayer KH, Ruprecht RM, Villingier F, Whaley KJ. Systemic and topical use of monoclonal antibodies to prevent the sexual transmission of HIV. *AIDS* 2017; 31: 1505-1517 [PMID: 28463876 DOI: 10.1097/QAD.0000000000001521]
- Pavot V, Rochereau N, Lawrence P, Girard MP, Genin C, Verrier B, Paul S. Recent progress in HIV vaccines inducing mucosal immune responses. *AIDS* 2014; 28: 1701-1718 [PMID: 25009956 DOI: 10.1097/QAD.0000000000000308]
- Yu M, Vajdy M. Mucosal HIV transmission and vaccination strategies through oral compared with vaginal and rectal routes. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 1181-1195 [PMID: 20624114 DOI: 10.1517/14712598.2010.496776]
- Cutler B, Justman J. Vaginal microbicides and the prevention of HIV transmission. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 685-697 [PMID: 18992405 DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70254-8]
- Klasse PJ, Shattock R, Moore JP. Antiretroviral drug-based microbicides to prevent HIV-1 sexual transmission. *Annu Rev Med* 2008; 59: 455-471 [PMID: 17892435 DOI: 10.1146/annurev.med.59.061206.112737]
- Lederman MM, Offord RE, Hartley O. Microbicides and other topical strategies to prevent vaginal transmission of HIV. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 371-382 [PMID: 16639430 DOI: 10.1038/nri1848]
- Kozłowski PA, Aldovini A. Mucosal Vaccine Approaches for Prevention of HIV and SIV Transmission. *Curr Immunol Rev* 2019; 15: 102-122 [PMID: 31452652 DOI: 10.2174/1573395514666180605092054]
- Sekaly RP. The failed HIV Merck vaccine study: a step back or a launching point for future vaccine development? *J Exp Med* 2008; 205: 7-12 [PMID: 18195078 DOI: 10.1084/jem.20072681]
- Mandelbrot L, Landreau-Mascaro A, Rekacewicz C, Berrebi A, Bénifla JL, Burgard M, Lachassine E, Barret B, Chaix ML, Bongain A, Ciraru-Vigneron N, Crenn-Hébert C, Delfraissy JF, Rouzioux C, Mayaux MJ, Blanche S; Agence Nationale de Recherches sur le SIDA (ANRS) 075 Study Group. Lamivudine-zidovudine combination for prevention of maternal-infant transmission of HIV-1. *JAMA* 2001; 285: 2083-2093 [PMID: 11311097 DOI: 10.1001/jama.285.16.2083]
- European Collaborative Study.. Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 458-465 [PMID: 15668871 DOI: 10.1086/427287]
- Shapiro RL, Lockman S, Kim S, Smeaton L, Rahkola JT, Thior I, Wester C, Moffat C, Arimi P, Ndase P, Asmelash A, Stevens L, Montano M, Makhema J, Essex M, Janoff EN. Infant morbidity, mortality, and breast milk immunologic profiles among breast-feeding HIV-infected and HIV-uninfected women in Botswana. *J Infect Dis* 2007; 196: 562-569 [PMID: 17624842 DOI: 10.1086/519847]
- Brennan AT, Bonawitz R, Gill CJ, Thea DM, Kleinman M, Useem J, Garrison L, Ceccarelli R, Udokwu C, Long L, Fox MP. A meta-analysis assessing all-cause mortality in HIV-exposed uninfected compared with HIV-unexposed uninfected infants and children. *AIDS* 2016; 30: 2351-2360 [PMID: 27456985 DOI: 10.1097/QAD.0000000000001211]
- Fenizia C, Saulle I, Clerici M, Biasin M. Genetic and epigenetic regulation of natural resistance to HIV-1 infection: new approaches to unveil the HESN secret. *Expert Rev Clin Immunol* 2020; 16: 429-445 [PMID: 32085689 DOI: 10.1080/1744666X.2020.1732820]
- Ortega PAS, Saulle I, Mercurio V, Ibba SV, Lori EM, Fenizia C, Masetti M, Trabattini D, Caputo SL, Vichi F, Mazzotta F, Clerici M, Biasin M. Interleukin 21 (IL-21)/microRNA-29 (miR-29) axis is associated with natural resistance to HIV-1 infection. *AIDS* 2018; 32: 2453-2461 [PMID: 30005016 DOI: 10.1097/QAD.0000000000001938]
- Tomescu C, Abdulhaqq S, Montaner LJ. Evidence for the innate immune response as a correlate of protection in human

- immunodeficiency virus (HIV)-1 highly exposed seronegative subjects (HESN). *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 158-169 [PMID: 21413945 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04379.x]
- 22 Ronen K, Sharma A, Overbaugh J. HIV transmission biology: translation for HIV prevention. *AIDS* 2015; 29: 2219-2227 [PMID: 26418086 DOI: 10.1097/QAD.0000000000000845]
  - 23 Iqbal SM, Ball TB, Kimani J, Kiama P, Thottingal P, Embree JE, Fowke KR, Plummer FA. Elevated T cell counts and RANTES expression in the genital mucosa of HIV-1-resistant Kenyan commercial sex workers. *J Infect Dis* 2005; 192: 728-738 [PMID: 16088822 DOI: 10.1086/432482]
  - 24 Fowke KR, Dong T, Rowland-Jones SL, Oyugi J, Rutherford WJ, Kimani J, Krausa P, Bwayo J, Simonsen JN, Shearer GM, Plummer FA. HIV type 1 resistance in Kenyan sex workers is not associated with altered cellular susceptibility to HIV type 1 infection or enhanced beta-chemokine production. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14: 1521-1530 [PMID: 9840285 DOI: 10.1089/aid.1998.14.1521]
  - 25 Bekker LG, Tatoud R, Dabis F, Feinberg M, Kaleebu P, Marovich M, Ndung'u T, Russell N, Johnson J, Luba M, Fauci AS, Morris L, Pantaleo G, Buchbinder S, Gray G, Vekemans J, Kim JH, Levy Y, Corey L, Shattock R, Makanga M, Williamson C, Dieffenbach C, Goodenow MM, Shao Y, Staprans S, Warren M, Johnston MI. The complex challenges of HIV vaccine development require renewed and expanded global commitment. *Lancet* 2020; 395: 384-388 [PMID: 31806257 DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32682-0]
  - 26 Larijani MS, Ramezani A, Sadat SM. Updated Studies on the Development of HIV Therapeutic Vaccine. *Curr HIV Res* 2019; 17: 75-84 [PMID: 31210114 DOI: 10.2174/1570162X17666190618160608]
  - 27 De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS* 2012; 26: 1205-1213 [PMID: 22706007 DOI: 10.1097/QAD.0b013e328354622a]
  - 28 Centers for Disease Control and Prevention. HIV Surveillance Report: 2018 (Preliminary). Available from: <http://www.cdc.gov/hiv/library/reports/hiv-surveillance.html>
  - 29 van der Graaf M, Diepersloot R. Sexual transmission of HIV: routes, efficiency, cofactors and prevention. A survey of the literature. *Infection* 1989; 17: 210-215 [PMID: 2670765 DOI: 10.1007/bf01639521]
  - 30 Royce RA, Seña A, Cates W Jr, Cohen MS. Sexual transmission of HIV. *N Engl J Med* 1997; 336: 1072-1078 [PMID: 9091805 DOI: 10.1056/NEJM199704103361507]
  - 31 Phillips DM. The role of cell-to-cell transmission in HIV infection. *AIDS* 1994; 8: 719-731 [PMID: 8086128 DOI: 10.1097/00002030-199406000-00001]
  - 32 Mofenson LM. Mother-child HIV-1 transmission: Timing and determinants. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24: 759-784 [PMID: 9430166 DOI: 10.1016/S0889-8545(05)70343-0]
  - 33 Bagdaley RF, Boily MC, White RG, Alary M. Risk of HIV-1 transmission for parenteral exposure and blood transfusion: a systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2006; 20: 805-812 [PMID: 16549963 DOI: 10.1097/01.aids.0000218543.46963.6d]
  - 34 Jennes W, Vuylsteke B, Borget MY, Traore-Ettiégne V, Maurice C, Nolan M, Nkengasong JN, Kestens L. HIV-specific T helper responses and frequency of exposure among HIV-exposed seronegative female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire. *J Infect Dis* 2004; 189: 602-610 [PMID: 14767812 DOI: 10.1086/381454]
  - 35 Moore A, Herrera G, Nyamongo J, Lackritz E, Granade T, Nahlen B, Oloo A, Opondo G, Muga R, Janssen R. Estimated risk of HIV transmission by blood transfusion in Kenya. *Lancet* 2001; 358: 657-660 [PMID: 11530174 DOI: 10.1016/S0140-6736(01)05783-X]
  - 36 Gray RH, Wawer MJ, Brookmeyer R, Sewankambo NK, Serwadda D, Wabwire-Mangen F, Lutalo T, Li X, vanCott T, Quinn TC, Rakai Project Team. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet* 2001; 357: 1149-1153 [PMID: 11323041 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04331-2]
  - 37 Padian NS, Shiboski SC, Glass SO, Vittinghoff E. Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus (HIV) in northern California: results from a ten-year study. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 350-357 [PMID: 9270414 DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009276]
  - 38 Vittinghoff E, Douglas J, Judson F, McKirnan D, MacQueen K, Buchbinder SP. Per-contact risk of human immunodeficiency virus transmission between male sexual partners. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 306-311 [PMID: 10430236 DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010003]
  - 39 Bomsel M. Transcytosis of infectious human immunodeficiency virus across a tight human epithelial cell line barrier. *Nat Med* 1997; 3: 42-47 [PMID: 8986739 DOI: 10.1038/nm0197-42]
  - 40 Paquin-Proulx D, Gibbs A, Bächle SM, Checa A, Introini A, Leeansyah E, Wheelock CE, Nixon DF, Broliden K, Tjernlund A, Moll M, Sandberg JK. Innate Invariant NKT Cell Recognition of HIV-1-Infected Dendritic Cells Is an Early Detection Mechanism Targeted by Viral Immune Evasion. *J Immunol* 2016; 197: 1843-1851 [PMID: 27481843 DOI: 10.4049/jimmunol.1600556]
  - 41 Chung AW, Isitman G, Navis M, Kramski M, Center RJ, Kent SJ, Stratov I. Immune escape from HIV-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 7505-7510 [PMID: 21502492 DOI: 10.1073/pnas.1016048108]
  - 42 Ammaranond P, van Bockel DJ, Petoumenos K, McMurchie M, Finlayson R, Middleton MG, Davenport MP, Venturi V, Suzuki K, Gelgor L, Kaldor JM, Cooper DA, Kelleher AD. HIV immune escape at an immunodominant epitope in HLA-B\*27-positive individuals predicts viral load outcome. *J Immunol* 2011; 186: 479-488 [PMID: 21115730 DOI: 10.4049/jimmunol.0903227]
  - 43 Kirchhoff F. Immune evasion and counteraction of restriction factors by HIV-1 and other primate lentiviruses. *Cell Host Microbe* 2010; 8: 55-67 [PMID: 20638642 DOI: 10.1016/j.chom.2010.06.004]
  - 44 Davenport MP, Loh L, Petravic J, Kent SJ. Rates of HIV immune escape and reversion: implications for vaccination. *Trends Microbiol* 2008; 16: 561-566 [PMID: 18964018 DOI: 10.1016/j.tim.2008.09.001]
  - 45 Cunningham AL, Harman AN, Donaghy H. DC-SIGN 'AIDS' HIV immune evasion and infection. *Nat Immunol* 2007; 8: 556-558 [PMID: 17514207 DOI: 10.1038/ni0607-556]
  - 46 Wood LF, Chahroudi A, Chen HL, Jansan HB, Sodora DL. The oral mucosa immune environment and oral transmission of HIV/SIV. *Immunol Rev* 2013; 254: 34-53 [PMID: 23772613 DOI: 10.1111/imr.12078]
  - 47 Coutinho C, Sarmiento B, das Neves J. Targeted microbicides for preventing sexual HIV transmission. *J Control Release* 2017; 266: 119-128 [PMID: 28951320 DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.09.030]
  - 48 Dupont HA, Lam J, Woods MW, Zahoor MA, Kaushic C. Hormonal influence on HIV-1 transmission in the female genital tract: New insights from systems biology. *Am J Reprod Immunol* 2018; 80: e13019 [PMID: 30014538 DOI: 10.1111/aji.13019]
  - 49 Neidleman JA, Chen JC, Kohgadai N, Müller JA, Laustsen A, Thavachelam K, Jang KS, Stürzel CM, Jones JJ, Ochsenbauer C, Chitre A, Somsouk M, Garcia MM, Smith JF, Greenblatt RM, Münch J, Jakobsen MR, Giudice LC, Greene WC, Roan



- NR. Mucosal stromal fibroblasts markedly enhance HIV infection of CD4<sup>+</sup> T cells. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006163 [PMID: 28207890 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006163]
- 50 Veazey RS, Shattock RJ, Pope M, Kirijan JC, Jones J, Hu Q, Ketas T, Marx PA, Klasse PJ, Burton DR, Moore JP. Prevention of virus transmission to macaque monkeys by a vaginally applied monoclonal antibody to HIV-1 gp120. *Nat Med* 2003; 9: 343-346 [PMID: 12579198 DOI: 10.1038/nm833]
- 51 Hessel AJ, Pognard P, Hunter M, Hangartner L, Tehrani DM, Bleeker WK, Parren PW, Marx PA, Burton DR. Effective, low-titer antibody protection against low-dose repeated mucosal SHIV challenge in macaques. *Nat Med* 2009; 15: 951-954 [PMID: 19525965 DOI: 10.1038/nm.1974]
- 52 Stieh DJ, Maric D, Kelley ZL, Anderson MR, Hattaway HZ, Beilfuss BA, Rothwangl KB, Veazey RS, Hope TJ. Vaginal challenge with an SIV-based dual reporter system reveals that infection can occur throughout the upper and lower female reproductive tract. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1004440 [PMID: 25299616 DOI: 10.1371/journal.ppat.1004440]
- 53 Bomsel M, Heyman M, Hocini H, Lagaye S, Belec L, Dupont C, Desgranges C. Intracellular neutralization of HIV transcytosis across tight epithelial barriers by anti-HIV envelope protein dIgA or IgM. *Immunity* 1998; 9: 277-287 [PMID: 9729048 DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80610-x]
- 54 Meng G, Wei X, Wu X, Sellers MT, Decker JM, Moldoveanu Z, Orenstein JM, Graham MF, Kappes JC, Mestecky J, Shaw GM, Smith PD. Primary intestinal epithelial cells selectively transfer R5 HIV-1 to CCR5<sup>+</sup> cells. *Nat Med* 2002; 8: 150-156 [PMID: 11821899 DOI: 10.1038/nm0202-150]
- 55 Baba TW, Trichel AM, An L, Liska V, Martin LN, Murphey-Corb M, Ruprecht RM. Infection and AIDS in adult macaques after nontraumatic oral exposure to cell-free SIV. *Science* 1996; 272: 1486-1489 [PMID: 8633242 DOI: 10.1126/science.272.5267.1486]
- 56 Chenine AL, Siddappa NB, Kramer VG, Sciaranghella G, Rasmussen RA, Lee SJ, Santosuosso M, Poznansky MC, Velu V, Amara RR, Souder C, Anderson DC, Villinger F, Else JG, Novembre FJ, Strobert E, O'Neil SP, Secor WE, Ruprecht RM. Relative transmissibility of an R5 clade C simian-human immunodeficiency virus across different mucosae in macaques parallels the relative risks of sexual HIV-1 transmission in humans via different routes. *J Infect Dis* 2010; 201: 1155-1163 [PMID: 20214475 DOI: 10.1086/651274]
- 57 Hocini H, Bomsel M. Infectious human immunodeficiency virus can rapidly penetrate a tight human epithelial barrier by transcytosis in a process impaired by mucosal immunoglobulins. *J Infect Dis* 1999; 179 Suppl 3: S448-S453 [PMID: 10099117 DOI: 10.1086/314802]
- 58 Nazli A, Chan O, Dobson-Belaire WN, Ouellet M, Tremblay MJ, Gray-Owen SD, Arsenaault AL, Kaushic C. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000852 [PMID: 20386714 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000852]
- 59 Wang F, Cui Y, Shen X, Wang S, Yang GB. IL-17A and IL-17F repair HIV-1 gp140 damaged Caco-2 cell barriers by upregulating tight junction genes. *Microbes Infect* 2019; 21: 393-400 [PMID: 30951887 DOI: 10.1016/j.micinf.2019.03.003]
- 60 Fantini J, Yahia N, Chermann JC. Human immunodeficiency virus can infect the apical and basolateral surfaces of human colonic epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9297-9301 [PMID: 1718004 DOI: 10.1073/pnas.88.20.9297]
- 61 Fantini J, Cook DG, Nathanson N, Spitalnik SL, Gonzalez-Scarano F. Infection of colonic epithelial cell lines by type 1 human immunodeficiency virus is associated with cell surface expression of galactosylceramide, a potential alternative gp120 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2700-2704 [PMID: 8464878 DOI: 10.1073/pnas.90.7.2700]
- 62 Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 141-153 [PMID: 24566914 DOI: 10.1038/nri3608]
- 63 Lopez CA, Kingsbury DD, Velazquez EM, Bäuml AJ. Collateral damage: microbiota-derived metabolites and immune function in the antibiotic era. *Cell Host Microbe* 2014; 16: 156-163 [PMID: 25121745 DOI: 10.1016/j.chom.2014.07.009]
- 64 Furrie E, Macfarlane S, Thomson G, Macfarlane GT; Microbiology & Gut Biology Group; Tayside Tissue Tumour Bank. Toll-like receptors-2, -3 and -4 expression patterns on human colon and their regulation by mucosal-associated bacteria. *Immunology* 2005; 115: 565-574 [PMID: 16011525 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02200.x]
- 65 Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- $\kappa$ B by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001; 413: 732-738 [PMID: 11607032 DOI: 10.1038/35099560]
- 66 Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 197-216 [PMID: 11861602 DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359]
- 67 Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology* 2004; 127: 224-238 [PMID: 15236188 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.04.015]
- 68 Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2007; 132: 1359-1374 [PMID: 17408640 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.056]
- 69 Moura-Alves P, Faé K, Houthuys E, Dorhoi A, Kreuchwig A, Furkert J, Barison N, Diehl A, Munder A, Constant P, Skrahina T, Gühlich-Bornhof U, Klemm M, Koehler AB, Bandermann S, Goosmann C, Mollenkopf HJ, Hurwitz R, Brinkmann V, Fillatreau S, Daffe M, Tümmler B, Kolbe M, Oschkinat H, Krause G, Kaufmann SH. AHR sensing of bacterial pigments regulates antibacterial defence. *Nature* 2014; 512: 387-392 [PMID: 25119038 DOI: 10.1038/nature13684]
- 70 Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veen J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudensky AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 2013; 504: 451-455 [PMID: 24226773 DOI: 10.1038/nature12726]
- 71 Hang S, Paik D, Yao L, Kim E, Trinath J, Lu J, Ha S, Nelson BN, Kelly SP, Wu L, Zheng Y, Longman RS, Rastinejad F, Devlin AS, Krout MR, Fischbach MA, Littman DR, Huh JR. Bile acid metabolites control T<sub>H</sub>17 and T<sub>reg</sub> cell differentiation. *Nature* 2019; 576: 143-148 [PMID: 31776512 DOI: 10.1038/s41586-019-1785-z]
- 72 Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-Y M, Glickman JN, Garrett WS. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013; 341: 569-573 [PMID: 23828891 DOI: 10.1126/science.1241165]
- 73 Alex S, Lange K, Amolo T, Grinstead JS, Haakonsson AK, Szalowska E, Koppen A, Mudde K, Haenen D, Al-Lahham S, Roelofs H, Houtman R, van der Burg B, Mandrup S, Bonvin AM, Kalkhoven E, Müller M, Hooiveld GJ, Kersten S. Short-chain fatty acids stimulate angiopoietin-like 4 synthesis in human colon adenocarcinoma cells by activating peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ . *Mol Cell Biol* 2013; 33: 1303-1316 [PMID: 23339868 DOI: 10.1128/MCB.00858-12]
- 74 Mariadason JM, Barkla DH, Gibson PR. Effect of short-chain fatty acids on paracellular permeability in Caco-2 intestinal epithelium model. *Am J Physiol* 1997; 272: G705-G712 [PMID: 9142899 DOI: 10.1152/ajpgi.1997.272.4.G705]

- 75 Peng L, Li ZR, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr* 2009; 139: 1619-1625 [PMID: 19625695 DOI: 10.3945/jn.109.104638]
- 76 Saba E, Origoni M, Taccagni G, Ferrari D, Doglioni C, Nava A, Lisco A, Grivel JC, Margolis L, Poli G. Productive HIV-1 infection of human cervical tissue ex vivo is associated with the secretory phase of the menstrual cycle. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 1081-1090 [PMID: 23385427 DOI: 10.1038/mi.2013.2]
- 77 Sampah ME, Laird GM, Blankson JN, Siliciano RF, Coleman JS. Medroxyprogesterone acetate increases HIV-1 infection of unstimulated peripheral blood mononuclear cells in vitro. *AIDS* 2015; 29: 1137-1146 [PMID: 26035316 DOI: 10.1097/QAD.0000000000000681]
- 78 Obata Y, Castaño Á, Boeig S, Bon-Frauches AC, Fung C, Fallesen T, de Agüero MG, Yilmaz B, Lopes R, Huseynova A, Horswell S, Maradana MR, Boesmans W, Vanden Berghe P, Murray AJ, Stockinger B, Macpherson AJ, Pachnis V. Neuronal programming by microbiota regulates intestinal physiology. *Nature* 2020; 578: 284-289 [PMID: 32025031 DOI: 10.1038/s41586-020-1975-8]
- 79 Seillet C, Luong K, Tellier J, Jacquolot N, Shen RD, Hickey P, Wimmer VC, Whitehead L, Rogers K, Smyth GK, Garnham AL, Ritchie ME, Belz GT. The neuropeptide VIP confers anticipatory mucosal immunity by regulating ILC3 activity. *Nat Immunol* 2020; 21: 168-177 [PMID: 31873294 DOI: 10.1038/s41590-019-0567-y]
- 80 Neil JA, Matsuzawa-Ishimoto Y, Kernbauer-Hölzl E, Schuster SL, Sota S, Venzon M, Dallari S, Galvao Neto A, Hine A, Hudesman D, Loke P, Nice TJ, Cadwell K. IFN- $\gamma$  and IL-22 mediate protective effects of intestinal viral infection. *Nat Microbiol* 2019; 4: 1737-1749 [PMID: 31182797 DOI: 10.1038/s41564-019-0470-1]
- 81 Zirafi O, Kim KA, Roan NR, Kluge SF, Müller JA, Jiang S, Mayer B, Greene WC, Kirchhoff F, Münch J. Semen enhances HIV infectivity and impairs the antiviral efficacy of microbicides. *Sci Transl Med* 2014; 6: 262ra157 [PMID: 25391483 DOI: 10.1126/scitranslmed.3009634]
- 82 Sabatté J, Remes Lenicov F, Cabrini M, Rodríguez Rodríguez C, Ostrowski M, Ceballos A, Amigorena S, Geffner J. The role of semen in sexual transmission of HIV: beyond a carrier for virus particles. *Microbes Infect* 2011; 13: 977-982 [PMID: 21767659 DOI: 10.1016/j.micinf.2011.06.005]
- 83 Münch J, Sauermann U, Yolamanova M, Raue K, Stahl-Hennig C, Kirchhoff F. Effect of semen and seminal amyloid on vaginal transmission of simian immunodeficiency virus. *Retrovirology* 2013; 10: 148 [PMID: 24308721 DOI: 10.1186/1742-4690-10-148]
- 84 Münch J, Rücker E, Ständer L, Adermann K, Goffinet C, Schindler M, Wildum S, Chinnadurai R, Rajan D, Specht A, Giménez-Gallego G, Sánchez PC, Fowler DM, Koulou A, Kelly JW, Mothes W, Grivel JC, Margolis L, Keppler OT, Forssmann WG, Kirchhoff F. Semen-derived amyloid fibrils drastically enhance HIV infection. *Cell* 2007; 131: 1059-1071 [PMID: 18083097 DOI: 10.1016/j.cell.2007.10.014]
- 85 Ceballos A, Remes Lenicov F, Sabatté J, Rodríguez Rodríguez C, Cabrini M, Jancic C, Raiden S, Donaldson M, Agustín Pasqualini R Jr, Marin-Briggiler C, Vazquez-Levin M, Capani F, Amigorena S, Geffner J. Spermatozoa capture HIV-1 through heparan sulfate and efficiently transmit the virus to dendritic cells. *J Exp Med* 2009; 206: 2717-2733 [PMID: 19858326 DOI: 10.1084/jem.20091579]
- 86 Sabatté J, Ceballos A, Raiden S, Vermeulen M, Nahmod K, Maggini J, Salamone G, Salomón H, Amigorena S, Geffner J. Human seminal plasma abrogates the capture and transmission of human immunodeficiency virus type 1 to CD4 $^{+}$  T cells mediated by DC-SIGN. *J Virol* 2007; 81: 13723-13734 [PMID: 17913809 DOI: 10.1128/JVI.01079-07]
- 87 Jean MJ, Fiches G, Hayashi T, Zhu J. Current Strategies for Elimination of HIV-1 Latent Reservoirs Using Chemical Compounds Targeting Host and Viral Factors. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2019; 35: 1-24 [PMID: 30351168 DOI: 10.1089/AID.2018.0153]
- 88 Ghimire D, Rai M, Gaur R. Novel host restriction factors implicated in HIV-1 replication. *J Gen Virol* 2018; 99: 435-446 [PMID: 29465030 DOI: 10.1099/jgv.0.001026]
- 89 Merindol N, Berthou L. Restriction Factors in HIV-1 Disease Progression. *Curr HIV Res* 2015; 13: 448-461 [PMID: 26051387 DOI: 10.2174/1570162x13666150608104412]
- 90 Kaul R, Cohen CR, Chege D, Yi TJ, Tharao W, McKinnon LR, Remis R, Anzala O, Kimani J. Biological factors that may contribute to regional and racial disparities in HIV prevalence. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65: 317-324 [PMID: 21223426 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00962.x]
- 91 DeVico AL, Gallo RC. Control of HIV-1 infection by soluble factors of the immune response. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 401-413 [PMID: 15100693 DOI: 10.1038/nrmicro878]
- 92 Rowland-Jones S, Pinheiro S, Kaul R. New insights into host factors in HIV-1 pathogenesis. *Cell* 2001; 104: 473-476 [PMID: 11239405 DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00235-5]
- 93 Fenizia C, Rossignol JF, Clerici M, Biasin M. Genetic and immune determinants of immune activation in HIV-exposed seronegative individuals and their role in protection against HIV infection. *Infect Genet Evol* 2018; 66: 325-334 [PMID: 29258786 DOI: 10.1016/j.meegid.2017.12.014]
- 94 Dirajlal-Fargo S, Mussi-Pinhata MM, Weinberg A, Yu Q, Cohen R, Harris DR, Bowman E, Gabriel J, Kulkarni M, Funderburg N, Chakhtoura N, McComsey GA; NISDI LILAC Protocol. HIV-exposed-uninfected infants have increased inflammation and monocyte activation. *AIDS* 2019; 33: 845-853 [PMID: 30649056 DOI: 10.1097/QAD.0000000000002128]
- 95 Fowke KR, Nagelkerke NJ, Kimani J, Simonsen JN, Anzala AO, Bwayo JJ, MacDonald KS, Ngugi EN, Plummer FA. Resistance to HIV-1 infection among persistently seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya. *Lancet* 1996; 348: 1347-1351 [PMID: 8918278 DOI: 10.1016/S0140-6736(95)12269-2]
- 96 Rowland-Jones SL, Nixon DF, Aldhous MC, Gotch F, Ariyoshi K, Hallam N, Kroll JS, Froebel K, McMichael A. HIV-specific cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant. *Lancet* 1993; 341: 860-861 [PMID: 8096564 DOI: 10.1016/0140-6736(93)93063-7]
- 97 Paxton WA, Liu R, Kang S, Wu L, Gingeras TR, Landau NR, Mackay CR, Koup RA. Reduced HIV-1 infectability of CD4 $^{+}$  lymphocytes from exposed-uninfected individuals: association with low expression of CCR5 and high production of beta-chemokines. *Virology* 1998; 244: 66-73 [PMID: 9581779 DOI: 10.1006/viro.1998.9082]
- 98 Suresh P, Wanchu A, Sachdeva RK, Bhatnagar A. Gene polymorphisms in CCR5, CCR2, CX3CR1, SDF-1 and RANTES in exposed but uninfected partners of HIV-1 infected individuals in North India. *J Clin Immunol* 2006; 26: 476-484 [PMID: 16865553 DOI: 10.1007/s10875-006-9036-0]
- 99 Velilla PA, Hoyos A, Rojas M, Patiño PJ, Vélez LA, Rugeles MT. Apoptosis as a mechanism of natural resistance to HIV-1 infection in an exposed but uninfected population. *J Clin Virol* 2005; 32: 329-335 [PMID: 15780814 DOI: 10.1016/j.jcv.2004.08.018]
- 100 Zapata W, Rodríguez B, Weber J, Estrada H, Quiñones-Mateu ME, Zimmermann PA, Lederman MM, Rugeles MT. Increased levels of human beta-defensins mRNA in sexually HIV-1 exposed but uninfected individuals. *Curr HIV Res* 2008; 6: 531-538 [PMID: 18991618 DOI: 10.2174/157016208786501463]

- 101 Su RC, Plesniarski A, Ao Z, Kimani J, Sivo A, Jaoko W, Plummer FA, Yao X, Ball TB. Reducing IRF-1 to Levels Observed in HESN Subjects Limits HIV Replication, But Not the Extent of Host Immune Activation. *Mol Ther Nucleic Acids* 2015; 4: e259 [PMID: 26506037 DOI: 10.1038/mtna.2015.29]
- 102 Miyazawa M, Lopalco L, Mazzotta F, Lo Caputo S, Veas F, Clerici M; ESN Study Group. The 'immunologic advantage' of HIV-exposed seronegative individuals. *AIDS* 2009; 23: 161-175 [PMID: 19098485 DOI: 10.1097/QAD.0b013e3283196a80]
- 103 Velilla PA, Montoya CJ, Hoyos A, Moreno ME, Chougnet C, Rugeles MT. Effect of intrauterine HIV-1 exposure on the frequency and function of uninfected newborns' dendritic cells. *Clin Immunol* 2008; 126: 243-250 [PMID: 18201932 DOI: 10.1016/j.clim.2007.11.004]
- 104 Devito C, Hinkula J, Kaul R, Lopalco L, Bwayo JJ, Plummer F, Clerici M, Broliden K. Mucosal and plasma IgA from HIV-exposed seronegative individuals neutralize a primary HIV-1 isolate. *AIDS* 2000; 14: 1917-1920 [PMID: 10997395 DOI: 10.1097/00002030-200009080-00006]
- 105 Makedonas G, Bruneau J, Alary M, Tsoukas CM, Lowndes CM, Lamothe F, Bernard NF. Comparison of HIV-specific CD8 T-cell responses among uninfected individuals exposed to HIV parenterally and mucosally. *AIDS* 2005; 19: 251-259 [PMID: 15718835]
- 106 Tudor D, Derrien M, Diomede L, Drillet AS, Houimel M, Moog C, Reynes JM, Lopalco L, Bomsel M. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from highly exposed but IgG-seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4(+) cell infection: an IgA gene and functional analysis. *Mucosal Immunol* 2009; 2: 412-426 [PMID: 19587640 DOI: 10.1038/mi.2009.89]
- 107 Truong LX, Luong TT, Scott-Algara D, Versmisse P, David A, Perez-Bercoff D, Nguyen NV, Tran HK, Cao CT, Fontanet A, Follézou JY, Theodorou I, Barré-Sinoussi F, Pancino G. CD4 cell and CD8 cell-mediated resistance to HIV-1 infection in exposed uninfected intravascular drug users in Vietnam. *AIDS* 2003; 17: 1425-1434 [PMID: 12824779 DOI: 10.1097/00002030-200307040-00002]
- 108 Hammer SM, Sobieszczyk ME, Janes H, Karuna ST, Mulligan MJ, Grove D, Koblin BA, Buchbinder SP, Keefer MC, Tomaras GD, Frahm N, Hural J, Anude C, Graham BS, Enama ME, Adams E, DeJesus E, Novak RM, Frank I, Bentley C, Ramirez S, Fu R, Koup RA, Mascola JR, Nabel GJ, Montefiori DC, Kublin J, McElrath MJ, Corey L, Gilbert PB; HVTN 505 Study Team. Efficacy trial of a DNA/rAd5 HIV-1 preventive vaccine. *N Engl J Med* 2013; 369: 2083-2092 [PMID: 24099601 DOI: 10.1056/NEJMoa1310566]
- 109 Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J, Chiu J, Paris R, Prensri N, Namwat C, de Souza M, Adams E, Benenson M, Gurunathan S, Tartaglia J, McNeil JG, Francis DP, Stablein D, Bix DL, Chunsuttiwat S, Khamboonruang C, Thongcharoen P, Robb ML, Michael NL, Kunasol P, Kim JH; MOPH-TAVEG Investigators. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* 2009; 361: 2209-2220 [PMID: 19843557 DOI: 10.1056/NEJMoa0908492]
- 110 Buchbinder SP, Mehrotra DV, Duerr A, Fitzgerald DW, Mogg R, Li D, Gilbert PB, Lama JR, Marmor M, Del Rio C, McElrath MJ, Casimiro DR, Gottesdiener KM, Chodakewitz JA, Corey L, Robertson MN; Step Study Protocol Team. Efficacy assessment of a cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled, test-of-concept trial. *Lancet* 2008; 372: 1881-1893 [PMID: 19012954 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61591-3]
- 111 Pitisuttithum P, Gilbert P, Gurwith M, Heyward W, Martin M, van Griensven F, Hu D, Tappero JW, Choopanya K; Bangkok Vaccine Evaluation Group. Randomized, double-blind, placebo-controlled efficacy trial of a bivalent recombinant glycoprotein 120 HIV-1 vaccine among injection drug users in Bangkok, Thailand. *J Infect Dis* 2006; 194: 1661-1671 [PMID: 17109337 DOI: 10.1086/508748]
- 112 Davis CW, Doms RW. HIV transmission: closing all the doors. *J Exp Med* 2004; 199: 1037-1040 [PMID: 15078894 DOI: 10.1084/jem.20040426]
- 113 Poles J, Alvarez Y, Hioe CE. Induction of intestinal immunity by mucosal vaccines as a means of controlling HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2014; 30: 1027-1040 [PMID: 25354023 DOI: 10.1089/aid.2014.0233]
- 114 Yang GB, Wang Y, Babaahmady K, Schöller J, Rahman D, Bunnik E, Spallek R, Zong CM, Duan JZ, Qin C, Jiang H, Singh M, Vaughan R, Bergmeier LA, Schuitemaker H, Shao Y, Lehner T. Immunization with recombinant macaque major histocompatibility complex class I and II and human immunodeficiency virus gp140 inhibits simian-human immunodeficiency virus infection in macaques. *J Gen Virol* 2012; 93: 1506-1518 [PMID: 22492918 DOI: 10.1099/vir.0.041061-0]
- 115 Tan HX, Kent SJ, De Rose R. Contemporary HIV Vaccines: Tissue Resident T-Cells and Strategies to Prevent Mucosal Infection. *Curr Top Med Chem* 2016; 16: 1107-1117 [PMID: 26324042 DOI: 10.2174/1568026615666150901114920]
- 116 Whaley KJ, Mayer KH. Strategies for preventing mucosal cell-associated HIV transmission. *J Infect Dis* 2014; 210 Suppl 3: S674-S680 [PMID: 25414423 DOI: 10.1093/infdis/jiu398]
- 117 Chomont N, Hocini H, Gody JC, Bouhlal H, Becquart P, Krief-Bouillet C, Kazatchkine M, Bélec L. Neutralizing monoclonal antibodies to human immunodeficiency virus type 1 do not inhibit viral transcytosis through mucosal epithelial cells. *Virology* 2008; 370: 246-254 [PMID: 17920650 DOI: 10.1016/j.virol.2007.09.006]
- 118 Parsons MS, Lloyd SB, Lee WS, Kristensen AB, Amaraseena T, Center RJ, Keele BF, Lifson JD, LaBranche CC, Montefiori D, Wines BD, Hogarth PM, Swiderek KM, Venturi V, Davenport MP, Kent SJ. Partial efficacy of a broadly neutralizing antibody against cell-associated SHIV infection. *Sci Transl Med* 2017; 9: eaaf1483 [PMID: 28794282 DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf1483]
- 119 Clerici M, Giorgi JV, Chou CC, Gudeman VK, Zack JA, Gupta P, Ho HN, Nishanian PG, Berzofsky JA, Shearer GM. Cell-mediated immune response to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in seronegative homosexual men with recent sexual exposure to HIV-1. *J Infect Dis* 1992; 165: 1012-1019 [PMID: 1533867 DOI: 10.1093/infdis/165.6.1012]
- 120 Ayala VI, Trivett MT, Barsov EV, Jain S, Piatk M Jr, Trubey CM, Alvord WG, Chertova E, Roser JD, Smedley J, Komin A, Keele BF, Ohlen C, Ott DE. Adoptive Transfer of Engineered Rhesus Simian Immunodeficiency Virus-Specific CD8+ T Cells Reduces the Number of Transmitted/Founder Viruses Established in Rhesus Macaques. *J Virol* 2016; 90: 9942-9952 [PMID: 27558423 DOI: 10.1128/JVI.01522-16]
- 121 Kuritzkes DR, Jacobson J, Powderly WG, Godofsky E, DeJesus E, Haas F, Reimann KA, Larson JL, Yarbrough PO, Curt V, Shanahan WR Jr. Antiretroviral activity of the anti-CD4 monoclonal antibody TNX-355 in patients infected with HIV type 1. *J Infect Dis* 2004; 189: 286-291 [PMID: 14722894 DOI: 10.1086/380802]
- 122 McConville C, Boyd P, Major I. Efficacy of Tenofovir 1% Vaginal Gel in Reducing the Risk of HIV-1 and HSV-2 Infection. *Clin Med Insights Womens Health* 2014; 7: 1-8 [PMID: 24741339 DOI: 10.4137/CMWH.S10353]
- 123 Baeten JM, Palanee-Phillips T, Brown ER, Schwartz K, Soto-Torres LE, Govender V, Mgodi NM, Matovu Kiweewa F,



- Nair G, Mhlanga F, Siva S, Bekker LG, Jeenarain N, Gaffoor Z, Martinson F, Makanani B, Pather A, Naidoo L, Husnik M, Richardson BA, Parikh UM, Mellors JW, Marzinke MA, Hendrix CW, van der Straten A, Ramjee G, Chirenje ZM, Nakabiito C, Taha TE, Jones J, Mayo A, Scheckter R, Berthiaume J, Livant E, Jacobson C, Ndase P, White R, Patterson K, Germuga D, Galaska B, Bunge K, Singh D, Szydlo DW, Montgomery ET, Mensch BS, Torjesen K, Grossman CI, Chakhtoura N, Nel A, Rosenberg Z, McGowan I, Hillier S; MTN-020-ASPIRE Study Team. Use of a Vaginal Ring Containing Dapivirine for HIV-1 Prevention in Women. *N Engl J Med* 2016; 375: 2121-2132 [PMID: 26900902 DOI: 10.1056/NEJMoa1506110]
- 124 Abbas UL, Glaubius R, Mubayi A, Hood G, Mellors JW. Antiretroviral therapy and pre-exposure prophylaxis: combined impact on HIV transmission and drug resistance in South Africa. *J Infect Dis* 2013; 208: 224-234 [PMID: 23570850 DOI: 10.1093/infdis/jit150]
- 125 Supervie V, Viard JP, Costagliola D, Breban R. Heterosexual risk of HIV transmission per sexual act under combined antiretroviral therapy: systematic review and bayesian modeling. *Clin Infect Dis* 2014; 59: 115-122 [PMID: 24723286 DOI: 10.1093/cid/ciu223]
- 126 Pinkerton SD, Abramson PR. Effectiveness of condoms in preventing HIV transmission. *Soc Sci Med* 1997; 44: 1303-1312 [PMID: 9141163 DOI: 10.1016/s0277-9536(96)00258-4]
- 127 Heffron R, McClelland RS, Balkus JE, Celum C, Cohen CR, Mugo N, Bukusi E, Donnell D, Lingappa J, Kiarie J, Fiedler T, Munch M, Fredricks DN, Baeten JM; Partners PrEP Study Team. Efficacy of oral pre-exposure prophylaxis (PrEP) for HIV among women with abnormal vaginal microbiota: a post-hoc analysis of the randomised, placebo-controlled Partners PrEP Study. *Lancet HIV* 2017; 4: e449-e456 [PMID: 28732773 DOI: 10.1016/S2352-3018(17)30110-8]
- 128 Baggaley RF, White RG, Boily MC. HIV transmission risk through anal intercourse: systematic review, meta-analysis and implications for HIV prevention. *Int J Epidemiol* 2010; 39: 1048-1063 [PMID: 20406794 DOI: 10.1093/ije/dyq057]
- 129 Shattock RJ, Moore JP. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol* 2003; 1: 25-34 [PMID: 15040177 DOI: 10.1038/nrmicro729]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2020 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,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[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊:序号,作者(列出全体作者)。文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。



# 生物大分子的“液-液”相分离及其在生理与疾病中的作用

陈娅婧, 杨金娥

**陈娅婧, 杨金娥**, 中山大学生命科学学院基因功能与调控教育部重点实验室 广东省广州市 510275

陈娅婧, 主要从事基因的功能与调控研究.

**基金项目:** 广东省自然科学基金, No. 2017A030313107.

**作者贡献分布:** 本文由陈娅婧与杨金娥完成; 杨金娥审校.

**通讯作者:** 杨金娥, 博士, 副教授, 510275, 广东省广州市海珠区新港西路135号, 中山大学生命科学学院基因功能与调控教育部重点实验室. lssyje@mail.sysu.edu.cn

**收稿日期:** 2020-05-18

**修回日期:** 2020-06-09

**接受日期:** 2020-07-05

**在线出版日期:** 2020-09-28

## Role of liquid-liquid phase separation in cell physiology and diseases

Ya-Jing Chen, Jin-E Yang

**Ya-Jing Chen, Jin-E Yang**, Key Laboratory of Gene Function and Regulation of the Ministry of Education, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, Guangdong Province, China

**Supported by:** Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 2017A030313107.

**Corresponding author:** Jin-E Yang, PhD, Associate Professor, Key Laboratory of Gene Function and Regulation of the Ministry of Education, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, No. 135 Xingang West Road, Haizhu District, Guangzhou 510275, Guangdong Province, China. lssyje@mail.sysu.edu.cn

**Received:** 2020-05-18

**Revised:** 2020-06-09

**Accepted:** 2020-07-05

**Published online:** 2020-09-28

## Abstract

There are many liquid-like membraneless compartments

in eukaryotic cells. Recent studies have shown that these membraneless compartments are formed through liquid-liquid phase separation (LLPS), driven by proteins, nucleic acids, and other biomacromolecules. LLPS is involved in different cell activities such as regulation of gene expression, signal transduction, stress response and so on. It is shown that dysregulation of LLPS is associated with neurodegenerative disease and cancer. This review discusses the formation and regulation of liquid-liquid separation and their roles in cell physiology and diseases.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Membrane-less compartments; Liquid-liquid phase separation; Disease

**Citation:** Chen YJ, Yang JE. Role of liquid-liquid phase separation in cell physiology and diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2020; 28(18): 884-890

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/884.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i18.884>

## 摘要

真核生物细胞中存在许多无膜液相区室. 近年来研究发现, 这些无膜区室是通过生物大分子如核酸、蛋白质凝聚发生“液-液”相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)后形成的. 它参与基因表达调控和细胞信号转导等多个生理过程LLPS结构的失调与神经退行性疾病及肿瘤相关. 本文就细胞中LLPS结构的形成、调控、功能及其与疾病的关系做一综述.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 无膜区室; “液-液”相分离; 疾病

**核心提要:** 真核生物细胞中的无膜区室是通过生物大分子如核酸、蛋白质凝聚发生“液-液”相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)后形成的. 它参与基因表达调控和细胞信号转导等多个生理过程. LLPS结构的失调与神经退行性疾病及肿瘤相关.

**文献来源:** 陈娅婧, 杨金娥. 生物大分子的“液-液”相分离及其在生理与疾病中的作用. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 884-890

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/884.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.884>

## 0 引言

真核生物的细胞器将细胞分隔为不同的区室, 使得细胞内同时进行的各种化学反应互不干扰, 从而保证细胞活动的高效有序地进行. 除传统的有膜细胞器如内质网、线粒体外, 细胞内还有一类无膜的区室结构, 如核仁、应激颗粒等, 它们也参与到细胞活动的调控, 因而又被称为无膜细胞器<sup>[1]</sup>. 近年来的证据表明, “液-液”相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)是细胞内无膜区室形成的基础. 含有内在无序区域(intrinsically disordered region, IDR)的蛋白质具有发生LLPS的潜质, 它们参与调控核仁、应激颗粒等无膜细胞器的形成<sup>[2]</sup>. 大量研究结果显示, 细胞中LLPS相关蛋白的改变会引起无膜组分的内部性质改变, 如凝胶化、固体化等, 而这种变化与神经退行性疾病及肿瘤等疾病的发生相关<sup>[3]</sup>. 本文就LLPS现象及其在细胞生理与疾病中的作用做一综述.

## 1 LLPS结构的形成

**1.1 相分离是无膜细胞器形成的基础** 细胞中的无膜细胞器的形成机制以及其物理化学本质, 是困扰了研究者多年的问题. 相分离是一个系统的能量降到最低的过程, 通常需要分子之间产生相互作用的吸引力驱动他们发生凝聚<sup>[3]</sup>. 2009年, Brangwynne等<sup>[4]</sup>首次将“相分离”的概念引入生物系统中, 用于解释秀丽隐杆线虫中生殖颗粒(P granule)不对称分配的问题. 他们观察到秀丽隐杆线虫的P granule存在边界清晰的圆形液滴, 这些液滴相互接触后可融合成更大的液滴, 而且在固体表面可出现润湿的现象. 此外, 利用荧光漂白及恢复技术, 即荧光标记P granule后, 使用高能激光束将细胞内选定区域的荧光淬灭, 然后观察邻近相同的荧光标记物重新扩散入该区域的速度和方式, 发现局部光漂白后, 经过短暂的时间, 选定区域的荧光可恢复; 而且P granule在应力剪切力的作用下液滴会变形, 说明P granule具有较高的流动性. 这些特征与体外构建的相分离体系形成的液滴十分一致. 考虑到细胞中其他的无膜细胞器也有同样类似的性质, 因此作者提出通过LLPS可提供一种特定的

方式让细胞内的特定分子聚集起来, 从而在混乱的细胞内部形成特定的无膜腔室, 为研究无膜细胞器的形成机制提供了全新的思路.

**1.2 多价互作驱动LLPS** 在细胞中, 驱动相分离结构形成的因子通常为高分子化合物, 包括蛋白质和核酸等. 类似于蛋白质聚集形成淀粉样蛋白颗粒, 蛋白质和核酸发生LLPS可能是一种普遍的现象. 但是人们发现, 只有特定的一部分蛋白质能够在生理或者病理条件下发生LLPS<sup>[5]</sup>. 分析这些蛋白质特征发现, 它们通常含有IDR<sup>[6,7]</sup>. IDR为一些低复杂度区域(low-complexity region, LCR), 其氨基酸构成较为单一, 含有少量的芳香族氨基酸, 缺乏驱动高阶折叠的结构, 如富含丝氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺或天冬酰胺等极性氨基酸的朊病毒蛋白样结构域(prion-like domain, PLD)<sup>[8,9]</sup>. 另一类LCR为RNA结合蛋白中常见的RGG结构域, 富含精氨酸<sup>[10]</sup>. 这些结构域通过介导分子间电荷-电荷,  $\pi$ - $\pi$ 和阳离子- $\pi$ 相互作用来促进分子间的多价相互作用, 从而驱动相分离结构的组装. 2012年Li等<sup>[11]</sup>发表工作, 揭示Nephrin、Nck接头蛋白(Nck adaptor protein, Nck)和神经Wiskott - Aldrich综合征蛋白(neural Wiskott-Aldrich syndrome protein, N-WASP)组成的肌动蛋白调控信号通路中, Nephrin可通过磷酸化酪氨酸与Nck的多折叠串联重复序列SH3m和N-WASP的富脯氨酸基序相互作用形成多价互作的网络, 最终形成相分离结构. 此外, RNA、蛋白的修饰如甲基化、磷酸化、泛素化等过程, 都可产生新的结合位点, 形成多价结合. 如mRNA的N6-甲基腺嘌呤甲基化修饰(N6-methyladenosine, m6A)可在RNA上增加多个m6A阅读蛋白yt521-b同源结构域家族蛋白的结合位点, 从而驱动LLPS发生<sup>[12]</sup>. 从已有的结果来看, 蛋白质-蛋白质, 蛋白质-RNA以及RNA-RNA之间的多价作用都能驱动相分离发生.

## 2 LLPS结构的形成及稳定性调节

当细胞中的生物大分子浓度达到形成相分离的所需的最低浓度, 即饱和浓度时, 即有可能发生相分离. 转录、翻译、蛋白质和核酸的修饰等这些影响生物大分子浓度以及结合状态的细胞活动, 均可能调控相分离的过程. 2019年Söding等<sup>[13]</sup>提出了相分离结构形成和稳定性调节的模型: Localization-Induction model及Enrichment-Inhibition model. 这两种模型都通过调节蛋白的修饰, 进而调控大分子之间的相互作用, 最终影响生物大分子凝聚体的形成和稳定性.

当细胞中蛋白浓度小于饱和浓度的时候, 不能自发形成相分离结构. 在这种情况下, 细胞通过Localization-Induction model调节蛋白的修饰, 如磷酸化、糖基化. 修

饰后的蛋白进一步通过多价互作聚集, 从而提高局部蛋白浓度, 促进相分离的发生. 在DNA损伤修复过程中, PARP-1蛋白对自身和其靶标蛋白进行多聚ADP核糖修饰, 进而与含RGG结构的带正电的蛋白(如FUS)多价互作, 促进相分离结构的形成. 类似地, T细胞信号转导过程中, 观察到经磷酸化修饰的蛋白通过多价互作, 被招募到膜上的ZAP70激酶上<sup>[14,15]</sup>, 参与形成相分离结构, 也间接证实了Localization-Induction model的存在的可能.

当生物大分子的浓度高于饱和浓度时, 细胞通过Enrichment-Inhibition model调节相分离结构的稳定性. 此时, 由于液相区室中富集激酶, 相分离关键驱动蛋白磷酸化加强, 因此液滴中磷酸化蛋白的浓度高于液滴外. 为避免浓度过高导致生物大分子溶解及液滴解体, 被磷酸化的蛋白通过自由扩散离开液滴, 并在液滴外去磷酸化; 而未磷酸化蛋白则通过自由扩散进入液滴, 在液滴内被磷酸化, 从而形成动态调节回路, 保持液滴大小稳定在一定范围. 该模型与线虫胚胎细胞中P granule的调节机制比较吻合: MEG蛋白是促进胚胎P granule组装的驱动蛋白, 当它被磷酸酶PPTR-1去磷酸化时, 可促进P granule组装. 而P granule中的MBK-2激酶使MEG蛋白磷酸化时, 促进P granule的分解<sup>[16]</sup>. 除此之外, 应激颗粒<sup>[17]</sup>、核旁斑<sup>[18,19]</sup>、Cajal小体<sup>[20]</sup>以及突触小泡<sup>[21]</sup>的调节也符合该模型. 虽然以上模型较好地解释了相分离结构形成和稳定性调节的机制, 但是目前仍缺乏直接的实验证据揭示细胞中存在这两种动态过程, 因此细胞中的真正情况仍有待探讨.

除了上述两种主动调节机制之外, 近年来还发现mRNA在低浓度的时候可以作为LLPS发生的驱动力, 而高浓度的mRNA则会引起相分离结构稳定性下降及相分离组分解聚<sup>[22]</sup>. 因此有研究者认为, 通过调节相分离关键组分的转录或翻译<sup>[16,22,23]</sup>, 从而调节相分离结构的形成、大小或者数量, 是另一种相对缓慢但却更为基本的相变调节模式.

### 3 LLPS结构的生理功能

LLPS可以驱动细胞的区域化, 各种无膜细胞器, 如细胞核中的核仁、Cajal小体、核旁斑等以及细胞质中的P-body、应激颗粒等, 它们的形成均离不开LLPS. 此外, 异染色质<sup>[24]</sup>、核孔复合体中的运输通道<sup>[25]</sup>和细胞膜上的膜受体簇<sup>[15]</sup>等亚细胞结构也通过LLPS形成. 相分离结构参与到各种各样的细胞生理活动中, 是细胞复杂功能网络中重要的一部分.

**3.1 相分离与基因表达调控** 2017年Hnisz等<sup>[23]</sup>发现在基因的超级增强子处, 转录因子和转录起始复合物可形成大分子凝聚物, 具有相分离结构的特征. 在c-Myc等已知

的具有超级增强子结构的基因启动子上游, 都可以观察到具有相分离特征的大分子凝聚物形成<sup>[26]</sup>. 当干扰相分离结构的组装, 则会造成基因转录水平下降<sup>[27,28]</sup>. 此外, 通过调控RNA聚合酶II的C-端结构域的磷酸化, 可调整转录起始复合物相分离结构中募集的成分, 从而促进启动子逃离, 启动转录延伸<sup>[29,30]</sup>. 相分离还可促进了异染色质的形成, 导致基因沉默<sup>[31,32]</sup>. 以上研究结果提示相分离可通过遗传与表观遗传水平, 参与调控基因表达. 2019年Cai等<sup>[27]</sup>发现, 高渗胁迫的条件下, 转录因子YAP在细胞质和细胞核都能形成相分离结构. 在胞质中, 这些液滴协助YAP进行核转位, 有利于它入核发挥转录因子的功能. 在细胞核中, YAP液滴可以重塑基因组, 从而促进YAP靶基因的表达, 以抵抗高渗胁迫环境. 这个现象也提示, 相分离结构可以调控细胞应激行为.

更有趣的是, 有研究者发现, DNA损伤导致的断裂双链DNA会募集转录起始延伸所需复合物, 从而以断链为模板转录合成DNA损伤特异诱导表达的lncRNAs, 驱动MDC1、53BP1等DNA修复相关蛋白发生相分离, 形成DNA损伤修复位点, 提示相分离在DNA损伤修复中也扮演重要角色<sup>[33,34]</sup>.

除了直接调控DNA转录, 相分离结构也参与调节mRNA稳定性和蛋白质翻译的过程. 在人类细胞中研究比较广泛的相分离结构是应激颗粒和P-body, 二者均为未翻译的mRNA储存场所, 在mRNA降解及翻译抑制等过程中发挥作用<sup>[35]</sup>. 正常生理情况下, P-body通过分子之间多价互作将胞质中富余的、未被核糖体结合的mRNA募集到其相分离腔室中, 并进一步抑制其翻译或者使之降解. 而当在P-body溶解、相分离结构消失后, mRNA可重新进入细胞质, 以便翻译成蛋白质. 因此, P-body可作为细胞中mRNA和蛋白质的移动储存器, 是蛋白翻译加工的缓冲地带<sup>[36]</sup>. 而在细胞受到胁迫的时候, 翻译受阻的mRNA、胞质中的翻译起始因子, 以及核质穿梭蛋白FUS、TDP-43等可被募集到应激颗粒液体腔室中, 待胁迫信号消失以后, 应激颗粒解聚, 蛋白和mRNA重新恢复功能<sup>[37]</sup>.

相分离甚至参与细胞中基因表达的空间调控. 一个典型的例子是神经细胞轴突中用于长距离运输mRNA的RNA转运颗粒. 它们通过相分离结构将mRNA沿轴突运输到远端, 当到达预定部位后, 可重新释放mRNA用于翻译. 肌萎缩性侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)相关蛋白ANXA11的N-端LCR结构域可发生LLPS, 进入RNA转运颗粒液体腔室中, 同时其C端膜结合域可与溶酶体膜结合. ANXA11通过这样的方式使得RNA转运颗粒与溶酶体相连, 从而使得RNA转运颗粒可通过“搭便车”的方式, 随溶酶体在细胞微管上运动, 从而



长距离转运mRNA<sup>[38]</sup>.

**3.2 相分离和细胞信号转导** 细胞信号转导往往涉及到多个配体、受体和通路上多个蛋白之间的互作. 研究发现, 许多涉及到膜受体信号转导的过程中都存在相分离的现象. 除了Nephrin-Nck-N-WASP信号通路中膜上的相分离, T细胞受体被激活后, 下游信号蛋白会发生相分离形成膜上液体样簇来介导信号转导<sup>[15]</sup>. 此外, 信号转导中间分子也会通过发生相分离来发挥作用. 如细胞质的DNA与其感受器环状GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)结合后, 强烈地诱导cGAS发生LLPS并激活cGAS酶活性, 最终促进了环状GAMP的产生和先天免疫信号转导<sup>[39]</sup>. 有意思的是, 2018年Ma等<sup>[40]</sup>发现, RNA结合蛋白TIS11B形成的相分离结构TIS 颗粒与糙面内质网组成一种亚细胞区室, 被称为TIGER域. TIS 颗粒富含具长3'UTR的膜受体CD47的mRNA (CD47-LU mRNA), 可通过其3'UTR招募信号分子SET蛋白. TIGER 域可促进CD47-LU mRNA翻译产生的CD47与SET蛋白相互作用, 从而使CD47更高效地定位到细胞膜上.

**3.3 相分离的其他功能** 近年来研究发现, 相分离结构在蛋白质质量控制中发挥重要作用. 核仁可通过相分离募集因胁迫信号错误折叠的蛋白, 防止它们自发聚集形成核内包涵体而对细胞造成毒性<sup>[41]</sup>. 类似地, 应激条件下, 蛋白酶体可依赖于泛素化修饰蛋白形成相分离液滴, 促进蛋白酶体底物蛋白的降解<sup>[42]</sup>.

除了在细胞内发现的相分离现象, 研究者也在细胞外基质以及细胞紧密连接处也发现了蛋白相分离结构. ZO蛋白会发生LLPS并与细胞膜结合形成区室化结构, 通过该结构ZO蛋白可选择性募集紧密连接相关的蛋白, 从而介导细胞之间的紧密连接<sup>[43]</sup>. 在细胞外基质中, 介导细胞连接和信号转导的细胞外凝集素蛋白Gatectin3可通过NTD中的芳香族残基驱动LLSP发生, 局部提高Gatectin3的浓度, 促进Gatectin3的凝集功能<sup>[44]</sup>. 这些结果提示, 相分离结构可参与到介导细胞之间的紧密连接以及细胞黏附.

## 4 LLPS与疾病

蛋白质或者核酸也影响着相分离结构的结合状态和理化性质, 大分子之间的多价结合状态发生异常改变会造成相分离结构的解聚或者流动性降低形成不可溶颗粒, 破坏其正常生理功能, 最终引起各种各样的疾病.

**4.1 相分离失调和神经退行性疾病** 目前, 大量的LLPS失调相关的疾病研究都集中于神经退行性疾病领域. 蛋白质的突变会造成大分子之间的相互作用结合状态发生改变, 从而使得相分离液滴的物理化学性质发生改

变, 从动态程度较高的液态结构逐渐转变为半凝胶状甚至是固态<sup>[45]</sup>. 凝胶状态的相分离经常不可逆转, 这也为阿尔兹海默症等神经退行性疾病中淀粉样纤维的形成, 提供了全新的思路. 已有大量实验证据表明, FUS、TDP-43和hnRNPA1等应激颗粒相关组分的突变会引起应激颗粒凝胶化并进一步固化形成不可溶颗粒(包涵体), 促进细胞中产生纤维样蛋白沉淀, 与肌萎缩性侧索硬化、额颞叶痴呆(frontotemporal dementia, FTD)和包涵体肌病等神经退行性疾病的发生有关<sup>[46]</sup>. C9orf72的内含子移码突变产生富含精氨酸的重复二肽结构会促进应激颗粒组分蛋白中PLD结构域之间的相互作用, 破坏应激颗粒的液相流动性或者黏性, 引起细胞毒性, 最终引起ALS<sup>[47,48]</sup>. 在线虫模型以及ALS病人脑组织中都能观察到松散的网状纤维结构, 与体外重组含ALS相关突变的FUS蛋白形成的结构相类似<sup>[49]</sup>. 亦有研究发现, TDP-43的ALS相关突变会破坏胞质中RNA 颗粒的长距离运输过程, 从而引起疾病<sup>[50]</sup>. 在几乎所有的神经退行性疾病, 包括阿尔茨海默病、帕金森病、FTD和亨廷顿病, 都发现了含有错误折叠聚集或碎片的TDP-43包涵体<sup>[51]</sup>. 最近在Wang等<sup>[52]</sup>发表的研究工作表明, 引起后天神经发育障碍雷特综合症的x连锁基因突变会造成其编码蛋白MeCP2错误定位, 引起相分离发生的能力削弱, 破坏异染色质结构引起疾病.

**4.2 相分离失调和其他疾病** 相分离与皮肤屏障缺陷相关的疾病和肿瘤的发生也密切相关. 研究表明哺乳动物表皮形成的过程中也会有相分离的现象发生, 相分离现象失调会造成表皮发育不良, 从而引起皮肤屏障缺陷相关的疾病<sup>[53]</sup>. 癌症是威胁人类生命健康的主要疾病之一, 人们发现在癌症的发生发展中也有相分离失调的现象. 尤因氏肉瘤中发现相关基因的易位破坏了原有蛋白的LCD结构域, 从而造成新产生的融合蛋白与核酸结合能力的下降, 引起下游蛋白功能的异常<sup>[54]</sup>. 前列腺癌中常见的SPOP蛋白突变会导致SPOP和底物共定位和液相分离, 使得底物不能被泛素化降解, 造成癌蛋白的累积, 引起癌症发生<sup>[55]</sup>.

## 5 结论

LLPS结构的发现为研究生物大分子的“高维”结构和功能提供了一个新视点. 随着研究的深入, 人们也越来越清晰地认识到细胞中LLPS结构是一种具有重要生物学功能的独特结构, 也认识到其复杂性, 因而LLPS结构也成为近年来生命科学研究的热点.

然而目前相分离的研究主要依赖于体外重构相分离体系和细胞内成像实验, 无法在体内确认相分离体系的精确特征. 通过在细胞内过表达蛋白, 观察到形成



较大的, 球状的结构, 通常无法准确反映细胞内的蛋白生理浓度水平下的真实情况. 由于显微技术的限制和精确衡量标准的缺失, 人们也无法准确地绘制活细胞内蛋白相变化的动态过程<sup>[2]</sup>. 虽然通过人工添加的蛋白标签或者光诱导相分离技术可观察细胞内蛋白的动态变化<sup>[56,57]</sup>, 但是这种方式容易引入额外的结合价位干扰. 因此, 需要开发更多更准确地实验技术对相分离这一现象进行研究.

另外, 目前有关LLPS与疾病的研究大多集中在神经退行性疾病方面, 相分离在其他疾病尤其是癌症发生发展中的功能仍是未知之谜. 研究者发现在细胞中关键的信号通路(如TCR信号转导途径、cGAS免疫信号转导途径)中都存在相分离现象<sup>[15,39]</sup>, 而这些通路上蛋白的突变是促进癌症发生发展的关键, 可推测相分离的失调与癌症发生发展之间有着密切的关系<sup>[58]</sup>. 因此, 各种疾病和肿瘤发生发展中LLPS的作用与机制也是值得加强的方向.

## 6 参考文献

- Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18: 285-298 [PMID: 28225081 DOI: 10.1038/nrm.2017.7]
- Alberti S, Gladfelter A, Mittag T. Considerations and Challenges in Studying Liquid-Liquid Phase Separation and Biomolecular Condensates. *Cell* 2019; 176: 419-434 [PMID: 30682370 DOI: 10.1016/j.cell.2018.12.035]
- Shin Y, Brangwynne CP. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science* 2017; 357: eaaf4382 [PMID: 28935776 DOI: 10.1126/science.aaf4382]
- Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoeghe C, Gharakhani J, Jülicher F, Hyman AA. Germline P granules are liquid droplets that localize by controlled dissolution/condensation. *Science* 2009; 324: 1729-1732 [PMID: 19460965 DOI: 10.1126/science.1172046]
- Fowler DM, Koulov AV, Balch WE, Kelly JW. Functional amyloid—from bacteria to humans. *Trends Biochem Sci* 2007; 32: 217-224 [PMID: 17412596 DOI: 10.1016/j.tibs.2007.03.003]
- Lin Y, Protter DS, Rosen MK, Parker R. Formation and Maturation of Phase-Separated Liquid Droplets by RNA-Binding Proteins. *Mol Cell* 2015; 60: 208-219 [PMID: 26412307 DOI: 10.1016/j.molcel.2015.08.018]
- Wang J, Choi JM, Holehouse AS, Lee HO, Zhang X, Jahnel M, Maharana S, Lemaître R, Pozniakovsky A, Drechsel D, Poser I, Pappu RV, Alberti S, Hyman AA. A Molecular Grammar Governing the Driving Forces for Phase Separation of Prion-like RNA Binding Proteins. *Cell* 2018; 174: 688-699.e16 [PMID: 29961577 DOI: 10.1016/j.cell.2018.06.006]
- Alberti S, Halfmann R, King O, Kapila A, Lindquist S. A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins. *Cell* 2009; 137: 146-158 [PMID: 19345193 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.044]
- Franzmann TM, Alberti S. Prion-like low-complexity sequences: Key regulators of protein solubility and phase behavior. *J Biol Chem* 2019; 294: 7128-7136 [PMID: 29921587 DOI: 10.1074/jbc.TM118.001190]
- Chong PA, Vernon RM, Forman-Kay JD. RGG/RG Motif Regions in RNA Binding and Phase Separation. *J Mol Biol* 2018; 430: 4650-4665 [PMID: 29913160 DOI: 10.1016/j.jmb.2018.06.014]
- Li P, Banjade S, Cheng HC, Kim S, Chen B, Guo L, Llaguno M, Hollingsworth JV, King DS, Banani SF, Russo PS, Jiang QX, Nixon BT, Rosen MK. Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature* 2012; 483: 336-340 [PMID: 22398450 DOI: 10.1038/nature10879]
- Ries RJ, Zaccara S, Klein P, Olarerin-George A, Namkoong S, Pickering BF, Patil DP, Kwak H, Lee JH, Jaffrey SR. m<sup>6</sup>A enhances the phase separation potential of mRNA. *Nature* 2019; 571: 424-428 [PMID: 31292544 DOI: 10.1038/s41586-019-1374-1]
- Söding J, Zwicker D, Sohrabi-Jahromi S, Boehning M, Kirschbaum J. Mechanisms for Active Regulation of Biomolecular Condensates. *Trends Cell Biol* 2020; 30: 4-14 [PMID: 31753533 DOI: 10.1016/j.tcb.2019.10.006]
- Mortusewicz O, Fouquerel E, Amé JC, Leonhardt H, Schreiber V. PARG is recruited to DNA damage sites through poly(ADP-ribose)- and PCNA-dependent mechanisms. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 5045-5056 [PMID: 21398629 DOI: 10.1093/nar/gkr099]
- Su X, Ditlev JA, Hui E, Xing W, Banjade S, Okrut J, King DS, Taunton J, Rosen MK, Vale RD. Phase separation of signaling molecules promotes T cell receptor signal transduction. *Science* 2016; 352: 595-599 [PMID: 27056844 DOI: 10.1126/science.aad9964]
- Wang JT, Smith J, Chen BC, Schmidt H, Rasoloson D, Paix A, Lambrus BG, Calidas D, Betzig E, Seydoux G. Regulation of RNA granule dynamics by phosphorylation of serine-rich, intrinsically disordered proteins in *C. elegans*. *Elife* 2014; 3: e04591 [PMID: 25535836 DOI: 10.7554/eLife.04591]
- Rai AK, Chen JX, Selbach M, Pelkmans L. Kinase-controlled phase transition of membraneless organelles in mitosis. *Nature* 2018; 559: 211-216 [PMID: 29973724 DOI: 10.1038/s41586-018-0279-8]
- Colwill K, Pawson T, Andrews B, Prasad J, Manley JL, Bell JC, Duncan PI. The Clk/Sty protein kinase phosphorylates SR splicing factors and regulates their intranuclear distribution. *EMBO J* 1996; 15: 265-275 [PMID: 8617202]
- Kwon I, Xiang S, Kato M, Wu L, Theodoropoulos P, Wang T, Kim J, Yun J, Xie Y, McKnight SL. Poly-dipeptides encoded by the C9orf72 repeats bind nucleoli, impede RNA biogenesis, and kill cells. *Science* 2014; 345: 1139-1145 [PMID: 25081482 DOI: 10.1126/science.1254917]
- Liu J, Hebert MD, Ye Y, Templeton DJ, Kung H, Matera AG. Cell cycle-dependent localization of the CDK2-cyclin E complex in Cajal (coiled) bodies. *J Cell Sci* 2000; 113: 1543-1552 [PMID: 10751146]
- Milovanovic D, Wu Y, Bian X, De Camilli P. A liquid phase of synapsin and lipid vesicles. *Science* 2018; 361: 604-607 [PMID: 29976799 DOI: 10.1126/science.aaf5671]
- Maharana S, Wang J, Papadopoulos DK, Richter D, Pozniakovsky A, Poser I, Bickle M, Rizk S, Guillén-Boixet J, Franzmann TM, Jahnel M, Marrone L, Chang YT, Sternecker J, Tomancak P, Hyman AA, Alberti S. RNA buffers the phase separation behavior of prion-like RNA binding proteins. *Science* 2018; 360: 918-921 [PMID: 29650702 DOI: 10.1126/science.aar7366]
- Hnisz D, Shrinivas K, Young RA, Chakraborty AK, Sharp PA. A Phase Separation Model for Transcriptional Control. *Cell* 2017; 169: 13-23 [PMID: 28340338 DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.007]
- Strom AR, Emelyanov AV, Mir M, Fyodorov DV, Darzacq X, Karpen GH. Phase separation drives heterochromatin domain formation. *Nature* 2017; 547: 241-245 [PMID: 28636597 DOI: 10.1038/nature21039]

- 10.1038/nature22989]
- 25 Schmidt HB, Görlich D. Transport Selectivity of Nuclear Pores, Phase Separation, and Membraneless Organelles. *Trends Biochem Sci* 2016; 41: 46-61 [PMID: 26705895 DOI: 10.1016/j.tibs.2015.11.001]
- 26 Boija A, Klein IA, Sabari BR, Dall'Agnese A, Coffey EL, Zamudio AV, Li CH, Shrinivas K, Manteiga JC, Hannett NM, Abraham BJ, Afeyan LK, Guo YE, Rimel JK, Fant CB, Schuijers J, Lee TI, Taatjes DJ, Young RA. Transcription Factors Activate Genes through the Phase-Separation Capacity of Their Activation Domains. *Cell* 2018; 175: 1842-1855.e16 [PMID: 30449618 DOI: 10.1016/j.cell.2018.10.042]
- 27 Cai D, Feliciano D, Dong P, Flores E, Gruebele M, Porat-Shliom N, Sukenik S, Liu Z, Lippincott-Schwartz J. Phase separation of YAP reorganizes genome topology for long-term YAP target gene expression. *Nat Cell Biol* 2019; 21: 1578-1589 [PMID: 31792379 DOI: 10.1038/s41556-019-0433-z]
- 28 Lu Y, Wu T, Gutman O, Lu H, Zhou Q, Henis YI, Luo K. Phase separation of TAZ compartmentalizes the transcription machinery to promote gene expression. *Nat Cell Biol* 2020; 22: 453-464 [PMID: 32203417 DOI: 10.1038/s41556-020-0485-0]
- 29 Guo YE, Manteiga JC, Henninger JE, Sabari BR, Dall'Agnese A, Hannett NM, Spille JH, Afeyan LK, Zamudio AV, Shrinivas K, Abraham BJ, Boija A, Decker TM, Rimel JK, Fant CB, Lee TI, Cisse II, Sharp PA, Taatjes DJ, Young RA. Pol II phosphorylation regulates a switch between transcriptional and splicing condensates. *Nature* 2019; 572: 543-548 [PMID: 31391587 DOI: 10.1038/s41586-019-1464-0]
- 30 Lu H, Yu D, Hansen AS, Ganguly S, Liu R, Heckert A, Darzacq X, Zhou Q. Phase-separation mechanism for C-terminal hyperphosphorylation of RNA polymerase II. *Nature* 2018; 558: 318-323 [PMID: 29849146 DOI: 10.1038/s41586-018-0174-3]
- 31 Gallego LD, Schneider M, Mittal C, Romanauska A, Gudino Carrillo RM, Schubert T, Pugh BF, Köhler A. Phase separation directs ubiquitination of gene-body nucleosomes. *Nature* 2020; 579: 592-597 [PMID: 32214243 DOI: 10.1038/s41586-020-2097-z]
- 32 Wang L, Gao Y, Zheng X, Liu C, Dong S, Li R, Zhang G, Wei Y, Qu H, Li Y, Allis CD, Li G, Li H, Li P. Histone Modifications Regulate Chromatin Compartmentalization by Contributing to a Phase Separation Mechanism. *Mol Cell* 2019; 76: 646-659. e6 [PMID: 31543422 DOI: 10.1016/j.molcel.2019.08.019]
- 33 Kilic S, Lezaja A, Gatti M, Bianco E, Michelena J, Imhof R, Altmeyer M. Phase separation of 53BP1 determines liquid-like behavior of DNA repair compartments. *EMBO J* 2019; 38: e101379 [PMID: 31267591 DOI: 10.15252/embj.2018101379]
- 34 Pessina F, Giavazzi F, Yin Y, Gioia U, Vitelli V, Galbiati A, Barozzi S, Garre M, Oldani A, Flaus A, Cerbino R, Parazzoli D, Rothenberg E, d'Adda di Fagnana F. Functional transcription promoters at DNA double-strand breaks mediate RNA-driven phase separation of damage-response factors. *Nat Cell Biol* 2019; 21: 1286-1299 [PMID: 31570834 DOI: 10.1038/s41556-019-0392-4]
- 35 Youn JY, Dyakov BJA, Zhang J, Knight JDR, Vernon RM, Forman-Kay JD, Gingras AC. Properties of Stress Granule and P-Body Proteomes. *Mol Cell* 2019; 76: 286-294 [PMID: 31626750 DOI: 10.1016/j.molcel.2019.09.014]
- 36 Hubstenberger A, Courel M, Bénard M, Souquere S, Ernoul-Lange M, Chouaib R, Yi Z, Morlot JB, Munier A, Fradet M, Daunesse M, Bertrand E, Pierron G, Mozziconacci J, Kress M, Weil D. P-Body Purification Reveals the Condensation of Repressed mRNA Regulons. *Mol Cell* 2017; 68: 144-157.e5 [PMID: 28965817 DOI: 10.1016/j.molcel.2017.09.003]
- 37 Dormann D, Rodde R, Edbauer D, Bentmann E, Fischer I, Hruscha A, Than ME, Mackenzie IR, Capell A, Schmid B, Neumann M, Haass C. ALS-associated fused in sarcoma (FUS) mutations disrupt Transportin-mediated nuclear import. *EMBO J* 2010; 29: 2841-2857 [PMID: 20606625 DOI: 10.1038/emboj.2010.143]
- 38 Liao YC, Fernandopulle MS, Wang G, Choi H, Hao L, Drerup CM, Patel R, Qamar S, Nixon-Abell J, Shen Y, Meadows W, Vendruscolo M, Knowles TPJ, Nelson M, Czekalska MA, Musteikyte G, Gachechiladze MA, Stephens CA, Pasolli HA, Forrest LR, St George-Hyslop P, Lippincott-Schwartz J, Ward ME. RNA Granules Hitchhike on Lysosomes for Long-Distance Transport, Using Annexin A11 as a Molecular Tether. *Cell* 2019; 179: 147-164.e20 [PMID: 31539493 DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.050]
- 39 Du M, Chen ZJ. DNA-induced liquid phase condensation of cGAS activates innate immune signaling. *Science* 2018; 361: 704-709 [PMID: 29976794 DOI: 10.1126/science.aat1022]
- 40 Ma W, Mayr C. A Membraneless Organelle Associated with the Endoplasmic Reticulum Enables 3'UTR-Mediated Protein-Protein Interactions. *Cell* 2018; 175: 1492-1506.e19 [PMID: 30449617 DOI: 10.1016/j.cell.2018.10.007]
- 41 Frottin F, Schueder F, Tiwary S, Gupta R, Körner R, Schlichthaerle T, Cox J, Jungmann R, Hartl FU, Hipp MS. The nucleolus functions as a phase-separated protein quality control compartment. *Science* 2019; 365: 342-347 [PMID: 31296649 DOI: 10.1126/science.aaw9157]
- 42 Yasuda S, Tsuchiya H, Kaiho A, Guo Q, Ikeuchi K, Endo A, Arai N, Ohtake F, Murata S, Inada T, Baumeister W, Fernández-Busnadiego R, Tanaka K, Saeki Y. Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. *Nature* 2020; 578: 296-300 [PMID: 32025036 DOI: 10.1038/s41586-020-1982-9]
- 43 Beutel O, Maraspini R, Pombo-García K, Martin-Lemaitre C, Honigsmann A. Phase Separation of Zonula Occludens Proteins Drives Formation of Tight Junctions. *Cell* 2019; 179: 923-936.e11 [PMID: 31675499 DOI: 10.1016/j.cell.2019.10.011]
- 44 Chiu YP, Sun YC, Qiu DC, Lin YH, Chen YQ, Kuo JC, Huang JR. Liquid-liquid phase separation and extracellular multivalent interactions in the tale of galectin-3. *Nat Commun* 2020; 11: 1229 [PMID: 32144274 DOI: 10.1038/s41467-020-15007-3]
- 45 Patel A, Lee HO, Jawerth L, Maharana S, Jahnel M, Hein MY, Stoykov S, Mahamid J, Saha S, Franzmann TM, Pozniakovski A, Poser I, Maghelli N, Royer LA, Weigert M, Myers EW, Grill S, Drechsel D, Hyman AA, Alberti S. A Liquid-to-Solid Phase Transition of the ALS Protein FUS Accelerated by Disease Mutation. *Cell* 2015; 162: 1066-1077 [PMID: 26317470 DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.047]
- 46 Molliex A, Temirov J, Lee J, Coughlin M, Kanagaraj AP, Kim HJ, Mittag T, Taylor JP. Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization. *Cell* 2015; 163: 123-133 [PMID: 26406374 DOI: 10.1016/j.cell.2015.09.015]
- 47 Boeynaems S, Bogaert E, Kovacs D, Konijnenberg A, Timmerman E, Volkov A, Guharoy M, De Decker M, Jaspers T, Ryan VH, Janke AM, Baatsen P, Vercruysse T, Kolaitis RM, Daelemans D, Taylor JP, Kedersha N, Anderson P, Impens F, Sobott F, Schymkowitz J, Rousseau F, Fawzi NL, Robberecht W, Van Damme P, Tompa P, Van Den Bosch L. Phase Separation of C9orf72 Dipeptide Repeats Perturbs Stress Granule Dynamics. *Mol Cell* 2017; 65: 1044-1055.e5 [PMID: 28306503 DOI: 10.1016/j.molcel.2017.02.013]
- 48 Gittings LM, Boeynaems S, Lightwood D, Clargo A, Topia S, Nakayama L, Troakes C, Mann DMA, Gitler AD, Lashley T, Isaacs AM. Symmetric dimethylation of poly-GR correlates with disease duration in C9orf72 FTL and ALS and reduces poly-GR phase separation and toxicity. *Acta Neuropathol* 2020;

- 139: 407-410 [PMID: 31832771 DOI: 10.1007/s00401-019-02104-x]
- 49 Murakami T, Qamar S, Lin JQ, Schierle GS, Rees E, Miyashita A, Costa AR, Dodd RB, Chan FT, Michel CH, Kronenberg-Versteeg D, Li Y, Yang SP, Wakutani Y, Meadows W, Ferry RR, Dong L, Tartaglia GG, Favrin G, Lin WL, Dickson DW, Zhen M, Ron D, Schmitt-Ulms G, Fraser PE, Shneider NA, Holt C, Vendruscolo M, Kaminski CF, St George-Hyslop P. ALS/FTD Mutation-Induced Phase Transition of FUS Liquid Droplets and Reversible Hydrogels into Irreversible Hydrogels Impairs RNP Granule Function. *Neuron* 2015; 88: 678-690 [PMID: 26526393 DOI: 10.1016/j.neuron.2015.10.030]
- 50 Alami NH, Smith RB, Carrasco MA, Williams LA, Winborn CS, Han SSW, Kiskinis E, Winborn B, Freibaum BD, Kanagaraj A, Clare AJ, Badders NM, Bilican B, Chaum E, Chandran S, Shaw CE, Eggan KC, Maniatis T, Taylor JP. Axonal transport of TDP-43 mRNA granules is impaired by ALS-causing mutations. *Neuron* 2014; 81: 536-543 [PMID: 24507191 DOI: 10.1016/j.neuron.2013.12.018]
- 51 Gasset-Rosa F, Lu S, Yu H, Chen C, Melamed Z, Guo L, Shorter J, Da Cruz S, Cleveland DW. Cytoplasmic TDP-43 De-mixing Independent of Stress Granules Drives Inhibition of Nuclear Import, Loss of Nuclear TDP-43, and Cell Death. *Neuron* 2019; 102: 339-357.e7 [PMID: 30853299 DOI: 10.1016/j.neuron.2019.02.038]
- 52 Wang L, Hu M, Zuo MQ, Zhao J, Wu D, Huang L, Wen Y, Li Y, Chen P, Bao X, Dong MQ, Li G, Li P. Rett syndrome-causing mutations compromise MeCP2-mediated liquid-liquid phase separation of chromatin. *Cell Res* 2020; 30: 393-407 [PMID: 32111972 DOI: 10.1038/s41422-020-0288-7]
- 53 Quiroz FG, Fiore VF, Levorse J, Polak L, Wong E, Pasolli HA, Fuchs E. Liquid-liquid phase separation drives skin barrier formation. *Science* 2020; 367: eaax9554 [PMID: 32165560 DOI: 10.1126/science.aax9554]
- 54 Aguzzi A, Altmeyer M. Phase Separation: Linking Cellular Compartmentalization to Disease. *Trends Cell Biol* 2016; 26: 547-558 [PMID: 27051975 DOI: 10.1016/j.tcb.2016.03.004]
- 55 Bouchard JJ, Otero JH, Scott DC, Szulc E, Martin EW, Sabri N, Granata D, Marzahn MR, Lindorff-Larsen K, Salvatella X, Schulman BA, Mittag T. Cancer Mutations of the Tumor Suppressor SPOP Disrupt the Formation of Active, Phase-Separated Compartments. *Mol Cell* 2018; 72: 19-36.e8 [PMID: 30244836 DOI: 10.1016/j.molcel.2018.08.027]
- 56 Bracha D, Walls MT, Brangwynne CP. Probing and engineering liquid-phase organelles. *Nat Biotechnol* 2019; 37: 1435-1445 [PMID: 31792412 DOI: 10.1038/s41587-019-0341-6]
- 57 Shin Y, Berry J, Pannucci N, Haataja MP, Toettcher JE, Brangwynne CP. Spatiotemporal Control of Intracellular Phase Transitions Using Light-Activated optoDroplets. *Cell* 2017; 168: 159-171.e14 [PMID: 28041848 DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.054]
- 58 Alberti S, Dormann D. Liquid-Liquid Phase Separation in Disease. *Annu Rev Genet* 2019; 53: 171-194 [PMID: 31430179 DOI: 10.1146/annurev-genet-112618-043527]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2020 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.



# 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义

岳爱君, 尹宇杰, 李莹

岳爱君, 尹宇杰, 李莹, 天津市职业病防治院急诊内科 天津市 300011

岳爱君, 主治医师, 研究方向为呼吸系统相关方向及胃肠道疾病.

**作者贡献分布:** 此课题由岳爱君、尹宇杰及李莹设计; 研究过程由尹宇杰与李莹操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由尹宇杰与李莹提供; 数据分析由岳爱君、尹宇杰及李莹完成; 本论文写作由岳爱君完成.

**通讯作者:** 岳爱君, 主治医师, 300011, 天津市河东区新开路55号, 天津市职业病防治院急诊内科. heqing19830816@163.com

**收稿日期:** 2020-06-08

**修回日期:** 2020-07-24

**接受日期:** 2020-08-14

**在线出版日期:** 2020-09-28

## Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease

Ai-Jun Yue, Yu-Jie Yin, Ying Li

**Ai-Jun Yue, Yu-Jie Yin, Ying Li**, Department of Emergency Medicine, Tianjin Occupational Disease Prevention Hospital, Tianjin 300011, China

**Corresponding author:** Ai-Jun Yue, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Tianjin Occupational Disease Prevention Hospital, No. 55 Xinchuang Road, Hedong District, Tianjin 300011, China. heqing19830816@163.com

**Received:** 2020-06-08

**Revised:** 2020-07-24

**Accepted:** 2020-08-14

**Published online:** 2020-09-28

## Abstract

### BACKGROUND

Non-erosive reflux disease (NERD), reflux esophagitis (RE), and Barrett's esophagus (BE), the three types of

gastroesophageal reflux disease (GERD), have strong independence, and there are certain differences in their clinical manifestations and prognosis. NERD is the most common, but its diagnosis is the most difficult. Reports show that nitric oxide synthetase (NOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) are highly expressed in GERD, but there are few reports on their expression in different types of GERD. It is speculated that NOS and COX-2 have certain value in the diagnosis of NERD.

### AIM

To explore the significance of expression of NOS and COX-2 in different types of GERD.

### METHODS

From January 2015 to December 2019, 78 GERD patients admitted to the Department of Gastroenterology of our hospital were prospectively selected. According to the type of GERD, they were divided into three groups: NERD, RE, and BE. In addition, 26 healthy people who underwent gastroscopy at the Physical Examination Center of our hospital during the same period were selected as a control group. The expression levels of NOS mRNA and COX-2 mRNA in each group were compared, and the correlation between them was analyzed.

### RESULTS

Endoscopic and histopathological examinations showed that in 78 GERD patients, there were 26 cases of RE, 28 cases of NERD, and 24 cases of BE. There was no significant difference in sex or age among the three groups ( $P > 0.05$ ). The expression levels of NOS mRNA [neuronal nitric oxide synthase (nNOS) mRNA and inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA] and COX-2 mRNA in the three different types of GERD were significantly higher than those in the control group, and NOS and COX-2 mRNA expression levels in the BE group were



significantly higher than those in the control group. The expression levels of NOS mRNA and COX-2 mRNA in the RE group were significantly higher than those in the NERD group ( $P < 0.05$ ). There was a significant positive correlation between nNOS and iNOS and COX-2 mRNA expression ( $r = 0.900, 0.897, P < 0.05$ ). Receiver operating characteristic curve analysis showed that the areas under the curves of nNOS mRNA, iNOS mRNA, and COX-2 mRNA in diagnosing NERD were 0.662, 0.671, and 0.613, respectively, which showed no significant difference ( $P > 0.05$ ). According to the best critical value, when nNOS mRNA expression was higher than 1.505, the sensitivity was 65.8% and the specificity was 89.3%; when iNOS mRNA was higher than 1.795, the sensitivity was 65.8%; when COX-2 mRNA was higher than 1.895, the sensitivity was 55.3% and the specificity was 92.9%.

## CONCLUSION

NOS and COX-2 are highly expressed in different types of GERD, and their expression is the highest in BE, followed by RE and NERD. NOS and COX-2 expression may have appreciated value for the diagnosis of NERD.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Nitric oxide synthetase; Cyclooxygenase-2; Gastroesophageal reflux disease; Erosive esophagitis; Barrett's esophagus; Expression

**Citation:** Yue AJ, Yin YJ, Li Y. Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 891-897

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/891.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.891>

## 摘要

### 背景

非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(barrett esophageal, BE)三种类型NERD转化少, 独立性较强, 临床表现和预后均有一定差异, 其中NERD最为常见, 但诊断难度最大。报道显示, NOS、COX-2在胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)呈高表达, 但在不同类型GERD方面报道较少, 推测一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)对NERD的诊断有一定价值。

### 目的

探究NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义。

### 方法

前瞻性选取2015-01/2019-12我院内科收治的GERD

患者78例作为观察组, 按照GERD不同类型分为NERD、RE、及BE 3组; 另选取同期在本院门急诊及体检中心进行胃镜检查的26例健康人群作为对照组。比较各组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达, 并分析两者相关性, 以及NOS mRNA、COX-2 mRNA对NERD的诊断作用。

## 结果

内镜及组织病理学检查显示, 78例GERD患者中, RE组26例、NERD组28例、BE组24例; 各组患者在性别年龄等一般资料比较无显著差异( $P > 0.05$ ), 3种不同类型GERD的NOS mRNA[神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS) mRNA、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA]、COX-2 mRNA表达水平明显高于对照组, 且BE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于RE组, RE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于NERD组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA均呈显著正相关( $r = 0.900, 0.897, P < 0.05$ )。受试者工作特征曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613; Z检验AUC发现差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 根据最佳临界值, 当nNOS mRNA高于1.505时, 其敏感度为65.8%, 特异度为89.3%; 当iNOS mRNA高于1.795时, 其敏感度为63.2%, 特异度为100%; 当COX-2 mRNA高于1.895时, 其敏感度为55.3%, 特异度为92.9%。

## 结论

NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中均呈高表达, 其中在BE患者中表达最高, RE患者中表达次之, NERD患者中表达最少, 并且对NERD的诊断有一定参考价值。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 一氧化氮合酶; 环氧合酶-2; 胃食管反流病; 糜烂性食管炎; Barrett食管; 表达

**核心提要:** 一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)在不同类型胃食管反流病中的表达不同, Barrett食管中表达最高, 反流性食管炎中表达次之, 非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)患者中最少, 且NOS、COX-2两者呈正相关, 均对NERD的诊断有价值。

**文献来源:** 岳爱君, 尹宇杰, 李莹. 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2020; 28(18): 891-897

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/891.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.891>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)可分为非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(Barrett esophageal, BE)三种类型。有学者报道<sup>[1]</sup> GERD这三种类型转化少, 独立性较强, 预后有一定差异。随着临床对GERD病理生理机制研究的深入, 其诊断准确性和治疗有效性已得到较大改善, 但由于GERD病因多样, 发病机制复杂, 不同类型GERD病理学表现不尽相同, 在GERD诊治方面仍需进一步加强。在GERD的诊断方面, RE、BE可通过胃镜、病理进行可靠诊断, 但NERD在胃镜下并无食管损伤客观依据, 主要靠临床症状进行辨别, 难度较大。近来研究发现一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)可能参与了GERD的发生发展<sup>[2,3]</sup>。但关于NOS、COX-2在不同类型GERD中的表达报道较少, 而关于NOS与COX-2关系的研究更是未见报道。基于此, 本研究对不同类型GERD患者的NOS、COX-2的表达水平进行分析, 旨在分析NOS、COX-2关系, 并为临床不同类型GERD的诊治提供参考, 现将研究结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 一般资料: 前瞻性选取2015-01/2019-12我院内科收治的GERD患者78例作为观察组, 男43例, 女35例, 年龄26-72岁, 平均年龄49.24岁±11.56岁。按照GERD不同类型分为NERD、RE、及BE 3组。

1.1.2 纳入标准: 纳入标准: (1)符合中华医学会消化病学分会制定的《2014年中国胃食管反流病专家共识意见》<sup>[4]</sup>中关于GERD的诊断标准, 经食管pH监测和病理学检查确诊; (2)患者自愿参与研究, 并签署知情同意书; (3)无腹部手术史; (4)无幽门螺杆菌感染。

1.1.3 排除标准: 排除标准: (1)恶性肿瘤等严重器质性疾病者; (2)消化道出血或消化性溃疡等其他消化性疾病者; (3)糖尿病等严重全身性代谢疾病者; (4)1 wk内呼吸道感染史或肺部感染史者。另选取同期在本院门急诊及体检中心进行胃镜检查的26例健康人群作为对照组。

### 1.2 方法

1.2.1 内镜检查: 检查前14 d停止抑制胃酸分泌及抑制NOS分泌等GERD治疗药物, 检查前12 h常规禁食禁水。对所有纳入对象应用电子内镜(日本Olympus公司, GIF-Q240型)进行检查, 观察并记录胃内组织病理表现,

并根据不同类型进行分组。内镜下表现为RE、BE者, 于病变部位进行活检, 留取1-2块活检组织; 内镜下表现为NERD者或正常对照组成员, 则于食管远端鳞状上皮与柱状上皮交界处上方2 cm处取活检组织1-2块。将取得的标本迅速置于-80℃的液氮中冷藏待检。

1.2.2 实时荧光定量PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测NOS mRNA及COX-2 mRNA的表达: (1)总RNA提取: 取液氮速冻标本, 研磨裂解后, 利用Trizol试剂盒提取总RNA, 并采用紫外分光光度计(Alpha1型, 上海谱元仪器有限公司)测定RNA纯度, 吸光度(A)比值 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 提示RNA提取成功; (2)mRNA逆转录为cDNA: 利用反转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA; (3)qRT-PCR扩增: 以反转录得到的cDNA作为模板进行PCR扩增, 以GAPDH基因作为内参照, NOS引物序列由上海生物工程技术公司合成, 参照NCBI GenBank提供的人类基因序列进行设计。COX-2、GAPDH引物序列见表1。PCR反应条件: 94℃预变性60 s, 92℃变性30 s, 56℃退火30 s, 74℃延伸30 s, 重复38个循环。利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对组织中NOS mRNA及COX-2 mRNA相对表达量进行计算, 检测中所采用的引物、Trizol试剂盒均有上海生物工程技术公司提供, 其余试剂由北京奥科生物技术有限公司, 试剂盒检测时严格按照试剂盒说明书进行。

**统计学处理** 采用统计软件SPSS 22.0处理数据, 计数资料行 $\chi^2$ 检验; 计量资料用(mean±SD)表示, 行单因素分析, 进一步两两比较采用SNK检验; 相关性分析采用Person检验; 指标的检测价值采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组一般资料比较 内镜及组织病理学检查显示, 78例GERD患者中, RE组26例、NERD组28例、BE组24例; 各组患者在性别年龄等一般资料比较无显著差异( $P > 0.05$ ), 具可比性(表2)。

2.2 各组患者NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平比较 3种不同类型GERD的NOS mRNA[神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS) mRNA、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA]、COX-2 mRNA表达水平明显高于对照组(图1和2), 且BE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于RE组, RE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于NERD组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。详见表3。

2.3 NOS mRNA与COX-2 mRNA的相关性分析 nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA均呈显著正相关( $r = 0.900$ 、 $0.897$ ,  $P < 0.05$ )。见图3和4。

2.4 nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA表达

表 1 实时荧光定量PCR引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
nNOS (正义引物)	AGCCGAGGCCAAAACTGAGAA
nNOS (负义引物)	AATGGGGAGAAATTCGGCTGTG
iNOS (正义引物)	TTCCACGTTGGCAGGGTCCC
iNOS (负义引物)	GATGCCCGCAGGTGTTCCA
COX-2 (正义引物)	TGCTGTACAAGCAGTGGCAA
COX-2 (负义引物)	GCAGCCATTTCTTCTCTCC
GAPDH (正义引物)	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC
GAPDH (负义引物)	GAAGATGGTGATGGGATTTTC

nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

表 2 各组一般资料比较( $n$ , mean  $\pm$  SD)

分组	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
对照组( $n = 26$ )	15/11	50.35 $\pm$ 8.27	24.50 $\pm$ 2.60
NERD组( $n = 28$ )	15/13	49.72 $\pm$ 6.94	24.11 $\pm$ 2.62
RE组( $n = 26$ )	14/12	49.06 $\pm$ 7.79	24.15 $\pm$ 2.74
BE组( $n = 24$ )	14/10	48.89 $\pm$ 7.39	24.05 $\pm$ 2.71
$\chi^2/t$ 值	0.531	0.196	0.149
$P$ 值	0.466	0.899	0.930

NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管; BMI: 体重指数.

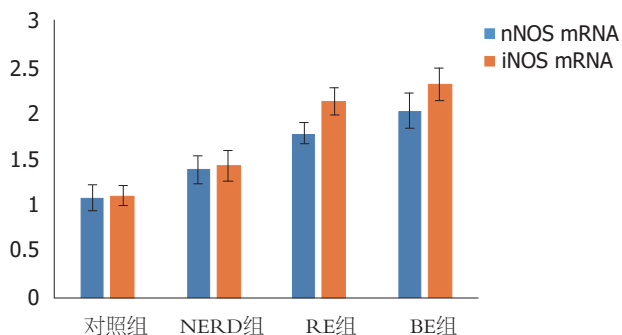


图 1 不同类型胃食管反流病中一氧化氮合酶的表达. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

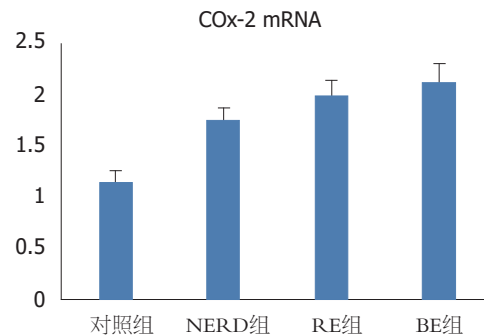


图 2 不同类型胃食管反流病中环氧合酶-2的表达. COX-2: 环氧合酶-2; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

水平对NERD的诊断 ROC曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613; Z检验AUC发现差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 根据最佳临界值, 当nNOS mRNA高于1.505时, 其敏感度为65.8%, 特异度为89.3%; 当iNOS mRNA高于1.795时, 其敏感度为63.2%, 特异度为100%; 当COX-2 mRNA高于1.895时, 其敏感度为55.3%, 特异度为92.9%. 见表4和图5.

### 3 讨论

近年来GERD发病率呈上升趋势, 不但会引起胃灼热、

胸痛、反酸、吞咽疼痛等消化系统损害, 而且还可累及呼吸系统, 其中BE还可进展为食管腺癌, 严重危害患者生命健康. 目前, GERD的发生机制仍存在争议, 以往观点认为GERD是由胃内容物反流入食管, 使食管腔过度接触胃液引起食管粘膜损伤导致的. 但在动物实验研究中, 该观点并未获得证实, 且临床上有50%以上的GERD为NERD, 内镜下并不表现出食管粘膜损伤<sup>[5,6]</sup>. 越来越多报道显示, 炎性介质介导的食管上皮炎症反应是导致GERD的主要病因, 并且与食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)功能失调、并发食管裂孔疝及食管动力障碍等有关<sup>[7-9]</sup>.



表 3 各组患者一氧化氮合酶mRNA、环氧合酶-2mRNA表达水平比较(mean ± SD)

分组	nNOS mRNA	iNOS mRNA	COX-2 mRNA
对照组( <i>n</i> = 26)	1.08 ± 0.14	1.10 ± 0.09	1.14 ± 0.11
NERD组( <i>n</i> = 28)	1.39 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.10 <sup>a</sup>
RE组( <i>n</i> = 26)	1.78 ± 0.12 <sup>ac</sup>	2.13 ± 0.18 <sup>ac</sup>	1.99 ± 0.15 <sup>ac</sup>
BE组( <i>n</i> = 24)	2.03 ± 0.19 <sup>ace</sup>	2.32 ± 0.21 <sup>ace</sup>	2.12 ± 0.18 <sup>ace</sup>
<i>F</i> 值	194.642	310.931	256.330
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

<sup>a</sup>*P*<0.05: 与对照组比较; <sup>b</sup>*P*<0.05: 与非糜烂性胃食管反流病组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05: 与反流性食管炎组比较. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

表 4 神经元型一氧化氮合酶mRNA、诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA水平诊断非糜烂性胃食管反流病的受试者工作特征结果

检测指标	AUC	Cut-off值	Youden指数	敏感性(%)	特异性(%)
nNOS mRNA	0.662	1.505	0.551	65.8	89.3
iNOS mRNA	0.671	1.795	0.632	63.2	100
COX-2 mRNA	0.613	1.895	0.482	55.3	92.9

AUC: 曲线下面积; nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

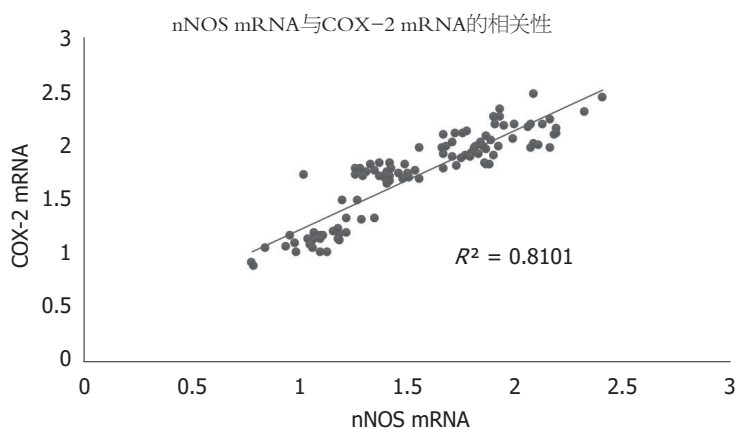


图 3 神经元型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2mRNA的相关性分析. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

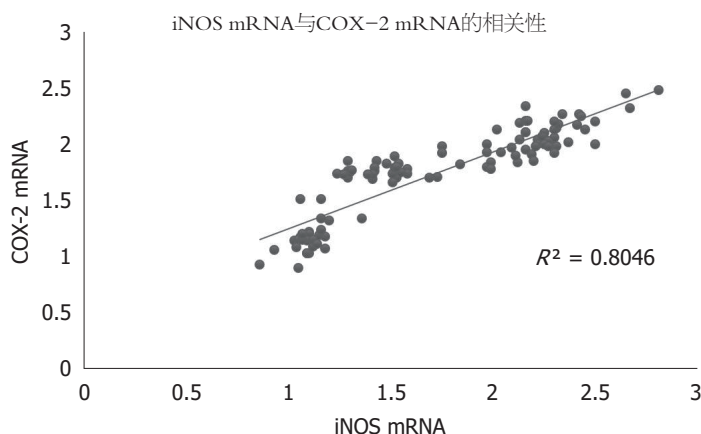


图 4 诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA的相关性. iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

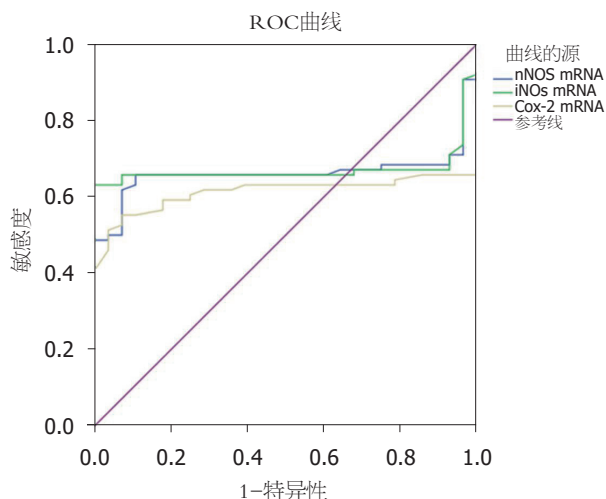


图5 神经元型一氧化氮合酶mRNA、诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA水平诊断非糜烂性胃食管反流病的受试者工作特征曲线。nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2; ROC: 受试者工作特征。

NOS是介导NO生成的酶, NO为肠神经系统非胆碱能神经、非肾上腺素能的主要抑制性神经递质, 可调节LES功能和食管动力<sup>[10]</sup>。但NO半衰期非常短, 测量难度较大, 因此本研究以NOS水平来反映NO水平。NOS根据其活性可分为诱导型(induced NOS, iNOS)和基本型(constitutive NOS, cNOS), 而cNOS又可分为神经元型NOS (neuron NOS, nNOS)和内皮细胞型NOS (endothelial cell, eNOS)。因食管兴奋主要受神经元支配, 尤以LES神经支配中的抑制性运动神经元为主, 故在本研究中对cNOS的选择中将nNOS纳入研究指标。本研究中, 3种不同类型GERD的NOS mRNA (nNOS mRNA、iNOS mRNA)表达水平显著高于对照组, 且BE组NOS mRNA表达水平显著高于RE组, RE组NOS mRNA表达水平显著高于NERD组。提示nNOS、iNOS可能共同调节LES神经支配的抑制性运动神经元, 引起食管平滑肌功能障碍, 从而加重GERD。笔者认为其原因为NOS高表达可引起NO含量升高, 而NO可调节食管括约肌张力, NO含量升高可引起括约肌松弛<sup>[11]</sup>。RE胃食管粘膜损伤较NERD严重, 出现糜烂症状, 因此NOS表达水平较高, 而BE患者有些细胞开始大量增殖, 病变严重, 故NOS表达水平最高。

GERD的发生发展与炎症因子介导的炎症反应关系密切, 特别是食管粘膜中的促炎性因子。COX-2是在炎症反应组织中高表达, 而在正常组织中组织炎症反应低表达或不表达的一种蛋白, 不仅是免疫白细胞的趋化因子, 合成产物前列腺素E<sub>2</sub>与组织炎症反应直接相关, 而且可降低神经纤维的阈电位<sup>[12]</sup>。杨梅<sup>[13]</sup>在不同类型胃食管反流病患者病变组织中COX-2表达与患者血清炎症因子水平关系研究中表示, COX-2与肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、

白细胞介素(interleukin, IL) -1 $\beta$ 、IL-6、IL-8等促炎症因子呈显著正相关。本研究结果中, 3种不同类型GERD的COX-2 mRNA表达水平显著高于对照组, 且BE组COX-2 mRNA表达水平最高, RE组次之, NERD组最少, 差异均有统计学意义, 与上述研究结果一致。究其原因可能为COX-2定向趋化胃食管粘膜白细胞, 诱导免疫系统细胞进入感染区域, 并且可合成前列腺素E<sub>2</sub>, 发挥促炎作用, 从而加重炎症组织损伤, 导致细胞异常增殖<sup>[14,15]</sup>。BE患者中COX-2表达水平最高, 是因为BE组织病变较为严重, 进一步可能发展为癌症, 而COX-2高表达被认为早期癌变事件, 因此BE患者中COX-2表达水平最高; RE与NERD的主要区别在是否出现胃食管粘膜糜烂, RE胃食管粘膜糜烂, 炎症较为严重, 故COX-2表达更高。

通过Person相关分析发现, NOS与COX-2表达呈显著正相关, 提示NOS、COX-2可能共同参与了食管黏膜炎症反应和食管下括约肌功能的调节, 协同促进食管黏膜损伤。NERD是最常见的GERD, 但由于在胃镜下没有明确的食管损伤, 故在诊断上有一定难度, 笔者研究中发现不同类型的GERD组织中, NOS与COX-2表达水平不同, 因此推测NOS、COX-2对NERD的诊断有一定价值。本研究经过ROC曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613, 提示NOS与COX-2对NERD的诊断有一定价值, 但价值有限, 可能通过联合诊断增强其诊断价值。

#### 4 结论

综上所述, NOS、COX-2在不同类型GERD中均呈高表达, 其中在BE患者中表达最高, RE患者中表达次之, NERD患者中表达最少, 并且对NERD的诊断有一定参考价值。

#### 文章亮点

#### 实验背景

随着人民生活水平、饮食习惯、饮食结构的改变, 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)在临床较为常见, 近年来发病率呈上升趋势, 已严重影响到民众身心健康。GERD包括非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(barrett esophageal, BE)三种, 其中RE、BE可通过胃镜、病理进行可靠诊断, 但NERD食管损伤不明显, 诊断有一定难度。已有研究表明, 一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)在GERD发生发展中扮演重要角色, 但在不同类型GERD方面报道较少, 亟待

完善与充实.

### 实验动机

NOS、COX-2与GERD有关已在诸多研究中被证实,但在不同类型GERD中的表达报道较少,现有的胃镜对NERD诊断效果较差,食管pH对NERD的分型也有难度.因此本研究分析NOS、COX-2在不同类型GERD中的表达,为NERD的早期诊断提供参考.

### 实验目标

探究NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义.

### 实验方法

选取行内镜检查的门诊及住院患者,并依据食管pH监测和病理学检查结果分为NERD组、RE组、及BE组;同时选取本院门诊急及体检中心进行内镜检查的26例健康人群作为对照组.分别比较各亚组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平,资料采用SPSS 22.0处理.

### 实验结果

NOS、COX-2在不同类型GERD中均呈高表达,其中在BE患者中表达最高,RE患者中表达次之,NERD患者中表达最少,所有组间比较均存在显著差异,且NOS、COX-2呈显著正相关,提示NOS、COX-2相互促进,参与GERD进程,据此笔者进一步分析显示NOS、COX-2对NERD有一定诊断价值.

### 实验结论

NOS、COX-2对GERD的分型有参考价值,对提高临床GERD诊疗有一定意义.

### 展望前景

本研究不足之处在样本量较小,研究中心单一,且未对NOS、COX-2参与炎症反应的机制进行分析,仍需进行大样本量、多中心的试验,进一步明确GERD的发病机制.为新药的研究提供参考.

## 5 参考文献

- 1 美丽克扎提·安扎尔,米热阿依·阿不都哈的尔,高峰. Barrett食管、糜烂性食管炎和非糜烂性反流病食管酸暴露及食管动力学分析. 中华胃食管反流病电子杂志 2018; 5: 49-52 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6899.2018.02.001]

- 2 马乾章,刘鹏,白光. 疏肝和胃降逆汤对胃食管反流病肝胃不和证患者食管黏膜蛋白酶激活受体-2及环氧合酶-2蛋白表达的影响. 世界中医药 2018; 13: 130-133 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.10.032]
- 3 Johnson K, Iyer V, Katzka D, Ravi K, Lennon R, Pendegraft R, Geno D, Alexander J. Poor Relationship Between Fractionated Exhaled Nitric Oxide and Disease Activity in Eosinophilic Esophagitis. *Dysphagia* 2019; 34: 138-144 [PMID: 30043082 DOI: 10.1007/s00455-018-9925-4]
- 4 中华医学会消化病学分会. 2014年中国胃食管反流病专家共识意见. 中华消化杂志 2014; 34: 649-661 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2015.03.007]
- 5 邱新萍,陈瑞琳,周滔,王慧,许伟,祖茂衡,王勇,宗迎迎. 降逆清热化浊方对非糜烂性胃食管反流病大鼠模型食管组织降钙素基因相关肽的影响. 世界中医药 2019; 14: 112-115 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.03.019]
- 6 胡志伟,田书瑞,吴继敏,汪忠镐,张玉,王峰,杜兴,张丹. 胃食管反流病的普通胃镜学特点: 4086例临床分析. 解放军医学杂志 2018; 43: 46-52 [DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2018.01.08]
- 7 Maruyama T, Fukata M, Akashi K. Association of atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: Natural and therapeutic linkage of the two common diseases. *J Arrhythm* 2019; 35: 43-51 [PMID: 30805043 DOI: 10.1002/joa3.12125]
- 8 樊冬杰,侯健,黄玉伟. 六郁汤治疗反流性食管炎临床药效及对血浆TNF- $\alpha$ 、IL-6影响. 中华中医药学刊 2019; 37: 202-204 [DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2019.01.050]
- 9 刘春丽,罗伟,陈如冲,赖克方,钟南山. 胃食管反流性咳嗽的诱导痰细胞及介质特征分析. 广东医学 2008; 29: 235-237 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2008.02.028]
- 10 Caracul L, Sastre E, Llévenes P, Prieto I, Funes T, Aller MÁ, Arias J, Balfagón G, Blanco-Rivero J. Acute-on-chronic liver disease enhances phenylephrine-induced endothelial nitric oxide release in rat mesenteric resistance arteries through enhanced PKA, PI3K/AKT and cGMP signalling pathways. *Sci Rep* 2019; 9: 6993 [PMID: 31061522 DOI: 10.1038/s41598-019-43513-y]
- 11 Oshiro T, Miyazato M, Kimura R, Ashikari A. MP38-02 Age-associated changes of nitric oxide-mediated urethral smooth muscle relaxation and external urethral sphincter function in rats. *Journal of Urology* 2018; 199: e500 [DOI: 10.1016/j.juro.2018.02.1229]
- 12 曹能琦,曹晓刚,孙宝林,全勇辉,魏春生. 食管胃结合部腺癌炎症反应和营养状态变化及对预后的影响. 中华普通外科学文献(电子版) 2019; 13: 137-142 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.02.011]
- 13 杨梅. PAR-2和COX-2在不同类型胃食管反流病患者病变组织中表达及与患者血清炎症因子水平关系. 现代中西医结合杂志 2016; 25: 3424-3426, 3430 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2016.31.002]
- 14 杨建杰,张玉林. COX2、CDX2在糜烂性食管炎、Barrate食管及食管腺癌中的表达及意义. 检验医学与临床 2017; 14: 1621-1623 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.11.036]
- 15 Prieto P, Jaén RI, Calle D, Gómez-Serrano M, Núñez E, Fernández-Velasco M, Martín-Sanz P, Alonso S, Vázquez J, Cerdán S, Peinado MÁ, Boscá L. Interplay between post-translational cyclooxygenase-2 modifications and the metabolic and proteomic profile in a colorectal cancer cohort. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 433-446 [PMID: 30700940 DOI: 10.3748/wjg.v25.i4.433]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红





# 不同营养方式在腹腔镜远端胃癌根治术后的临床疗效

吴国珍, 高胜强, 毛根军, 罗建生

吴国珍, 高胜强, 毛根军, 罗建生, 浙江大学医学院附属金华医院肝胆胰胃肠外科 浙江省金华市 321000

吴国珍, 住院医师, 主要从事普外科的基础与临床研究.

**作者贡献分布:** 本论文由毛根军与罗建生设计; 数据收集和论文写作由吴国珍与高胜强完成.

**通讯作者:** 罗建生, 主任医师, 321000, 浙江省金华市婺城区人民东路365号, 浙江大学医学院附属金华医院肝胆胰胃肠外科. 13957996312@139.com.

收稿日期: 2020-07-03

修回日期: 2020-08-03

接受日期: 2020-08-14

在线出版日期: 2020-09-28

## Clinical efficacy of different nutritional methods in patients after laparoscopic radical surgery for distal gastric cancer

Guo-Zhen Wu, Sheng-Qiang Gao, Gen-Jun Mao, Jian-Sheng Luo

Guo-Zhen Wu, Sheng-Qiang Gao, Gen-Jun Mao, Jian-Sheng Luo, Department of Hepatobiliary, Pancreatic and Gastrointestinal Surgery, Affiliated Jinhua Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Jian-Sheng Luo, Chief Physician, Department of Hepatobiliary, Pancreatic and Gastrointestinal Surgery, Affiliated Jinhua Hospital, Zhejiang University School of Medicine, No. 365 Renmin West Road, Wucheng District, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China. 13957996312@139.com

Received: 2020-07-03

Revised: 2020-08-03

Accepted: 2020-08-14

Published online: 2020-09-28

## Abstract

### BACKGROUND

The incidence of gastric cancer (GC) in Asian countries

remains high. Surgical resection is the most effective treatment for GC. The postoperative nutritional support methods mainly include total parenteral nutrition (TPN), total enteral nutrition (TEN), and enteral parenteral nutrition (EPN). However, it is still controversial over the optimal postoperative nutrition method for GC patients.

### AIM

To analyze the clinical efficacy of different nutritional methods in patients after laparoscopic radical surgery for distal GC.

### METHODS

The patients who underwent laparoscopic radical surgery for distal GC at Jinhua Central Hospital from January 2017 to December 2019 were randomly divided into three groups (50 patients each) and given TPN, TEN, and EPN, respectively. The clinical efficacy, incidence of complications, postoperative hospitalization time, time to anal exhaust, and time to solid food intake were compared among the three groups.

### RESULTS

On the 8<sup>th</sup> day after surgery, the levels of plasma albumin and prealbumin were significantly higher in the TEN and EPN groups than in the TPN group ( $P < 0.05$ ), and in the EPN group than in the TEN group ( $P < 0.05$ ); the levels of C-reactive protein (CRP) were significantly lower in the TEN and EPN groups than in the TPN group ( $P < 0.05$ ), and in the EPN group than in the TEN group ( $P < 0.05$ ); the lymphocyte counts increased significantly compared with those on the 1st day after surgery in the TEN and EPN groups ( $P < 0.05$ ), and the lymphocyte count in the EPN group was significantly higher than those in the TPN and TEN groups ( $P < 0.05$ ). The incidence rates of postoperative complications in the TEN and EPN groups were significantly lower than that in the TPN group ( $P < 0.05$ ). The postoperative hospitalization time ( $8.5 \pm 0.7$  d),

time to anal exhaust ( $3.1 \pm 0.3$  d), and time to solid food intake ( $6.1 \pm 0.6$  d) in the EPN group were all significantly shorter than those in the TPN and TEN groups ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

The nutritional approach of EPN can improve the nutritional status of patients after laparoscopic radical surgery for distal GC, reduce the occurrence of complications, and shorten the length of hospital stay.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Laparoscopy; Gastric cancer; Different nutritional methods; Complications

**Citation:** Wu GZ, Gao SQ, Mao GJ, Luo JS. Clinical efficacy of different nutritional methods in patients after laparoscopic radical surgery for distal gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 898-903

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/898.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.898>

## 摘要

### 背景

胃癌(gastric cancer, GC)在亚洲国家的发病率居高不下,手术是GC治疗最有效的方式,GC患者术后的营养支持方式主要有全肠外营养(total parenteral nutrition, TPN)、全肠内营养(total enteral nutrition, TEN)、肠内+肠外营养(enteral parenteral nutrition, EPN)但是对于GC患者术后具体采用何种营养方式仍是一个争议性的话题。

### 目的

分析不同营养方式在腹腔镜远端GC根治术后的临床疗效,为临床实践提供参考。

### 方法

将金华医院2017-01/2019-12接受腹腔镜远端GC根治术的患者随机分为3组,每组50例,分别给予TPN、TEN、EPN。比较三组临床疗效、并发症发生情况及术后住院时间、肛门排气时间及完全经口进食时间。

### 结果

术后第8天, TEN和EPN组血浆白蛋白和前白蛋白水平较TPN组升高( $P < 0.05$ ), 而EPN组血浆白蛋白和前白蛋白水平较TEN组升高( $P < 0.05$ )。术后第8天, TEN和EPN组CRP水平较TPN组降低( $P < 0.05$ ), EPN组CRP水平较TEN组降低( $P < 0.05$ )。TEN和EPN组术后第8天淋巴细胞计数较术后第1天升高( $P < 0.05$ ), EPN组术后第8天淋巴细胞计数较TPN、TEN组升高( $P < 0.05$ )。TEN及EPN组的术后并发症发生率较TPN组降低( $P < 0.05$ )。EPN组手术后患者住院时间( $8.5 \pm 0.7$  d)、肛门排气时间( $3.1 \pm 0.3$  d)及完全经口进食时间( $6.1$

$\pm 0.6$  d)较TPN及TEN组均缩短( $P < 0.05$ )。

## 结论

EPN的营养方式在腹腔镜远端GC根治术后更能改善患者营养状态,减少并发症的发生,缩短住院时间,值得推广。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 腹腔镜; 胃癌; 不同营养方式; 并发症

**核心提要:** 通过研究我们发现肠内+肠外营养组的营养支持方式,逐渐增加肠内营养(enteral nutrition, EN)的剂量,同时逐渐减少肠外营养(parenteral nutrition, PN),这使得能够将EN和PN相互取长补短,更好的改善患者营养状态,减少并发症的发生,缩短住院时间,获得最佳疗效。

**文献来源:** 吴国珍, 高胜强, 毛根军, 罗建生. 不同营养方式在腹腔镜远端胃癌根治术后的临床疗效. *世界华人消化杂志* 2020; 28(18): 898-903

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/898.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.898>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是常见的消化道恶性肿瘤之一,好发于亚洲国家,在男性中的发病率大概是女性的2倍,在所有恶性肿瘤的发病率中位列第四位,死亡率位列第3位<sup>[1]</sup>。有超过15%的GC患者在6 mo之内体重下降超过10%,对于进展期的GC患者,超过80%人存在不同程度的营养不良<sup>[2,3]</sup>。手术是治疗GC最有效的方式,而手术前的肠道准备、手术应激及手术后的禁食都是加重患者营养不良状态的因素,严重的会增加患者术后并发症的发生率和病死率,因此围手术期的营养支持就显得尤为重要<sup>[4-7]</sup>。以往研究提示:肠外营养(parenteral nutrition, PN)患者耐受性好,但长期PN会损伤肠道黏膜屏障,发生细菌移位,增加感染等风险;肠内营养(enteral nutrition, EN)能抑制肠道菌群移位、促进肠道蠕动、增强免疫、减少并发症的发生等,但是EN容易引起腹痛、腹胀、腹泻等不适,因此两种营养方式各有利弊<sup>[8-10]</sup>。为了更好的改善GC患者术后的营养状态,本研究比较了全肠内营养(total enteral nutrition, TEN)、全肠外营养(total parenteral nutrition, TPN)及肠内+肠外营养(enteral parenteral nutrition, EPN)三种营养方式在腹腔镜远端GC根治术后的临床疗效,为临床实践提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 将金华医院2017-01/2019-12接受腹腔镜远端GC根治术的患者,根据入院时间顺序对患者进行编

号, 按照随机数字表法将患者分为TPN组、TEN组、EPN组, 每组50例。三组患者之间一般资料比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性, 详见表1。纳入标准: (1)术前胃镜及病理确诊为胃腺癌; (2)术前(computed tomography, CT)等检查排除其他器官转移, 且临床肿瘤分期均为 $\leq$ III期[依据美国抗癌联合会(american joint committee on cancer, AJCC)第8版肿瘤(tumor node metastasis, TNM)分期<sup>[11]</sup>]; (3)术后标本病理检查均证实为胃腺癌; (4)本研究经医院伦理委员会批准实施, 并签署知情同意书。排除标准: (1)合并严重心、肝、肾等脏器功能不全; (2)血液、内分泌、代谢性疾病; (3)合并其他恶性肿瘤等<sup>[12]</sup>。

## 1.2 方法

1.2.1 营养支持方法: TPN组: 按理想体重25 Kcal/(kg·d), 由中心静脉输注相应剂量的卡文注射液, 同时补充适量的维生素、微量元素等。TEN组、EPN组的患者术中将鼻肠营养管放置于胃-肠吻合口远端20 cm以上的输出襻空肠内。TEN组: 术后6-24 h, 患者血流动力学指标稳定后, 通过鼻肠营养管缓慢滴入500 mL温生理盐水。如无不舒适, 24 h后可输注肠内营养液(能全力) 500 mL, 尽可能在第2-3天增加至全量[按理想体重25 Kcal/(kg·d), 能全力约1500 mL/d]。EPN组: 术后6-24 h, 通过鼻肠营养管缓慢滴入500 mL温生理盐水。如无不舒适, 24 h后可输注肠内营养液(能全力) 250 mL, 第2天后输注能全力500 mL, 之后视耐受情况逐渐增加能全力量, 能量不足部分由PN供给[按理想体重25 Kcal/(kg·d)]。三组患者胃肠道功能恢复后可经口进食清淡、易消化、半流质温食, 并逐渐适量增加蛋白质、维生素等食物比例的摄入量。

1.2.3 观察指标: (1)营养指标: 术后1 d及术后8 d空腹清晨抽取静脉血检测总蛋白、白蛋白、前白蛋白、血红蛋白及术前1 d和术后第8天的体重, 进行营养支持前后的比较及组间比较; (2)炎症免疫指标: 术后1 d及术后8 d空腹清晨抽取静脉血检测C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和淋巴细胞计数情况, 进行营养支持前后的比较及组间比较; (3)一般状况: 记录并观察术后并发症的发生情况; 统计术后住院时间、肛门排气时间及完全经口进食时间, 进行组间比较。

**统计学处理** 采用SPSS 17.0统计学软件进行处理数据。计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 三组数据之间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用配对样本 $t$ 检验; 计数资料间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组患者营养及炎症指标的比较 三组患者术后第

1天各项营养指标及炎症指标没有显著性差异( $P>0.05$ )。三组患者术后第8天的体重均较术后第1天的体重下降( $P<0.05$ ), 但术后第8天三组患者之间体重无显著性差异( $P>0.05$ )。术后第8天, TEN和EPN组血浆白蛋白和前白蛋白水平较TPN组水平升高( $P<0.05$ ), EPN组血浆白蛋白和前白蛋白水平较TEN组水平升高( $P<0.05$ )。三组患者术后血红蛋白水平没有显著性差异( $P>0.05$ )。三组患者术后第8天CRP水平均较第1天降低( $P<0.05$ )。TEN和EPN组术后第8天CRP水平较TPN组降低( $P<0.05$ ), EPN组术后第8天CRP水平较TPN组降低( $P<0.05$ )。TEN和EPN组术后第8天淋巴细胞计数较术后第1天升高( $P<0.05$ ), EPN组术后第8天淋巴细胞计数较TPN、TEN组升高( $P<0.05$ )。详见表2。

2.2 三组患者手术后并发症的比较 三组患者手术后发生并发症的例数分别为14例、6例、5例。TEN组的手术并发症发生率12%小于TPN组的28%, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), EPN组的术后并发症发生率10%与TPN组28%比较减小且差异具有统计学意义( $P<0.05$ )详见表3。TEN组有13例出现不同程度的腹胀、腹泻, EPN组有6例出现不同程度的腹胀、腹泻, 无误吸等严重并发症的发生。通过调整营养液输注速度、营养液加温、间断输注营养液、半卧位或坐卧位输注营养液、心里辅导、鼓励病人下床活动等方式, 症状能够好转, 无严重不适要求拔管退出研究的病例。

2.3 三组患者手术后恢复时间的比较 TEN组手术后患者住院时间( $9.2 \text{ d} \pm 0.9 \text{ d}$ )、肛门排气时间( $3.5 \text{ d} \pm 0.5 \text{ d}$ )及完全经口进食时间( $6.9 \text{ d} \pm 0.8 \text{ d}$ )均较TPN组缩短, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。同时EPN组手术后患者住院时间( $8.5 \text{ d} \pm 0.7 \text{ d}$ )、肛门排气时间( $3.1 \text{ d} \pm 0.3 \text{ d}$ )及完全经口进食时间( $6.1 \text{ d} \pm 0.6 \text{ d}$ )均较TPN及TEN组缩短, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。详见表4。

## 3 讨论

随着医学的不断发展, GC患者术后的营养支持方式也在不断进步。传统观点认为: GC切除术后患者需常规予以禁食处理, 仅通过静脉补充营养, 待患者术后出现肛门排气、排便后, 再逐步恢复EN。相关文献资料显示, 手术导致的消化道麻痹多局限于胃和结肠, 虽然术后胃功能恢复需要24-48 h, 大肠功能恢复需要3-5 d, 但小肠的蠕动、消化、吸收等功能在术后短时间内即可恢复正常, 为术后早期进行EN提供了理论依据<sup>[13]</sup>。

对于临床医生来说, 如何更好的改善患者术后营养状态仍然是一个难题。若GC术后患者长期处于营养不良状态, 多数会发展为肿瘤恶病质综合征, 影响患者预后<sup>[14]</sup>。目前国内外指南已不再将营养支持认为是单纯的



表 1 三组患者之间一般资料的比较( $n = 50$ )

	性别		年龄	TNM分期			手术时间(min)	出血量(mL)
	男	女		I	II	III		
TPN组	27	23	53.6 ± 8.9	5	25	18	242.4 ± 35.2	150.3 ± 28.2
TEN组	29	21	54.4 ± 9.1	7	27	16	227.6 ± 30.3	138.5 ± 29.4
EPN组	31	19	51.7 ± 10.2	6	29	15	231.7 ± 28.5	147.4 ± 25.5
$\chi^2/F$ 值	0.657		1.084	0.868			2.950	2.455
$P$ 值	0.720		0.341	0.929			0.055	0.089

TPN: 全肠外营养; TEN: 全肠内营养; EPN: 肠外+肠内营养.

 表 2 三组患者营养及炎症指标的比较( $n = 50$ )

变量	体重(kg)		白蛋白(g/L)		前白蛋白(mg/L)		血红蛋白(g/L)		CRP (mg/L)		淋巴细胞计数( $10^9$ )	
	术后1 d	术后8 d	术后1 d	术后8 d	术后1 d	术后8 d	术后1 d	术后8 d	术后1 d	术后8 d	术后1 d	术后8 d
TPN组	60.3 ± 7.5	57.7 ± 6.9 <sup>a</sup>	28.2 ± 3.1	31.2 ± 2.7 <sup>a</sup>	195.2 ± 20.5	212.4 ± 17.5 <sup>a</sup>	105.6 ± 13.2	107.6 ± 14.2	101.7 ± 10.4	45.2 ± 3.9 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.45	1.77 ± 0.43
TEN组	58.8 ± 8.7	56.5 ± 6.1 <sup>a</sup>	28.9 ± 2.9	33.8 ± 3.4 <sup>ac</sup>	203.8 ± 19.7	238.6 ± 14.6 <sup>ac</sup>	109.8 ± 12.1	110.3 ± 10.1	105.3 ± 9.6	27.1 ± 4.2 <sup>ac</sup>	1.66 ± 0.38	1.79 ± 0.46 <sup>a</sup>
EPN组	59.1 ± 8.4	57.5 ± 7.2 <sup>a</sup>	28.5 ± 2.8	36.2 ± 3.5 <sup>ac</sup>	201.3 ± 21.4	257.2 ± 15.8 <sup>ac</sup>	108.3 ± 15.9	109.7 ± 11.2	103.1 ± 10.7	20.3 ± 3.7 <sup>ac</sup>	1.69 ± 0.41	1.98 ± 0.39 <sup>ac</sup>
$F$ 值	0.467	0.454	0.715	30.160	2.318	98.81	1.185	0.703	1.569	533.901	0.612	3.673
$P$ 值	0.628	0.636	0.491	<0.001	0.102	<0.001	0.309	0.450	0.212	<0.001	0.544	0.028

TPN: 全肠外营养; TEN: 全肠内营养; EPN: 肠外+肠内营养; CRP: C反应蛋白. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 组内配对 $t$ 检验; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与TPN组比较; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与TEN组比较.

 表 3 三组患者手术后并发症的比较( $n = 50, n (\%)$ )

	切口感染	肺部感染	吻合口瘘	肝损害	静脉导管感染	腹腔出血	合计	$\chi^2$ 值	$P$ 值
TPN组	3 (6)	3 (6)	2 (4)	2 (4)	3 (6)	1 (2)	14 (28)	7.008	0.030
TEN组	2 (4)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	0 (0)	6 (12) <sup>a</sup>		
EPN组	1 (2)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	5 (10) <sup>c</sup>		

TPN: 全肠外营养; TEN: 全肠内营养; EPN: 肠外+肠内营养. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与TPN组比较; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与TEN组比较.

 表 4 三组患者手术后恢复时间的比较( $n = 50$ )

变量	手术后住院时间(d)	肛门排气时间(d)	完全经口进食时间(d)
TPN组	9.8 ± 1.2	3.9 ± 0.4	7.6 ± 1.2
TEN组	9.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	6.9 ± 0.8 <sup>a</sup>
EPN组	8.5 ± 0.7 <sup>ac</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>ac</sup>	6.1 ± 0.6 <sup>ac</sup>
$F$ 值	23.180	48.012	34.631
$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001

TPN: 全肠外营养; TEN: 全肠内营养; EPN: 肠外+肠内营养. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与TPN组比较; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与TEN组比较.

辅助手段, 而是认为其有重要的治疗作用, 并提出了营养支持治疗的概念<sup>[15-17]</sup>.

本研究对150例行腹腔镜远端GC根治术的患者进行了TEN、TPN及EPN三种营养方式的研究. 组内比较,

三组患者术后第8天营养指标血浆白蛋白及前白蛋白水平均较术后第1天增加; 但组间比较时, EPN组术后第8天血浆白蛋白及前白蛋白水平高于TPN组和TEN组, 同时TEN组术后第8天血浆白蛋白及前白蛋白水平高于TPN组. 说明手术对于患者具有相当大的打击, 术后第1天患者血浆白蛋白及前白蛋白水平急剧下降, 营养支持后逐渐上升, 但是EPN对于术后营养状态的改善效果最佳.

相关研究显示EN较PN能够增加机体CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>淋巴细胞数量, 提高机体细胞免疫水平<sup>[18]</sup>. 本研究用CRP反映机体炎症/应激水平, 淋巴细胞计数在一定程度上代表机体细胞免疫水平. EPN组术后第8天CRP水平较TPN组和TEN组降低, 淋巴细胞计数较TPN组和TEN升高, 说明EPN组患者体内炎症水平更低, 细胞免疫水平处于一个更佳状态. 同时EPN组术后切口感染、吻合口瘘等并发症的发生率较TPN组降低. EPN组术后免疫功能和营养状态的改善, 住院时间、肛门排气时间及完全经口进食时间也相应减少. 分析原因可能是, EPN组早期EN摄入的量较少, 更多的是可能起到一个滋养型喂养的作用, 既能够防止肠道黏膜的萎缩, 避免细菌移位, 刺激消化道激素和消化液的正常分泌, 且对胃肠道分泌免疫球蛋白具有促进作用, 从而有效提高患者免疫功能、降低炎症反应, 又不至于引起患者的不适, 患者的接受程度更好<sup>[15,19,20]</sup>. 早期大量的EN治疗可能患者并不能完全吸收, 而且还会适得其反. 而EPN组的营养支持方式, 通过逐渐增加EN的剂量, 同时逐渐减少PN, 这使得能够将EN和PN相互取长补短, 获得最佳疗效.

## 4 结论

以往的研究大多是将TEN和TPN的疗效进行比较, 本研究更进一步的将EN、PN及EPN三者进行比较, 发现EPN的营养方式在腹腔镜远端GC根治术后的患者中具有更好的疗效, 值得推广. 由于本研究代表的是单中心的研究结果, 仍然需要更多中心研究进一步验证本研究的结论.

## 文章亮点

### 实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)的发病率居高不下, 随着人们对胃镜检查的重视, 越来越多的GC能够被早期发现, 因此能够接受腹腔镜根治性手术的患者也越来越多. 而GC患者术后的营养支持一直是临床医生需要面对的难题. 以往的研究大都是将全肠外营养(total parenteral nutrition, TPN)和全肠内营养(total enteral nutrition, TEN)进行比较, 关于肠内+肠外营养(enteral parenteral

nutrition, EPN)的研究较少.

### 实验动机

TPN的患者耐受性好, 但长期肠外营养 (parenteral nutrition, PN)会损伤肠道黏膜屏障, 发生细菌移位等; TEN能抑制肠道菌群移位、促进肠道蠕动等, 但是肠内营养(enteral nutrition, EN)容易引起腹痛、腹胀、腹泻等不适, 因此两种营养方式各有利弊. EPN将EN和PN组合起来, 可能会收到更好的效果.

### 实验目标

分析三种营养方式在腹腔镜远端GC根治术后的临床疗效, 通过寻找更加适合的营养方式, 改善患者术后的营养状态, 进而改善患者预后, 进一步在临床上推广应用.

### 实验方法

将腹腔镜远端GC根治术的患者随机分为TPN组、TEN组、EPN组, 比较三组临床疗效、并发症发生情况及术后住院时间、肛门排气时间及完全经口进食时间.

### 实验结果

本研究达到了研究目的, 发现EPN组患者的营养状态最佳, 同时减少了并发症的发生, 缩短了住院时间.

### 实验结论

EPN的营养方式在腹腔镜远端GC根治术后更能改善患者营养状态, 改善腹腔镜远端GC根治术后患者的预后, 值得推广. 其原因可能是EPN组的营养支持方式, 通过逐渐增加EN的剂量, 同时逐渐减少PN, 这使得能够将EN和PN相互取长补短, 获得最佳疗效.

### 展望前景

由于本研究代表的是单中心的研究结果, 仍然需要更多中心研究进一步验证本研究的结论. 本研究的结论可以进一步推广, 可能对于腹腔镜胰十二指肠切除等同样适用.

## 5 参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]
- 2 Deans DA, Tan BH, Wigmore SJ, Ross JA, de Beaux AC, Paterson-Brown S, Fearon KC. The influence of systemic inflammation, dietary intake and stage of disease on rate of weight loss in patients with gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2009; 100: 63-69 [PMID: 19127266 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604828]
- 3 Rosania R, Chiapponi C, Malfertheiner P, Venerito M. Nutrition in Patients with Gastric Cancer: An Update. *Gastrointest Tumors* 2016; 2: 178-187 [PMID: 27403412 DOI: 10.1159/000445188]
- 4 Huang D, Sun Z, Huang J, Shen Z. Early enteral nutrition in

- combination with parenteral nutrition in elderly patients after surgery due to gastrointestinal cancer. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 13937-13945 [PMID: 26550350]
- 5 Oyama K, Fushida S, Kinoshita J, Nakanuma S, Okamoto K, Sakai S, Makino I, Nakamura K, Hayashi H, Inokuchi M, Miyashita T, Tajima H, Takamura H, Ninomiya I, Ohta T. [Early Enteral Nutrition for Gastric Cancer Patients with Extended Surgery]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2017; 44: 1491-1493 [C]
- 6 Li B, Liu HY, Guo SH, Sun P, Gong FM, Jia BQ. Impact of early postoperative enteral nutrition on clinical outcomes in patients with gastric cancer. *Genet Mol Res* 2015; 14: 7136-7141 [PMID: 26125924 DOI: 10.4238/2015.June.29.7]
- 7 周典伟, 余刚. 术后早期肠内和肠外营养联合支持治疗对胃癌根治术患者早期预后的影响. *解放军医药杂志* 2019; 31: 33-36 [DOI: 10.1111/dme.133882]
- 8 Li B, Liu HY, Guo SH, Sun P, Gong FM, Jia BQ. Impact of early enteral and parenteral nutrition on prealbumin and high-sensitivity C-reactive protein after gastric surgery. *Genet Mol Res* 2015; 14: 7130-7135 [PMID: 26125923 DOI: 10.4238/2015.June.29.6]
- 9 Martos-Benítez FD, Gutiérrez-Noyola A, Soto-García A, González-Martínez I, Betancourt-Plaza I. Program of gastrointestinal rehabilitation and early postoperative enteral nutrition: a prospective study. *Updates Surg* 2018; 70: 105-112 [PMID: 29429053 DOI: 10.1007/s13304-018-0514-8]
- 10 Shimizu N, Oki E, Tanizawa Y, Suzuki Y, Aikou S, Kunisaki C, Tsuchiya T, Fukushima R, Doki Y, Natsugoe S, Nishida Y, Morita M, Hirabayashi N, Hatao F, Takahashi I, Choda Y, Iwasaki Y, Seto Y. Effect of early oral feeding on length of hospital stay following gastrectomy for gastric cancer: a Japanese multicenter, randomized controlled trial. *Surg Today* 2018; 48: 865-874 [PMID: 29721714 DOI: 10.1007/s00595-018-1665-4]
- 11 黄勤, 周晓莉, 樊祥山, 郭凌川, 丁永玲, 章宜芬. 胃贲门癌病理学分期的一大进步与局限性: 解读国际胃癌联合会和美国癌症联合会2016年胃癌分期指南. *中华病理学杂志* 2017; 46: 73-75
- 12 宋康颖, 章琪, 何承龙, 郑小超, 汪大田, 皆建宝. 腹腔镜与开腹胃癌根治术后早期肠内营养的对比研究. *肠外与肠内营养* 2018; 25: 81-90
- 13 Szczepanik AM, Scisło L, Walewska E, Siedlar M, Lenart M, Rutkowska M, Kózka M, Czupryna A, Kulig J. [The effect of immunomodulating enteral nutrition on postoperative cytokine profile in gastric cancer patients]. *Pol Merkur Lekarski* 2010; 29: 235-240 [PMID: 21207639]
- 14 林泽晨. 胃癌围手术期肠内营养支持治疗的研究进展. *浙江医学* 2019; 41: 1452-1455
- 15 王新颖. 2016年成人危重症病人营养支持治疗实施与评价指南解读. *肠外与肠内营养* 2016; 23: 263-269
- 16 Martos-Benítez FD, Gutiérrez-Noyola A, García AS, González-Martínez I, Betancourt-Plaza I. Program of intestinal rehabilitation and early postoperative enteral nutrition: a prospective cohort study. *Arq Bras Cir Dig* 2018; 31: e1387 [PMID: 30133679 DOI: 10.1590/0102-672020180001e1387]
- 17 Nikniaz Z, Somi MH, Nagashi S, Nikniaz L. Impact of Early Enteral Nutrition on Nutritional and Immunological Outcomes of Gastric Cancer Patients Undergoing Gastrostomy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutr Cancer* 2017; 69: 693-701 [PMID: 28569563 DOI: 10.1080/01635581.2017.1324996]
- 18 陈格亮, 张静, 花超, 蒋咏梅, 刘加新. 胃癌术后早期肠内、肠外营养治疗的临床研究. *现代消化及介入诊疗* 2019; 24: 411-415
- 19 Li K, Xu Y, Hu Y, Liu Y, Chen X, Zhou Y. Effect of Enteral Immunonutrition on Immune, Inflammatory Markers and Nutritional Status in Gastric Cancer Patients Undergoing Gastrectomy: A Randomized Double-Blinded Controlled Trial. *J Invest Surg* 2019; : 1-10 [PMID: 30885012 DOI: 10.1080/08941939.2019.1569736]
- 20 Cheng Y, Zhang J, Zhang L, Wu J, Zhan Z. Enteral immunonutrition versus enteral nutrition for gastric cancer patients undergoing a total gastrectomy: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol* 2018; 18: 11 [PMID: 29338698 DOI: 10.1186/s12876-018-0741-y]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2020 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.



# 肝细胞癌缺氧微环境中低氧诱导因子-1 $\alpha$ 促进癌细胞免疫逃逸及治疗耐受的发生机制

杨焕珍, 周喜汉

杨焕珍, 右江民族医学院研究生学院 广西壮族自治区百色市 533000

周喜汉, 右江民族医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

杨焕珍, 主要从事肝癌的基础与临床研究.

作者贡献分布: 文献综述由杨焕珍完成; 周喜汉负责选题、论文修改及审校.

通讯作者: 周喜汉, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市中山二路18号, 右江民族医学院附属医院消化内科. zhxh1966@sohu.com

收稿日期: 2020-07-01

修回日期: 2020-07-20

接受日期: 2020-08-14

在线出版日期: 2020-09-28

## Mechanism for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ to promote immune escape and therapeutic tolerance in hepatocellular carcinoma under hypoxic microenvironment

Huan-Zhen Yang, Xi-Han Zhou

Huan-Zhen Yang, Graduate School of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xi-Han Zhou, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Xi-Han Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College Nationalities, No. 18 Zhongshan Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhxh1966@sohu.com

Received: 2020-07-01

Revised: 2020-07-20

Accepted: 2020-08-14

Published online: 2020-09-28

## Abstract

The liver is the largest immune organ in the body, and immunologic tolerance and escape mechanisms play an important role in hepatocellular carcinoma (HCC) development. HCC has a complex tumor microenvironment (TME), and it is necessary to study the mechanism that causes HCC cells to escape the body immune surveillance and produce therapeutic resistance in HCC clinical treatment. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) is a transcription factor that contains  $\alpha$  subunits regulated by hypoxia. Tumor cells highly express HIF-1 $\alpha$  in a hypoxic environment, which participates in the processes of tumor cell proliferation and metastasis, microvascular production, immune escape, and therapeutic tolerance, ultimately promoting tumorigenesis and development. In this paper, we will elaborate on the mechanisms by which HCC cells activate HIF-1 $\alpha$  expression to promote hypoxic adaptation in cancer cells and regulate immune escape and treatment tolerance in hypoxic TME.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ; Hypoxic microenvironment; Immune escape; Mechanism

**Citation:** Yang HZ, Zhou XH. Mechanism for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  to promote immune escape and therapeutic tolerance in hepatocellular carcinoma under hypoxic microenvironment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 904-913

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/904.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i18.904>

## 摘要

肝脏是机体最大的免疫器官, 免疫耐受及逃避机制

对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的进展发挥着重要作用. HCC有着复杂的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME), 研究TME中引起HCC细胞逃避机体免疫监视、产生治疗抗性的机制对HCC的临床治疗是很有必要的. 低氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )是一种转录因子, 包含受缺氧调控的 $\alpha$ 亚基, 在缺氧环境中, 肿瘤细胞高表达HIF-1 $\alpha$ , 参与肿瘤细胞增殖和转移、微血管生成、免疫逃逸以及治疗耐受等过程, 最终促进肿瘤的发生和发展. 在本文中, 我们将阐述缺氧TME中, HCC细胞激活HIF-1 $\alpha$ 的表达以促进癌细胞低氧适应, 调控免疫逃逸和治疗耐受的机制.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 肝细胞癌; 低氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 缺氧微环境; 免疫逃逸; 发生机制

**核心提要:** 在本文中, 我们将阐述在肝癌缺氧微环境中低氧诱导因子-1 $\alpha$ 通过调节代谢重编程、转录因子、阻遏物以及细胞因子参与的免疫调节通路以及自噬来促进肿瘤细胞逃避免疫损害, 并阐述抗肿瘤药物出现耐药性导致药效不佳的原因, 为肝细胞癌免疫治疗提供潜在的新靶点.

**文献来源:** 杨焕珍, 周喜汉. 肝细胞癌缺氧微环境中低氧诱导因子-1 $\alpha$ 促进癌细胞免疫逃逸及治疗耐受的发生机制. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 904-913

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/904.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.904>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是目前癌症相关死亡率的第二大主要原因<sup>[1]</sup>. 作为炎症相关性肿瘤, HCC的发生发展中免疫耐受及免疫逃避机制发挥着重要作用. 微血管系统和免疫细胞是HCC肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的主要组成部分. HCC是实体瘤, 癌组织内部容易形成缺氧TME, 缺氧通过低氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )在TME中起关键作用, 在低氧的基础上, HIF-1 $\alpha$ 调节肿瘤免疫TME从来不是单纯一条途径, 而是由多条通路共同交织协同作用最终促进肿瘤的免疫重建, 通过代谢重编程、转录因子、阻遏物以及细胞因子参与的免疫调节通路以及自噬来促进肿瘤细胞逃避免疫损害. 目前HCC的免疫疗法取得了很大进步, 但部分抗肿瘤药物可出现耐药性导致药效不佳. 本文将系统的综述HCC缺氧TME中HIF-1 $\alpha$ 对免疫调控和治疗抗性的机制, 为免疫治疗提供潜在的新靶点.

## 1 代谢重编程

在癌症中观察到的免疫逃逸的关键步骤之一是代谢竞争. 在氧气充足及线粒体功能正常的情况下癌细胞进行有氧糖酵解, 利用葡萄糖向丙酮酸转化并生成乳酸, 此为Warburg效应. 糖酵解效应比氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)更快, 同时产生ATP速度相应增快, 糖酵解能产生子代细胞所需的营养物质, 如脂质, 蛋白质或核酸, 癌细胞更倾向于优先利用糖酵解, 而非OXPHOS<sup>[2]</sup>. 有氧糖酵解是代谢重编程的主要特征, 是癌症的标志之一. 由于癌细胞增殖快, 对ATP需求大大增高, 糖酵解通量迅速提高, 但OXPHOS通量保持不变. HIF-1 $\alpha$ 通过促进癌细胞的糖酵解来进一步调节免疫重编程, 以促进癌细胞逃避免疫监视.

**1.1 乳酸酸化** HIF-1 $\alpha$ 是糖酵解调控的上游信号. 在缺氧TME中, HIF-1 $\alpha$ 可促进癌细胞的糖酵解, 导致HCC细胞内产生大量的乳酸, 并通过HIF-1 $\alpha$ 驱动的MCT4受体驱使细胞内的乳酸排放至TME中, 导致pH下降, T淋巴细胞内的乳酸积累并排放受阻. 若短时间乳酸积累则抑制T细胞的增殖和功能, 促炎性细胞因子[如白细胞介素(interleukin, IL) -2、IL-12]分泌减少, 降低颗粒酶B和穿孔素的表达从而抑制自然杀伤细胞(natural killer, NK)细胞的功能并诱导效应T细胞凋亡; 细胞内乳酸长时间( $\geq 24$  h)积累, 则超过60%T细胞凋亡[但调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)不受乳酸酸化的损害]<sup>[3]</sup>. HIF-1 $\alpha$ 促进肿瘤相关巨噬细胞向M<sub>2</sub>极化随后释放IL-10抑制性细胞因子, 促进肿瘤血管生长及抑制NK细胞的毒性作用, 乳酸还可促进肿瘤相关M2巨噬细胞和辅助性T细胞的生长, 有研究表明, 乳酸诱导M2巨噬细胞中精氨酸酶1 (enzyme arginase 1, Arg1)和诱导型一氧化氮合酶的表达, 以提高免疫抑制功能<sup>[4]</sup>.

此外, 乳酸激活mTOR信号传导, 致使某些抗肿瘤治疗药物产生耐药性. 因此, 在肿瘤缺氧TME中, HIF-1 $\alpha$ 增强无氧糖酵解从而产生更多的乳酸, 以协助癌细胞躲避免疫细胞的攻击进行免疫逃逸. 另外, 酸性微环境和碱性胞质溶胶在癌细胞质膜上产生质子梯度(酸梯度)来代表质子动能, 刺激了肿瘤的增殖, 在不存在糖酵解和线粒体ATP合成的情况下, 癌细胞利用酸梯度, 从磷酸盐中合成大量的磷酸盐键<sup>[5]</sup>. 这些发现揭示了酸性肿瘤环境作为潜在能源和抗免疫的作用, 并可能提供新的治疗靶点, 值得进一步研究.

**1.2 营养掠夺** 癌细胞与免疫细胞共同处于HCC缺氧TME中, 导致两者之间存在营养物质的竞争. 癌细胞自身增殖速度快, 缺氧TME依赖HIF-1 $\alpha$ 的无氧糖酵解, 1个葡萄糖仅生成2个ATP分子, 致使癌细胞在TME中吸收养分能力大大增加, 葡萄糖、氨基酸(如丝氨酸、色氨

酸)等营养物质被癌细胞消耗, 肿瘤微血管供应不足, 以免疫细胞生长减缓为代价掠夺营养, 导致免疫细胞功能下降. 癌细胞在TME中的代谢不仅提供能量支持, 也提供抗免疫力.

1.2.1 葡萄糖摄取: 缺氧时HIF-1 $\alpha$ 可激活PI3K/AKT/mTOR途径和癌细胞多种糖酵解关键酶(己糖激酶、磷酸果糖激酶)的活性, 引起糖酵解通量增加, 抑制AMPK信号传导, 促进cMyc驱动葡萄糖转运蛋白GLUT-1、GLUT-3的表达<sup>[2]</sup>, 以提高葡萄糖摄取能力; 此外, HIF-1以乳酸脱氢酶-A、丙酮酸脱氢酶激酶为靶标, 使OXPHOS切换到糖酵解, 剥夺效应T细胞营养. 效应T细胞依靠糖酵解进行高能量代谢, Treg细胞则相反, Treg细胞在激活后就同时依赖脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)和OXPHOS来获得ATP<sup>[6]</sup>, 这种代谢状态允许Treg细胞与肿瘤细胞共存并发挥免疫抑制效应, 效应T细胞由于缺乏葡萄糖导致糖酵解通量下降, 竞争摄取葡萄糖能力进一步下降. 同时, Treg细胞还反过来抑制肿瘤区域的效应T细胞的反应来协调TME<sup>[7]</sup>, 效应T细胞的作用被多重抑制. 另外, HIF-1 $\alpha$ 可调节T细胞的糖酵解活性, 幼稚T淋巴细胞依靠糖酵解来重新编码活化T淋巴细胞的代谢, 满足细胞增殖和分化成功能亚群的需求, 以确定免疫反应的性质<sup>[8]</sup>. 总之, HIF-1 $\alpha$ 通过增强癌细胞葡萄糖摄取从而抑制效应T细胞的生长代谢, 从而减弱其免疫力, 促进肿瘤细胞的生长.

1.2.2 氨基酸代谢: 肿瘤缺氧TME中氨基酸被HCC细胞大量消耗, 免疫细胞蛋白质合成减少, 导致营养感应机制GCN2激活, 应激信号增强并引发自噬, 同时免疫失衡, CD4<sup>+</sup>T细胞从TH17分化为Treg, 影响TH17和Treg的比例, 效应T细胞毒性减弱, 从而抑制癌细胞裂解.

谷氨酰胺代谢, 谷氨酰胺是蛋白质和脂质生物合成的前体. HIF-1 $\alpha$ 驱动的下因子氨是由于肿瘤细胞的谷氨酰胺分解上调所致癌细胞对谷氨酰胺的代谢增强, 削弱了活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)相关途径<sup>[9]</sup>, 调节各类免疫细胞的数量和功能, 包括诱导未成熟树状突细胞(dendritic cells, DC)细胞的产生, 嗜中性粒细胞和成熟DC细胞数减少, DC细胞吞噬能力下降, 抗肿瘤特异性T细胞抗原提呈能力下降, 同时诱导M2巨噬细胞极化等, 最终抗肿瘤免疫作用减弱. 在缺乏谷氨酰胺的TME中激活T细胞会导致它们分化为Foxp3(+) Treg, 从而抑制T细胞活性. Fu等<sup>[10]</sup>认为, IL-23应被视为透明细胞肾细胞癌中的治疗靶标, 该肿瘤细胞的谷氨酰胺消耗导致局部剥夺细胞外谷氨酰胺, 其通过HIF-1 $\alpha$ 的激活诱导肿瘤相关巨噬细胞分泌IL-23, 以激活调节性T细胞增殖并促进IL-10和转化生长因子 $\beta$ 表达, 从而抑制细胞毒性淋巴细胞杀死肿瘤细胞. 而在HCC中,

IL-23通过信号通路(如TLR4/MyD88信号通路<sup>[11]</sup>、NF- $\kappa$ B/p65信号通路<sup>[12]</sup>等)促进HCC细胞的转移. 相关证据表明<sup>[12-14]</sup>, IL-23可在受到刺激后启动IL-17产生, 并通过促进淋巴细胞凋亡及微血管生成以协助HCC进行免疫逃逸; IL-23及IL-17可能是HCC患者潜在治疗靶标, 但仍需研究来进一步支持其与HCC细胞免疫调控方面的相互影响. 谷氨酰胺在营养支持、抗免疫力方面促进了癌细胞的发生发展.

色氨酸代谢, 人们在兔子中发现吲哚胺2, 3-双加氧酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO)能够代谢色氨酸<sup>[15]</sup>, IDO可在肿瘤细胞及肿瘤相关细胞(如DC细胞、巨噬细胞、内皮细胞)中高度表达. 在表达CTLA-4的Treg细胞与淋巴样DC细胞上的B7家族受体结合后可诱导淋巴样DC细胞表达IDO, 免疫抑制分子干扰素- $\gamma$ 、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 等也可诱导其表达IDO. IDO在多种肿瘤发生水平上起作用, 肿瘤转移、免疫逃逸、侵袭和微血管生成等均与其参与炎症反应有关. IDO可催化犬尿氨酸途径中色氨酸分解代谢的第一步(色氨酸-N-甲酰基-犬尿氨酸的分解代谢过程)<sup>[16]</sup>. T细胞在其TME中对色氨酸浓度的变化非常敏感, 肿瘤细胞过度表达IDO剥夺TME中的色氨酸, 导致T细胞功能降低, 阻止效应T细胞增殖并诱导其凋亡, 同时诱导Treg细胞分化, 减弱抗肿瘤反应. 色氨酸剥夺还诱导T细胞抗原依赖性, TCR的下调, 抑制TCR通过MAPK途径下游信号传导所需的因子以及激活自噬, 抑制哺乳动物雷帕霉素靶标和蛋白激酶C的作用<sup>[17]</sup>. 在T细胞浸润的肿瘤中, 多种免疫抑制机制可通过Trp-Kyn-Ahr途径介导<sup>[18]</sup>, 引起色氨酸的消耗、直接免疫抑制以及激活Ahr来提高肿瘤免疫抗性, 但目前该途径应用于HCC患者的免疫抑制机制的研究相对较少. 色氨酸代谢是癌细胞代谢重编程的重要环节, 抑制色氨酸代谢可以有效的阻止癌细胞的生长.

精氨酸代谢, 精氨酸(arginine, Arg)是T细胞生存和活化以及记忆T细胞形成的关键营养素, Arg1将Arg分解为尿素和鸟氨酸. 在TME中具有高水平的Arg1在T细胞中可显示出Arg下调, 并增加Arg饥饿敏感性, 导致T细胞抗肿瘤活性降低. 精氨酸缺乏还可导致MDSCs的积累, 从而使抗肿瘤T细胞反应减弱<sup>[19]</sup>. 此外, 精氨酸生成的鸟氨酸是多胺的主要底物, 是细胞周期进程中所需的原料, 肿瘤细胞以此方式来储存Arg. 精氨酸琥珀酸合成酶1 (arginine succinate synthase 1, ASS1)是催化Arg生物合成的限速酶, HIF-1 $\alpha$ 的下调可导致ASS1沉默, 引起Arg饥饿的敏感性增加<sup>[20]</sup>, 导致肿瘤细胞的营养不足. 相反, 缺氧中HIF-1 $\alpha$ 的上调提高ASS1表达, 其与Arg饥饿治疗肿瘤的抗性相关. Arg饥饿疗法有效的治疗肿瘤, 逐渐受



到人们关注。

总体而言, TME中氨基酸代谢的变化对抗肿瘤免疫具有深远的影响。

**1.3 腺苷的积累** 缺氧限制能量供应主要通过降低TME中的ATP水平以及促进腺苷(adenosine, ADO)的积累, 该过程是通过胞外核苷酸CD39和CD73对ATP的顺序分解而发生的。CD39将ATP和ADP水解为AMP, 随后CD73将AMP水解为ADO。T细胞、NK细胞、巨噬细胞、DC细胞以及嗜中性粒细胞表面存在ADO的A2A受体(A2A receptor, A2AR), 细胞外ADO通过与A2AR结合导致细胞死亡或无反应。因此, 缺氧-A2AR-腺苷能引起免疫抑制, 通过抑制肿瘤相关细胞的抗肿瘤作用来预防肿瘤排斥, 这种抑制途径是由于缺氧-HIF- $\alpha$ 介导的肿瘤细胞上MHC I类分子的缺失而掩盖肿瘤, Hatfield等<sup>[21]</sup>也认同此观点; 值得注意的是, 作为CD39家族的一种外切核苷酸酶, CD39L1的过度表达被认为是HCC的不良预后指标, HIF-1 $\alpha$ 通过上调的CD39L1表达促进ATP转化为AMP<sup>[22]</sup>, 从而阻止了MDSC的分化, 并促进该细胞在肿瘤组织中的积累; Zhang等<sup>[23]</sup>证明了HIF-1 $\alpha$ 通过上调肿瘤宿主中Rab27a的表达, B细胞中表现出高水平CD39和CD73的细胞外囊泡增多, 促进ATP和AMP水解并抑制CD8<sup>+</sup>T细胞增殖, 免疫抑制作用及化学治疗效应减弱。此外, 化学疗法本身可诱导肿瘤细胞大量释放ATP, 释放的ATP被CD39和CD73水解为腺苷, 削弱了抗肿瘤T细胞反应, 因而产生治疗抗性。同时, CD73阳性也是HCC总体生存不良和无复发生存的统计学显著预测指标<sup>[24]</sup>, 揭示了CD39、CD73和ADO途径将成为HCC治疗的潜在靶标。

## 2 免疫抑制分子及信号传导通路

**2.1 血管内皮生长因子** 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种血管生成刺激剂, 它通过抑制免疫细胞的成熟来抑制肿瘤免疫力, 并诱导免疫抑制细胞, 例如Treg细胞、肿瘤相关的巨噬细胞和髓样来源的抑制细胞等。靶向VEGF/VEGF受体(VEGF receptor, VEGFR)的癌症治疗方法不仅具有抗血管生成作用, 而且还具有免疫支持。由于肿瘤组织缺氧TME使肿瘤细胞稳定表达HIF-1 $\alpha$ , 并上调VEGF, 促进微血管生成后为癌细胞提供氧气和养分, 促使癌细胞增殖并随微血管远处侵袭转移, 逃避免疫监视。在HCC组织中的HIF-1 $\alpha$ 和赖氨酰氧化酶样蛋白2 (lysyl oxidase-like 2 protein, LOXL2, 主要催化细胞外基质中胶原蛋白和弹性蛋白的交联, 促进肿瘤的侵袭和转移)之间存在正相关<sup>[25]</sup>, HIF-1 $\alpha$ 通过调节LOXL2诱导上皮-间质转变, HCC细胞迁移, 侵袭以及血管生成拟态的形成。而在缺氧期间, HIF-1 $\alpha$ 通过与缺氧反应元件直接结合后转录直接激

活LOXL2, 同时上调TGF- $\beta$ 间接诱导LOXL2来促进HCC的体内转移<sup>[26]</sup>。LOXL2不仅自身促进肿瘤血管生成, 而且还促进VEGFA表达, 引起血管生成和肿瘤生长<sup>[27]</sup>。虽然HIF-1 $\alpha$ 与LOXL2、LOXL2与VEGFA之间有相关性, 但未有研究阐明在缺氧环境下通过HIF-1 $\alpha$ /LOXL2/VEGFA途径发挥肿瘤血管新生及转移作用。

依赖HIF-1 $\alpha$ 的VEGF促进CSF-1、CXCL2分泌发挥趋化因子功能, 以招募Tregs、M2极化巨噬细胞及MDSC浸润肿瘤TME。据报道<sup>[28]</sup>, 招募肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophages, TAMs)浸润肿瘤TME后, TAMs表面受体Nrp-1又被缺氧所抑制, 导致TAMs在肿瘤内部不断积累。VEGF还可通过抑制DCs细胞的成熟并降低其抗原提呈功能, 同时促进肿瘤细胞分泌免疫抑制分子TGF- $\beta$ , 发挥免疫抑制作用。肿瘤衍生的VEGF、IL-10和前列腺素E3协同诱导内皮细胞Fas配体表达, 导致CTL耗尽, 但不引起Treg耗竭<sup>[29]</sup>。此外MDSCs能产生高水平的基质金属蛋白酶9, 从细胞外基质中释放VEGF, VEGF以依赖VEGFR方式使CD8<sup>+</sup>CTL和Tregs上的靶向程序性细胞死亡受体-1 (programmed death 1, PD-1), 同时肿瘤细胞上的靶向程序性细胞死亡受体-配体1 (programmed death-ligand 1, PD-L1)暴露出来并被上调, PD-1与PD-L1相结合, 促使Treg细胞数量增多, 相反的是, 负性调节CD8<sup>+</sup>T细胞, CD8<sup>+</sup>T细胞的数量和功能受损, 肿瘤细胞对CD8<sup>+</sup>T细胞介导的攻击产生抗性。此外, 根据TME的不同, 依赖HIF-1 $\alpha$ 的VEGF可改变免疫细胞的表型, 在缺氧TME中, 促进炎症反应的M1巨噬细胞向具有免疫抑制性M2巨噬细胞转变, 未成熟髓样细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)向TAM迁移和分化。在缺氧TME中, VEGF不仅促进肿瘤新生血管, 还能促进肿瘤相关免疫细胞的生长, 多方面协助肿瘤抗击机体免疫。

**2.2 环氧合酶途径** 在HCC缺氧TME中, HIF-1 $\alpha$ 通过环氧合酶(cyclooxygenase, COX)途径调控免疫的分子机制尚不清楚, 关于这方面的研究尚缺乏系统的阐述。COX作为免疫介质, 由COX-1和COX-2两个子单元组成。COX是前列腺素合成的关键酶, HIF-1 $\alpha$ 在诱导肿瘤细胞表达COX2后, 引起前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2)增高, PGE2是一种炎症介质, 在感染过程中会影响免疫细胞的活化, 并与细胞因子协同促炎反应。在癌症中, PGE2能引起效应T细胞的腺苷/cAMP信号传导增强, 导致Treg细胞增殖, DC细胞成熟障碍引发肿瘤细胞免疫逃逸。越来越多研究表明, COX-2不仅促进肿瘤血管生成, 还帮助肿瘤细胞进行免疫逃逸。

首先, COX-2促进肿瘤血管生成。缺氧/HIF-1 $\alpha$ 引起Warburg效应的上调可增加脂质合成, 从而上调花生四

烯酸和COX2的表达。Huang等<sup>[30]</sup>证明, 经肝动脉化学栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)后HCC患者肿瘤标本, 在缺氧基础上, 行TACE术后缺氧进一步加重, HIF-1 $\alpha$ 刺激HCC癌细胞中COX-2蛋白的表达并促进上皮间质转化进程, 从而促进瘤内血管生成, 增强侵袭和转移。近年来, 人们发现, 阿片类药物作为癌症患者有效止痛药的同时还促进肿瘤的生长与转移。在乳腺癌, Schoos等<sup>[31]</sup>发现其中的机制之一, 是癌细胞中的 $\delta$ -阿片受体可激活HIF-1 $\alpha$ 诱导乳腺癌细胞中COX-2的表达, 并通过旁分泌激活PGE2受体触发血管内皮细胞活化, 驱动肿瘤血管生成。另一方面, COX-2阻滞剂塞来昔布介导HCC的血管生成和肿瘤生长抑制作用, 也涉及到HIF-1 $\alpha$ /COX-2这一信号通路<sup>[32]</sup>, 证明了依赖HIF-1 $\alpha$ 的COX-2可以促进肿瘤血管生成。

其次, COX-2帮助肿瘤细胞进行免疫逃逸。依赖COX的细胞促进巨噬细胞表达TNF- $\alpha$ , 通过HIF-1 $\alpha$ /COX/TNF巨噬细胞轴来调控免疫<sup>[33]</sup>。非酒精性脂肪性肝炎引发的人类HCC, 由于肥胖导致在肝星状细胞中检测到COX2过表达和过量的PGE2产生, COX2介导的PGE2产生通过PTGER4受体从而抑制抗肿瘤免疫<sup>[34]</sup>, 文中尚未证明COX2和PGE2的过度表达是否与HIF-1 $\alpha$ 的介导有关, 但是HIF-1 $\alpha$ 途径相关的代谢变化可能促进COX-2诱导HCC细胞凋亡抗性<sup>[35]</sup>, 且Warburg效应的上调引起肿瘤细胞脂质代谢导致花生四烯酸和COX2表达增高, 由此我们猜测, 由于缺氧TME中HIF-1 $\alpha$ 表达增高引起Warburg效应的上调从而导致COX的过度表达继而引发肿瘤细胞一系列抗免疫活动, 这仍需进一步证明。而在骨再生缺氧TME中, 证明了HIF-1 $\alpha$ 激活TNF- $\alpha$ 的表达, 该过程通过控制COX2来介导<sup>[36]</sup>。另外, 在使用COX2抑制剂或PGE2受体拮抗剂破坏COX2/PGE2信号, 并结合抗PD-1阻断后, 有效的阻止肿瘤存活和增加功能性肿瘤特异性CTL的数量<sup>[37]</sup>。在一项体外试验中, 通过CoCl<sub>2</sub>处理的食管鳞状细胞癌细胞可显著诱导COX-2和PD-L1表达, 但可通过HIF-1 $\alpha$ 敲除或HIF-1 $\alpha$ 抑制剂PX-478处理来抑制<sup>[38]</sup>, 说明HIF-1 $\alpha$ 可以介导COX-2和PD-L1的表达, 事实上, COX-2与PD-L1之间也存在潜在的相关性<sup>[39]</sup>, COX-2很可能通过PD-L1的表达来增强免疫抑制作用, 但具体的机制还需更深入的研究。总之, HIF-1 $\alpha$ /COX2/PGE2通路可能是导致抗肿瘤治疗疗效产生抗性的因素之一, 阻断此通路是一种有希望的辅助疗法。但是, HIF-1 $\alpha$ 诱导COX2表达对HCC进行免疫调控的研究需更深一步探索。

### 2.3 芳香烃受体信号传导途径

芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)一类配体激活转录因子, 在细胞核中AHR与AHR核转运子(AHR nuclear translocator,

ARNT, 也称为HIF-1 $\beta$ )结合共同控制靶基因的表达, 而HIF-1 $\alpha$ 也与ARNT聚合形成HIF-1复合物, ARNT既作为HIF-1 $\alpha$ 所需的转录因子异二聚体伴侣, 也是AHR转录因子复合物的重要组成部分, 这两个途径通过ARNT来进行串扰, HIF-1 $\alpha$ 信号通路的激活抑制AHR信号通路<sup>[40]</sup>。越来越多证据表明, 缺氧途径干扰了AHR信号传导, 并可能改变细胞稳态和功能。Wolf等<sup>[41]</sup>认为, 在稳定缺氧TME中, ARNT蛋白水平受HIF-1 $\alpha$ 的影响。AHR在乳腺癌, 前列腺癌, 胃癌, 小细胞肺癌, 肝癌<sup>[42]</sup>和胶质母细胞瘤中有高表达, AHR可调节肿瘤特异性免疫力, 并且还参与代谢重编程, 促进了支持肿瘤进展的免疫逃逸<sup>[43]</sup>。AHR参与了Treg细胞的分化, 配体激活AHR的剂量和持续时间可以促进CD4<sup>+</sup> T细胞分化为Th17细胞和Treg<sup>[44]</sup>。此外, AHR还促进CCR2表达, 促使TAM募集以响应CCL2, 并驱动CD39的表达, 其通过与CD73合作产生腺苷导致CD8T细胞功能障碍<sup>[45]</sup>。上述研究表明, AHR是可能治疗HCC的潜在治疗靶标, AHR拮抗剂联用化学治疗剂可能更有效的杀死癌细胞。

## 2.4 B7家族

### 2.4.1 含IgV区域的T细胞活化抑制剂: 含IgV区域的T细胞活化抑制剂(V-domain Ig suppressor of T cell activation, VISTA, 也称为PD-1H), 与PD-L1相似, 是B7家族中的阴性检查点调节剂。负性共刺激分子VISTA作为第二信号来激活T淋巴细胞来调控免疫。VISTA在抗肿瘤免疫方面越来越受到重视, 但其具体调节机制尚不明确。据报道<sup>[46]</sup>, 在结直肠癌患者中, VISTA与HIF-1 $\alpha$ 活性有相关性, 缺氧诱导的VISTA在MDSC上的表达有助于抑制T细胞的增殖和活化, 表明在肿瘤缺氧TME中, HIF-1 $\alpha$ 通过上调VISTA的表达可以帮助肿瘤细胞逃避免疫反应的伤害。在高度表达VISTA的高风险组HCC患者中, 总生存率和无复发生存率显著降低<sup>[23]</sup>, VISTA通过增加抑制性免疫细胞的活性来促进肿瘤细胞的免疫逃逸。在癌组织中, VISTA抑制髓样细胞中Toll样受体介导的MAPK/AP-1和IKK/NF- $\kappa$ B信号级联炎症反应的激活<sup>[47]</sup>, 而VISTA阻断剂可通过减少肿瘤TME中单核细胞衍生的抑制细胞数和肿瘤特异性Foxp3(+)CD4(+)调节性T细胞, 增加活化DC细胞的数量来改变TME的免疫抑制特征<sup>[48]</sup>。在HCC中, VISTA通路和PD-1/PD-L1通路共同抑制T细胞是无冗余的<sup>[49]</sup>, 当肿瘤免疫治疗出现抗性时, VISTA可能是其中的一个补偿性抑制因素。由于多种因素的影响, 抗PD-1/PD-L1免疫疗法仅对部分癌症患者有效, VISTA作为基于抗PD-1/PD-L1的免疫疗法的耐药标记, 需要针对VISTA进行靶向治疗才能在获得更好的临床效果<sup>[50]</sup>, 表明VISTA靶向治疗可作为有效补充性治疗。VISTA是一种新型的抑制性免疫检查点蛋白, 是改善癌症免疫疗法



的有希望的靶标, 虽然其在人类癌症的肿瘤微环境中高度表达, 但HCC患者中关于VISTA对微环境的影响及HIF-1 $\alpha$ 通过VISTA 来对免疫调控机制的相关研究相对较少。

**2.4.2 PD-L1:** PD-L1属于B7家族。近年来, 大量研究表明, PD-1及PD-L1的单克隆抗体作为免疫疗法在癌症的治疗上是新的大突破, 并成为共识, PD-L1的过度表达成为观测癌症预后不良的重要指标。HCC癌组织中PD-L1与HIF-1 $\alpha$ 的表达呈正相关, PD-L1和HIF-1 $\alpha$ 的共表达被认为是总生存期和无复发生存期的两独立预后因素<sup>[51]</sup>, 这样的HCC患者预后最差, 缺氧导致MDSC、TAM、DC和肿瘤细胞上PD-L1上调, 而PD-L1的上调依赖于HIF-1 $\alpha$ <sup>[52]</sup>, 其中的分子机制尚不清楚。有学者<sup>[53,54]</sup>认为, HIF-1 $\alpha$ 是PD-L1 mRNA和蛋白质表达的主要调节剂, PD-L1是HIF-1 $\alpha$ 的直接靶标, HIF-1 $\alpha$ 通过直接与HRE结合来调节PD-L1的表达, 以增加MDSCs中细胞因子IL-6和IL-10以及TGF- $\beta$ 1的分泌, 抑制T细胞的功能。此外, 缺氧和PD -L1上调之间的事件也与ROS有关, HIF-1 $\alpha$ 和ROS的表达在缺氧条件下逐渐增加, 并通过JAK/STAT3途径诱导PD -L1表达<sup>[55]</sup>。我们还可以参考人参二醇通过阻断低氧诱导的HIF-1 $\alpha$ 和STAT3之间的相互作用来抑制PD-L1表达<sup>[56]</sup>, 以及间变性淋巴瘤激酶阳性的肺腺癌在缺氧TME中HIF-1 $\alpha$ 和STST3信号传导诱导PD-L1表达上调, 来进一步强调HIF-1 $\alpha$ 和PD -L1信号之间的关系。另外, HIF-1 $\alpha$ 可通过HRE诱导IKK $\beta$ 转录, 并介导随后的核易位和NF- $\kappa$ B的活化, NF- $\kappa$ B通过直接与PD-L1启动子结合而激活PD-L1的表达<sup>[57]</sup>。总之, HIF-1 $\alpha$ 与PD -L1变化呈正相关性。相反, 在使用一氧化氮(nitric oxide, NO)信号的激动剂后, 低氧细胞中HIF-1 $\alpha$ 积累和PD-L1表达降低, 肿瘤细胞对CTL介导癌细胞裂解的抵抗力减弱<sup>[58]</sup>。Graham等<sup>[59]</sup>认为, NO信号传导干扰HIF-1 $\alpha$ 和PD-L1积累的机制在于, NO激活cGMP信号传导, 从而阻止了这种低氧反应, 而Hays等<sup>[60]</sup>则认为, NO下调转录因子Yin-Yang 1的表达, 是NF- $\kappa$ B途径被抑制的结果, 在使用NO供体治疗后Yin-Yang 1被抑制, 同时PD-L1的表达被下调。我们可以初步确定, 在缺氧TME下, 依赖HIF-1 $\alpha$ 的PD-L1可协助肿瘤细胞进行免疫逃逸。

**2.5 核受体超家族** 核受体超家族(nuclear receptor superfamily, NRs)是配体激活的转录因子家族, 核受体与配体结合后, 受体的构象变化有助于将转录共调节蛋白募集到受体特异性基因启动子复合体上, 以激活或抑制转录<sup>[61]</sup>。核受体不仅可与配体结合, 也可通过细胞因子信号传导来调节核受体活性, 其信号传导异常会导致各种恶性肿瘤和代谢紊乱疾病。近年来最受关注的核受体家族之一的视黄酸受体相关的孤儿受体(retinoic-acid-

receptor-related orphan receptors, RORs), 其亚家族主要包括ROR $\alpha$ , ROR $\beta$ , ROR $\gamma$  (RORA-C或NR1F1-3)。有人认为, 低氧/HIF-1 $\alpha$ 可以通过改变核受体的表达以及由核受体和免疫反应调节的分子途径来影响生物学, 并在鼻息肉的发病中, 证明了HIF-1 $\alpha$ 诱导的Tregs中的核受体ROR $\gamma$ 表达可能起关键作用<sup>[62]</sup>。随后陆续有学者证明了HIF-1 $\alpha$ 通过核受体表达来影响肿瘤生物学。在原发性和转移性黑色素瘤中, Brożyna等<sup>[63]</sup>证明维生素D受体、ROR $\alpha$ 、ROR $\gamma$ 的表达与缺氧和/或HIF1- $\alpha$ 活性有关, HIF-1 $\alpha$ 与VDR表达负相关, 与ROR $\alpha$ 和ROR $\gamma$ 表达正相关, 这也影响了FoxP3的表达, 最后通过调节Treg细胞的活性来实现免疫调控。在HCC的TME中, ROR $\gamma$ 是HCC的重要调节因子, ROR $\gamma$ 启动子甲基化功能异常并且过表达<sup>[64]</sup>, Matsui-Hasumi等<sup>[65]</sup>发现了在HCC中通过SIAH1/2-HIF-1 $\alpha$ -Roryt-IL-17A轴引起Th17细胞产生IL-17的新调控机制, 而Roryt (ROR $\gamma$ 分1和2同种型, ROR $\gamma$ 同种型2也称为ROR $\gamma$ t)是Th17细胞中可能促进癌症进展的重要转录因子。另外, ROR $\alpha$ 与HIF-1 $\alpha$ 的相互影响可形成反馈环。虽然ROR $\alpha$ 的低氧诱导依赖于HIF-1 $\alpha$ , 但ROR $\alpha$ 又对HIF-1 $\alpha$ 的核积累和转录活性的激活起关键作用<sup>[66]</sup>。这些数据表明, 具有抑制Th17细胞或HIF-1 $\alpha$ 发育潜能的ROR靶向抑制剂的开发可能在癌症的治疗中具有潜在的临床意义。

**2.6 自噬** 自噬是细胞对应激条件(例如缺氧、饥饿)的保守分解代谢过程, 可将细胞质成分和细胞器通过自噬小体传递至溶酶体进行降解和再循环, 并产生用于能量产生和生物合成的底物。在癌症中, 自噬可以抑制肿瘤的发生但又支持肿瘤的发展<sup>[67]</sup>。正常细胞中的自噬可维持基因组稳定性, 保证蛋白质和细胞器的完整性而充当肿瘤抑制剂, 自噬促癌作用则用在已建立的肿瘤的生长上。在HCC中, 尤其处于晚期患者, 自噬将有助于HCC细胞在各种应激条件下的存活, 通过免疫逃逸促进肿瘤的发展。

缺氧TME中的HIF-1 $\alpha$ 与自噬相关<sup>[68]</sup>, 可引发免疫细胞的功能减弱。在黑色素瘤细胞中, 缺氧诱导自噬, 连接NK细胞与黑色素瘤免疫突触间隙的连接蛋白被降解, 导致癌细胞对NK细胞介导的杀伤力的敏感性降低<sup>[69]</sup>, 同时, 癌细胞可通过自噬来降低NK细胞衍生的颗粒酶B, 从NK细胞介导的杀伤中逃逸<sup>[70]</sup>。有研究证明, 罗格列酰胺抑制自噬并恢复了非小细胞肺癌中NK细胞衍生的颗粒酶B的水平, 因此增加了癌细胞对NK细胞介导杀伤的敏感性<sup>[71]</sup>。对于T细胞, 自噬使癌细胞逃避细胞毒性T淋巴细胞介导的杀伤, 抑制TH9效应细胞的分化, 从而限制了T细胞的抗肿瘤特性<sup>[72]</sup>。作为自噬抑制剂的抗疟药羟氯喹抑制肿瘤细胞的抗免疫性成为研究热点。在难



治性转移性结直肠癌患者中, 羟氯喹结合组蛋白脱乙酰基酶抑制剂伏立诺他抗肿瘤治疗可抑制自噬, 并显著降低了CD4+CD25+Foxp3调节性CD4和CD8 T细胞数量, 从而提高了抗肿瘤免疫力<sup>[73]</sup>。

此外, 肿瘤细胞的自噬引起放疗、化疗抗性也引起人们的注意。射频消融的不足之处是可以通过HIF-1 $\alpha$ /BNIP3途径增强自噬来促进体外残留的HCC癌细胞进展<sup>[74]</sup>。有人证明了在缺氧条件下, HIF-1 $\alpha$ 诱导miRNA-210表达, 通过下调结肠癌细胞中自噬相关分子Beclin-2的表达来增强自噬, 降低放射敏感性<sup>[75]</sup>。另外, HIF-1 $\alpha$ 和组蛋白去乙酰化酶可介导p53与RAS信号通路的相互作用, 通过细胞凋亡和自噬调节异常, 控制卵巢癌顺铂耐药<sup>[76]</sup>。越来越多的证据表明自噬抑制作用可能导致癌细胞免疫力的提高, 免疫治疗一方面可强力杀伤癌细胞, 另一方面又诱导自噬通量增高促进肿瘤细胞的存活, 这也是部分HCC患者免疫治疗产生治疗抗性的原因。靶向自噬治疗可能成为治疗HCC的新型抑制剂并且有效的提高癌症免疫疗法的疗效。

### 3 结论

综上所述, HCC有着极其复杂的TME, 其中缺氧是重要的环境因素, HIF-1 $\alpha$ 作为细胞对低氧应激反应的主要调节因子, 参与了HCC细胞的免疫逃逸, 对HCC的发生发展起着不可或缺的作用。免疫疗法的出现是治疗HCC的重大突破, 是晚期HCC最有希望的疗法, 但目前部分HCC患者仍对免疫治疗产生耐药性, 我们通过研究HIF-1 $\alpha$ 在肝癌中对免疫调控的作用机理, 将靶向HIF-1 $\alpha$ 治疗作为补充性疗法并与当前的治疗方案结合使用以提高疗效, 这将是一个有希望的研究领域。

### 4 参考文献

- 1 Fornari F, Gramantieri L, Callegari E, Shankaraiah RC, Piscaglia F, Negrini M, Giovannini C. MicroRNAs in Animal Models of HCC. *Cancers (Basel)* 2019; 11: 1906 [PMID: 31805631 DOI: 10.3390/cancers11121906]
- 2 Vaupel P, Schmidberger H, Mayer A. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. *Int J Radiat Biol* 2019; 95: 912-919 [PMID: 30822194 DOI: 10.1080/09553002.2019.1589653]
- 3 Domblides C, Lartigue L, Faustin B. Control of the Antitumor Immune Response by Cancer Metabolism. *Cells* 2019; 8: 104 [PMID: 30708988 DOI: 10.3390/cells8020104]
- 4 Ohashi T, Akazawa T, Aoki M, Kuze B, Mizuta K, Ito Y, Inoue N. Dichloroacetate improves immune dysfunction caused by tumor-secreted lactic acid and increases antitumor immunoreactivity. *Int J Cancer* 2013; 133: 1107-1118 [PMID: 23420584 DOI: 10.1002/ijc.28114]
- 5 Dhar G, Sen S, Chaudhuri G. Acid gradient across plasma membrane can drive phosphate bond synthesis in cancer cells: acidic tumor milieu as a potential energy source. *PLoS One* 2015; 10: e0124070 [PMID: 25874623 DOI: 10.1371/journal.pone.0124070]

- 6 Macintyre AN, Gerriets VA, Nichols AG, Michalek RD, Rudolph MC, Deoliveira D, Anderson SM, Abel ED, Chen BJ, Hale LP, Rathmell JC. The glucose transporter Glut1 is selectively essential for CD4 T cell activation and effector function. *Cell Metab* 2014; 20: 61-72 [PMID: 24930970 DOI: 10.1016/j.cmet.2014.05.004]
- 7 Sormendi S, Wielockx B. Hypoxia Pathway Proteins As Central Mediators of Metabolism in the Tumor Cells and Their Microenvironment. *Front Immunol* 2018; 9: 40 [PMID: 29434587 DOI: 10.3389/fimmu.2018.00040]
- 8 Li Y, Jia A, Wang Y, Dong L, Wang Y, He Y, Wang S, Cao Y, Yang H, Bi Y, Liu G. Immune effects of glycolysis or oxidative phosphorylation metabolic pathway in protecting against bacterial infection. *J Cell Physiol* 2019; 234: 20298-20309 [PMID: 30972784 DOI: 10.1002/jcp.28630]
- 9 Multhoff G, Vaupel P. Hypoxia Compromises Anti-Cancer Immune Responses. *Adv Exp Med Biol* 2020; 1232: 131-143 [PMID: 31893404 DOI: 10.1007/978-3-030-34461-0\_18]
- 10 Fu Q, Xu L, Wang Y, Jiang Q, Liu Z, Zhang J, Zhou Q, Zeng H, Tong S, Wang T, Qi Y, Hu B, Fu H, Xie H, Zhou L, Chang Y, Zhu Y, Dai B, Zhang W, Xu J. Tumor-associated Macrophage-derived Interleukin-23 Interlinks Kidney Cancer Glutamine Addiction with Immune Evasion. *Eur Urol* 2019; 75: 752-763 [PMID: 30293904 DOI: 10.1016/j.eururo.2018.09.030]
- 11 Kang Y, Su G, Sun J, Zhang Y. Activation of the TLR4/MyD88 signaling pathway contributes to the development of human hepatocellular carcinoma via upregulation of IL-23 and IL-17A. *Oncol Lett* 2018; 15: 9647-9654 [PMID: 29928340 DOI: 10.3892/ol.2018.8586]
- 12 Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Zhu LY, Wang J, Yin XY, Li L, Zheng L. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8+ T cells in hepatocellular carcinoma patients. *J Immunol* 2010; 185: 1544-1549 [PMID: 20581151 DOI: 10.4049/jimmunol.0904094]
- 13 Ma HY, Yamamoto G, Xu J, Liu X, Karin D, Kim JY, Alexandrov LB, Koyama Y, Nishio T, Benner C, Heinz S, Rosenthal SB, Liang S, Sun M, Karin G, Zhao P, Brodt P, Mckillop IH, Quehenberger O, Dennis E, Saltiel A, Tsukamoto H, Gao B, Karin M, Brenner DA, Kisseleva T. IL-17 signaling in steatotic hepatocytes and macrophages promotes hepatocellular carcinoma in alcohol-related liver disease. *J Hepatol* 2020; 72: 946-959 [PMID: 31899206 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.12.016]
- 14 Liu Y, Song Y, Lin D, Lei L, Mei Y, Jin Z, Gong H, Zhu Y, Hu B, Zhang Y, Zhao L, Teo HY, Qiu J, Jiang W, Dong C, Wu D, Huang Y, Liu H. NCR group 3 innate lymphoid cells orchestrate IL-23/IL-17 axis to promote hepatocellular carcinoma development. *EBioMedicine* 2019; 41: 333-344 [PMID: 30827928 DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.02.050]
- 15 Fujiwara M, Shibata M, Watanabe Y, Nukiwa T, Hirata F, Mizuno N, Hayaishi O. Indoleamine 2,3-dioxygenase. Formation of L-kynurenine from L-tryptophan in cultured rabbit pineal gland. *J Biol Chem* 1978; 253: 6081-6085 [PMID: 681340]
- 16 Zhai L, Bell A, Ladomersky E, Lauing KL, Bollu L, Sosman JA, Zhang B, Wu JD, Miller SD, Meeks JJ, Lukas RV, Wyatt E, Doglio L, Schiltz GE, McCusker RH, Wainwright DA. Immunosuppressive IDO in Cancer: Mechanisms of Action, Animal Models, and Targeting Strategies. *Front Immunol* 2020; 11: 1185 [PMID: 32612606 DOI: 10.3389/fimmu.2020.01185]
- 17 Metz R, Rust S, Duhadaway JB, Mautino MR, Munn DH, Vahanian NN, Link CJ, Prendergast GC. IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: A novel IDO effector pathway targeted by D-1-methyl-tryptophan. *Oncimmunology* 2012; 1: 1460-1468 [PMID: 23264892 DOI: 10.4161/onci.21716]
- 18 Labadie BW, Bao R, Luke JJ. Reimagining IDO Pathway

- Inhibition in Cancer Immunotherapy via Downstream Focus on the Tryptophan-Kynurenine-Aryl Hydrocarbon Axis. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 1462-1471 [PMID: 30377198 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2882]
- 19 Ramapriyan R, Caetano MS, Barsoumian HB, Mafra ACP, Zambalde EP, Menon H, Tsouko E, Welsh JW, Cortez MA. Altered cancer metabolism in mechanisms of immunotherapy resistance. *Pharmacol Ther* 2019; 195: 162-171 [PMID: 30439456 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.11.004]
- 20 Long Y, Tsai WB, Wang D, Hawke DH, Savaraj N, Feun LG, Hung MC, Chen HH, Kuo MT. Argininosuccinate synthetase 1 (ASS1) is a common metabolic marker of chemosensitivity for targeted arginine- and glutamine-starvation therapy. *Cancer Lett* 2017; 388: 54-63 [PMID: 27913198 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.11.028]
- 21 Hatfield S, Veszeleiova K, Steingold J, Sethuraman J, Sitkovsky M. Mechanistic Justifications of Systemic Therapeutic Oxygenation of Tumors to Weaken the Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$ -Mediated Immunosuppression. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1136: 113-121 [PMID: 31201720 DOI: 10.1007/978-3-030-12734-3\_8]
- 22 Chiu DK, Tse AP, Xu IM, Di Cui J, Lai RK, Li LL, Koh HY, Tsang FH, Wei LL, Wong CM, Ng IO, Wong CC. Hypoxia inducible factor HIF-1 promotes myeloid-derived suppressor cells accumulation through ENTPD2/CD39L1 in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 2017; 8: 517 [PMID: 28894087 DOI: 10.1038/s41467-017-00530-7]
- 23 Zhang F, Li R, Yang Y, Shi C, Shen Y, Lu C, Chen Y, Zhou W, Lin A, Yu L, Zhang W, Xue Z, Wang J, Cai Z. Specific Decrease in B-Cell-Derived Extracellular Vesicles Enhances Post-Chemotherapeutic CD8<sup>+</sup> T Cell Responses. *Immunity* 2019; 50: 738-750.e7 [PMID: 30770248 DOI: 10.1016/j.immuni.2019.01.010]
- 24 Shrestha R, Prithviraj P, Anaka M, Bridle KR, Crawford DHG, Dhungel B, Steel JC, Jayachandran A. Monitoring Immune Checkpoint Regulators as Predictive Biomarkers in Hepatocellular Carcinoma. *Front Oncol* 2018; 8: 269 [PMID: 30057891 DOI: 10.3389/fonc.2018.00269]
- 25 Wang M, Zhao X, Zhu D, Liu T, Liang X, Liu F, Zhang Y, Dong X, Sun B. HIF-1 $\alpha$  promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment. *J Exp Clin Cancer Res* 2017; 36: 60 [PMID: 28449718 DOI: 10.1186/s13046-017-0533-1]
- 26 Wong CC, Tse AP, Huang YP, Zhu YT, Chiu DK, Lai RK, Au SL, Kai AK, Lee JM, Wei LL, Tsang FH, Lo RC, Shi J, Zheng YP, Wong CM, Ng IO. Lysyl oxidase-like 2 is critical to tumor microenvironment and metastatic niche formation in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2014; 60: 1645-1658 [PMID: 25048396 DOI: 10.1002/hep.27320]
- 27 Peng T, Deng X, Tian F, Li Z, Jiang P, Zhao X, Chen G, Chen Y, Zheng P, Li D, Huang S. The interaction of LOXL2 with GATA6 induces VEGFA expression and angiogenesis in cholangiocarcinoma. *Int J Oncol* 2019; 55: 657-670 [PMID: 31322171 DOI: 10.3892/ijo.2019.4837]
- 28 李欢乐, 王青青, 刘杨. 缺氧诱导因子HIF- $\alpha$ 在固有免疫细胞参与炎症相关疾病的调控作用. *中国免疫学杂志* 2018; 34: 929-934 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2018.06.026]
- 29 Tamura R, Tanaka T, Akasaki Y, Murayama Y, Yoshida K, Sasaki H. The role of vascular endothelial growth factor in the hypoxic and immunosuppressive tumor microenvironment: perspectives for therapeutic implications. *Med Oncol* 2019; 37: 2 [PMID: 31713115 DOI: 10.1007/s12032-019-1329-2]
- 30 Huang M, Wang L, Chen J, Bai M, Zhou C, Liu S, Lin Q. Regulation of COX-2 expression and epithelial-to-mesenchymal transition by hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients post TACE surgery. *Int J Oncol* 2016; 48: 2144-2154 [PMID: 26984380 DOI: 10.3892/ijo.2016.3421]
- 31 Schoos A, Gabriel C, Knab VM, Fux DA. Activation of HIF-1 $\alpha$  by  $\delta$ -Opioid Receptors Induces COX-2 Expression in Breast Cancer Cells and Leads to Paracrine Activation of Vascular Endothelial Cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2019; 370: 480-489 [PMID: 31300611 DOI: 10.1124/jpet.119.257501]
- 32 Sui W, Zhang Y, Wang Z, Wang Z, Jia Q, Wu L, Zhang W. Antitumor effect of a selective COX-2 inhibitor, celecoxib, may be attributed to angiogenesis inhibition through modulating the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 pathway in an H<sub>22</sub> murine hepatocarcinoma model. *Oncol Rep* 2014; 31: 2252-2260 [PMID: 24647425 DOI: 10.3892/or.2014.3093]
- 33 Lewis A, Elks PM. Hypoxia Induces Macrophage *tnfa* Expression via Cyclooxygenase and Prostaglandin E<sub>2</sub> *in vivo*. *Front Immunol* 2019; 10: 2321 [PMID: 31611882 DOI: 10.3389/fimmu.2019.02321]
- 34 Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, Watashi K, Taketo MM, Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E, Ohtani N. Gut Microbiota Promotes Obesity-Associated Liver Cancer through PGE<sub>2</sub>-Mediated Suppression of Antitumor Immunity. *Cancer Discov* 2017; 7: 522-538 [PMID: 28202625 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0932]
- 35 Wang Q, Lu D, Fan L, Li Y, Liu Y, Yu H, Wang H, Liu J, Sun G. COX-2 induces apoptosis-resistance in hepatocellular carcinoma cells via the HIF-1 $\alpha$ /PKM2 pathway. *Int J Mol Med* 2019; 43: 475-488 [PMID: 30365092 DOI: 10.3892/ijmm.2018.3936]
- 36 Xing Y, Wang R, Chen D, Mao J, Shi R, Wu Z, Kang J, Tian W, Zhang C. COX2 is involved in hypoxia-induced TNF- $\alpha$  expression in osteoblast. *Sci Rep* 2015; 5: 10020 [PMID: 26066979 DOI: 10.1038/srep10020]
- 37 Miao J, Lu X, Hu Y, Piao C, Wu X, Liu X, Huang C, Wang Y, Li D, Liu J. Prostaglandin E<sub>2</sub> and PD-1 mediated inhibition of antitumor CTL responses in the human tumor microenvironment. *Oncotarget* 2017; 8: 89802-89810 [PMID: 29163789 DOI: 10.18632/oncotarget.21155]
- 38 Zhu Y, Zang Y, Zhao F, Li Z, Zhang J, Fang L, Li M, Xing L, Xu Z, Yu J. Inhibition of HIF-1 $\alpha$  by PX-478 suppresses tumor growth of esophageal squamous cell cancer in vitro and in vivo. *Am J Cancer Res* 2017; 7: 1198-1212 [PMID: 28560067]
- 39 Botti G, Fratangelo F, Cerrone M, Liguori G, Cantile M, Anniciello AM, Scala S, D'Alterio C, Trimarco C, Ianaro A, Cirino G, Caracò C, Colombino M, Palmieri G, Pepe S, Ascierto PA, Sabbatino F, Scognamiglio G. COX-2 expression positively correlates with PD-L1 expression in human melanoma cells. *J Transl Med* 2017; 15: 46 [PMID: 28231855 DOI: 10.1186/s12967-017-1150-7]
- 40 张梦迪. 基于FRET技术研究AhR、HIF-1 $\alpha$ 与ARNT的相互作用. 呼和浩特市: 内蒙古医科大学 2017
- 41 Wolff M, Jelkmann W, Dunst J, Depping R. The Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator (ARNT/HIF-1 $\beta$ ) is influenced by hypoxia and hypoxia-mimetics. *Cell Physiol Biochem* 2013; 32: 849-858 [PMID: 24081025 DOI: 10.1159/000354487]
- 42 Tsai CH, Li CH, Liao PL, Cheng YW, Lin CH, Huang SH, Kang JJ. NcoA2-Dependent Inhibition of HIF-1 $\alpha$  Activation Is Regulated via AhR. *Toxicol Sci* 2015; 148: 517-530 [PMID: 26350169 DOI: 10.1093/toxsci/kfv199]
- 43 Gabriely G, Wheeler MA, Takenaka MC, Quintana FJ. Role of AHR and HIF-1 $\alpha$  in Glioblastoma Metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2017; 28: 428-436 [PMID: 28318896 DOI: 10.1016/j.tem.2017.02.009]
- 44 Ehrlich AK, Pennington JM, Bisson WH, Kolluri SK, Kerkvliet

- NI. TCDD, FICZ, and Other High Affinity AhR Ligands Dose-Dependently Determine the Fate of CD4<sup>+</sup> T Cell Differentiation. *Toxicol Sci* 2018; 161: 310-320 [PMID: 29040756 DOI: 10.1093/toxsci/kfx215]
- 45 Takenaka MC, Gabriely G, Rothhammer V, Mascanfroni ID, Wheeler MA, Chao CC, Gutiérrez-Vázquez C, Kenison J, Tjon EC, Barroso A, Vandeventer T, de Lima KA, Rothweiler S, Mayo L, Ghannam S, Zandee S, Healy L, Sherr D, Farez MF, Prat A, Antel J, Reardon DA, Zhang H, Robson SC, Getz G, Weiner HL, Quintana FJ. Control of tumor-associated macrophages and T cells in glioblastoma via AHR and CD39. *Nat Neurosci* 2019; 22: 729-740 [PMID: 30962630 DOI: 10.1038/s41593-019-0370-y]
- 46 Deng J, Li J, Sarde A, Lines JL, Lee YC, Qian DC, Pechenick DA, Manivanh R, Le Mercier I, Lowrey CH, Varn FS, Cheng C, Leib DA, Noelle RJ, Mabaera R. Hypoxia-Induced VISTA Promotes the Suppressive Function of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Cancer Immunol Res* 2019; 7: 1079-1090 [PMID: 31088847 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0507]
- 47 Xu W, Dong J, Zheng Y, Zhou J, Yuan Y, Ta HM, Miller HE, Olson M, Rajasekaran K, Ernstoff MS, Wang D, Malarkannan S, Wang L. Immune-Checkpoint Protein VISTA Regulates Antitumor Immunity by Controlling Myeloid Cell-Mediated Inflammation and Immunosuppression. *Cancer Immunol Res* 2019; 7: 1497-1510 [PMID: 31340983 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0489]
- 48 Le Mercier I, Chen W, Lines JL, Day M, Li J, Sergent P, Noelle RJ, Wang L. VISTA Regulates the Development of Protective Antitumor Immunity. *Cancer Res* 2014; 74: 1933-1944 [PMID: 24691994 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1506]
- 49 张明. 免疫检查点蛋白VISTA在肝细胞癌中的表达及对肿瘤微环境和肝癌患者预后的影响. 广州市: 南方医科大学 2018
- 50 Kato S, Okamura R, Kumaki Y, Ikeda S, Nikanjam M, Eskander R, Goodman A, Lee S, Glenn ST, Dressman D, Papanicolaou-Sengos A, Lenzo FL, Morrison C, Kurzrock R. Expression of TIM3/VISTA checkpoints and the CD68 macrophage-associated marker correlates with anti-PD1/PDL1 resistance: implications of immunogram heterogeneity. *Oncoimmunology* 2020; 9: 1708065 [PMID: 32117584 DOI: 10.1080/2162402X.2019.1708065]
- 51 Dai X, Pi G, Yang SL, Chen GG, Liu LP, Dong HH. Association of PD-L1 and HIF-1 $\alpha$  Coexpression with Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *Transl Oncol* 2018; 11: 559-566 [PMID: 29525633 DOI: 10.1016/j.tranon.2018.02.014]
- 52 Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmmim M, Karray S, Dessen P, Bronte V, Chouaib S. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 $\alpha$ , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *J Exp Med* 2014; 211: 781-790 [PMID: 24778419 DOI: 10.1084/jem.20131916]
- 53 Palsson-McDermott EM, Dyck L, Zaslona Z, Menon D, McGettrick AF, Mills KHG, O'Neill LA. Pyruvate Kinase M2 Is Required for the Expression of the Immune Checkpoint PD-L1 in Immune Cells and Tumors. *Front Immunol* 2017; 8: 1300 [PMID: 29081778 DOI: 10.3389/fimmu.2017.01300]
- 54 Noman MZ, Chouaib S. Targeting hypoxia at the forefront of anticancer immune responses. *Oncoimmunology* 2014; 3: e954463 [PMID: 25964858 DOI: 10.4161/21624011.2014.954463]
- 55 Bailly C. Regulation of PD-L1 expression on cancer cells with ROS-modulating drugs. *Life Sci* 2020; 246: 117403 [PMID: 32035131 DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117403]
- 56 Wang Z, Li MY, Zhang ZH, Zuo HX, Wang JY, Xing Y, Ri M, Jin HL, Jin CH, Xu GH, Piao LX, Jiang CG, Ma J, Jin X. Panaxadiol inhibits programmed cell death-ligand 1 expression and tumour proliferation via hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  and STAT3 in human colon cancer cells. *Pharmacol Res* 2020; 155: 104727 [PMID: 32113874 DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104727]
- 57 Guo R, Li Y, Wang Z, Bai H, Duan J, Wang S, Wang L, Wang J. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and nuclear factor- $\kappa$ B play important roles in regulating programmed cell death ligand 1 expression by epidermal growth factor receptor mutants in non-small-cell lung cancer cells. *Cancer Sci* 2019; 110: 1665-1675 [PMID: 30844110 DOI: 10.1111/cas.13989]
- 58 Barsoum IB, Smallwood CA, Siemens DR, Graham CH. A mechanism of hypoxia-mediated escape from adaptive immunity in cancer cells. *Cancer Res* 2014; 74: 665-674 [PMID: 24336068 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0992]
- 59 Graham C, Barsoum I, Kim J, Black M, Siemens RD. Mechanisms Of Hypoxia-Induced Immune Escape In Cancer And Their Regulation By Nitric Oxide. *Redox Biol* 2015; 5: 417 [PMID: 28162279 DOI: 10.1016/j.redox.2015.09.022]
- 60 Hays E, Bonavida B. Nitric Oxide-Mediated Enhancement and Reversal of Resistance of Anticancer Therapies. *Antioxidants (Basel)* 2019; 8: 407 [PMID: 31533363 DOI: 10.3390/antiox8090407]
- 61 Kojetin DJ, Burris TP. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 197-216 [PMID: 24577401 DOI: 10.1038/nrd4100]
- 62 Jin J, Chang DY, Kim SH, Rha KS, Mo JH, Shin EC, Kim YM. Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in regulatory T cells on nasal polypogenesis. *Laryngoscope* 2014; 124: E151-E159 [PMID: 24142705 DOI: 10.1002/lary.24472]
- 63 Brożyna AA, Jóźwicki W, Jettan AM, Slominski AT. On the relationship between VDR, ROR $\alpha$  and ROR $\gamma$  receptors expression and HIF1- $\alpha$  levels in human melanomas. *Exp Dermatol* 2019; 28: 1036-1043 [PMID: 31287590 DOI: 10.1111/exd.14002]
- 64 Huang Y, Liang H, He C, Peng F. Hepatitis B Virus X Protein-Induced ROR $\gamma$  Expression to Promote the Migration and Proliferation of Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 5407126 [PMID: 31781621 DOI: 10.1155/2019/5407126]
- 65 Matsui-Hasumi A, Sato Y, Uto-Konomi A, Yamashita S, Uehori J, Yoshimura A, Yamashita M, Asahara H, Suzuki S, Kubo M. E3 ubiquitin ligases SIAH1/2 regulate hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)-mediated Th17 cell differentiation. *Int Immunol* 2017; 29: 133-143 [PMID: 28338984 DOI: 10.1093/intimm/dxx014]
- 66 Li H, Zhou L, Dai J. Retinoic acid receptor-related orphan receptor ROR $\alpha$  regulates differentiation and survival of keratinocytes during hypoxia. *J Cell Physiol* 2018; 233: 641-650 [PMID: 28332183 DOI: 10.1002/jcp.25924]
- 67 Amaravadi RK, Kimmelman AC, Debnath J. Targeting Autophagy in Cancer: Recent Advances and Future Directions. *Cancer Discov* 2019; 9: 1167-1181 [PMID: 31434711 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0292]
- 68 Cheng A, He P, Zhang J, Zheng W, Yang M. [Expression and correlation analysis of hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and autophagy related molecules in rat nucleus pulposus cells under hypoxia]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Jian Wai Ke Za Zhi* 2020; 34: 318-322 [PMID: 32174076 DOI: 10.7507/1002-1892.201908088]
- 69 Tittarelli A, Janji B, Van Moer K, Noman MZ, Chouaib S. The Selective Degradation of Synaptic Connexin 43 Protein by Hypoxia-induced Autophagy Impairs Natural Killer Cell-mediated Tumor Cell Killing. *J Biol Chem* 2015; 290: 23670-23679 [PMID: 26221040 DOI: 10.1074/jbc.M115.651547]
- 70 Janji B, Berchem G, Chouaib S. Targeting Autophagy in the Tumor Microenvironment: New Challenges and Opportunities for Regulating Tumor Immunity. *Front Immunol* 2018; 9: 887 [PMID: 29922284 DOI: 10.3389/fimmu.2018.00887]
- 71 Yao C, Ni Z, Gong C, Zhu X, Wang L, Xu Z, Zhou C, Li S,



- Zhou W, Zou C, Zhu S. Rocaglamide enhances NK cell-mediated killing of non-small cell lung cancer cells by inhibiting autophagy. *Autophagy* 2018; 14: 1831-1844 [PMID: 29969944 DOI: 10.1080/15548627.2018.1489946]
- 72 Jacquin E, Apetoh L. Cell-Intrinsic Roles for Autophagy in Modulating CD4 T Cell Functions. *Front Immunol* 2018; 9: 1023 [PMID: 29867990 DOI: 10.3389/fimmu.2018.01023]
- 73 Patel S, Hurez V, Nawrocki ST, Goros M, Michalek J, Sarantopoulos J, Curiel T, Mahalingam D. Vorinostat and hydroxychloroquine improve immunity and inhibit autophagy in metastatic colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 59087-59097 [PMID: 27463016 DOI: 10.18632/oncotarget.10824]
- 74 Xu WL, Wang SH, Sun WB, Gao J, Ding XM, Kong J, Xu L, Ke S. Insufficient radiofrequency ablation-induced autophagy contributes to the rapid progression of residual hepatocellular carcinoma through the HIF-1 $\alpha$ /BNIP3 signaling pathway. *BMB Rep* 2019; 52: 277-282 [PMID: 30940322 DOI: 10.5483/BMBRep.2019.52.4.263]
- 75 Sun Y, Xing X, Liu Q, Wang Z, Xin Y, Zhang P, Hu C, Liu Y. Hypoxia-induced autophagy reduces radiosensitivity by the HIF-1 $\alpha$ /miR-210/Bcl-2 pathway in colon cancer cells. *Int J Oncol* 2015; 46: 750-756 [PMID: 25385144 DOI: 10.3892/ijo.2014.2745]
- 76 Zhang X, Qi Z, Yin H, Yang G. Interaction between p53 and Ras signaling controls cisplatin resistance via HDAC4- and HIF-1 $\alpha$ -mediated regulation of apoptosis and autophagy. *Theranostics* 2019; 9: 1096-1114 [PMID: 30867818 DOI: 10.7150/thno.29673]

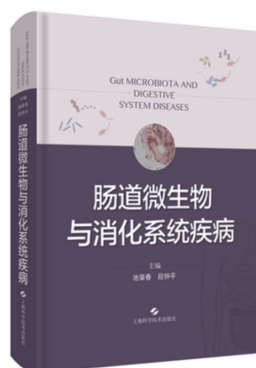
科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2020 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

• 消息 •

## 书 讯



**本刊讯** 由池肇春与段钟平教授主编的《肠道微生物与消化系统疾病》已由上海科学技术出版社出版, 是国内首部有关肠道微生物与消化系统疾病的编著。

近几年, 国内外学者对肠道微生物与消化系统疾病的相关性开展了基础和临床的研究, 并取得了长足的进展。此书分上下两篇: 上篇为总论, 介绍肠道微生物研究现状与进展、细菌学、细菌生理功能、肠道屏障生理功能和屏障功能障碍、肠道细菌生态平衡和生态失调、细菌诊断、肠道微生物与食物消化和营养吸收、肠道微生物与药物代谢、肠道微生物与免疫、肠道微生物与炎症; 下篇为肠道微生物与消化系统疾病和肿瘤各论, 分别详尽介绍肠道微生物与胃肠、肝胆胰疾病和消化系统肿瘤的相关性的研究现状和诊治。

全书共分28章独立成段, 60余万字。可供消化科、肝病与传染病科、肿瘤科、腹部和肝胆外科、影像科等相关科室医师学习参用, 也可供从事微生物与临床医学的科研人员作参考。

在上海科学技术出版社天猫旗舰店可购买。定价198元, 折扣75折, ISBN 978-7-5478-4874-6。网址: <https://detail.tmall.com/item.htm?spm=a212k0.12153887.0.0.4e60687djKE0oO&id=622850895155>。

# 胰十二指肠切除术后胰瘘的相关危险因素及预防措施的 最新进展

杨均兴, 叶思严, 戴东

杨均兴, 叶思严, 戴东, 广东医科大学附属医院肝胆外科 广东省湛江市 524000

杨均兴, 实习研究生, 主要从事肝胆外科工作.

作者贡献分布: 本文综述由主要由杨均兴与叶思严完成; 戴东审校.

通讯作者: 戴东, 本科, 教授, 主任医师, 524000, 广东省湛江市霞山区人民大道, 广东医科大学附属医院肝胆外科. daidong2008@126.com

收稿日期: 2020-07-02

修回日期: 2020-08-16

接受日期: 2020-08-31

在线出版日期: 2020-09-28

## Risk factors and preventive measures for postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy

Jun-Xing Yang, Si-Yan Ye, Dong Dai

Jun-Xing Yang, Si-Yan Ye, Dong Dai, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, Guangdong Province, China

Corresponding author: Dong Dai, Undergraduate, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, People's Road, Xiashan District, Zhanjiang 524000, Guangdong Province, China. daidong2008@126.com

Received: 2020-07-02

Revised: 2020-08-16

Accepted: 2020-08-31

Published online: 2020-09-28

## Abstract

Postoperative pancreatic fistula (POPF) is the most serious complication after pancreaticoduodenectomy

(PD), which can lead to slow recovery, deterioration, and even reoperation and death. At present, the mortality rate after PD has decreased, but the incidence of POPF is still high. Therefore, exploring the risk factors and prevention strategies for pancreatic fistula has become a hot research topic in pancreatic surgery. This paper summarizes the nature, risk factors, and preventive measures for POPF.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreaticoduodenectomy; Postoperative pancreatic fistula; Risk factors; Preventive measures

**Citation:** Yang JX, Ye SY, Dai D. Risk factors and preventive measures for postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 914-919

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/914.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i18.914>

## 摘要

术后胰瘘(postoperative pancreatic fistula, POPF)是胰十二指肠切除术(pancreatoduodenectomy, PD)后最严重的并发症, 可导致患者术后恢复缓慢、病情恶化甚至再次手术及死亡. 目前PD后死亡率已较前下降, 但POPF的发生率仍较高, 因此, 探讨影响胰瘘发生的危险因素及预防策略成为胰腺外科的研究热点. 文章就POPF的本质、危险因素以及预防措施进行综述.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 胰十二指肠切除术; 术后胰瘘; 危险因素; 预防措施

**核心提要:** 本文就近年来关于胰十二指肠切除术后胰瘘的危险因素以及预防措施进行了进一步的综述, 结果发

现除了一些传统的指标可用来预测术后胰瘘的风险外, 如年龄、性别、体重指数、胰腺质地、胰管直径、术前总胆红素、术前白蛋白、手术方式、手术时间、手术出血量、胰肠吻合方式、术后第一天腹腔引流液淀粉酶含量。一些新的危险因素也可于预测术后胰瘘, 如术前胰体实质的电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)值、用CT或者磁共振来预估残胰体积。

**文献来源:** 杨均兴, 叶思严, 戴东. 胰十二指肠切除术后胰瘘的相关危险因素及预防措施的进展. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 914-919

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/914.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.914>

## 0 引言

概述: 胰十二指肠切除术是目前治疗胰腺、壶腹部周围恶性肿瘤的经典术式, 也是腹部外科大型手术之一, 尽管随着手术技术和围手术期管理水平的提高, 胰十二指肠切除术后的死亡率已有明显下降, 由于该手术需切除器官较多以及需行消化道重建, 以术后胰瘘为主术后并发症的发生率仍居高不下, 约20%-60%<sup>[1]</sup>, 术后胰瘘是最严重的术后并发症, 术后胰瘘可导致腹腔感染、出血以及腹腔脓肿形成等临床症状, 同时大大增加了术后患者的住院时长以及死亡风险。

诊断标准: 2016年, 国际胰腺外科研究组对胰瘘的定义和分级系统进行了更新, 诊断标准为术后>3 d任意量的引流液中淀粉酶水平高于正常血清淀粉酶水平上限3倍以上, 且与临床治疗预后相关<sup>[2]</sup>。

术后胰瘘的本质: 目前研究表明术后胰瘘本质上分为两种: (1)由胰肠吻合失败引起的胰肠吻合口瘘。吻合失败后漏出的胰液、胆汁及肠液中的细菌可继发严重腹腔感染, 且胰液中的胰蛋白酶被胆汁、肠液激活后, 可消化腐蚀吻合口及周围组织, 进一步加重感染, 甚至继发致命性大出血, 属高危胰瘘; (2)由胰腺实质渗漏引起的胰瘘。术中对胰腺的分离、切割、电凝、缝扎等操作引起胰腺创面、针孔的胰液渗漏, 其中仅含胰液, 胰蛋白酶未被激活, 较少引起严重并发症, 故引流通畅即可治愈, 属低危胰瘘<sup>[3]</sup>。

## 1 术后胰瘘相关的危险因素

查阅大量文献后, 可知可预测POPF的危险因素可分为患者自身因素、手术因素以及术后因素三大类。患者自身因素包括: 年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)、胰腺质地、术前胰体电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)值、胰管直径、术前总胆红素(total bilirubin, TB)、术前白蛋白(albumin, ALB), 手术因素包括: 手术方式、手术时间、手术出血量、胰肠吻

合方式、预估残胰体积。术后因素包括: 术后第一天腹腔引流液淀粉酶含量。

### 1.1 患者自身因素

1.1.1 年龄: 查阅文献后得知, 目前学者对年龄是否是POPF的危险因素这一问题, 尚未定论。一些学者<sup>[4-6]</sup>研究结果表明, 年龄与术后胰瘘的发生率无明显相关性。但是薄志远等<sup>[7]</sup>学者的研究则认为年龄是影响术后胰瘘的相关因素。王小龙等<sup>[8]</sup>和马炳奇等<sup>[9]</sup>的研究也得出类似的结论, 认为年龄≥65岁是术后胰瘘的危险因素。综上所述, 把年龄当作术后胰瘘的危险因素尚存在争议。但是年龄较大的患者在行手术时应充分地评估其心肺功能, 严格把握手术适应症。

1.1.2 性别: 目前Tranchart等<sup>[10]</sup>学者研究表明, 被认为有发生胰瘘的高风险, 其认为男性含有更高比例的内脏脂肪含量。这也造成男性较女性更容易发生胰瘘。而Chen等<sup>[11]</sup>的研究则表明女性是发生术后胰瘘的高危因素。Liu等<sup>[12]</sup>学者的研究则表明性别与术后胰瘘无关。因此性别与是否是POPF的危险因素仍需进一步考究。

1.1.3 BMI: BMI被公认为反映蛋白质热量、营养不良以及肥胖症的可靠指标。Nishida等<sup>[13]</sup>研究表明, BMI与POPF有一定的相关性, 其原因可能与BMI越高, 胰腺的内脏脂肪含量越高, 胰腺质地会变软变脆, 这大大增加了胰肠吻合的难度, 从而大大增加了胰瘘的风险。Elis等<sup>[14]</sup>的研究也表明BMI≥30 kg/m<sup>2</sup>是POPF的危险因素。Le Bian等<sup>[15]</sup>与Zou等<sup>[16]</sup>学者研究发现BMI≥25 kg/m<sup>2</sup>是POPF的危险因素。综上所述, BMI可作为预测POPF的危险因素。

1.1.4 胰腺质地: 胰腺质地直接关系到手术难度以及胰腺的外分泌功能, 所以胰腺质地一直是国内外研究术后胰瘘危险因素的主要话题。众多的国内外的研究均表明软胰腺质地是POPF的危险因素<sup>[15,17-20]</sup>。胰腺质地软硬主要由胰腺的纤维化程度决定, 纤维化程度越高, 质地越硬, 纤维化程度越高, 外分泌功能越差。同时较软的胰腺可能存在较好的外分泌功能, 在手术操作时对胰腺的分离、切割、电凝、缝扎等操作时, 具有较好外分泌功能的胰腺创面、针孔的胰液渗漏较硬质地的胰腺多。因此, 国内外许多学者普遍认为胰腺质地是术后胰瘘的危险因素且具有预测术后胰瘘的作用。

1.1.5 主胰管直径: 众多国内外学者的研究得出了相同的结论, 一致认为胰管直径≤3 mm为术后胰瘘的危险因素<sup>[6,15,17,20]</sup>。当胰管直径较小时大大增加了消化道重建的难度以及较易受到组织压迫, 导致胰管排液不畅, 压力增大。综上所述, 主胰管≤3 mm是术后胰瘘的危险因素。

1.1.6 胰腺的CT值: 随着医疗技术的发展, 目前较多学者使用CT值来预测术后胰瘘。Ohgi等<sup>[21]</sup>认为胰腺CT低



衰减可能是胰腺纤维化以及胰腺腺泡细胞的减少的表现。而无纤维化的软胰腺具有较低的手持缝合能力和较好的胰液外分泌能力, 这增加术后胰瘘的风险。同时其研究也表明出现胰瘘的患者的胰腺实质的CT值明显高于无胰瘘的患者, 胰腺衰减 $\geq 30.0$  HU是PD后PF的独立危险因素。Hanaki等<sup>[22]</sup>与Deng等<sup>[23]</sup>学者也得出了类似的结论, 均认为胰体CT值可作为预测POPF的危险因素。综上所述, 胰体CT值可应用预测术后胰瘘。

**1.1.7 术前的黄疸程度:** 研究表明, 术前TB $>250$   $\mu\text{mol/L}$ 的患者需行术前胆道引流, 降低术前胆红素, 可明显降低POPF的发生率。Chen等<sup>[11]</sup>在对1465名PD后患者进行多中心回顾性分析后表明, 术前胆道引流可减少术后胰瘘的发生率, 这说明了术前的TB水平对POPF的发生率存在影响。习一清、Shen等<sup>[6,24]</sup>的研究同时也得出了术前高血清胆红素水平为术后胰瘘的危险因素。因此, 术前的黄疸程度也可用于预测术后胰瘘。

**1.1.8 术前白蛋白含量:** Li等<sup>[25]</sup>认为术前血清白蛋白 $\geq 35$  g 是术后胰瘘独立危险因素。Gruppo等<sup>[26]</sup>的研究表明术前白蛋白含量可用于预测术后胰瘘。Kim等<sup>[27]</sup>得出术后胰瘘与包括白蛋白在内的营养指标之间存在统计学意义的关联的结论。综上, 术前白蛋白含量可用于预测术后胰瘘, 白蛋白的含量可侧面反映出患者的营养状态以及免疫功能, 营养状态以及免疫功能较好的患者, 其吻合口恢复速度较快, 水肿程度较轻, 因此术后胰瘘与白蛋白含量之间存在有一定的相关性。

## 1.2 手术因素

**1.2.1 手术方式:** 目前胰十二指肠切除术主要分为三大类: (1)传统开腹胰十二指肠切除术(open pancreaticoduodenectomy, OPD); (2)腹腔镜下胰十二指肠切除术(laparoscopic pancreaticoduodenectomy, LPD); (3)机器人辅助下胰十二指肠切除术(robotic pancreaticoduodenectomy, RPD)。Zhang等<sup>[28]</sup>就LPD、OPD两个术式比较, 对大量文献进行了荟萃分析, 结果表明在两组之间的术后胰瘘等术后并发症发病率无显著差异。Kamarajah等<sup>[29]</sup>的研究表明微创胰十二指肠切除术(即RPD以及LPD)与OPD, 在术后胰瘘等方面, 两种术式无明显差异。Nickel等<sup>[30]</sup>的研究结果也表明LPD组与OPD组在术后胰瘘等并发症以及预后等方面无明显差异。综上所述, 在目前证据下, LPD、RPD与OPD在减少术后胰瘘发生率等方面无明显差异。LPD及RPD是否能降低术后胰瘘发生率, 目前仍缺乏大数据、多中心研究的循证医学证据支持。

**1.2.2 手术时间:** Wang等<sup>[31]</sup>认为手术时间是POPF的危险因素, POPF组的手术时间比非POPF组更长。但同时也有学者认为微创胰十二指肠切除术手术时间较传统开

腹手术时间长, 但是这两种术式在POPF发生率上无明显差异的<sup>[28,29]</sup>。因此, 手术时间尚不能作为预测术后胰瘘的危险因素。

**1.2.3 手术出血量:** Callery等<sup>[32]</sup>认为术中出血量与术后胰瘘发生率有相关性。当术中失血量超过1000 mL可使患者POPF的发生率增加了近6倍。Pratt等<sup>[33]</sup>的研究也表明术中失血量过多( $>1000$  mL)对预防POPF有显著意义。综上所述, 术中失血量与术后胰瘘密切相关。因此尽量去减少术中出血量是手术医生应该重点关注的。

**1.2.4 消化道重建方式:** 在这里主要是探讨胰腺残端与消化道的吻合方式, 其主要分为胰胃吻合以及胰空肠吻合两大类。

胰胃吻合术作为PD术后胰腺消化道重建的重要术式, 具有以下优点: (1)吻合难度相对要求较低, 吻合口对合稳定性较好; (2)出现吻合口局部缺血可能性相对较小; (3)胰酶在胃酸的酸性环境中不易被激活, 吻合口易于正常愈合<sup>[34]</sup>。

目前应用于临床的胰胃吻合方式主要有四类: 单层胰胃吻合、双层胰胃吻合、胰管胃黏膜吻合和捆绑式胰胃吻合。Topal等<sup>[35]</sup>以及Figueras等<sup>[36]</sup>研究均显示: 胰胃吻合组较胰肠吻合组对预防术后胰瘘更具优势。但是也有学者认为胰胃吻合的术后出血率较胰肠吻合组的高, 这可能与胰、胃血供丰富、食物及胃酸的刺激、电凝后的胰腺切缘暴露在酸性环境中有关<sup>[37]</sup>。综上, 胰胃吻合可能在预防POPF有其独特的优势, 可作为预测POPF的危险因素, 且操作简便易行。

与胰胃吻合方式比较, 胰肠吻合方式更符合生理结构。目前应用在临床较多胰肠吻合方式主要分为两大类, 胰管空肠端侧吻合以及胰腺残端空肠套入式吻合。

**胰管空肠端侧吻合:** 现应用在临床的术式是由Varco<sup>[38]</sup>的胰肠吻合方式改进而来, 代表术式有Blumgart法。后来出现的众多的改良Blumgart法, 都是在此基础上进行改进的。该术式也被文献报道在降低POPF发生率方面要优于传统的胰管空肠端侧吻合<sup>[39]</sup>。此外洪德飞<sup>[40]</sup>提出“洪氏一针法”腹腔镜胰肠吻合技术, 简化了腹腔镜吻合步骤, 该术式也可降低POPF的发生率。因此上述两种胰管空肠端侧吻合术均可有效地减低术后胰瘘的发生率, 可作为预测POPF的危险因素。

**胰腺残端空肠套入式吻合:** 最有代表性和革新意义的是1996年彭淑牖等<sup>[41]</sup>设计的捆绑式胰肠吻合术。该术式可避免在胰腺表面留下针眼, 从根本上防止胰漏。术后证实该术式可明显降低POPF的发生率。该方法还存在下列优点: (1)断胰时不需刻意寻找胰管开口; (2)可以适应任何质地的胰腺。

综上所述, 如何选择胰胃以及胰肠吻合术这两大类

常用的消化道重建方式, 临床上尚无统一意见. 但是无论何种消化道重建方式均可降低POPF的发生率, 可作为POPF的预测因素<sup>[35,36,39-41]</sup>.

1.2.5 残余胰腺体积: Frozanpor等<sup>[42]</sup>和Kiriara等<sup>[43]</sup>认为术前CT或磁共振成像上的估计胰腺残余体积可以预测术后胰瘘的发生; 但是有一部分患者的主胰管会扩张, 导致对胰腺实质组织体积的高估. 因此, Kanda等<sup>[44]</sup>提出了估计胰腺实质组织的概念, 也就是在胰腺残余体积的基础上再减去主胰管的体积. 其结果发现估计胰腺实质组织比估计胰腺残余体积更能准确预测术后胰瘘, 估计胰腺实质组织 $\geq 25.5 \text{ cm}^3$ 可作为预测POPF的危险因素. 综上, 利用术前CT或者MR可计算出PD后胰腺残留的体积, 这一指标有较好的预测POPF的价值. 因此使用估计胰腺残留体积作为预测术后胰瘘的危险因素是值得我们进一步的研究的.

### 1.3 术后因素

1.3.1 术后第一天腹腔引流液淀粉酶含量: 目前胰十二指肠切除术后都会常规在胰腺断端放置腹腔引流管, 便于术后定期监测腹腔引流液的淀粉酶含量. Jin等<sup>[45]</sup>认为术后第一天的腹腔引流液淀粉酶水平可作为POPF发生发展的生物标志物. 同样, Bassi等<sup>[46]</sup>、Molinari等<sup>[47]</sup>的研究也认为术后第1天血清淀粉酶含量与术后胰瘘发生显著相关. 综上所述, 在术后第一天监测腹腔引流液淀粉酶的含量可早期预测术后胰瘘的发生.

1.4 小结 综上所述, 目前国内外更为认可、更具价值的预测因素包括: BMI、胰腺质地、胰管直径、术前的黄疸程度、手术出血量、胰肠吻合方式、术后第一天腹腔引流液淀粉酶含量. 目前新兴的更具前景预测因素包括: 胰体的CT值以及估计残余胰腺的体积.

## 2 预防措施

### 2.1 术前预防

2.1.1 术前减黄: 众多学者研究表明, 术前TB过高是POPF的危险因素<sup>[6,11,24]</sup>. 我国胰腺癌综合诊治指南提出, 术前常规胆道引流解除梗阻性黄疸的必要性尚存在争论. 但是对于高龄或体能状态较差的患者, 若梗阻性黄疸时间较长, 合并肝功能明显异常、发热及胆管炎等感染表现, 推荐术前行减黄治疗<sup>[48]</sup>.

2.1.2 术前补充白蛋白: 有部分研究表明术前白蛋白的含量是影响POPF的危险因素<sup>[25,26]</sup>, 较高的白蛋白水平不仅有利于预防POPF的发生, 还能减轻术后各创面的水肿情况, 还为术后康复提供较好的营养支持.

### 2.2 术中预防

2.2.1 选择合适的手术方式: 目前胰十二指肠切除术可以通过OPD、LPD、RPD等方法进行. 虽然有学者的研

究表明, 手术方式在降低POPF的发生率无明显差异, 但开腹手术时间会较微创手术时间短, 而微创手术的出血量会较开腹手术出血量少<sup>[28,29]</sup>. 有学者认为手术时间以及手术出血量可影响POPF的发生率<sup>[31-33]</sup>, 因此我们术前应个体评估患者的情况, 选择最优的方案去进行手术治疗, 以手术时间最短, 出血量最少的安全方案去进行手术.

2.2.2 选择合适的消化道重建方式: 目前应用于临床的消化道重建方式可分为两大类, 胰胃吻合以及胰肠吻合, 两者均可降低POPF的发生率<sup>[35,36,39-41]</sup>. 同时各种吻合方式都有其独特的优势. 因此, 关于胰十二指肠切除术后胰腺残端消化道重建的方式选择仍需进一步研究.

### 2.3 术后预防

2.3.1 生长抑素以及生长抑素类似物: 生长抑素以及生长抑素类似物具有减少胰腺的外分泌功能以及减少内脏血流的功能. Li等<sup>[49]</sup>研究认为, PD后预防使用生长抑素类似物可降低POPF的发生率. 但是同时也有学者持有不同的意见. Yeo等<sup>[50]</sup>、You等<sup>[51]</sup>、Adiamah等<sup>[52]</sup>的研究则认为生长抑素类似物并不能改善患者的预后以及减少POPF的发生率, 不推荐术后常规使用生长抑素以及生长抑素类似物. 同时McMill等<sup>[53]</sup>的研究表明预防性使用生长抑素类似物可使内脏血流量减少, 这种组织灌注的改变导致吻合口灌注的减少, 促进吻合口的缺血和充血, 甚至增加POPF的风险. 因此术后是否应常规应用生长抑素以及生长抑素类似物仍需要进行进一步验证.

2.4 其他 除此以外, 应用加速康复外科理念于PD患者, 也可以减少患者术后并发症的发生率以及住院时间<sup>[54]</sup>.

## 3 结论

随着医疗技术的发展, 有越来越多的措施去预测以及预防POPF的发生. 目前POPF早期预测仍存在困难, 与多种危险因素有关, 这仍需要大量的前瞻性多中心的深入研究.

## 4 参考文献

- 1 Roberts KJ, Hodson J, Mehrzad H, Marudanayagam R, Sutcliffe RP, Muiesan P, Isaac J, Bramhall SR, Mirza DF. A preoperative predictive score of pancreatic fistula following pancreatoduodenectomy. *HPB (Oxford)* 2014; 16: 620-628 [PMID: 24246089 DOI: 10.1111/hpb.12186]
- 2 Bassi C, Marchegiani G, Dervenis C, Sarr M, Abu Hilal M, Adham M, Allen P, Andersson R, Asbun HJ, Besselink MG, Conlon K, Del Chiaro M, Falconi M, Fernandez-Cruz L, Fernandez-Del Castillo C, Fingerhut A, Friess H, Gouma DJ, Hackert T, Izbicki J, Lillemoe KD, Neoptolemos JP, Olah A, Schulick R, Shrikhande SV, Takada T, Takaori K, Traverso W, Vollmer CR, Wolfgang CL, Yeo CJ, Salvia R, Buchler M; International Study Group on Pancreatic Surgery (ISGPS). The 2016 update of the International Study Group (ISGPS) definition and grading of postoperative pancreatic fistula: 11 Years After. *Surgery* 2017; 161: 584-591 [PMID: 28040257 DOI: 10.1016/j.surg.2016.11.014]



- 3 黄建军, 陈益君. 胰肠吻合术后胰瘘定性诊断的临床价值. *中华肝胆外科杂志* 2017; 23: 700-701 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2017.10.013]
- 4 Hu BY, Wan T, Zhang WZ, Dong JH. Risk factors for postoperative pancreatic fistula: Analysis of 539 successive cases of pancreaticoduodenectomy. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 7797-7805 [PMID: 27678363 DOI: 10.3748/wjg.v22.i34.7797]
- 5 季伟程, 刘浩. 胰十二指肠切除术后早期生化漏进展为B级胰瘘的预后因素分析. *中华外科杂志* 2019; 57: 654-659 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2019.09.003]
- 6 习一清, 谢伟, 杨张朔, 王华桥, 王昕, 杨铁成, 黄智民, 王丹雯, 杨丽洁. 胰十二指肠切除术后并发胰瘘的危险因素的Meta分析. *中华实验外科杂志* 2019; 36: 1857-1860 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.10.037]
- 7 薄志远, 邱应和, 沈宁佳, 杨发才, 段安琪, 朱斌, 余良河, 刘元进, 张永杰. 胰十二指肠切除术中改良胰肠吻合法的应用及术后胰瘘预后因素分析. *中华外科杂志* 2019; 57: 434-439 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2019.06.008]
- 8 王小龙, 涂彦渊, 王巍, 袁祖荣, 唐健雄, 唐文皓, 王伟艺. 胰十二指肠切除术后胰瘘发生的危险因素分析. *临床肝胆病杂志* 2017; 33: 116-120 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.01.025]
- 9 马炳奇, 张顺, 张斌, 吴力群, 史成宇, 吕海峰. 胰十二指肠切除术后胰瘘发生的相关性因素分析. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 315-319 [DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2013.03.011]
- 10 Tranchart H, Gaujoux S, Rebours V, Vullierme MP, Dokmak S, Levy P, Couvelard A, Belghiti J, Sauvanet A. Preoperative CT scan helps to predict the occurrence of severe pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg* 2012; 256: 139-145 [PMID: 22609844 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318256c32c]
- 11 Chen H, Wang W, Ying X, Deng X, Peng C, Cheng D, Shen B. Predictive factors for postoperative pancreatitis after pancreaticoduodenectomy: A single-center retrospective analysis of 1465 patients. *Pancreatology* 2020; 20: 211-216 [PMID: 31831390 DOI: 10.1016/j.pan.2019.11.014]
- 12 Liu QY, Zhang WZ, Xia HT, Leng JJ, Wan T, Liang B, Yang T, Dong JH. Analysis of risk factors for postoperative pancreatic fistula following pancreaticoduodenectomy. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17491-17497 [PMID: 25516663 DOI: 10.3748/wjg.v20.i46.17491]
- 13 Nishida Y, Kato Y, Kudo M, Aizawa H, Okubo S, Takahashi D, Nakayama Y, Kitaguchi K, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M. Preoperative Sarcopenia Strongly Influences the Risk of Postoperative Pancreatic Fistula Formation After Pancreaticoduodenectomy. *J Gastrointest Surg* 2016; 20: 1586-1594 [PMID: 27126054 DOI: 10.1007/s11605-016-3146-7]
- 14 Ellis RJ, Brock Hewitt D, Liu JB, Cohen ME, Merkow RP, Bentrem DJ, Bilimoria KY, Yang AD. Preoperative risk evaluation for pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *J Surg Oncol* 2019; 119: 1128-1134 [PMID: 30951614 DOI: 10.1002/jso.25464]
- 15 Le Bian AZ, Fuks D, Montali F, Cesaretti M, Costi R, Wind P, Smadja C, Gayet B. Predicting the Severity of Pancreatic Fistula after Pancreaticoduodenectomy: Overweight and Blood Loss as Independent Risk Factors: Retrospective Analysis of 277 Patients. *Surg Infect (Larchmt)* 2019; 20: 486-491 [PMID: 31063046 DOI: 10.1089/sur.2019.027]
- 16 Zou SY, Wang WS, Zhan Q, Deng XX, Shen BY. Higher body mass index deteriorates postoperative outcomes of pancreaticoduodenectomy. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2020; 19: 163-168 [PMID: 31862346 DOI: 10.1016/j.hbpd.2019.11.007]
- 17 杨美文, 邓永, 黄涛, 张雷达. 胰十二指肠切除术后胰瘘与胰腺纤维化程度相关关系的临床研究. *中华外科杂志* 2017; 55: 373-377 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.05.013]
- 18 Kwon J, Shin SH, Lee S, Park G, Park Y, Lee SJ, Lee W, Song KB, Hwang DW, Kim SC, Lee JH. The Effect of Fibrinogen/Thrombin-Coated Collagen Patch (TachoSil®) Application in Pancreaticojejunostomy for Prevention of Pancreatic Fistula After Pancreaticoduodenectomy: A Randomized Clinical Trial. *World J Surg* 2019; 43: 3128-3137 [PMID: 31502003 DOI: 10.1007/s00268-019-05172-y]
- 19 Ke Z, Cui J, Hu N, Yang Z, Chen H, Hu J, Wang C, Wu H, Nie X, Xiong J. Risk factors for postoperative pancreatic fistula: Analysis of 170 consecutive cases of pancreaticoduodenectomy based on the updated ISGPS classification and grading system. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e12151 [PMID: 30170457 DOI: 10.1097/MD.00000000000012151]
- 20 杜秋国, 滕雅丽, 朱岭. 胰十二指肠切除术后胰瘘危险因素的Meta分析. *腹部外科* 2019; 32: 355-360 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-5591.2019.05.009]
- 21 Ohgi K, Okamura Y, Sugiura T, Ito T, Yamamoto Y, Ashida R, Aramaki T, Uesaka K. Pancreatic attenuation on computed tomography predicts pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *HPB (Oxford)* 2020; 22: 67-74 [PMID: 31229490 DOI: 10.1016/j.hpb.2019.05.008]
- 22 Hanaki T, Uejima C, Amisaki M, Yosuke A, Tokuyasu N, Honjo S, Sakamoto T, Saito H, Ikeguchi M, Fujiwara Y. The attenuation value of preoperative computed tomography as a novel predictor for pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Surg Today* 2018; 48: 598-608 [PMID: 29383597 DOI: 10.1007/s00595-018-1626-y]
- 23 Deng Y, Zhao B, Yang M, Li C, Zhang L. Association Between the Incidence of Pancreatic Fistula After Pancreaticoduodenectomy and the Degree of Pancreatic Fibrosis. *J Gastrointest Surg* 2018; 22: 438-443 [PMID: 29330723 DOI: 10.1007/s11605-017-3660-2]
- 24 Shen Z, Zhang J, Zhao S, Zhou Y, Wang W, Shen B. Preoperative biliary drainage of severely obstructive jaundiced patients decreases overall postoperative complications after pancreaticoduodenectomy: A retrospective and propensity score-matched analysis. *Pancreatology* 2020; 20: 529-536 [PMID: 32107192 DOI: 10.1016/j.pan.2020.02.002]
- 25 Li Y, Zhou F, Zhu DM, Zhang ZX, Yang J, Yao J, Wei YJ, Xu YL, Li DC, Zhou J. Novel risk scoring system for prediction of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 2650-2664 [PMID: 31210716 DOI: 10.3748/wjg.v25.i21.2650]
- 26 Gruppo M, Angriman I, Martella B, Spolverato YC, Zingales F, Bardini R. Perioperative albumin ratio is associated with postoperative pancreatic fistula. *ANZ J Surg* 2018; 88: E602-E605 [PMID: 29194898 DOI: 10.1111/ans.14262]
- 27 Kim JH, Lee H, Choi HH, Min SK, Lee HK. Nutritional risk factors are associated with postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg Treat Res* 2019; 96: 201-207 [PMID: 30941324 DOI: 10.4174/ast.2019.96.4.201]
- 28 Zhang H, Lan X, Peng B, Li B. Is total laparoscopic pancreaticoduodenectomy superior to open procedure? A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 5711-5731 [PMID: 31602170 DOI: 10.3748/wjg.v25.i37.5711]
- 29 Kamarajah SK, Bundred JR, Marc OS, Jiao LR, Hilal MA, Manas DM, White SA. A systematic review and network meta-analysis of different surgical approaches for pancreaticoduodenectomy. *HPB (Oxford)* 2020; 22: 329-339 [PMID: 31676255 DOI: 10.1016/j.hpb.2019.09.016]
- 30 Nickel F, Haney CM, Kowalewski KF, Probst P, Limen EF, Kalkum E, Diener MK, Strobel O, Müller-Stich BP, Hackert T. Laparoscopic Versus Open Pancreaticoduodenectomy: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Ann Surg* 2020; 271: 54-66 [PMID: 30973388 DOI: 10.1097/SLA.0000000000003309]
- 31 Wang D, Liu X, Wu H, Liu K, Zhou X, Liu J, Guo W, Zhang Z. Clinical evaluation of modified invaginated pancreaticojejunostomy for pancreaticoduodenectomy. *World J*



- Surg Oncol* 2020; 18: 75 [PMID: 32295594 DOI: 10.1186/s12957-020-01851-6]
- 32 Callery MP, Pratt WB, Kent TS, Chaikof EL, Vollmer CM Jr. A prospectively validated clinical risk score accurately predicts pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *J Am Coll Surg* 2013; 216: 1-14 [PMID: 23122535 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.09.002]
  - 33 Pratt WB, Callery MP, Vollmer CM Jr. Risk prediction for development of pancreatic fistula using the ISGPF classification scheme. *World J Surg* 2008; 32: 419-428 [PMID: 18175170 DOI: 10.1007/s00268-007-9388-5]
  - 34 Flautner L, Tihanyi T, Szécsényi A. Pancreatogastrostomy: an ideal complement to pancreatic head resection with preservation of the pylorus in the treatment of chronic pancreatitis. *Am J Surg* 1985; 150: 608-611 [PMID: 4061742 DOI: 10.1016/0002-9610(85)90446-5]
  - 35 Topal B, Fieuws S, Aerts R, Weerts J, Feryn T, Roeyen G, Bertrand C, Hubert C, Janssens M, Closset J; Belgian Section of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery. Pancreaticojejunostomy versus pancreaticogastrostomy reconstruction after pancreaticoduodenectomy for pancreatic or periampullary tumours: a multicentre randomised trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 655-662 [PMID: 23643139 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70126-8]
  - 36 Figueras J, Sabater L, Planellas P, Muñoz-Forner E, Lopez-Ben S, Falgueras L, Sala-Palau C, Albiol M, Ortega-Serrano J, Castro-Gutierrez E. Randomized clinical trial of pancreaticogastrostomy versus pancreaticojejunostomy on the rate and severity of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Br J Surg* 2013; 100: 1597-1605 [PMID: 24264781 DOI: 10.1002/bjs.9252]
  - 37 穆青, 孙友刚, 李鹏, 王红卫, 何铁英. 胰十二指肠切除术中胰胃吻合和胰肠吻合优劣比较的Meta分析. *中华胰腺病杂志* 2019; 19: 48-52 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2019.01.011]
  - 38 Varco RL. A method of implanting the pancreatic duct into the jejunum in the Whipple operation for carcinoma of the pancreas; case report. *Surgery* 1945; 18: 569-573 [PMID: 21005290]
  - 39 Kleespies A, Rentsch M, Seeliger H, Albertsmeier M, Jauch KW, Bruns CJ. Blumgart anastomosis for pancreaticojejunostomy minimizes severe complications after pancreatic head resection. *Br J Surg* 2009; 96: 741-750 [PMID: 19526614 DOI: 10.1002/bjs.6634]
  - 40 洪德飞, 刘亚辉, 张宇华, 王英超, 王志敏, 吴伟顶, 沈国樑, 张军港, 张威, 成剑, 彭淑牖. 腹腔镜胰十二指肠切除术中“洪氏一针法”胰管空肠吻合的临床应用. *中华外科杂志* 2017; 55: 136-140 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.02.012]
  - 41 彭淑牖, 刘颖斌, 牟一平, 蔡秀军, 彭承宏, 吴育莲, 方河清, 曹利平, 沈宏伟. 捆绑式胰肠吻合术100例报告. *胰腺病学* 2001; 1: 43-45 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2001.01.017]
  - 42 Frozanpor F, Loizou L, Ansoorge C, Segersvård R, Lundell L, Albiin N. Preoperative pancreas CT/MRI characteristics predict fistula rate after pancreaticoduodenectomy. *World J Surg* 2012; 36: 1858-1865 [PMID: 22450754 DOI: 10.1007/s00268-012-1567-3]
  - 43 Kirihaara Y, Takahashi N, Hashimoto Y, Sclabas GM, Khan S, Moriya T, Sakagami J, Huebner M, Sarr MG, Farnell MB. Prediction of pancreatic anastomotic failure after pancreatoduodenectomy: the use of preoperative, quantitative computed tomography to measure remnant pancreatic volume and body composition. *Ann Surg* 2013; 257: 512-519 [PMID: 23241871 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31827827d0]
  - 44 Kanda M, Fujii T, Suenaga M, Takami H, Hattori M, Inokawa Y, Yamada S, Nakayama G, Sugimoto H, Koike M, Nomoto S, Kodera Y. Estimated pancreatic parenchymal remnant volume accurately predicts clinically relevant pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *Surgery* 2014; 156: 601-610 [PMID: 24998158 DOI: 10.1016/j.surg.2014.04.011]
  - 45 Jin S, Shi XJ, Wang SY, Zhang P, Lv GY, Du XH, Wang GY. Drainage fluid and serum amylase levels accurately predict development of postoperative pancreatic fistula. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 6357-6364 [PMID: 28974903 DOI: 10.3748/wjg.v23.i34.6357]
  - 46 Bassi C, Molinari E, Malleo G, Crippa S, Butturini G, Salvia R, Talamini G, Pederzoli P. Early versus late drain removal after standard pancreatic resections: results of a prospective randomized trial. *Ann Surg* 2010; 252: 207-214 [PMID: 20622661 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181e61e88]
  - 47 Molinari E, Bassi C, Salvia R, Butturini G, Crippa S, Talamini G, Falconi M, Pederzoli P. Amylase value in drains after pancreatic resection as predictive factor of postoperative pancreatic fistula: results of a prospective study in 137 patients. *Ann Surg* 2007; 246: 281-287 [PMID: 17667507 DOI: 10.1097/sla.0b013e3180caa42f]
  - 48 中国抗癌协会胰腺癌专业委员会. 胰腺癌综合诊治指南(2018版). *中华外科杂志* 2018; 56: 481-494 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.07.001]
  - 49 Li T, D'Cruz RT, Lim SY, Shelat VG. Somatostatin analogues and the risk of post-operative pancreatic fistulas after pancreatic resection - A systematic review & meta-analysis. *Pancreatology* 2020; 20: 158-168 [PMID: 31980352 DOI: 10.1016/j.pan.2019.12.015]
  - 50 Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, Sauter PK, Coleman J, Sohn TA, Campbell KA, Choti MA. Does prophylactic octreotide decrease the rates of pancreatic fistula and other complications after pancreaticoduodenectomy? Results of a prospective randomized placebo-controlled trial. *Ann Surg* 2000; 232: 419-429 [PMID: 10973392 DOI: 10.1097/0000658-200009000-00014]
  - 51 You DD, Paik KY, Park IY, Yoo YK. Randomized controlled study of the effect of octreotide on pancreatic exocrine secretion and pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *Asian J Surg* 2019; 42: 458-463 [PMID: 30262436 DOI: 10.1016/j.asjsur.2018.08.006]
  - 52 Adiamah A, Arif Z, Berti F, Singh S, Laskar N, Gomez D. The Use of Prophylactic Somatostatin Therapy Following Pancreaticoduodenectomy: A Meta-analysis of Randomised Controlled Trials. *World J Surg* 2019; 43: 1788-1801 [PMID: 30798417 DOI: 10.1007/s00268-019-04956-6]
  - 53 McMillan MT, Christein JD, Callery MP, Behrman SW, Drebin JA, Kent TS, Miller BC, Lewis RS Jr, Vollmer CM Jr. Prophylactic octreotide for pancreatoduodenectomy: more harm than good? *HPB (Oxford)* 2014; 16: 954-962 [PMID: 25041506 DOI: 10.1111/hpb.12314]
  - 54 陈凇, 陈亚进, 董海龙, 冯艺, 顾小萍, 黄宇光, 江志伟, 楼文晖, 刘连新, 米卫东, 马正良, 闵苏, 彭书峻, 田孝东, 王天龙, 徐泽宽, 薛张纲, 姚宏伟, 杨尹默, 张珂诚, 祝胜美. 加速康复外科中国专家共识及路径管理指南(2018版). *中国实用外科杂志* 2018; 38: 1-20 [DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2018.01.01]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



## 肠道黏膜岩藻糖基化与炎症性肠病研究进展

陈鑫, 李国熊, 方家恒, 徐思楠, 高宇飞, 孙倚天

陈鑫, 李国熊, 方家恒, 徐思楠, 高宇飞, 孙倚天, 杭州师范大学附属医院消化内科 浙江省杭州市 310011

陈鑫, 初级职称, 主要从事消化内科学。

基金项目: 2019杭州市卫生局重点项目, No. 0020190143.

作者贡献分布: 本文综述由陈鑫完成; 李国熊、方家恒、徐思楠、高宇飞及孙倚天审校。

通讯作者: 李国熊, 教授, 主任医师, 310011, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州师范大学附属医院消化内科. guoxiongli849@hotmail.com

收稿日期: 2020-06-03

修回日期: 2020-08-02

接受日期: 2020-08-14

在线出版日期: 2020-09-28

### Fucosylation in the intestinal mucosa and inflammatory bowel disease

Xin Chen, Guo-Xiong Li, Jia-Heng Fang, Si-Nan Xu, Yu-Fei Gao, Yi-Tian Sun

Xin Chen, Guo-Xiong Li, Jia-Heng Fang, Si-Nan Xu, Yu-Fei Gao, Yi-Tian Sun, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310011, Zhejiang Province, China

Supported by: Key Projects of Hangzhou Health Bureau, No. 0020190143.

Corresponding author: Guo-Xiong Li, Postgraduate, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126 Wenzhou Road, Gongshu District, Hangzhou 310011, Zhejiang Province, China. guoxiongli849@hotmail.com

Received: 2020-06-03

Revised: 2020-08-02

Accepted: 2020-08-14

Published online: 2020-09-28

### Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an unexplained, abnormal immune mediated chronic and recurrent inflammatory disorder of the intestine. Fucosylation in the intestinal mucosa is the process of transferring fucose to intestinal mucosal protein side chains under the control of fucosyltransferases to form fucosyl bonds. The mechanism of fucosylation in the intestinal mucosa in IBD has not been fully proved. In this paper, we will review the progress in understanding the relationship between fucosylation in the intestinal mucosa and IBD.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Fucoylation; Fucosyltransferase; Intestinal mucosa

Citation: Chen X, Li GX, Fang JH, Xu SN, Gao YF, Sun YT. Fucosylation in the intestinal mucosa and inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2020; 28(18): 920-924  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/920.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i18.920>

### 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因不明、异常免疫介导的肠道慢性及复发性炎症性疾病。肠道黏膜岩藻糖基化是在岩藻糖基转移酶的调控下,将岩藻糖转移到肠道黏膜蛋白质侧链上形成岩藻糖苷键的过程。肠道黏膜岩藻糖基化在IBD中的作用机制尚未完全探明,本文就肠道黏膜岩藻糖基化与IBD研究进展作一综述。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 炎症性肠病; 岩藻糖基化; 岩藻糖基转移酶; 肠道

**核心提要:** 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括溃疡性结肠炎和克罗恩病, 是肠道菌群失衡等因素作用于遗传易感者后, 肠道黏膜发生的慢性炎症反应. 我国的IBD发病率呈逐年上升趋势. 肠道黏膜岩藻糖基化, 即在岩藻糖基转移酶(fucosyltransferases, FUTs)的调控下, 将岩藻糖以活化的单体形式(鸟苷二磷酸-岩藻糖)转移到肠道蛋白质上形成聚糖链的过程, 参与选择素介导的白细胞外渗及归巢、宿主微生物相互作用及炎症因子表达, 并与肿瘤增殖、侵袭、转移、免疫逃逸有关. 目前发现有两类FUTs被发现与IBD密切相关, 第一类为FUT2和FUT3, 特异催化人类组织血型抗原的形成; 第二类为FUT8, 能将岩藻单糖连接到蛋白质天冬酰胺的NH<sub>2</sub>自由基上, 这一过程被称为“核心岩藻糖基化”. 本文就肠道黏膜岩藻糖基化与IBD研究进展作一综述.

**文献来源:** 陈鑫, 李国熊, 方家恒, 徐思楠, 高宇飞, 孙奇天. 肠道黏膜岩藻糖基化与炎症性肠病研究进展. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 920-924

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/920.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.920>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是肠道菌群失衡等因素作用于遗传易感者后, 肠道黏膜发生的慢性炎症反应. 我国的IBD发病率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>. 肠道黏膜岩藻糖基化, 即在岩藻糖基转移酶(fucosyltransferases, FUTs)的调控下, 将岩藻糖以活化的单体形式(鸟苷二磷酸-岩藻糖)转移到肠道蛋白质上形成聚糖链的过程. 肠道黏膜岩藻糖基化被发现能影响蛋白质的生物学功能, 并参与宿主微生物相互作用、受体激活、信号转导等诸多重要生命进程. 目前发现有两类FUTs被发现与IBD密切相关, 第一类为FUT2和FUT3, 特异催化人类组织血型抗原(histo-blood group antigens, HBGA)的形成; 第二类为FUT8, 能将岩藻单糖连接到蛋白质天冬酰胺的NH<sub>2</sub>自由基上, 这一过程被称为“核心岩藻糖基化”. 本文就肠道黏膜岩藻糖基化与IBD研究进展作一综述(图1).

## 1 岩藻糖基化与IBD的发生发展

目前医学界普遍认为, IBD是针对自身肠道菌群的异常免疫反应性疾病. 肠道菌群改变、炎症信号异常激活及持续的异常免疫反应与IBD的发生发展密切相关. 岩藻糖基化作为蛋白质翻译后修饰的一种形式, 在近年来逐渐成为研究的热点, 它的研究进展给阐释IBD的发生发展提供了新的思路.

**1.1 岩藻糖基化与肠道菌群** 肠道微生态环境中生存着100万亿微生物, 包括细菌、真菌、病毒等, 这些微生物统称为肠道菌群. 肠道菌群分布于在肠道黏液外层, 内黏液层将肠道菌群与肠道黏膜分隔开, 使肠道菌群不与肠道上皮细胞直接接触. 肠道上皮细胞蛋白质岩藻糖基化异常可使肠道菌群及其产物的代谢发生改变, 导致上皮细胞功能损伤, 使正常或已发生紊乱的黏膜免疫系统过度暴露于肠道微生物中, 促进黏膜异常免疫反应, 在IBD发生发展中扮演着重要作用. 头孢曲松治疗72 d后的雄性Wistar大鼠(140-160 g)肠道黏膜岩藻糖基化水平较治疗前降低3.1倍, 沙门氏菌、弯曲杆菌、侵袭性大肠杆菌等致病菌感染率升高<sup>[2]</sup>. 肠道黏膜的岩藻糖基不仅可作为肠道菌群与肠壁的结合位点, 更能为某些菌群的生长繁殖提供碳源, 其能维持肠道菌群稳态, 为肠道功能的正常运转奠定基础. 研究发现, 非产肠毒素脆弱类杆菌可将肠道黏蛋白侧链的岩藻糖基作为碳源进行新陈代谢, 更好地适应肠道环境; 空肠弯曲杆菌、绿脓杆菌、大肠杆菌可与肠道上皮细胞蛋白质侧链的岩藻糖基特异性结合, 将其限制在肠道黏液外层, 避免异位感染; 多形拟杆菌可利用肠道黏蛋白侧链的岩藻糖基合成细胞壁, 促进其生长及增殖<sup>[3,4]</sup>. 肠道黏膜岩藻糖基化可促进白细胞介素-22 (interleukin-22, IL-22)的表达. IL-22过表达可进一步诱导幼龄生物肠道组织发育成熟及抗菌肽的产生. 这两者可抑制有害菌侵袭及繁殖. 如在肠道相关淋巴组织的派伊尔氏结中, 遏制产碱菌全身性传播及分节丝状菌的生长增殖, 避免肠道炎症反应的产生<sup>[5]</sup>. Pham等<sup>[6]</sup>通过对FUT2缺陷型(Fut2<sup>-/-</sup>)及同窝(Fut2<sup>+/+</sup>)小鼠的粪便进行微生物群落分析后, 发现FUT2缺陷型(Fut2<sup>-/-</sup>)小鼠粪便中大肠杆菌、梭状芽孢杆菌和类杆菌数量明显增加, 而双歧杆菌、乳酸菌数量显著减少.

许多研究表明, 肠道菌群改变与IBD发生发展密切相关. 有学者将IBD患者粪便样本与健康对照组粪便样本进行对比发现, IBD患者粪便标本中沙门氏菌、弯曲杆菌、侵袭性大肠杆菌、艰难梭菌等致病菌感染率较健康对照组显著增加, 其中艰难梭菌感染的IBD患者疾病进展更迅速且预后更差<sup>[7,8]</sup>. 尽管肠道内真菌及病毒数量仅占肠道菌群的很小一部分, 研究发现真菌改变及病毒感染与IBD发生发展有关. Li等<sup>[9]</sup>对19名活动性CD患者和7名健康人的肠道黏膜真菌微生物群进行统计分析后, 发现活动性CD患者肠道炎症黏膜的真菌丰富度及多样性明显高于非炎症黏膜, 真菌成分发生了显著改变, 念珠菌、交链孢菌和新生隐球菌比例明显增加. 近年来, IBD合并巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染病例逐渐增多, 大量研究显示病毒感染尤其是CMV感染的IBD



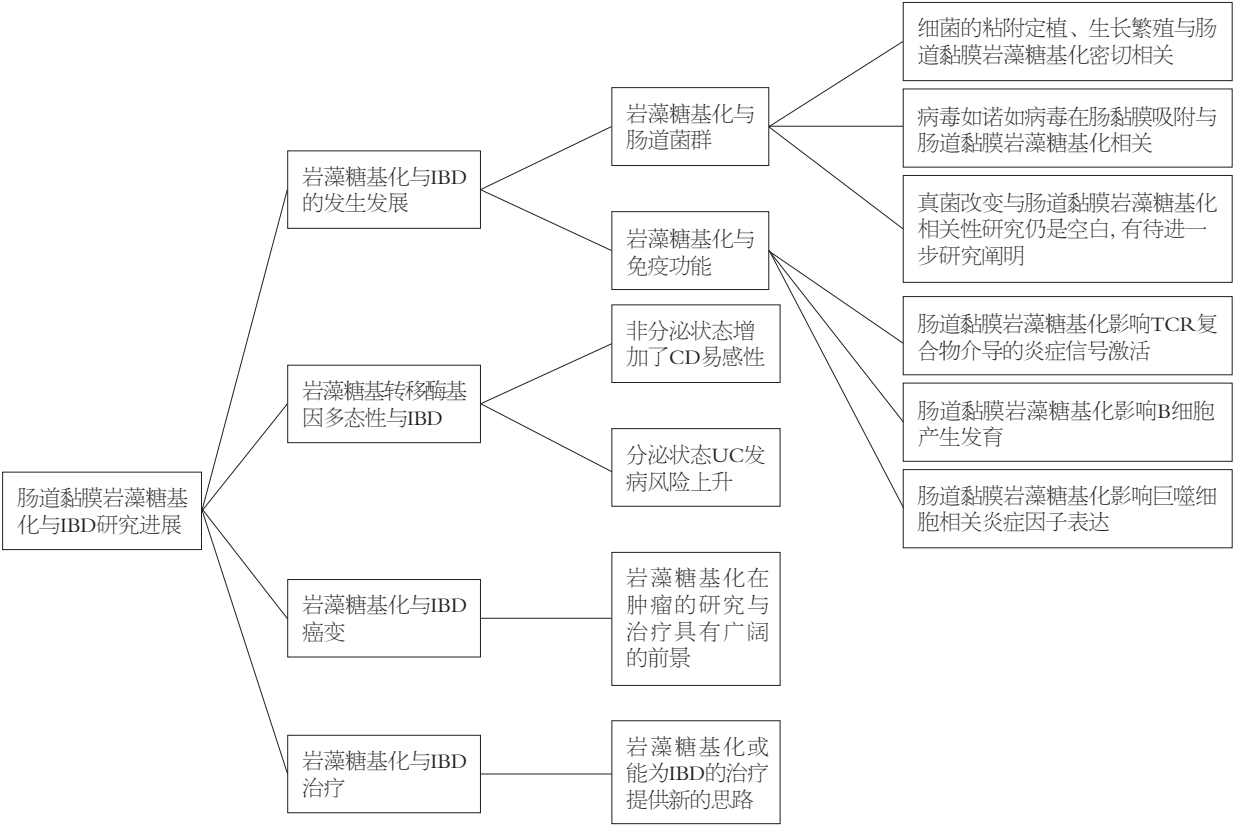


图 1 肠道黏膜岩藻糖基化与炎症性肠病研究进展. IBD: 炎症性肠病; CD: 克罗恩病; UC: 溃疡性结肠炎; TCR: T细胞受体.

患者较未感染者病情进展更迅速且预后不良<sup>[10]</sup>. 肠道黏膜岩藻糖基化能促进人诺如病毒的吸附及繁殖, 在人诺如病毒在人群中的流行起重要促进作用<sup>[11]</sup>. 血清 $\alpha$ -L-岩藻糖苷酶( $\alpha$ -L-Fucosidase, AFU)对乙型肝炎病毒的感染同样起促进作用. 但真菌改变与肠道黏膜岩藻糖基化相关性研究仍是空白, 有待进一步研究阐明.

1.2 岩藻糖基化与免疫功能 核心岩藻糖基化作为岩藻糖基化的一种重要类型, 由FUT8特异催化, 可通过调节T细胞、B细胞、巨噬细胞等免疫细胞功能在肠道免疫耐受的维持发挥着重要作用. Shinzaki等<sup>[12]</sup>对FUT8基因缺陷小鼠的分析表明, FUT8缺陷小鼠较FUT8正常小鼠的结肠炎症得到明显改善, 进一步研究发现FUT8基因缺陷小鼠肠道黏膜T细胞受体(T cell receptor, TCR)缺乏核心岩藻糖基化, 导致TCR复合物在细胞膜脂质中的运输受阻, TCR介导的炎症信号无法激活. Fujii等<sup>[13,14]</sup>通过三硝基苯酚(trinitrophenol, TNP)及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导FUT8缺陷型(Fut8<sup>-/-</sup>)小鼠和同窝(Fut8<sup>+/+</sup>)小鼠产生结肠炎的实验, 发现FUT8缺陷型(Fut8<sup>-/-</sup>)小鼠较同窝(Fut8<sup>+/+</sup>)小鼠炎症程度明显减轻. 他们认为这是FUT8缺陷型(Fut8<sup>-/-</sup>)小鼠的Toll样受体4 (toll-like receptor 4, TLR4)缺乏核心岩藻糖基化, TLR4介导的炎症信号传导受到抑制, 巨噬细胞相关

炎症因子如诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、白细胞介素1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达减少导致. 所以FUT8缺陷可导致TCR介导的信号转导减弱, 炎症因子表达减少, 避免了肠道炎症的进展. 核心岩藻糖基化对B细胞同样有重要的调节作用. 前B细胞抗原受体的形成发育需要以N46糖基核心岩藻糖基化为前提, 当FUT8缺失, N46糖基核心岩藻糖基化修饰障碍, 前B抗原细胞受体无法形成, 其介导的信号通路传导受阻, 前B细胞增殖发育异常, B细胞克隆能力明显下降. 研究发现FUT3功能障碍时, 路易斯寡糖A (sialyl lewis A, SLe A)表达增加, 多形核白细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)跨肠上皮迁移失调, PMN在肠道黏膜隐窝中聚集, 对IBD的发生发展起促进作用<sup>[15]</sup>. 肠道免疫细胞可称为肠道黏膜的监视系统, 对肠道菌群及抗原进行识别并作出不同的反应. 肠上皮细胞的岩藻糖基化可通过调节III型先天淋巴细胞(innate lymphoid cells 3, ILC3)产生IL-22, 介导肠黏膜免疫屏障功能和抗微生物宿主防御机制, 限制辅助性T细胞17 (helper T cells 17, TH17)介导的结肠炎<sup>[4]</sup>. 综上所述, 肠道黏膜岩藻糖基化能通过对机体信号通路、免疫系统产生影响, 引发、维持或者缓解肠道炎症.

## 2 岩藻糖基转移酶基因多态性与IBD

在大约20%的人群中, HBGA无法在肠道黏膜上皮细胞及分泌液中检测到, 这组人群被称为非分泌者. 非分泌者不分泌岩藻糖阳性抗原, 且缺乏岩藻糖基化, 其肠道菌群结构不同于分泌者. 非分泌型者粪便中双歧杆菌的多样性和丰度显著降低, 放线菌也明显减少, 菌群结构更接近CD患者. FUT2编码基因位于人染色体19q13.3, 由两个外显子组成, 第二个外显子处发生的两个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)是导致非分泌状态的主要原因. 国际炎症性肠病遗传学联盟(international inflammatory bowel disease genetics consortium, IIBDGC)对896例白种人CD患者和3204例健康对照者进行全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)后, 发现FUT2位点失活突变导致的非分泌者对于CD易感性明显增加<sup>[16]</sup>. 刘进等<sup>[17]</sup>对3682例IBD患者(UC1852例, CD1830例)进行FUT2基因多态性与IBD易感性Meta分析, 发现亚洲人群中FUT2基因多态性与CD易感性密切相关, FUT2基因A385T位点及G428A位点纯合突变导致的非分泌状态增加了CD易感性. 日本学者的研究也支持这一结果: 即缺乏HBGA表达的非分泌者CD患病率明显高于分泌者, 认为HBGA异常表达可能为CD发生所必须且独立的影响因素<sup>[18]</sup>. 一项对中国汉族和维吾尔族的小样本研究发现FUT2基因中有三个单核苷酸位点多态性(rs281377、rs1047781和rs601338)与UC易感性相关<sup>[19]</sup>. 芬兰人群研究报告也显示: 芬兰人群中HBGA表达正常的分泌者UC发病风险较非分泌者高<sup>[20]</sup>.

## 3 岩藻糖基化与IBD癌变

IBD患者病情反复发作, 肠壁破坏与修复交替进行, 其病变肠道癌变率较常人明显增加, 其中以结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率增加最为显著. 研究发现UC患者10年、20年、30年癌变率分别为2%、8%、18%, CD患者癌变率也较普通人群高2-3倍<sup>[21]</sup>. Wang等<sup>[22]</sup>研究发现岩藻糖基化缺乏导致的转录抑制因子HES1缺失与CRC的发生相关. 长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA) HOTAIR可通过调节CD44的 $\alpha 1$ , 3-岩藻糖基化触发PI3K/AKT/mTOR通路, 从而介导CRC的发生和肝转移<sup>[23]</sup>. 核心岩藻糖基化可通过调节寡糖加工及E-钙粘蛋白更新为癌细胞粘附提供一定帮助. FUT8高度表达的CRC患者核心岩藻糖基化表达水平显著升高, 其生存率较低度或无表达者要低<sup>[24]</sup>. 大部分CRC患者肿瘤细胞中都存在岩藻糖基化异常, 因此岩藻糖基化在肿瘤研究及治疗具有广阔的前景, 或能成为预测性生物标记物和潜在治疗靶点.

## 4 岩藻糖基化在IBD治疗中的新思路

越来越多的研究提示肠道黏膜岩藻糖基化异常导致的免疫功能障碍及肠道菌群失衡在IBD患者的肠道中普遍存在, 对于疾病的发生发展有着潜在的影响, 这给IBD的治疗提供了新的思路. 皮质类固醇、钙调神经磷酸酶抑制剂、硫嘌呤等免疫调节剂和抗肿瘤坏死因子抗体等免疫抑制剂可缓解IBD的许多临床症状. 抗肿瘤坏死因子抗体Fc区通过影响巨噬细胞极化而具有免疫抑制特性. 研究发现抗肿瘤坏死因子Fc区域的核心岩藻糖能增加与Fc $\gamma$ 受体之间的相互作用, 形成更多的CD206+巨噬细胞, 降低T细胞增殖水平, 使抗肿瘤坏死因子抗体在降低结肠炎严重程度方面更有效<sup>[25]</sup>. 在葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导小鼠结肠炎模型中, 移植Fut8-/-骨髓细胞小鼠较移植Fut8+/+骨髓细胞小鼠, 具有更强的抗炎能力<sup>[20]</sup>. IBD患者肠组织T细胞受体上的核心岩藻糖基化水平与IBD的病情严重程度和病程明显相关, 通过调节核心岩藻糖基化水平可以改变T细胞的功能, 这可能作为一种治疗IBD策略<sup>[9]</sup>. 目前肠道生态制剂已经被写入IBD治疗的临床指南, 但是诸如粪便移植等仍然存在争议. 通过调节岩藻糖基化改善肠道菌群结构的相关研究也较少, 或能成为以后新的研究方向.

## 5 结论

肠道黏膜岩藻糖基化参与了SLeA介导的白细胞外渗、宿主微生物相互作用、免疫调节及炎症因子表达, 并与肿瘤细胞增殖、侵袭、转移及免疫逃逸有关. FUT2和FUT3功能障碍导致的非分泌状态会增加CD的易感性, 而UC却恰恰相反, 分泌状态增加了UC易感性. FUT8的过度表达会促进B细胞产生发育、TCR复合物介导的炎症信号激活、巨噬细胞相关炎症因子表达, 导致IBD过度炎症反应. 肠道黏膜岩藻糖基化阐明IBD发病机制, 寻找敏感度、特异度更高的诊疗标志物提供了新的方向, 针对岩藻糖基化来治疗IBD将成为可能. 我们寄希望将有更多的研究能够从分子、细胞、组织、个体等多个层次深入分析研究岩藻糖基化在IBD发生发展过程中的作用, 使众多的IBD患者受益.

## 6 参考文献

- Li X, Song P, Li J, Tao Y, Li G, Li X, Yu Z. The Disease Burden and Clinical Characteristics of Inflammatory Bowel Disease in the Chinese Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2017; 14: [PMID: 28264519 DOI: 10.3390/ijerph14030238]
- Holota YV, Olefir YA, Dovbynchuk TV, Tolstanova GM. Carbohydrate composition of rat intestine surface mucus layer after ceftriaxone treatment. *Ukr Biochem J* 2016; 88: 35-44 [PMID: 29235834 DOI: 10.15407/ubj88.06.035]

- 3 Day CJ, Tiralongo J, Hartnell RD, Logue CA, Wilson JC, von Itzstein M, Korolik V. Differential carbohydrate recognition by *Campylobacter jejuni* strain 11168: influences of temperature and growth conditions. *PLoS One* 2009; 4: e4927 [PMID: 19290056 DOI: 10.1371/journal.pone.0004927]
- 4 王进波, 李杨, 齐莉莉, 喻鹏飞, 吴天星. 黏蛋白侧链岩藻糖在肠道细菌与宿主互作过程中的作用. *动物营养学报* 2017; 29: 1831-1835 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2017.06.001]
- 5 Goto Y, Kurashima Y, Kiyono H. [Roles of the gut mucosal immune system in symbiosis and immunity]. *Rinsho Ketsueki* 2015; 56: 2205-2212 [PMID: 26458461 DOI: 10.11406/rinketsu.56.2205]
- 6 Pham TA, Clare S, Goulding D, Arasteh JM, Stares MD, Browne HP, Keane JA, Page AJ, Kumasaka N, Kane L, Mottram L, Harcourt K, Hale C, Arends MJ, Gaffney DJ; Sanger Mouse Genetics Project, Dougan G, Lawley TD. Epithelial IL-22RA1-mediated fucosylation promotes intestinal colonization resistance to an opportunistic pathogen. *Cell Host Microbe* 2014; 16: 504-516 [PMID: 25263220 DOI: 10.1016/j.chom.2014.08.017]
- 7 Lobatón T, Domènech E. Bacterial Intestinal Superinfections in Inflammatory Bowel Diseases Beyond *Clostridium difficile*. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22: 1755-1762 [PMID: 27104824 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000788]
- 8 沈许燕, 方家恒, 张舒琪, 李国熊. 炎症性肠病合并艰难梭菌感染的研究进展. *国际消化病杂志* 2017; 37: 341-343 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2017.06.001]
- 9 Li Q, Wang C, Tang C, He Q, Li N, Li J. Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 513-523 [PMID: 24275714 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000035]
- 10 McCurdy JD, Enders FT, Khanna S, Bruining DH, Jones A, Killian JM, Tariq R, Smyrk TC, Loftus EV Jr. Increased Rates of *Clostridium difficile* Infection and Poor Outcomes in Patients with IBD with Cytomegalovirus. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22: 2688-2693 [PMID: 27755270 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000939]
- 11 从鑫, 李涵博, 段招军. G II .23基因型诺如病毒P蛋白的寡糖结合特征. *病毒学报* 2019; 35: 51-56 [DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.003491]
- 12 Shinzaki S, Iijima H, Fujii H, Kamada Y, Naka T, Takehara T, Miyoshi E. A novel pathogenesis of inflammatory bowel disease from the perspective of glyco-immunology. *J Biochem* 2017; 161: 409-415 [PMID: 28338836 DOI: 10.1093/jb/mvx010]
- 13 Fujii H, Shinzaki S, Iijima H, Wakamatsu K, Iwamoto C, Sobajima T, Kuwahara R, Hiyama S, Hayashi Y, Takamatsu S, Uozumi N, Kamada Y, Tsujii M, Taniguchi N, Takehara T, Miyoshi E. Core Fucosylation on T Cells, Required for Activation of T-Cell Receptor Signaling and Induction of Colitis in Mice, Is Increased in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2016; 150: 1620-1632 [PMID: 26965517 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.03.002]
- 14 Nakayama K, Wakamatsu K, Fujii H, Shinzaki S, Takamatsu S, Kitazume S, Kamada Y, Takehara T, Taniguchi N, Miyoshi E. Core fucose is essential glycosylation for CD14-dependent Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 signalling in macrophages. *J Biochem* 2019; 165: 227-237 [PMID: 30445455 DOI: 10.1093/jb/mvy098]
- 15 Brazil JC, Liu R, Sumagin R, Kolegraff KN, Nusrat A, Cummings RD, Parkos CA, Louis NA.  $\alpha 3/4$  Fucosyltransferase 3-dependent synthesis of Sialyl Lewis A on CD44 variant containing exon 6 mediates polymorphonuclear leukocyte detachment from intestinal epithelium during transepithelial migration. *J Immunol* 2013; 191: 4804-4817 [PMID: 24068663 DOI: 10.4049/jimmunol.1301307]
- 16 McGovern DP, Jones MR, Taylor KD, Marcianti K, Yan X, Dubinsky M, Ippoliti A, Vasilias E, Berel D, Derkowski C, Dutridge D, Fleshner P, Shih DQ, Melmed G, Mengesha E, King L, Pressman S, Haritunians T, Guo X, Targan SR, Rotter JJ; International IBD Genetics Consortium. Fucosyltransferase 2 (FUT2) non-secretor status is associated with Crohn's disease. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 3468-3476 [PMID: 20570966 DOI: 10.1093/hmg/ddq248]
- 17 刘进, 李林青, 曾俊, 曹国栋, 姜政. 岩藻糖基转移酶2基因多态性与炎症性肠病易感性Meta分析. *世界华人消化杂志* 2016; 2016: 4075-4084 [DOI: 10.11569/wcjd.v24.i29.4075]
- 18 Miyoshi J, Yajima T, Okamoto S, Matsuoka K, Inoue N, Hisamatsu T, Shimamura K, Nakazawa A, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Mukai M, Hibi T. Ectopic expression of blood type antigens in inflamed mucosa with higher incidence of FUT2 secretor status in colonic Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1056-1063 [PMID: 21725903 DOI: 10.1007/s00535-011-0425-7]
- 19 Aheman A, Luo HS, Gao F. Association of fucosyltransferase 2 gene variants with ulcerative colitis in Han and Uyghur patients in China. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4758-4764 [PMID: 23002346 DOI: 10.3748/wjg.v18.i34.4758]
- 20 Parmar AS, Alakulppi N, Paavola-Sakki P, Kurppa K, Halme L, Färkkilä M, Turunen U, Lappalainen M, Kontula K, Kaukinen K, Mäki M, Lindfors K, Partanen J, Sistonen P, Mättö J, Wacklin P, Saavalainen P, Einarsson E. Association study of FUT2 (rs601338) with celiac disease and inflammatory bowel disease in the Finnish population. *Tissue Antigens* 2012; 80: 488-493 [PMID: 23075394 DOI: 10.1111/tan.12016]
- 21 Chang M, Chang L, Chang HM, Chang F. Intestinal and Extraintestinal Cancers Associated With Inflammatory Bowel Disease. *Clin Colorectal Cancer* 2018; 17: e29-e37 [PMID: 28712945 DOI: 10.1016/j.clcc.2017.06.009]
- 22 Wang Y, Huang D, Chen KY, Cui M, Wang W, Huang X, Awadallah A, Li Q, Friedman A, Xin WW, Di Martino L, Cominelli F, Miron A, Chan R, Fox JG, Xu Y, Shen X, Kalady MF, Markowitz S, Maillard I, Lowe JB, Xin W, Zhou L. Fucosylation Deficiency in Mice Leads to Colitis and Adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2017; 152: 193-205.e10 [PMID: 27639802 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.09.004]
- 23 Pan S, Liu Y, Liu Q, Xiao Y, Liu B, Ren X, Qi X, Zhou H, Zeng C, Jia L. HOTAIR/miR-326/FUT6 axis facilitates colorectal cancer progression through regulating fucosylation of CD44 via PI3K/AKT/mTOR pathway. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2019; 1866: 750-760 [PMID: 30742932 DOI: 10.1016/j.bbmr.2019.02.004]
- 24 Noda M, Okayama H, Kofunato Y, Chida S, Saito K, Tada T, Ashizawa M, Nakajima T, Aoto K, Kikuchi T, Sakamoto W, Endo H, Fujita S, Saito M, Momma T, Ohki S, Kono K. Prognostic role of FUT8 expression in relation to p53 status in stage II and III colorectal cancer. *PLoS One* 2018; 13: e0200315 [PMID: 29975776 DOI: 10.1371/journal.pone.0200315]
- 25 Bloemendaal FM, Levin AD, Wildenberg ME, Koelink PJ, McRae BL, Salfeld J, Lum J, van der Neut Kolfschoten M, Claessens JW, Visser R, Bentlage A, D'Haens GRAM, Verbeek JS, Vidarsson G, van den Brink GR. Anti-Tumor Necrosis Factor With a Glyco-Engineered Fc-Region Has Increased Efficacy in Mice With Colitis. *Gastroenterology* 2017; 153: 1351-1362.e4 [PMID: 28756234 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.07.021]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红





# 正电子发射计算机断层显像在结直肠癌的临床应用及研究进展

吴彩霞, 王荣福

吴彩霞, 王荣福, 北京大学第一医院核医学科 北京市 100034

王荣福, 北京大学国际医院核医学科 北京市 102206

吴彩霞, 在读博士研究生, 研究方向肿瘤核医学。

**基金项目:** 北京市科技计划项目(首都健康保障培育研究专项课题), No. Z181100001618017; 国家重大科学仪器设备开发专项, No. 2011YQ03011409; 十二五国家支撑项目基金, No. 2014BAA03B03; 北京大学医-信交叉项目, No. BMU2018MI010.

**作者贡献分布:** 此课题由王荣福教授设计; 研究过程及文章初稿写作由吴彩霞完成; 文章修订由王荣福教授完成。

**通讯作者:** 王荣福, 博士, 教授, 主任医师, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北京大学第一医院核医学科. [rongfu\\_wang@163.com](mailto:rongfu_wang@163.com)

收稿日期: 2020-06-15

修回日期: 2020-08-03

接受日期: 2020-08-14

在线出版日期: 2020-09-28

## Clinical application and research advancement of positron emission tomography/computed tomography in colorectal cancer

Wu Cai-Xia, Wang Rong-Fu

Wu Cai-Xia, Wang Rong-Fu, Department of Nuclear Medicine, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Wang Rong-Fu, Department of Nuclear Medicine, Peking University International Hospital, Beijing 102206, China

**Supported by:** Beijing Science and Technology Plan Project (Special Research Project of Health Security Cultivation in the Capital), No. Z181100001618017; National Special Fund for the Development of Major Research Equipment and Instrument, No. 2011YQ03011409; National Science and Technology Infrastructure Program during the 12th Five-Year Plan Period, No. 2014BAA03B03; Peking University Medicine Seed Fund for Interdisciplinary Research, No. BMU2018MI010.

**Corresponding author:** Rong-fu Wang, PhD, Professor, Chief Physician, Department of Nuclear Medicine, Peking University First Hospital, No. 8 Xishiku Street, West District, Beijing 100034, China. [rongfu\\_wang@163.com](mailto:rongfu_wang@163.com)

Received: 2020-06-15

Revised: 2020-08-03

Accepted: 2020-08-14

Published online: 2020-09-28

## Abstract

Colorectal cancer is one of the most common malignant tumors of the digestive system. Early diagnosis and accurate staging and restaging of tumors are the preconditions for standardized treatment of colorectal cancer, which is conducive to the selection of treatment options and the evaluation of prognosis, as well as the improvement of patients' quality of life. With the popularization of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (PET/CT), its value in the diagnosis, staging and restaging, treatment decision-making, and efficacy and prognosis assessment of colorectal cancer is becoming increasingly important. This review briefly introduces the application and advancement of PET/CT in the diagnosis and treatment of colorectal cancer, in the hope that clinicians can have a more comprehensive understanding of the significance of PET/CT in the diagnosis and treatment of colorectal cancer.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Colorectal cancer; Positron emission tomography/computed tomography; Diagnosis; Staging; Prognosis

**Citation:** Wu CX, Wang RF. Clinical application and research advancement of positron emission tomography/computed tomography in

colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2020; 28(18): 925-932  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/925.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.925>

## 摘要

结直肠癌是消化系统常见恶性肿瘤之一, 是我国居民恶性肿瘤发病与死亡的主要疾病之一. 肿瘤的早期诊断、精准的分期及再分期是结直肠癌规范化治疗的前提, 有利于治疗方案的选择及预后的判断, 改善患者的生活质量及生存状态. 随着<sup>18</sup>氟-氟代脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography/computed tomography, PET/CT)在临床广泛应用, 其在结直肠癌的诊断、分期及再分期、治疗决策和疗效及预后评估中的临床价值也得到肯定. 本文就PET/CT在结直肠癌诊治中的应用与进展作简要介绍, 以期临床医生更全面地认识PET/CT对结直肠癌的诊疗意义.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 结直肠癌; 正电子发射计算机断层显像; 诊断; 分期; 预后

**核心提要:** 正电子发射计算机断层显像在结直肠癌的诊断、分期及再分期、治疗决策和疗效及预后评估中具有重要作用, 且其在结直肠癌靶向治疗、免疫治疗及实体瘤评价疗效中的价值日益凸显.

**文献来源:** 吴彩霞, 王荣福. 正电子发射计算机断层显像在结直肠癌的临床应用及研究进展. 世界华人消化杂志 2020; 28(18): 925-932  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/925.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.925>

## 0 引言

结直肠癌是消化系统常见恶性肿瘤之一. 根据我国国家癌症中心2019年度发布的全国最新癌症报告数据显示, 结直肠癌为我国第三大恶性肿瘤, 发病率约占所有恶性肿瘤的9.88%<sup>[1]</sup>. 手术是局限性结直肠癌患者首选的治疗方式. 结直肠癌化疗主要包括根治术前新辅助化疗、根治术后辅助化疗和晚期结直肠癌的姑息性化疗. 除此之外, 结直肠癌治疗方式还包括化疗联合放疗、靶向治疗及免疫治疗等. 早期诊断、准确分期及有效监测病程进展有助于选择合理的治疗手段, 提高治疗疗效, 改善患者的生存质量及预后. 核医学核素示踪分子功能精准诊断和靶向治疗在消化系统疾病应用广泛, 并具有重要的临床应用价值<sup>[2-4]</sup>.

<sup>18</sup>氟-氟代脱氧葡萄糖(fluorine-18 fluorodeoxyglucose, <sup>18</sup>F-FDG)正电子发射计算机断层显像(positron emission

tomography/computed tomography, PET/CT)显像能够同时提供精准解剖形态和机体功能代谢情况, 在消化系统多种肿瘤的诊断、分期、疗效检测等方面发挥着越来越重要的作用<sup>[5,6]</sup>, 其中包括结直肠癌. 2018年国家综合癌症网络(the national comprehensive cancer network, NCCN)的结肠癌指南指出<sup>[7,8]</sup>, 在结直肠癌的早期诊断及分期中, PET/CT检查并不作为常规推荐, 对于评估诊断性增强CT或核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)发现的可疑病变或静脉注射造影剂禁忌的患者, 亦或是对于部分潜在可治愈M1期患者, 可考虑进行PET/CT显像; 在肿瘤的复发监测中, 对于血清癌胚抗原(carcinoma embryonic antigen, CEA)升高, 体格检查、结肠镜检查、胸/腹/盆CT均为阴性的, 或是CT或MRI和/或活检证实异时性转移者, 如果病灶可切除, 需考虑PET/CT检查. 但也有研究者认为, 对于结直肠癌的患者应该使用个体化的方法, 更加合理有效的应用PET/CT. 同时他们指出, PET/CT在确定某些结直肠癌患者的初始治疗策略和后续治疗策略方面发挥着重要作用, 且使用PET/CT评估治疗反应的临床研究, 特别是在结直肠癌新辅助放化疗方面, 已经有了令人振奋的新发现. 事实上, 在临床医疗实践中, PET/CT检查在消化道肿瘤早期诊断、治疗决策和预测疗效等发挥了重要作用<sup>[9]</sup>.

虽然既往已有文献对于PET/CT在结直肠癌中的临床应用进行研究, 但是并不全面, 未对PET/CT在一些新领域方面的价值, 如在靶向治疗、免疫治疗及实体瘤评价疗效中的作用进行详细阐述. 本文就<sup>18</sup>F-FDG PET/CT在结直肠癌诊治中的临床应用与研究进展进行全面综述.

## 1 <sup>18</sup>F-FDG PET/CT在结直肠癌诊断中的应用与研究

PET/CT显像在结直肠癌的诊断中具有优势. 一项包括了2283名结直肠癌患者的Meta分析中<sup>[10]</sup>, 术前PET或PET/CT的肿瘤检出率为95.35%, 明显优于CT (83.85%). 田蓉蓉等<sup>[11]</sup>对83例结直肠癌患者术前的PET/CT显像进行分析, 结果显示所有原发灶均表现为较高的<sup>18</sup>F-FDG放射性浓聚, PET/CT对于原发灶诊断的灵敏度为100%. Makis等<sup>[12]</sup>通过对639例结直肠癌患者的回顾性研究中发现, PET/CT的肿瘤检出率是CEA的2.5倍. 对于无梗阻或不完全梗阻性结肠癌, 传统检查技术即可发现并对疾病进行诊断. 而对于完全梗阻性结肠癌, 由于结肠镜无法通过病灶部位, PET/CT对于疾病诊断及病变范围评估尤为重要.

最大标准化摄取值(maximum standardized uptake value, SUVmax)是PET/CT检查中最重要的半定量参数指标. 对于有排便习惯改变、腹痛、便血等典型消化道

症状的患者, 病灶的SUVmax通常较高. 因此, 有研究者认为可以利用SUVmax界值对肿瘤良恶性进行界定, 以此推荐患者是否需要行结肠镜检查. Chung等<sup>[13]</sup>对180例在PET/CT显像中结直肠部位有<sup>18</sup>F-FDG摄取的患者行肠镜检查, 显像阳性病灶与结肠镜检结果完全一致, 因此作者指出, 对于结直肠有FDG摄取者, 均应行内镜检查, 尤其是当CEA>3.4 ng/mL, 或SUVmax>8.0, 或存在转移瘤的情况下. 但是Soltau等<sup>[14]</sup>则认为利用SUVmax的临界值来区分病灶的良恶性可信度较低. 徐微娜等<sup>[15]</sup>研究分析了227例肠道高浓聚病例, 其中62例<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像表现为弥漫性代谢增高者, 经证实为良性病变(生理性摄取或炎性改变); 165例局灶性浓聚中49例为恶性; 在局灶性代谢增高者中, 良性病变与恶性病变的SUVmax无统计学差异, 分析本研究其与结直肠癌的病理类型有密切的关系. 可见, 对于SUVmax在结直肠癌诊断中的作用说法并不统一, SUVmax受多种因素影响<sup>[16]</sup>.

结直肠癌按其组织病理学可分为管状腺癌、黏液腺癌、印戒细胞癌、鳞状细胞癌及类癌等病理学类型, 大多数为高分化管状腺癌. 其中管状腺癌在<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像中常表现为较高的葡萄糖代谢. 但是少数黏液腺癌和印戒细胞癌由于组织内粘液含量较多, 病灶对<sup>18</sup>F-FDG摄取较低, 导致SUVmax偏低, 从而PET/CT显像易出现假阴性结果<sup>[17]</sup>. 因此, 采用<sup>18</sup>F-FDG PET/CT诊断结直肠癌时应注意这种假阴性的情况. 临床医生可以联合CEA及CA199等血清肿瘤标志物及其他检查结果综合进行诊断.

## 2 <sup>18</sup>F-FDG PET/CT在结直肠癌分期及再分期中的应用与研究

术前全身评估及肿瘤分期对于患者治疗方案的选择及临床预后至关重要. NCCN指南提出, 对于局部进展期患者应首先选择新辅助化疗, 然后根据病情缓解程度再选取手术治疗. PET/CT全身大视野成像, 可以更全面的评估全身情况, 检出远处转移灶, 优化常规影像学检查所提示的分期, 进而改善患者的预后. Lee等<sup>[18]</sup>对266例结肠癌患者的研究发现, <sup>18</sup>F-FDG PET/CT检查优化了6.5%临床分期为III期和12.7%临床分期为IV期的结肠癌患者的诊疗计划.

多数患者在接受手术及放疗、化疗后, 仍面临着复发及转移的风险. 约40%的患者在原发肿瘤切除后2年内复发<sup>[19]</sup>. 早期发现并诊断术后复发、转移灶是结直肠癌治疗后随访的重点.

研究显示部分结直肠癌术后复发局限于原手术区域, 可通过再次根治性手术达到治愈目的. NCCN指南

推荐对于部分结直肠癌术后复发或转移患者, 可进行再次根治性手术切除而延长生存期. 因此准确全面的再分期对患者选择至关重要. 结直肠癌术后随访主要依据临床体检、血清CEA及常规影像学检查, 但是CEA水平的升高并不具有特异性, 对于部分早期无形态学改变的病变, 常规影像学检出率往往不理想. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像, 在基于解剖结构的基础上, 融合了功能显像, 有助于判断患者是否存在复发、转移并进行再分期, 为下一步的治疗决策提供依据, 即是否还存在再次手术机会或是否需要采用其他治疗方式.

PET/CT在结直肠癌患者术后复发及转移的诊断中具有较高的诊断效能. 腹会阴联合切除术(Mile's)是治疗低位直肠癌的重要方法, 该术式腹膜返折缝合可于骶前形成片状软组织影, 但该区域又是肿瘤复发的重要部位. 传统的解剖影像学检查手段如CT检查等在鉴别直肠癌术后骶前病变具有局限性. 李雪娜等<sup>[20]</sup>回顾性分析了61例因直肠癌Mile's术后发现骶前软组织病变行<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像的患者, 以SUVmax 4.45为界值, 并与病理学和最终随访结果对照, <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像诊断直肠癌术后骶前复发的灵敏度为96%, 特异性为87%. 李崇佼等<sup>[21]</sup>的研究指出, PET/CT总体诊断结肠癌术后复发转移的灵敏度及准确率分别为90.74%和89.74%, 明显高于传统影像学.

血清肿瘤标志物如CEA等常被用于结直肠癌术后的随访. 林新峰等<sup>[22]</sup>的研究中, 在结直肠癌术后CEA升高的患者中, PET/CT诊断复发和转移灶的灵敏度为94.2%, 特异性为87.5%, 准确率为93.3%. Khan等<sup>[23]</sup>对结直肠癌术后CEA指标升高但是常规影像学检查未见异常的患者进行PET/CT显像, 诊断复发的灵敏度及特异性均为88%. Makis等<sup>[12]</sup>的研究结果显示, 超过1/3的CEA阴性的结直肠癌术后的患者通过<sup>18</sup>F-FDG PET/CT检查, 证实为阳性. 而Granados等<sup>[24]</sup>认为, 无论CEA水平正常还是升高, PET/CT对结直肠癌患者术后复发与转移的诊断都具有较高的灵敏度与准确率.

文献报道<sup>[25,26]</sup>PET/CT显像可以较常规影像学提供更多的信息, 提高诊断准确率, 对结直肠癌患者术后基于常规检查结果的再分期更改率可达10%-65%, 使得患者接受更为个体化的治疗, 改善患者的预后. 王荣福等<sup>[27]</sup>报道了采用正电子符合探测葡萄糖显像对大肠癌术后复发转移灶的早期诊断准确率明显优于传统的B超, CT和MR影像学检查方法. 一项纳入了1059例患者的Meta分析结果显示<sup>[28]</sup>, <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像影响了25%结直肠癌术后肝转移患者的治疗, 且使其预后更好. Abbadi等<sup>[29]</sup>对188例拟接受结直肠癌肝转移灶切除术患者的回顾性研究结果显示, 131例患者接受了术前



PET/CT检查, 其中23%的患者改变了治疗方案, 其3年和5年生存率分别为79.8%和54.1%; 只进行CT检查的患者的3年和5年的生存率分别为54.1%和37.3%。刘玉奇等<sup>[30]</sup>对91例结直肠癌术后行<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像的患者图像进行分析, 结果提示<sup>18</sup>F-FDG PET/CT诊断结直肠癌术后复发转移灶的灵敏度、特异性、准确率分别为96.36%、83.33%和91.21%。其中33例患者显像后分期更改, 治疗策略改变, 其无进展生存期(progression-free survival, PFS)长于未改变者。由此可见, PET/CT检查有助于提高患者的生存率, 具有重要的临床应用意义。

### 3 <sup>18</sup>F-FDG PET/CT在治疗决策和疗效及预后评估中的应用与研究

自1979年WHO制定实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)以来, 该标准及其修订版本RECIST 1.1标准已被广泛应用于临床研究; 然而上述标准主要局限于病灶的解剖形态学变化。1999年欧洲癌症研究和治疗组织(european organization for research and treatment of cancer, EORTC)发表了基于<sup>18</sup>F-FDG PET评价肿瘤治疗疗效的标准。2009年Wahl发表了实体瘤治疗疗效的PET评估标准(PET Response Criteria in Solid Tumors, PERCIST)1.0版框架草案<sup>[31]</sup>, 该标准是建立在PET/CT分子影像基础上的对实体瘤治疗疗效评价的标准, 以肿瘤对<sup>18</sup>F-FDG的摄取率为依据, 采用完全代谢缓解(complete metabolic response, CMR), 部分代谢缓解(partial metabolic response, PMR), 代谢无变化(stable metabolic response, SMD)和代谢恶化(progressive metabolic disease, PMD)作为治疗疗效评价的描述。作为一种客观的评价标准, 该标准的提出为临床试验和实践带来了很大的益处。阎谦等利用RECIST 1.1、PERCIST 1.0、世界卫生组织(world health organization, WHO)标准及EORTC四种标准对41例结直肠癌肝脏转移的患者进行化疗后疗效评价, 结果提示代谢显像评价对于治疗有效率更为敏感<sup>[32]</sup>。PET/CT的各种代谢参数可以提供疾病的量化信息, 尤其全身PET/CT动态多床位参数显像定量分析技术的应用, 有利于疾病的监测, 更好的评估预后<sup>[33]</sup>。<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像中, SUVmax是最常用、便捷的半定量指标。近年来, 其他半定量及定量指标包括平均标准化摄取值(SUVmean)、峰值标准化摄取值(SUVpeak)、肿瘤代谢体积(metabolic tumor volume, MTV)、总糖酵解量(total lesion glycolysis, TLG)、肿瘤与肝脏标准化摄取值的比值(tumor to liver, TLR)等也受到广泛的关注。

根治性切除术是结直肠癌患者的首要治疗方式。<sup>18</sup>F-FDG PET/CT对术前未行任何辅助治疗的结直肠

癌患者的预后评估有一定价值。但是目前的研究对于SUVmax在这部分患者中的预后价值仍存在争议<sup>[34-37]</sup>。MTV和TLG既可反映肿瘤代谢活性, 又可反映肿瘤负荷及肿瘤的生物行为, 对结直肠癌患者有较好的预后评估能力。Ogawa等<sup>[35]</sup>对325例结直肠癌患者术前PET/CT显像进行研究, 结果提示TLG是总生存期(overall survival, OS)的独立预后因素, 高TLG的患者与低TLG患者的5年生存率有明显差异, 分别为92.1%和70.1%。贾朝阳等<sup>[38]</sup>通过对73例结直肠癌患者术前PET/CT检查发现, 肿瘤原发灶MTV是患者术后PFS的独立预后因素。以11.55 cm<sup>3</sup>作为MTV的界值, 患者术前MTV≤11.55 cm<sup>3</sup>者其PFS明显延长。郭仲秋等<sup>[37]</sup>对132例<sup>18</sup>F-FDG PET/CT检查的结直肠癌患者进行回顾性分析, 结果提示TLG是OS的独立危险因素之一, 即术前代谢参数越高, 结直肠癌患者根治术后的预后越差。此外, 也有研究者利用术前PET/CT中的代谢参数TLR预测结直肠癌术后患者的预后。Huang等<sup>[39]</sup>对接受根治性切除的118例IIA期结直肠癌患者的术前PET/CT显像进行研究发现, TLR是患者无病生存期(disease-free survival, DFS)和OS的独立风险因子, 术前TLR大于6.2的患者1年、3年、5年无进展生存期及总生存期均低于TLR<6.2的患者。

新辅助放化疗已经成为局部晚期结直肠癌的标准治疗。有学者试图探讨<sup>18</sup>F-FDG PET/CT的代谢参数能否作为结直肠癌新辅助治疗疗效的有效预测因子。研究结果提示, 新辅助治疗前后PET/CT各参数值及各参数值变化情况可反映肿瘤组织对放化疗药物的反应情况, 判断患者预后。Kim等<sup>[40]</sup>对64例结直肠癌患者新辅助化疗前后的PET/CT参数进行分析, 在单因素分析中, 治疗前SUVmax、TLG、MTV、治疗后TLG及治疗前后相关参数变化值(ΔSUVmax、ΔSUVmean、ΔMTV、ΔTLG)均可预测无复发生存时间(recurrence-free survival, RFS)及OS。在多因素分析中, 治疗前MTV及ΔTLG是影响患者OS的独立预后因素。分别以34.9 cm<sup>3</sup>和46.2%为这两个参数的阈值, 阈值上下两组的RFS和OS有明显差异。Koo等<sup>[41]</sup>对103例新辅助化疗的患者进行研究指出, 化疗后肿瘤SUVmax<2.5或ΔSUVmax≥62.2%的患者, 其OS明显延长。但是也有研究认为, 新辅助化疗前的PET/CT检查代谢参数并不能预测预后, 只有化疗后的代谢参数才能预测RFS和OS。Lau等<sup>[42]</sup>对结直肠癌患者肝转移化疗前后的PET/CT结果进行研究, 结果提示有代谢反应的患者的3年生存率为86%, 而无代谢反应的患者的3年生存率只有38%。不仅如此, 研究显示<sup>18</sup>F-FDG PET/CT还能通过代谢反应早期预测结直肠癌肝转移患者钇<sup>[90Y]</sup>放射性栓塞术后的预后<sup>[43,44]</sup>; 肝内转移病灶射频消融术后即时<sup>18</sup>F-FDG

PET/CT检查还能准确发现残余病灶, 有助于临床医师制定后续的治疗计划<sup>[45]</sup>.

总体来讲, 放化疗后肿瘤代谢减低提示较好的治疗反应. 值得注意的是, 在结直肠癌NCCN指南中, 专家组并不推荐利用PET/CT来评价化疗效果, 因为化疗后PET/CT显像会出现暂时的阴性结果, 例如边缘较薄的坏死性病变的摄取, 因部分容积效应可导致假阴性. 可能在连续治疗周期后, 根据PET/CT显像的连续定量变化情况有利于判断治疗疗效. 但目前对于应用PET/CT评估放化疗疗效的时间点并无定论, 即在放化疗后的第几周后行PET/CT显像评估更为合理. 这是利用PET/CT评估放化疗疗效的一个挑战, 需要更多大样本的研究来证实.

靶向治疗在转移性结直肠癌患者的治疗中发挥着越来越重要的作用. 目前针对Kras基因的靶向药物使用较为广泛. Kras基因状态检测对结直肠癌患者治疗方案的选择至关重要. NCCN指南指出, Kras基因野生型结直肠癌患者推荐接受EGFR抑制剂治疗, 而Kras基因突变则预示着转移性结直肠癌对EGFR靶向治疗缺乏反应. 但对于部分不能耐受肠镜检查, 或因远处转移失去手术机会的患者, 基因检测结果的获取存在困难. 并且, 对肿瘤原发灶进行活检或者手术获得的Kras基因突变情况, 并不能完全代表转移灶的基因表达. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像作为一种无创的检查手段, 可以提供预测原发肿瘤与转移灶基因突变的信息, 从而对患者使用靶向药物治疗起到一定的指导作用, 对肿瘤的精确治疗具有实际意义. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT相关参数在甲状腺癌、肺癌等肿瘤中预测基因突变已有相关研究<sup>[46-50]</sup>. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT用于治疗前预测结直肠癌患者的Kras基因突变状态也显示出较好的前景. 多数研究认为, 代谢参数高的患者, 其基因突变的概率较大. 目前, SUVmax是较为常用的预测结直肠癌原发灶及转移灶Kras基因突变状态的代谢参数<sup>[51-57]</sup>. Kawada等<sup>[52]</sup>对51例结直肠癌患者进行回顾性分析发现, 使用SUVmax = 13或14作为界值对结直肠癌原发病变Kras基因突变进行预测, 准确性为75%. Kras突变的原发肿瘤的SUVmax比野生型高1.5-1.7倍. 郭仲秋等<sup>[51]</sup>对150例结直肠癌患者PET/CT检查后1 mo内行手术并检测Kras基因的结果进行分析, 认为SUVmax是结直肠癌患者Kras基因突变的独立预测因素之一; 以SUVmax = 15.5为阈值预测Kras基因突变的准确性为67.33%. Lovinfosse等<sup>[54]</sup>对151例直肠癌患者的研究显示, SUVmax = 15.5对基因突变有较高的预测价值, 灵敏度为69%, 特异性为52%. 在Kawada等<sup>[56]</sup>的另一研究中, 结直肠癌转移灶的SUVmax在Kras基因突变组明显高于野生型, 突变型与野生型相比, SUVmax增加了约1.45

倍. 若以6作为SUVmax的cutoff值区分大于10 mm的结直肠癌转移灶的基因突变情况, 预测准确性可达71.4%. MAO等<sup>[58]</sup>利用SUVmax无创性地预测结直肠癌肝转移灶的Kras基因突变状态, 准确性为74.7%. 此外, 也有研究者将MTV用于预测结直肠癌患者的Kras基因突变状态, 认为MTV是结直肠癌患者Kras基因突变的独立预测因素<sup>[51,57]</sup>. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT扫描有助于预测转移性大肠癌的Kras状态, 有助于制定转移性大肠癌的治疗策略. 目前, SUVmax的预测界值尚未统一. 关于FDG摄取预测Kras突变状态的机制尚不明确. 有研究认为, 当结直肠癌细胞在低氧条件下时, 突变的Kras通过磷酸肌醇3激酶途径增强缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )的表达. HIF-1 $\alpha$ 在低氧条件下可以上调葡萄糖转运蛋白1 (glucose transporter-1, GLUT1)的表达, 进而导致葡萄糖摄取增加<sup>[59,60]</sup>. 但具体的机制仍有待于进一步研究.

近年来, 肿瘤免疫治疗迅速发展, 并取得了令人瞩目的成果, 已经成功地用于多种恶性肿瘤的治疗, 包括结直肠癌. 目前应用较为广泛的是针对肿瘤PD-1/PD-L1通路的免疫检查点抑制剂药物. 纳武单抗和帕博利珠单抗已经FDA批准用于结直肠癌患者的治疗. 在许多肿瘤细胞和肿瘤微环境中都有PD-L1/PD-1的高表达, 这是靶向PD-1/PD-L1免疫检查点抑制治疗有效的基础. 目前, 如何确定哪些患者可能从针对PD-1/PD-L1通路的免疫治疗中受益, 同时排除那些可能对治疗没有反应的结直肠癌患者, 仍然是一个悬而未决的挑战. 虽然PD-L1不是最完美的生物标志物, 但仍然是现有的最有价值的生物标志物, 所以, 目前仍以患者肿瘤组织中PD-L1阳性作为筛选患者的一个重要参考标准. 然而, 这一过程往往需要侵入性检查. PET/CT可以作为一种无创性的工具来评估肿瘤微环境中PD-L1的表达情况. 已有研究将PET/CT显像用于预测肺癌、膀胱癌、胃癌及鼻咽癌等肿瘤的PD-L1表达状态<sup>[61-66]</sup>. 在结直肠癌的患者中, 也有初步研究结果提示<sup>18</sup>F-FDG PET/CT在肿瘤微环境特征和筛选结直肠癌患者进行免疫治疗方面具有潜在的作用<sup>[67]</sup>. 该研究中指出肿瘤TLG和PD-L1的表达水平存在显著的相关性. 但是还需大样本的研究阐明PD-L1等免疫检查点分子影响肿瘤细胞糖酵解的原因, 进一步探讨<sup>18</sup>F-FDG PET/CT在预测PD-L1表达状态的价值.

结直肠癌已经成为我国居民发病和死亡的主要疾病之一. 肿瘤的早期诊断、精准的分期及再分期是结直肠癌规范化治疗的前提, 有利于治疗方案的选择及预后的判断, 改善患者的生活质量及生存状态. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT不仅在结直肠癌的诊断及分期中发挥重要的作用, 在患者治疗疗效的判断及预后评估中也有着独特的优势,



且在肿瘤Kras基因状态及PD-L1表达情况的预测作用也日益凸显。相信随着新技术及新设备的不断产生<sup>[68,69]</sup>, <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像在在消化系统疾病的应用价值将进一步被发掘, 从而为临床诊断提供更多的依据, 更好的服务于患者<sup>[70,71]</sup>。

#### 4 参考文献

- 1 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析. 中华肿瘤杂志 2019; 19-28 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.005]
- 2 王荣福, 陈雪祺. 核素示踪技术在胃肠功能评价的临床应用研究及进展. 世界华人消化杂志 2017; 25: 2315-2321 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i26.2315]
- 3 王荣福. PET/CT肿瘤诊断学. 北京: 北京大学医学出版社 2008; P232-251
- 4 王荣福, 安锐. 核医学. 第九版. 北京: 人民卫生出版社 2018 P182-196
- 5 王荣福, 陈雪祺. PET/CT在消化肿瘤应用的现状与进展. 世界华人消化杂志 2016; 24: 4652-4659 [DOI: 10.11569/wcjd.v24.i35.4652]
- 6 王荣福. PET/CT在胰腺癌临床应用中的进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1830-1834 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2007.16.011]
- 7 Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen YJ, Ciombor KK, Cohen S, Cooper HS, Deming D, Engstrom PF, Grem JL, Grothey A, Hochster HS, Hoffer S, Hunt S, Kamel A, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Messersmith WA, Meyerhardt J, Mulcahy MF, Murphy JD, Nurkin S, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous CT, Stoffel EM, Stotsky-Himelfarb E, Willett CG, Wuthrick E, Gregory KM, Gurski L, Freedman-Cass DA. Rectal Cancer, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16: 874-901 [PMID: 30006429 DOI: 10.6004/jnccn.2018.0061]
- 8 Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen YJ, Ciombor KK, Cohen S, Cooper HS, Deming D, Engstrom PF, Garrido-Laguna I, Grem JL, Grothey A, Hochster HS, Hoffer S, Hunt S, Kamel A, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Messersmith WA, Meyerhardt J, Miller ED, Mulcahy MF, Murphy JD, Nurkin S, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous CT, Stoffel EM, Stotsky-Himelfarb E, Willett CG, Wuthrick E, Gregory KM, Freedman-Cass DA. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16: 359-369 [PMID: 29632055 DOI: 10.6004/jnccn.2018.0021]
- 9 王荣福. PET在消化道肿瘤诊断应用. 实用肿瘤杂志 2005; 20: 95-97 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1692.2005.02.004]
- 10 Ye Y, Liu T, Lu L, Wang G, Wang M, Li J, Han C, Wen J. Pre-operative TNM staging of primary colorectal cancer by (18)F-FDG PET-CT or PET: a meta-analysis including 2283 patients. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 21773-21785 [PMID: 26885142]
- 11 田蓉蓉, 薄云峰, 张毅勋, 靳宏星, 赵铭, 张红雨. 术前<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像对结直肠癌分期的临床价值. 肿瘤研究与临床 2017; 29: 809-814 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2017.12.004]
- 12 Makis W, Kurzenchwylg D, Hickeson M. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT superior to serum CEA in detection of colorectal cancer and its recurrence. *Clin Imaging* 2013; 37: 1094-1097 [PMID: 23993799 DOI: 10.1016/j.clinimag.2013.04.004]
- 13 Chung SM, Kim KO, Cho IH, Kim TN. Clinicopathological analysis and risk factors of advanced colorectal neoplasms incidentally detected by <sup>18</sup>F-FDG PET-CT. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017; 29: 407-413 [PMID: 27926665 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000808]
- 14 Soltan SR, Hess S, Nguyen T, Gerke O, Petersen H, Alavi A, Høilund-Carlson PF. Clinical significance of incidental focal bowel uptake on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT as related to colorectal cancer. *Hell J Nucl Med* 2016; 19: 245-249 [PMID: 27824964 DOI: 10.1967/s002449910407]
- 15 徐微娜, 于树鹏, 辛军. <sup>18</sup>F-FDG PET-CT全身显像肠道高浓聚的临床意义分析. 现代肿瘤医学 2013; 21: 2337-2339 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2013.10.65]
- 16 俞建华, 王荣福. 正电子发射断层代谢显像标准摄取值及定量分析的问题与对策. 中国医学影像技术杂志 2005; 21: 791-794 [DOI: 10.3321/j.issn.1003-3289.2005.05.042]
- 17 王荣福. 符合线路探测正电子成像与临床. 北京: 北京大学医学出版社 2004: P252-259
- 18 Lee JH, Lee MR. Positron emission tomography/computed tomography in the staging of colon cancer. *Ann Coloproctol* 2014; 30: 23-27 [PMID: 24639967 DOI: 10.3393/ac.2014.30.1.23]
- 19 Hammond K, Margolin DA. The role of postoperative surveillance in colorectal cancer. *Clin Colon Rectal Surg* 2007; 20: 249-254 [PMID: 20011206 DOI: 10.1055/s-2007-984869]
- 20 李雪娜, 李娜, 杜补林, 李亚明. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像对直肠癌术后复发复发的诊断价值. 山西医科大学学报 2016; 47: 289-292, 293 [DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2016.03.021]
- 21 李崇俊, 兰晓莉, 张永学, 吴志坚, 贾清, 谭旭波, 王瑜, 田月丽, 魏昊. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT监测结肠癌术后复发转移. 中国医学影像技术 2011; 27: 95-99
- 22 林新峰, 李因, 王菲, 赵伟, 杨志. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT在结直肠癌术后血清癌胚抗原阳性患者中的临床应用. 中华临床医师杂志(电子版) 2019; 13: 822-827 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2019.11.005]
- 23 Khan K, Athauda A, Aitken K, Cunningham D, Watkins D, Starling N, Cook GJ, Kalaitzaki E, Chau I, Rao S. Survival Outcomes in Asymptomatic Patients With Normal Conventional Imaging but Raised Carcinoembryonic Antigen Levels in Colorectal Cancer Following Positron Emission Tomography-Computed Tomography Imaging. *Oncologist* 2016; 21: 1502-1508 [PMID: 27742904 DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0222]
- 24 Granados Rangel O, Estrada G, Altamirano J. [<sup>18</sup>F-FDG PET/CT. Its correlation with carcinoembryonic antigen in patients with colorectal carcinoma]. *Gac Med Mex* 2014; 150: 509-517 [PMID: 25375281]
- 25 Zhang Y, Feng B, Zhang GL, Hu M, Fu Z, Zhao F, Zhang XL, Kong L, Yu JM. Value of <sup>18</sup>F-FDG PET-CT in surveillance of postoperative colorectal cancer patients with various carcinoembryonic antigen concentrations. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6608-6614 [PMID: 24914384 DOI: 10.3748/wjg.v20.i21.6608]
- 26 Tutt AN, Plunkett TA, Barrington SF, Leslie MD. The role of positron emission tomography in the management of colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2004; 6: 2-9 [PMID: 14692944 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2004.00592.x]
- 27 王荣福, 杨熊飞, 张春丽, 徐文怀. <sup>18</sup>F-FDG SPECT/PET探测大肠癌术后复发转移的临床价值. 中华肿瘤杂志 2004; 26: 62 [DOI: 10.3760/j.issn.0253-3766.2004.01.020]
- 28 Maffione AM, Lopci E, Bluemel C, Giammarile F, Herrmann K, Rubello D. Diagnostic accuracy and impact on management of (18)F-FDG PET and PET/CT in colorectal liver metastasis: a meta-analysis and systematic review. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015; 42: 152-163 [PMID: 25319712 DOI: 10.1007/s00259-014-2930-4]
- 29 Abbadi RA, Sadat U, Jah A, Praseedom RK, Jamieson NV, Cheow HK, Whitley S, Ford HE, Wilson CB, Harper SJ, Huguet EL. Improved long-term survival after resection of colorectal liver metastases following staging with FDG positron emission tomography. *J Surg Oncol* 2014; 110: 313-319 [PMID: 24737685 DOI: 10.1002/jso.23623]



- 30 刘玉奇, 章斌, 邓胜明, 王振欣, 盛茂. 18F-FDG PET/CT对结直肠癌术后患者临床再分期、治疗策略及预后评估的价值. *中华核医学与分子影像杂志* 2017; 37: 613-617 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.10.003]
- 31 Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, Lodge MA. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors. *J Nucl Med* 2009; 50 Suppl 1: 122S-150S [PMID: 19403881 DOI: 10.2967/jnumed.108.057307]
- 32 阎谦, 吴骋, 童林军, 施一平, 唐德伟, 沈淳风, 万良荣, 徐波, 黄钢, 刘建军. RECIST1.1、PERCIST1.0、WHO及EORTC用于评价结直肠癌肝脏转移化疗后疗效的对比. *中华核医学与分子影像杂志* 2017; 37: 559-563 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.09.008]
- 33 Wang Q, Wang RF, Zhang J, Zhou Y. Differential diagnosis of pulmonary lesions by parametric imaging in (18)F-FDG PET/CT dynamic multi-bed scanning. *J BUON* 2013; 18: 928-934 [PMID: 24344019]
- 34 Lee JE, Kim SW, Kim JS, Choi KY, Kang WK, Oh ST, Yoo IeR, Kim SH. Prognostic value of 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography in resectable colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5072-5077 [PMID: 23049216 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.5072]
- 35 Ogawa S, Itabashi M, Kondo C, Momose M, Sakai S, Kameoka S. Prognostic Value of Total Lesion Glycolysis Measured by 18F-FDG-PET/CT in Patients with Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2015; 35: 3495-3500 [PMID: 26026116]
- 36 Shi D, Cai G, Peng J, Li D, Li X, Xu Y, Cai S. The preoperative SUVmax for (18)F-FDG uptake predicts survival in patients with colorectal cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 991 [PMID: 26689966 DOI: 10.1186/s12885-015-1991-5]
- 37 郭仲秋, 刘启志, 潘桂霞, 张卫, 李潇, 王涛, 崔斌, 左长京, 程超. 18F-FDG PET/CT相关参数预测结直肠癌切除术后预后的价值. *国际放射医学核医学杂志* 2019; 43: 295-302 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.04.001]
- 38 贾朝阳, 徐文贵, 朱磊, 朱湘, 张利卜. 18F-FDG PET/CT在结直肠癌术后预后中的应用. *天津医科大学学报* 2019; 25: 342-345, 355
- 39 Huang J, Huang L, Zhou J, Duan Y, Zhang Z, Wang X, Huang P, Tan S, Hu P, Wang J, Huang M. Elevated tumor-to-liver uptake ratio (TLR) from <sup>18</sup>F-FDG-PET/CT predicts poor prognosis in stage IIA colorectal cancer following curative resection. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017; 44: 1958-1968 [PMID: 28812134 DOI: 10.1007/s00259-017-3779-0]
- 40 Kim SJ, Chang S. Volumetric parameters changes of sequential 18F-FDG PET/CT for early prediction of recurrence and death in patients with locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Clin Nucl Med* 2015; 40: 930-935 [PMID: 26204222 DOI: 10.1097/RLU.0000000000000917]
- 41 Koo PJ, Kim SJ, Chang S, Kwak JJ. Interim Fluorine-18 Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography to Predict Pathologic Response to Preoperative Chemoradiotherapy and Prognosis in Patients With Locally Advanced Rectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2016; 15: e213-e219 [PMID: 27316919 DOI: 10.1016/j.clcc.2016.04.002]
- 42 Lau LF, Williams DS, Lee ST, Scott AM, Christophi C, Muralidharan V. Metabolic response to preoperative chemotherapy predicts prognosis for patients undergoing surgical resection of colorectal cancer metastatic to the liver. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 2420-2428 [PMID: 24595797 DOI: 10.1245/s10434-014-3590-0]
- 43 Sabet A, Meyer C, Aouf A, Sabet A, Ghamari S, Pieper CC, Mayer K, Biersack HJ, Ezziddin S. Early post-treatment FDG PET predicts survival after 90Y microsphere radioembolization in liver-dominant metastatic colorectal cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015; 42: 370-376 [PMID: 25351506 DOI: 10.1007/s00259-014-2935-z]
- 44 Shady W, Kishore S, Gavane S, Do RK, Osborne JR, Ulaner GA, Gonen M, Ziv E, Boas FE, Sofocleous CT. Metabolic tumor volume and total lesion glycolysis on FDG-PET/CT can predict overall survival after (90)Y radioembolization of colorectal liver metastases: A comparison with SUVmax, SUVpeak, and RECIST 1.0. *Eur J Radiol* 2016; 85: 1224-1231 [PMID: 27161074 DOI: 10.1016/j.ejrad.2016.03.029]
- 45 Cornelis F, Sotirchos V, Violari E, Sofocleous CT, Schoder H, Durack JC, Siegelbaum RH, Maybody M, Humm J, Solomon SB. 18F-FDG PET/CT Is an Immediate Imaging Biomarker of Treatment Success After Liver Metastasis Ablation. *J Nucl Med* 2016; 57: 1052-1057 [PMID: 26912433 DOI: 10.2967/jnumed.115.171926]
- 46 Nagarajah J, Ho AL, Tuttle RM, Weber WA, Grewal RK. Correlation of BRAFV600E Mutation and Glucose Metabolism in Thyroid Cancer Patients: An <sup>18</sup>F-FDG PET Study. *J Nucl Med* 2015; 56: 662-667 [PMID: 25814520 DOI: 10.2967/jnumed.114.150607]
- 47 Yoon S, An YS, Lee SJ, So EY, Kim JH, Chung YS, Yoon JK. Relation Between F-18 FDG Uptake of PET/CT and BRAFV600E Mutation in Papillary Thyroid Cancer. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e2063 [PMID: 26632889 DOI: 10.1097/MD.0000000000002063]
- 48 Caicedo C, Garcia-Velloso MJ, Lozano MD, Labiano T, Vigil Diaz C, Lopez-Picazo JM, Gurrpide A, Zulueta JJ, Richter Echevarria JA, Perez Gracia JL. Role of [<sup>18</sup>F]FDG PET in prediction of KRAS and EGFR mutation status in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41: 2058-2065 [PMID: 24990403 DOI: 10.1007/s00259-014-2833-4]
- 49 Minamimoto R, Jamali M, Gevaert O, Echegaray S, Khuong A, Hoang CD, Shrager JB, Plevritis SK, Rubin DL, Leung AN, Napel S, Quon A. Prediction of EGFR and KRAS mutation in non-small cell lung cancer using quantitative <sup>18</sup>F FDG-PET/CT metrics. *Oncotarget* 2017; 8: 52792-52801 [PMID: 28881771 DOI: 10.18632/oncotarget.17782]
- 50 廖树鹤, 陈思, 王荣福, 刘萌, 陈雪祺, 殷雷, 陈大方. 葡萄糖代谢半定量参数预测肺腺癌表皮生长因子受体基因突变的分类决策树模型. *中国慢性病预防与控制* 2020; 28: 176-181 [DOI: 10.16386/j.cjpcd.issn.1004-6194.2020.03.004]
- 51 郭仲秋, 程超, 刘启志, 王涛, 崔斌, 高明军, 左长京. 18F-FDG PET/CT相关代谢参数对结直肠癌Kras基因突变的预测价值. *中华核医学与分子影像杂志* 2019; 39: 86-90 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.006]
- 52 Kawada K, Nakamoto Y, Kawada M, Hida K, Matsumoto T, Murakami T, Hasegawa S, Togashi K, Sakai Y. Relationship between 18F-fluorodeoxyglucose accumulation and KRAS/BRAF mutations in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1696-1703 [PMID: 22282467 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1909]
- 53 Chen SW, Lin CY, Ho CM, Chang YS, Yang SF, Kao CH, Chang JG. Genetic Alterations in Colorectal Cancer Have Different Patterns on 18F-FDG PET/CT. *Clin Nucl Med* 2015; 40: 621-626 [PMID: 26018692 DOI: 10.1097/RLU.0000000000000830]
- 54 Lovinfosse P, Koopmansch B, Lambert F, Jodogne S, Kustermans G, Hatt M, Visvikis D, Seidel L, Polus M, Albert A, Delvenne P, Hustinx R. (18)F-FDG PET/CT imaging in rectal cancer: relationship with the RAS mutational status. *Br J Radiol* 2016; 89: 20160212 [PMID: 27146067 DOI: 10.1259/bjr.20160212]
- 55 Chen SW, Chiang HC, Chen WT, Hsieh TC, Yen KY, Chiang SF, Kao CH. Correlation between PET/CT parameters and KRAS expression in colorectal cancer. *Clin Nucl Med* 2014; 39: 685-689 [PMID: 24978328 DOI: 10.1097/RLU.0000000000000481]
- 56 Kawada K, Toda K, Nakamoto Y, Iwamoto M, Hatano E,

- Chen F, Hasegawa S, Togashi K, Date H, Uemoto S, Sakai Y. Relationship Between <sup>18</sup>F-FDG PET/CT Scans and KRAS Mutations in Metastatic Colorectal Cancer. *J Nucl Med* 2015; 56: 1322-1327 [PMID: 26135109 DOI: 10.2967/jnumed.115.160614]
- 57 Lv Y, Wang X, Liang L, Wang L, Lu J. SUVmax and metabolic tumor volume: surrogate image biomarkers of KRAS mutation status in colorectal cancer. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 2115-2121 [PMID: 30962693 DOI: 10.2147/OTT.S196725]
- 58 Mao W, Zhou J, Zhang H, Qiu L, Tan H, Hu Y, Shi H. Relationship between KRAS mutations and dual time point <sup>18</sup>F-FDG PET/CT imaging in colorectal liver metastases. *Abdom Radiol (NY)* 2019; 44: 2059-2066 [PMID: 30143816 DOI: 10.1007/s00261-018-1740-8]
- 59 Iwamoto M, Kawada K, Nakamoto Y, Itatani Y, Inamoto S, Toda K, Kimura H, Sasazuki T, Shirasawa S, Okuyama H, Inoue M, Hasegawa S, Togashi K, Sakai Y. Regulation of <sup>18</sup>F-FDG accumulation in colorectal cancer cells with mutated KRAS. *J Nucl Med* 2014; 55: 2038-2044 [PMID: 25453050 DOI: 10.2967/jnumed.114.142927]
- 60 Kikuchi H, Pino MS, Zeng M, Shirasawa S, Chung DC. Oncogenic KRAS and BRAF differentially regulate hypoxia-inducible factor-1α and -2α in colon cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 8499-8506 [PMID: 19843849 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2213]
- 61 Takada K, Toyokawa G, Tagawa T, Kohashi K, Akamine T, Takamori S, Hirai F, Shoji F, Okamoto T, Oda Y, Maehara Y. Association Between PD-L1 Expression and Metabolic Activity on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in Patients with Small-sized Lung Cancer. *Anticancer Res* 2017; 37: 7073-7082 [PMID: 29187498 DOI: 10.21873/anticancer.12180]
- 62 Kaira K, Shimizu K, Kitahara S, Yajima T, Atsumi J, Kosaka T, Ohtaki Y, Higuchi T, Oyama T, Asao T, Mogi A. 2-Deoxy-2-[fluorine-18] fluoro-d-glucose uptake on positron emission tomography is associated with programmed death ligand-1 expression in patients with pulmonary adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 2018; 101: 181-190 [PMID: 30077123 DOI: 10.1016/j.jca.2018.06.022]
- 63 Jreige M, Letovanec I, Chaba K, Renaud S, Rusakiewicz S, Cristina V, Peters S, Krueger T, de Leval L, Kandalaf LE, Nicod-Lalonde M, Romero P, Prior JO, Coukos G, Schaefer N. <sup>18</sup>F-FDG PET metabolic-to-morphological volume ratio predicts PD-L1 tumour expression and response to PD-1 blockade in non-small-cell lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2019; 46: 1859-1868 [PMID: 31214790 DOI: 10.1007/s00259-019-04348-x]
- 64 Chen R, Zhou X, Liu J, Huang G. Relationship between the expression of PD-1/PD-L1 and <sup>18</sup>F-FDG uptake in bladder cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2019; 46: 848-854 [PMID: 30627815 DOI: 10.1007/s00259-018-4208-8]
- 65 Chen R, Chen Y, Huang G, Liu J. Relationship between PD-L1 expression and <sup>18</sup>F-FDG uptake in gastric cancer. *Aging (Albany NY)* 2019; 11: 12270-12277 [PMID: 31848322 DOI: 10.18632/aging.102567]
- 66 Zhao L, Zhuang Y, Fu K, Chen P, Wang Y, Zhuo J, Liao X, Chen H, Lin Q. Usefulness of [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose PET/CT for evaluating the PD-L1 status in nasopharyngeal carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2020; 47: 1065-1074 [PMID: 31897588 DOI: 10.1007/s00259-019-04654-4]
- 67 Jiang H, Zhang R, Jiang H, Zhang M, Guo W, Zhang J, Zhou X, Pan W, Zhao S, Li P. Retrospective analysis of the prognostic value of PD-L1 expression and <sup>18</sup>F-FDG PET/CT metabolic parameters in colorectal cancer. *J Cancer* 2020; 11: 2864-2873 [PMID: 32226504 DOI: 10.7150/jca.38689]
- 68 杜毓菁, 王荣福. 全景PET/CT的研究进展及轴向视场的新突破. *CT理论与应用研究* 2018; 27: 675-682 [DOI: 10.15953/j.1004-4140.2018.27.05.15]
- 69 申强, 王荣福. PET/MRI新技术应用进展. *中国医学装备杂志* 2017; 14: 7-12
- 70 王荣福, 庞小溪, 刘敏, 霍焱. <sup>99m</sup>Tc-GSA肝受体显像在肝功能评估临床应用及进展. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 1903-1909 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i21.1903]
- 71 王荣福. PET/CT在胰腺癌临床应用中的进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1830-1834 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2007.16.011]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红



## 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性文章, 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: +1-925-3991568

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

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

E-mail: [y.j.ma@wjgnet.com](mailto:y.j.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、肌酐、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**  
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,  
CA 94566, USA  
**Telephone:** +1-925-3991568  
**E-mail:** [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
**https://**[www.wjgnet.com](https://www.wjgnet.com)



ISSN 1009-3079



9 771009 307056