

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 5 月 8 日 第 29 卷 第 9 期 (Volume 29 Number 9)



9/2021

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

- 449 中医药对肠道微生态的影响
朱佳源, 肖嫩群, 谭周进

基础研究

- 455 基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究
叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞

临床研究

- 461 影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析
郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明
- 467 老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点
刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲
- 474 直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性
陈抚标, 唐鸿, 张心荣

文献综述

- 479 中医药调节肠道微生态研究技术进展
李小雅, 谭周进

临床实践

- 488 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究
查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方

病例报告

- 496 经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内异位症1例并文献复习
王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌

消 息

- 460 《世界华人消化杂志》栏目设置
487 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
495 《世界华人消化杂志》参考文献要求
500 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

封面故事

张力为, 主任医师, 教授, 医学博士, 硕士/博士研究生导师, 新疆医科大学第一附属医院, 主持国家及省部级自然科学基金课题4项, 参与国家及自治区自然科学基金4项; 近5年发表中文核心50余篇、SCI 3篇、获得省部级科技一等奖、二等奖; 参编教材3部; 任新疆食管癌研究所所长, 新疆抗癌协会副理事长, 新疆医科大学一附院器官移植中心副主任. 还担任新疆医学会胸心外血管外科学专业委员会主任委员, 新疆抗癌协会食管癌专业委员会主任委员, 中华医学会胸心外血管外科学专业委员会第八、九届青年委员, 中华医学会气管纵隔学组委员会委员, 中华医学会胸腔镜学组委员会委员, 中国抗癌协会食管癌专业委员会委员, 中国医师协会胸外科专业委员会委员等协会职务.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-05-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, 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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 29 Number 9 May 8, 2021

EDITORIAL

- 449 Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine
Zhu JY, Xiao NQ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 455 Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing
Ye SF, Zhang JM, Dai F, Lan CJ, Zhang XJ, Zhou LZ, Tang QQ, Meng F

CLINICAL RESEARCH

- 461 Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery
Guo LN, Li YC, Sun ZF, Yan HY, Li H, Wang YM
- 467 Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease
Liu F, Ye Q, Liang J, Cao YY, Shi LL, Zhao X, Xiang HL
- 474 Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor and microvessel density in rectal cancer
Chen FB, Tang H, Zhang XR

REVIEW

- 479 Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine
Li XY, Tan ZJ

CLINICAL PRACTICE

- 488 Association of glutathione thioltransferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients
Cha HY, Wu Y, Shang LN, Sun F

CASE REPORT

- 496 Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review
Wang C, Zheng M, Li TT, Wang JL, Sun GB

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 9 May 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Wei Zhang, Chief Physician, Professor, Doctor of Medicine, Master and Doctoral Supervisor, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, No. 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangliwei@163.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date May 8, 2021

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

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: 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

© 2021 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.

中药对肠道黏膜损伤的研究进展

朱佳源, 肖嫩群, 谭周进

朱佳源, 肖嫩群, 谭周进, 湖南中医药大学微生物教研室 湖南省长沙市 410208

朱佳源, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学的研究.

基金项目: 湖南省自然科学基金, No. 2020JJ4468.

作者贡献分布: 本文综述由朱佳源完成; 谭周进和肖嫩群审核.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学微生物教研室. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-01-26

修回日期: 2021-02-18

接受日期: 2021-04-02

在线出版日期: 2021-05-08

Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine

Jia-Yuan Zhu, Nen-Qun Xiao, Zhou-Jin Tan

Jia-Yuan Zhu, Nen-Qun Xiao, Zhou-Jin Tan, School of Medicine, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: Hunan Natural Science Foundation, No. 2020JJ4468.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, School of Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, No.300 Xueshi Road, Yuelu District, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-01-26

Revised: 2021-02-18

Accepted: 2021-04-02

Published online: 2021-05-08

Abstract

The intestinal mucosa is the largest mucosal surface of the human body and contains a large number of immune cells, which can resist the invasion of foreign antigens, toxins,

pathogens, and bacteria while allowing the absorption of nutrients. Numerous studies have shown that intestinal mucosal injury is associated with many diseases. The active ingredients of traditional Chinese medicine are complex and diverse, and new active metabolites are generated after metabolic transformation by intestinal bacteria in the intestine, which in turn exert different biological effects. Many Chinese herbal ingredients can cause damage to the intestinal mucosa. This article discusses the intestinal mucosal injury caused by traditional Chinese medicine by affecting the mechanical barrier of the intestinal mucosa, intestinal mucosal immunity, and biological barrier, and the possible mechanism of intestinal mucosal injury by traditional Chinese medicine and how to reduce the toxic and side effects of traditional Chinese medicine on the intestinal mucosa, with an aim to provide a more scientific basis for the treatment of intestinal diseases by traditional Chinese medicine.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Traditional Chinese medicine; Intestinal mucosal mechanical barrier; Biological barrier; Immunity

Citation: Zhu JY, Xiao NQ, Tan ZJ. Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 449-454

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/449.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.449>

摘要

肠黏膜是人体最大的黏膜表面, 含有大量的免疫细胞, 在可抵御外来抗原、毒素、病原体和细菌入侵的同时, 允许吸收营养物质. 大量研究表明, 肠黏膜损伤与许多疾病相关. 中药有效成分复杂多样, 在肠道内经肠道菌群代谢转化后生成新的活性代谢产物, 进而发挥不同的生物学效应. 许多中药成分可以引

起肠黏膜受损. 本文讨论了中药通过影响肠道黏膜机械屏障、肠黏膜免疫和生物屏障引起肠黏膜损伤, 并从中药损伤肠黏膜的可能机制以及如何降低中药对肠黏膜的毒副作用进行了思考, 以期对中药治疗肠道疾病提供更加科学的依据.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 中药; 肠黏膜机械屏障; 生物屏障; 免疫

核心提要: 中药可通过影响肠道黏膜机械屏障、肠黏膜免疫和生物屏障引起肠黏膜损伤, 但可通过设计合理的配伍及用量或改变中药的处理的方式降低中药对肠黏膜损伤, 但其具体机制有待进一步研究.

文献来源: 朱佳源, 肖嫩群, 谭周进. 中医药对肠道微生态的影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 449–454

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/449.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.449>

0 引言

肠黏膜的表面积约为400 m², 是一种高度动态结构, 同时是多个应激源的部位, 并形成了内部环境与外部环境之间的一道屏障, 一方面, 完整的肠黏膜可保护人体免受微生物和毒素的侵袭, 防止水和电解质损失, 另一方面, 允许机体与外部环境进行分子交换, 选择性渗透性, 能够吸收营养物质、电解质和水(图1)^[1]. 肠黏膜由黏膜上皮细胞(epithelial cell, IEC)、细胞间紧密连接和菌膜三者构成, 其中IEC与黏液层一起形成主要的物理和生化屏障, 此外, 肠黏膜还聚集了大量的免疫细胞, 包括T细胞, B细胞, 巨噬细胞和树突状细胞与带有共生肠道菌群的外黏液层、抗菌蛋白(antimicrobial peptides, AMP)和分泌性免疫球蛋白(secretory Immunoglobulin A, sIgA)分子共同形成了强大的黏膜免疫屏障^[2,3]. 微生物群、肠上皮屏障和局部免疫系统之间的复杂相互作用帮助机体维持体内平衡并促进肠道的健康发展^[1,4]. 而当机体肠黏膜结构和功能受损, 引起抗原和细菌发生渗漏, 全身炎症并激活免疫细胞触发免疫反应, 导致人体患自身免疫性疾病的风险增加, 此外许多肠道疾病与胃肠道发生渗漏有关, 例如炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)^[5]. 肠道黏膜受损, 肠道免疫功能也受到不同程度的抑制, 主要表现为肠道sIgA产生含量减少, 肠道抗定植力下降, 促进肠内细菌和内毒素移位等^[6].

近年来, 应用西药治疗肠道疾病虽然起效快, 但复发率高, 而中药在很大程度上克服了这一点, 主要通过调节肠道菌群和胃肠代谢水平, 维持肠黏膜完整性和恢

复肠道屏障功能^[2]. 但服用过量的缓泻剂和苦寒类中药可以通过影响肠道菌群结构及其物质和能量代谢, 引起肠道微生态失衡, 或破坏肠黏膜机械和免疫屏障, 加重肠黏膜损伤^[7]. 本文讨论了中药对肠黏膜损伤的主要方式, 包括中药对肠黏膜机械、生物、免疫屏障的损伤, 并对中药损伤肠黏膜的机制以及如何降低中药的毒副作用进行了思考, 以期对中药治疗肠道疾病提供更加科学的依据.

1 中药对黏膜损伤的方式

中医药可通过健脾、运脾、补脾、疏肝治疗肠道疾病, 此外中药可以通过改善肠道菌群失调、调节肠黏膜免疫、维持肠黏膜组织的完整性、降低肠黏膜通透性、促进肠蠕动和增加肠黏膜的血流量来实现对肠黏膜的保护^[2,8,9]. 然而近年来有研究表明, 中药亦可通过影响肠道菌群或破坏肠黏膜机械和免疫屏障来损伤肠黏膜, 其可能机制如下(图2).

1.1 中药对肠黏膜机械屏障的损伤 肠黏膜屏障以机械屏障最为重要, 主要由共生肠道菌群的外黏液层、单层的柱状上皮细胞(IECs)及其紧密连接、固有层组成. 黏液层覆盖在肠上皮细胞, 是外部分子到达肠腔的第一道物理防线, 主要组成部分是高度糖基化的粘蛋白, 与肠道杯状细胞形成疏水的弹性凝胶层, 保护上皮绒毛免受物理性摩擦、化学消化和细菌粘附^[3]. IECs是肠屏障的决定因素, 与黏液层一起形成主要的物理和生化屏障, 肠上皮细胞之间的增殖与凋亡平衡是维持黏膜上皮稳定的关键, 凋亡过度可能会抑制黏膜上皮细胞的再生与修复, 凋亡不足可能导致黏膜上皮细胞的增生或肥厚, 引起肠道黏膜屏障受损^[2]. 单层IECs之间通过紧密连接的复合物: 紧密连接(tight junction, TJ)、粘附连接(adherens junctions, AJ)和桥粒进一步将肠上皮细胞紧密连接起来, 帮助维持肠黏膜屏障的完整性^[3]. 此外, 由毛细血管网、毛细淋巴管、神经、分散平滑肌、免疫细胞等组成固有层对各种分子的筛选起到限制作用^[3]. 引起肠黏膜机械屏障受损的原因很多, 例如肠黏膜缺血及再灌注损伤、炎症介质、细菌易位及内毒素合成增加等皆可引起肠黏膜机械屏障受损^[10]. 许多中药对肠黏膜机械屏障损伤的治疗有着很好的疗效, 可通过降低TNF-α、IL-6等炎症因子水平来缓解肠道炎症、减轻肠道上皮细胞的损伤, 亦可增强紧密连接作用、减少内毒素吸收, 从而促进肠黏膜机械屏障修复^[2,11]. 而当过量服用一些缓泻剂或使用一些存在配伍禁忌的复方时, 可能引起一些肠道内毒素合成增加, 或直接引起肠道炎症而损伤肠黏膜, 从而破坏肠黏膜机械屏障.

据《本草纲目》记载:“续随子与大戟、泽漆、甘

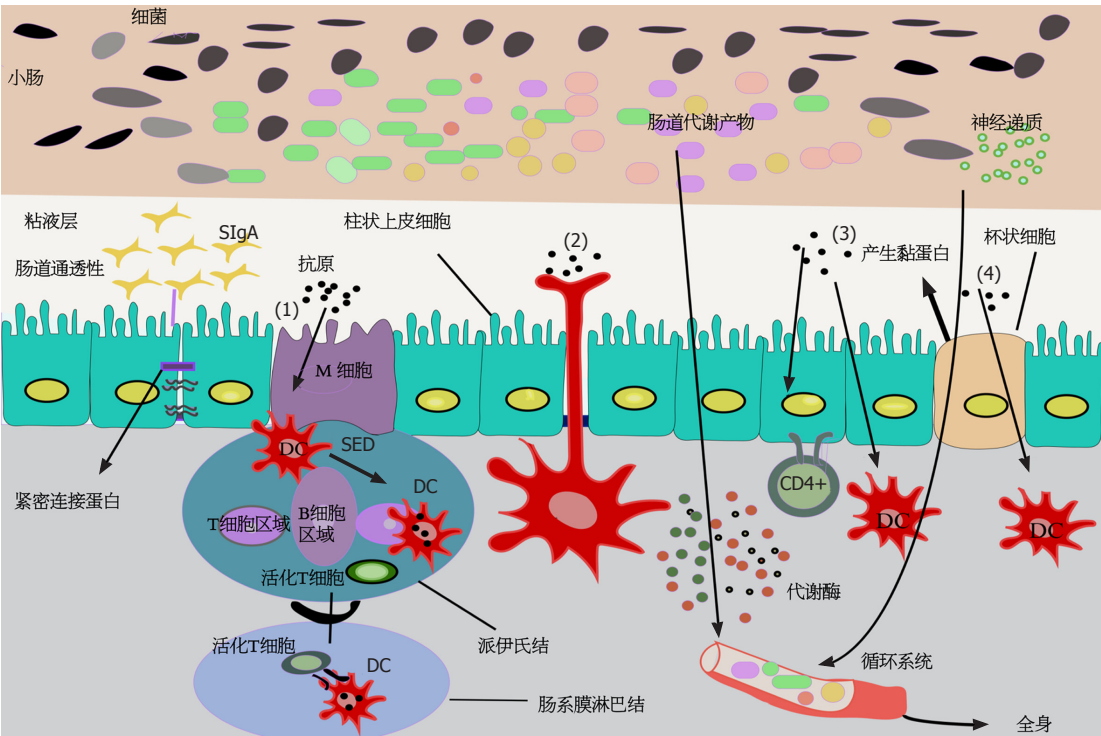


图 1 肠黏膜与免疫、营养吸收功能关系. SIgA: 分泌性免疫球蛋白. DC: 树突状细胞; CD4+: T 细胞; SED: 上皮小圆顶.

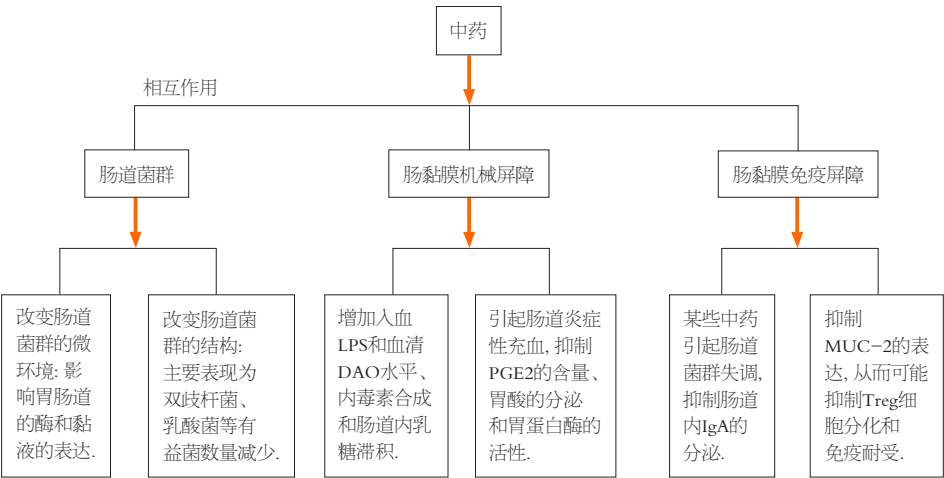


图 2 中药引起肠黏膜损伤的机制. LPS: 脂多糖; DAO: 血清二胺氧化酶; PGE2: 前列腺素E2; MUC-2: 黏蛋白2; Treg: 调节性T细胞.

遂茎叶相似, 主疗亦类同, 其功皆长于利水, 惟在用之得法, 亦皆要药也.”说明自古以来千金子就与京大戟、甘遂、甘草等同列为利水要药. 有研究表明^[12]脂多糖 (LPS) 可诱导肠道炎症的发生, 可引起肠道黏膜水肿, 肠通透性增加, 肠黏膜损伤, 从而破坏肠黏膜机械屏障. 陶伟伟等人^[13]用甘草水提物、千金子醇提物水混悬液作为供试药品, 对小鼠分别进行灌胃处理, 发现甘草可通过轻度增加入血LPS含量, 轻微损伤肠黏膜, 千金子能明显升高血清二胺氧化酶 (serum diamine oxidase, DAO) 和入血LPS水平, 导致肠黏膜受损. 且经研究证实, 源自

于大戟科大戟属植物的大戟、甘遂、千金子等均含有化学结构相似的二萜类化学成分, 具有相似的药性与功效取向, 当与甘草合用时可能存在共性的禁忌规律, 千金子与甘草合用升高LPS与DAO水平的同时, 肠道黏液降解功能增强, 加重肠黏膜损伤^[13]. 番泻叶作为一种含蒽醌类衍生物的缓泻剂, 可以直接刺激肠壁, 增加肠道的水分, 引起腹泻, 而服用过量的番泻叶, 可致肠道炎症性充血, 损伤肠道黏膜, 同时降低肠道乳糖酶活性, 引起肠道内乳糖的滞积, 加重腹泻而引起肠道发生弥漫性损伤^[14]. 有研究表明^[15]生半夏对胃肠黏膜具有明显的刺激

毒性, 可显著促进大鼠胃肠的运动并降低胃液中前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)的含量、胃酸的分泌和胃蛋白酶的活性, 从而导致胃肠黏膜的损伤。

1.2 中药对肠黏膜生物屏障的损伤 肠黏膜的生物屏障主要由正常的肠道菌群构成, 健康成人肠道菌群以拟杆菌门 和厚壁菌门为主, 但也包括较少的放线菌门、变形杆菌门、梭菌门和疣微菌门, 这些菌群维持相对平衡, 帮助机体抵御外来病原体的感染和促进人体免疫器官的发育成熟, 亦可作为广谱抗原激活肠道免疫系统^[11]。此外还有促进药物代谢、激素分泌、维生素合成及血管重塑等功能^[16-18]。而当机体肠道菌群失调时, 可促进儿茶酚胺的释放或直接刺激大量致病菌的生长, 从而引起肠黏膜损伤, 加重炎症肠病的发生与发展。

绝大多数中药给药途径以口服为主, 中药中很多有效成分必须经过肠道菌群产生的特定代谢酶代谢转化后生成新的活性代谢产物才能被吸收而发挥药理作用, 进而对机体产生不同的生物学效应, 参与肠肝循环的药物可能再次被肠道菌群代谢转化^[19,20]。因此, 肠道菌群在中药的代谢转化过程中具有非常重要的作用。肠道菌群代谢某些中药成分能够改变肠道菌群的结构和代谢, 例如高剂量黄芩苷(苦寒类中药黄芩的提取物)长期使用可使小鼠肠道菌群失调, 出现类似于林可霉素的破坏作用^[21]。长期服用高剂量黄连解毒汤(组方为黄连、黄芩、黄柏和栀子)时, 小鼠肠道益生菌(双歧杆菌和乳酸杆菌)数量减少, 机体定植抗性下降, 引起肠道微生态失衡^[22]。进一步研究发现^[23], 给予高剂量黄连解毒汤方颗粒剂一段时间后, 小鼠肠道菌群也明显失衡。研究发现甘草中的甘草酸苷衍生物可改变胃肠道的酶和黏液表达, 并可能改变肠道菌群的微环境, 甘遂中的二萜具有细胞毒性和肝毒性, 可刺激胃肠道, 引起黏膜细胞和细菌细胞的代谢发生改变^[24,25]。余金高等人^[25]对正常小鼠分别用甘草提取物、甘遂提取物和甘草-甘遂联合提取物处理7 d, 发现甘草-甘遂联合使用影响肠道菌群多样性及脂质、H2S代谢, 引起肠道微生态失衡。因此可通过肠道菌群了解某些含有草药组合中药方剂的缺点。

1.3 中药对肠黏膜免疫屏障和免疫系统的损伤 肠黏膜免疫屏障主要由肠道相关淋巴组织(gut associated lymphoid tissue, GALT)和弥散免疫细胞(主要指固有层淋巴细胞和上皮内淋巴细胞)构成及其分泌的免疫介质: 抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)、IgA等构成^[11]。其中上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocytes, IEL)与上皮细胞形成了抵抗入侵病原体的免疫防线, IEL受刺激后迅速增殖, 并能通过释放IL-2、IFN- γ 、TNF- α 等多种细胞因子, 有效抵御肠道病原体入侵, 还有抗黏膜过敏反应、抑制免疫应答、消除损伤上皮细胞和促

进SIgA发育等功能^[26,27]。黏蛋白(MUC)是肠上皮杯状细胞产生的黏液中的重要大分子, MUC-2对杯状细胞和CD103+树突状细胞之间的协同作用可导致Treg细胞分化和免疫耐受^[28]。固有层淋巴细胞主要产生聚合IgA能防止病原体穿过肠黏膜, 抑制病原体的扩散以及在能侵袭的情况下破坏病原体^[29,30]。GALT是黏膜免疫系统的传入诱导和活化部分, 诱导部位包括派尔集合淋巴结(peyer's patch, PP)和肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLNs), 能够区分有害和无害抗原^[31]。GALT的免疫细胞由T、B细胞和树突状细胞(DCs)组成, 其独特的结构内还包括微皱襞细胞、潘氏细胞等^[32]。PPs可以收集胃肠道上皮表面的抗原, MLN主要功能是过滤来自肠道的淋巴液, 并对游离的抗原和由固有层巨噬细胞迁移到MLNs的抗原作出免疫应答^[30,33]。

大多数中药可以增强肠黏膜免疫屏障, 可激活巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞和血液补体蛋白来实现其免疫调节作用, 可通过促进上皮细胞修护及杯状细胞分泌黏液, 促进固有层浆细胞分泌IgA的合成来改善肠免疫屏障功能^[2,11]。有关中药损伤肠黏膜免疫屏障的相关研究很少, 但一些治疗便秘的中药可以引起肠道菌群失调, 菌群失调可以导致肠道内IgA的分泌减少, 进而诱发肠道炎症, 从而影响肠道黏膜免疫屏障功能^[25,34]。且有研究表明^[17]肠道菌群紊乱可使肠黏膜免疫系统发育受损, 肠道内环境生态失调, 进而引起免疫介导的相关疾病发生。这提示我们肠道菌群可能有助于维护肠道黏膜免疫。元华是一类具有肠毒性的中药, 服用普通剂量相对安全, 但与甘草合用其毒性显著增加, 能明显抑制MUC-2的表达, 从而可能抑制Treg细胞分化和免疫耐受^[35]。肠黏膜免疫系统十分复杂, 目前对于其结构和功能都有了较深入的了解, 关于中药通过肠道黏膜免疫系统发挥治疗作用的设想和研究的报道日益增多, 传统中药汤剂中水溶性成分相对较多与中药活性成分大多为极性较小的脂溶性成分形成明显反差^[28]。因此, 肠道黏膜免疫系统很可能在中药发挥作用的过程中扮演着重要角色, 值得我们深入探讨。

2 中药对肠黏膜损伤的思考

多年来中医药的安全性和有效性受到质疑, 仍是中医药发展的主要障碍。如今, 随着中药方剂的现代化, 科学家和医生越来越意识到草药组合可能诱发副作用或毒性的风险。源自《神农本草经》的“十八反”、“十九畏”是中药禁忌配伍的重要依据, 然而许多汤剂中仍然存在一些存在配伍禁忌的组合, 常见的有甘遂半夏汤、海枣玉虎汤、肝枣汤等^[35]。“甘遂-半夏”汤是一种含有甘草-甘遂组合的汤剂, 在中医汤剂发展已有数千年的

历史, 如今仍被广泛用于临床治疗各种腹水。研究发现当甘草和甘遂一起提取时, 可加速甘遂中二萜的溶解, 并可能增加这种草药的毒性, 然而当二者分开提取后再联合使用仍能引起肠道菌群失调, 这表明二者副作用或毒性可由联合用药本身直接诱导的^[36]。海枣玉虎汤配方中存在海藻和甘草被认为是不利组合, 然而其在治疗甲状腺相关疾病功效显著^[37]。传统汤剂的联合是复杂的, 且现在的许多汤剂没有考虑疾病的本身去进行剂量上的合理设计, 而是严格按照国家药典计量比设定, 药物的毒副作用也因人而异, 相关临床研究又十分的少^[25]。因此, 需要结合大量临床实践和动物实验来正确评估含有甘草和甘遂或存在其他配伍禁忌的中药汤剂的利弊, 探讨联合用药是否以及如何引起毒性作用。

如何降低中药对肠黏膜损伤的毒副作用以及了解相关机制, 也值得我们深入研究, 尽管不相容草药对的数量以及中药对肠黏膜损伤的相关研究有限, 但这些草药对的不相容机制、不相容的发生条件以及如何引起肠黏膜损伤的原因非常复杂, 几乎涉及体内药物处置过程的每个阶段^[35]。例如甘遂-半夏汤虽然含有甘草-甘遂这两种存在配伍禁忌的草药, 但是该汤剂中的芍药可以促进甘草的吸收, 甚至减弱甘遂对甘草的抑制作用, 此外还通过磷脂代谢、脂肪酸代谢、苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢等多种代谢途径减弱其配伍毒性^[38,39]。甘遂还可以通过用醋炒的方式降低中药毒性, 其可能机制是由于其增加了肠道有益菌的比例, 潜在致病菌的数量下降, 从而起到降低其胃肠道毒性的作用^[40]。大黄是常用的蒽醌类泻药, 治疗慢性肾脏病也极为普遍, 经发现其过量有胃肠道毒性, 而经炮制后所得熟大黄、酒大黄、醋大黄, 大大减轻其苦寒之性及泻下的副作用, 与土茯苓配伍或经醋炒皆可减轻胃肠道反应^[41]。不同提取组分的半夏其毒性存在差异, 半夏醇提组分的毒性大于全组分和水提组分, 说明半夏的毒性成分主要存在于醇溶部位, 水溶部位仅存在少量毒性成分, 但是其产生毒性的具体成分是否仅为半夏草酸钙针晶和凝集素蛋白及毒性机制仍需进一步深入的研究证实^[15]。黄连解毒汤在低剂量应用时不会引起肠道菌群失调, 甚至减少条件致病菌(肠球菌、大肠埃希菌)的数量, 提示我们黄连解毒汤或许在更低剂量应用时可以作为肠道菌群调节剂^[22]。因此, 我们可通过设计合理的配伍及用量或改变中药的处理的方式来降低中药对肠黏膜损伤。

3 结论

肠黏膜是一个复杂多样的动态结构, 涉及多个组分之间的相互作用, 共同形成完整的肠黏膜屏障, 允许吸收营养物质的同时并能够起到保护人体免受微生物和毒素

的侵袭, 防止水和电解质损失的作用。一旦这种屏障遭到破坏, 可能会引发一系列肠道和全身疾病。近年来, 应用中医药修复肠黏膜损伤越来越受到关注, 许多中药成分能促进益生菌的繁殖而抑制有害菌的生长而恢复肠道菌群失调, 增强黏膜免疫和缓解肠道炎症而促进黏膜损伤修护^[2,19]。然而, 近年来有不少研究发现, 服用一些存在配伍禁忌的中药或过量使用一些缓泻剂、苦寒类的中药可以通过影响肠道菌群的结构和代谢、肠黏膜机械和肠黏膜免疫引起肠黏膜受损。虽然这些损伤大多是可避免的, 但是为什么一些存在配伍禁忌的复方仍然广泛应用, 这是值得我们深入探讨的, 以及寻找降低这些中药对肠道的毒副作用的方法并深入了解相关机制, 能帮助我们更好的促进中医药事业的发展与传承。

4 参考文献

- 1 Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, Tilg H, Watson A, Wells JM. Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 189 [PMID: 25407511 DOI: 10.1186/s12876-014-0189-7]
- 2 龙承星, 郭艳芳, 刘娅薇, 彭昕欣, 谭周进. 中药对肠道黏膜免疫保护的影响及其意义. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 3115-3122 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i35.3115]
- 3 Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 821-834 [PMID: 28650209 DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143]
- 4 Haq S, Grondin J, Banskota S, Khan WI. Autophagy: roles in intestinal mucosal homeostasis and inflammation. *J Biomed Sci* 2019; 26: 19 [PMID: 30764829 DOI: 10.1186/s12929-019-0512-2]
- 5 Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 416-422 [PMID: 16265432 DOI: 10.1038/ncpgasthep0259]
- 6 石刚. 肠道黏膜屏障的损伤与保护. *肠外与肠内营养* 2004; 1: 61-63
- 7 康迪, 方明月, 李德利, 郑时奇, 乔姗姗, 王如峰, 杜力军. 中药与肠道微环境相互作用研究进展. *中国科学: 生命科学* 2018; 48: 379-389 [DOI: 10.1360/n052017-00213]
- 8 欧燕. 中医治疗肠易激综合征的研究进展. *黑龙江中医药* 2016; 5: 69-70
- 9 袁榴翼, 李小锦, 尹清晟, 许梦习, 韩娟, 张艳军, 庄朋伟. 中药干预肠道菌群改善肠黏膜屏障功能的研究进展. *中草药* 2018; 49: 1932-1938 [DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.030]
- 10 孔静, 王猛, 张玉华, 杨莹莹, 刘路路, 张云杰. 肠黏膜机械屏障的中西医结合研究进展. *中国中西医结合外科杂志* 2020; 26: 1001-1004
- 11 刘雷蕾. 中药治疗肠黏膜屏障损伤研究进展. *中国中医药科技* 2019; 53: 1689-1699
- 12 Zhang L, Wei X, Zhang R, Si D, Petite JN, Ahmad B, Zhang M. A Novel Peptide Ameliorates LPS-Induced Intestinal Inflammation and Mucosal Barrier Damage via Its Antioxidant and Antiendotoxin Effects. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31443263 DOI: 10.3390/ijms20163974]
- 13 陶伟伟, 于金高, 陈艳琰, 肖东, 郭建明, 刘培, 段金康. 基于千金子与甘草对肠道菌群/屏障系统的影响探讨其配伍禁忌机制. *中国中药杂志* 2018; 43: 369-376 [DOI: 10.19540/j.cnki.jcmm.20171027.021]
- 14 徐琦, 刘又嘉, 邓艳玲, 肖新云, 谭周进, 舒兰. 番泻叶对腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. *湖南中医杂志* 2016; 32: 189-191 [DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2016.08.089]

- 15 黄凤英, 高健美, 裴其海. 半夏药理作用及其毒性研究进展. 天然产物研究与开发 2020; 32: 1773-1781 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.10.020]
- 16 Jourova L, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Human gut microbiota plays a role in the metabolism of drugs. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2016; 160: 317-326 [PMID: 27485182 DOI: 10.5507/bp.2016.039]
- 17 李亚齐, 李明美, 周艳. 肠道菌群对肠粘膜免疫系统影响的研究进展. 生命的化学 2017; 37: 895-900 [DOI: 10.13488/j.smhx.20170603]
- 18 Reinhardt C, Bergentall M, Greiner TU, Schaffner F, Ostergren-Lundén G, Petersen LC, Ruf W, Bäckhed F. Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling. *Nature* 2012; 483: 627-631 [PMID: 22407318 DOI: 10.1038/nature10893]
- 19 Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm* 2008; 363: 1-25 [PMID: 18682282 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.07.009]
- 20 祖先鹏, 林璋, 谢海胜, 杨鸟, 刘心如, 张卫东. 中药有效成分与肠道菌群相互作用的研究进展. 中国中药杂志 2016; 41: 1766-1772 [DOI: 10.4268/cjcm20161002]
- 21 宋姗姗. 黄芩苷对小鼠肠道菌群的影响. 广州中医药大学 2010
- 22 罗海华, 董妹, 张晟, 李达, 时权, 周红, 邝东园. 黄连解毒汤对小鼠肠道菌群的影响. 热带医学杂志 2009; 9: 369-371
- 23 毛江洪, 谭俊青, 潘慧娟, 钟力, 李前宁, 钮心怡. 黄连解毒组方颗粒剂对小鼠肠道菌群的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 69-73
- 24 Wang X, Zhang H, Chen L, Shan L, Fan G, Gao X. Licorice, a unique "guide drug" of traditional Chinese medicine: a review of its role in drug interactions. *J Ethnopharmacol* 2013; 150: 781-790 [PMID: 24201019 DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.055]
- 25 Yu J, Guo J, Tao W, Liu P, Shang E, Zhu Z, Fan X, Shen J, Hua Y, Zhu KY, Tang Y, Duan JA. Gansui-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions. *J Ethnopharmacol* 2018; 214: 71-82 [PMID: 29198875 DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.031]
- 26 Cepek KL, Shaw SK, Parker CM, Russell GJ, Morrow JS, Rimm DL, Brenner MB. Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the alpha E beta 7 integrin. *Nature* 1994; 372: 190-193 [PMID: 7969453 DOI: 10.1038/372190a0]
- 27 刘端勇, 赵海梅, 周枫, 黄小英, 吕爱平, 罗晓建. 黄芪多糖调节小鼠小肠黏膜淋巴细胞因子的表达. 中国中医基础医学杂志 2008; 14: 692-693 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-3250.2008.09.022]
- 28 周联, 黄绍伟, 罗霞. 肠道黏膜免疫进展为中药免疫研究提供的机遇. 中国免疫学杂志 2019; 2945-2952 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X]
- 29 Acheson DW, Luccioli S. Microbial-gut interactions in health and disease. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 387-404 [PMID: 15123077 DOI: 10.1016/j.bpg.2003.11.002]
- 30 Ahluwalia B, Magnusson MK, Öhman L. Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad. *Scand J Gastroenterol* 2017; 52: 1185-1193 [PMID: 28697651 DOI: 10.1080/00365521.2017.1349173]
- 31 Mason KL, Huffnagle GB, Noverr MC, Kao JY. Overview of gut immunology. *Adv Exp Med Biol* 2008; 635: 1-14 [PMID: 18841699 DOI: 10.1007/978-0-387-09550-9_1]
- 32 Wershil BK, Furuta GT. 4. Gastrointestinal mucosal immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: S380-3; quiz S415 [PMID: 18241686 DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.023]
- 33 Tlaskalová-Hogenová H, Štěpánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, Kozáková H, Rossmann P, Bártová J, Sokol D, Funda DP, Borovská D, Reháková Z, Sinkora J, Hofman J, Drastich P, Kokesová A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2004; 93: 97-108 [PMID: 15158604 DOI: 10.1016/j.imlet.2004.02.005]
- 34 Moon C, Baldridge MT, Wallace MA, D CA, Burnham, Virgin HW, Stappenbeck TS. Vertically transmitted faecal IgA levels determine extra-chromosomal phenotypic variation. *Nature* 2015; 521: 90-93 [PMID: 25686606 DOI: 10.1038/nature14139]
- 35 Yu J, Zhang D, Liang Y, Zhang Z, Guo J, Chen Y, Yan Y, Liu H, Lei L, Wang Z, Tang Z, Tang Y, Duan JA. Licorice-Yuanhua Herbal Pair Induces Ileum Injuries Through Weakening Epithelial and Mucous Barrier Functions: Saponins, Flavonoids, and Di-Terpenes All Involved. *Front Pharmacol* 2020; 11: 869 [PMID: 32765254 DOI: 10.3389/fphar.2020.00869]
- 36 Shen J, Kai J, Tang Y, Zhang L, Su S, Duan JA. The Chemical and Biological Properties of Euphorbia kansui. *Am J Chin Med* 2016; 44: 253-273 [PMID: 27080940 DOI: 10.1142/S0192415X16500154]
- 37 Ma Y, Zhang Y, Zhai Y, Zhu Z, Pan Y, Qian D, Su S, Fan X, Duan J. Development of a UPLC-TQ/MS Approach for the Determination of Eleven Bioactive Components in Haizao Yuhu Decoction Plus-Minus Haizao and Gansui Drug Combination after Oral Administration in a Rat Model of Hypothyroidism. *Molecules* 2016; 22 [PMID: 28025523 DOI: 10.3390/molecules22010007]
- 38 Cui Y, Liu T, Zhang Y, Wang R, Liu X, Zhang Q, Yu P, Zhao Y, Yu Z. Simultaneous determination of five bioactive components of Gansui in rat plasma by UHPLC-MS/MS and its application to comparative pharmacokinetic study of incompatible herb pair Gansui-Gansui and Gansuibanxia Decoction. *J Pharm Biomed Anal* 2018; 159: 318-325 [PMID: 30015102 DOI: 10.1016/j.jpb.2018.07.014]
- 39 Cui Y, Wang R, Zhang Y, Liu T, Han F, Li R, Zhang N, Zhao Y, Yu Z. Investigation of the mechanism of incompatible herb pair gansui-gansui-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity and the attenuated effect of gansuibanxia decoction by UHPLC-FT-ICR-MS-based plasma metabolomic analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2019; 173: 176-182 [PMID: 31146173 DOI: 10.1016/j.jpb.2019.05.034]
- 40 Jiang D, Kang A, Yao W, Lou J, Zhang Q, Bao B, Cao Y, Yu S, Guo S, Zhang Y, Tang Y, Zhang L. Euphorbia kansui fry-baked with vinegar modulates gut microbiota and reduces intestinal toxicity in rats. *J Ethnopharmacol* 2018; 226: 26-35 [PMID: 30059729 DOI: 10.1016/j.jep.2018.07.029]
- 41 魏连波, 刘玲玉. 大黄的毒副作用及在肾病中的合理应用. 中华肾病研究电子杂志 2018; 7: 13-16

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究

叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞

叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 丽水市人民医院消化内科, 浙江省丽水市 323000

汤清清, 孟飞, 杭州致远医学检验所有限公司, 浙江省杭州市 310000

叶淑芳, 主任医师, 研究方向为消化系统疾病.

基金项目: 浙江省科学技术厅2020年省公益技术研究项目, No. LGF20H030005; 丽水市消化内镜临床医学研究科技创新团队, No. 2018cxt05.

作者贡献分布: 此课题由叶淑芳设计; 研究过程由叶淑芳、张剑美、代飞、蓝陈菊、章小君、周丽珍、汤清清操作完成; 数据分析由叶淑芳、孟飞完成; 本论文写作由叶淑芳完成.

通讯作者: 叶淑芳, 主任医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院消化内科. 13735951698@163.com

收稿日期: 2021-01-29

修回日期: 2021-03-16

接受日期: 2021-03-28

在线出版日期: 2021-05-08

Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing

Shu-Fang Ye, Jian-Mei Zhang, Fei Dai, Chen-Ju Lan, Xiao-Jun Zhang, Li-Zhen Zhou, Qing-Qing Tang, Fei Meng

Shu-Fang Ye, Jian-Mei Zhang, Fei Dai, Chen-Ju Lan, Xiao-Jun Zhang, Li-Zhen Zhou, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Qing-Qing Tang, Fei Meng, Zhiyuan Inspection Medical Institute, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Zhejiang Provincial Science and Technology Department 2020 Provincial Public Welfare Technology Research Project, No. LGF20H030005; Lishui City Digestive Endoscopy Clinical

Medicine Research Technology Innovation Team, No. 2018cxt05.

Corresponding author: Shu-Fang Ye, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, No.15 Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. 13735951698@163.com

Received: 2021-01-29

Revised: 2021-03-16

Accepted: 2021-03-28

Published online: 2021-05-08

Abstract BACKGROUND

More than 50% of the world's population are infected with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). With the widespread use of antibiotics, antibiotic resistance has become the main reason for the failure of *H. pylori* eradication. At present, many studies have reported that the overexpression of efflux pump genes is related to the development of drug resistance.

AIM

To explore the internal connection between the mutation of efflux pump gene and the resistance of double drug resistant strains.

METHODS

¹³C-breath test and drug susceptibility test were used to screen double drug resistant strains and sensitive strains, and conventional methods of specific PCR were used to verify the mutation sites of drug resistance related genes. Based on the MiSeq platform, the whole genome sequence of ten clinical strains was performed. The single nucleotide variants (SNV) of the efflux pump gene of the double drug resistant phenotype and the sensitive phenotype were then identified and analyzed. The reference strain was ATCC26695.

RESULTS

The results of the *H. pylori* susceptibility test showed that *H. pylori* in Lishui area had a high resistance rate to clarithromycin and levofloxacin. Specific PCR detected 23S rRNA gene and *gyrA* point mutations in five clinically double drug resistant strains, but not in the five clinically sensitive strains. Whole genome sequencing detected the genetic variation of four gene clusters (HP0605-HP0607, HP0971-HP0969, HP1327-HP1329, and HP1489-HP1487) involved in multi-drug resistance TolC homologs. A mutant SNV was found in double drug resistant *H. pylori* strains.

CONCLUSION

The use of antibiotics in Lishui area should be strictly monitored to avoid abuse. The gene cluster of TolC homologous genes is related to the antibiotic resistance of *H. pylori* strains. Whole genome sequencing can help provide a new understanding of the relationship between genotype and phenotype.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Multi-drug resistant strains; *Helicobacter pylori*; Whole genome sequencing; Drug resistance; Efflux pump genes

Citation: Ye SF, Zhang JM, Dai F, Lan CJ, Zhang XJ, Zhou LZ, Tang QQ, Meng F. Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 455-460
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/455.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.455>

摘要

背景

世界上50%以上的人口感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)。随着抗生素的广泛使用, 抗生素耐药成为*H. pylori*感染患者根除失败的主要原因。目前有不少研究报道外排泵基因过表达和耐药的产生相关。

目的

为了未来的*H. pylori*感染治疗有更多方法, 探索外排泵基因的变异与双重耐药菌株耐药性产生的内在联系。

方法

使用¹³C呼气试验及药物敏感试验进行双重耐药菌株及敏感菌株的筛选, 用特异性PCR的常规方法进行耐药基因突变位点的验证, 基于MiSeq平台, 对10例临床菌株进行全基因组测序, 以鉴定双重耐药表型与敏感表型的外排泵基因的单核苷酸变体(single nucleotide variants, SNV)并分析, 参考菌株使用ATCC26695。

结果

*H. pylori*药敏试验结果显示, 丽水地区*H. pylori*对克拉霉素及左氧氟沙星都具有较高的耐药率。采用特异性PCR法在5株临床双重耐药菌株中检测到23S rRNA基因及*gyrA*的点突变, 在5株临床敏感菌株中未检测到。全基因组测序检测了涉及多耐药性的TolC同源物的四个基因簇(HP0605-HP0607, HP0971-HP0969, HP1327-HP1329和HP1489-HP1487)的遗传变异。在双重耐药性*H. pylori*菌株中发现一个突变的SNV。

结论

丽水地区抗生素使用应严格监控, 避免滥用。TolC同源基因的基因簇与*H. pylori*菌株的抗生素耐药性相关。全基因组测序对基因型与表型的关系有了新的认识。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 双重耐药菌株; 幽门螺杆菌; 全基因组测序; 耐药性; 外排泵基因

核心提要: 本研究利用全基因组测序对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外排泵基因进行研究, 发现双重耐药菌株的外排泵系统的中存在一个C111T位点突变, 而敏感菌株中没有。表明外排泵基因可能与*H. pylori*菌株的抗生素耐药性相关。对未来关于幽门螺杆菌耐药机制的研究起到一定的数据支持作用。

文献来源: 叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞. 基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究. *世界华人消化杂志* 2021; 29(9): 455-460

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/455.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.455>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染存在于50%以上的世界人口, 并已证实它与慢性胃炎、消化性溃疡等多种上消化道疾病相关^[1]。克拉霉素和左氧氟沙星是*H. pylori*根除治疗的常用药物, 但是随着抗生素的广泛使用, 克拉霉素及左氧氟沙星等的耐药率越来越高, 抗生素耐药成为*H. pylori*感染患者根除失败的主要原因^[2]。

*H. pylori*对克拉霉素耐药已经证实与23S rRNA的结构域V区肽基转移酶中的点突变相关^[3], 最常见的突变是位置A2142G和A2143G。*H. pylori*对喹诺酮耐药主要是由于*gyrA*喹诺酮类药物耐药决定区基因发生突变, *gyrA*基因主要有两种突变(*Asn87*, *Asp91*)^[4]。此外, 目前有不少研究报道外排泵基因过表达可以增加

菌株的耐药性的^[5,6]。在肠杆菌科细菌中, 最常见的外排泵为耐药结节化细胞分化家族(resistance nodulation cell division family, RND), 而该家族中研究较深入的就是AcrAB-外膜蛋白(outer membrane proteins, OMP)ToIC参与的外排泵系统。ToIC可以与许多内膜转运体结合, 参与几乎所有的抗生素外排过程, 因此对细菌的耐药性及临床治疗都有重要影响^[7,8]。

与常规方法相比, 二代测序可提供有关细菌基因组信息的深入信息。这些技术全面追踪抗生素耐药性菌株的基因组信息, 能促进临床对感染患者进行特异性和合理治疗。

在本研究中, 我们首先通过呼气试验及药敏试验筛选出10例*H. pylori*菌株, 包括5例双重耐药菌株和5例全敏感菌株, 用PCR方法进行验证并进行全基因组测序。我们着眼于双重耐药外排泵的变异, 这些变异对内在和获得性抗生素耐药性都有贡献, 阐明耐药新机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样本收集: 选取因胃部疾病至丽水市人民医院就诊的胃镜检查患者, 于胃镜下采集胃黏膜标本一份, 置于组织保存管中, 低温运输送检。该研究已通过丽水市人民医院伦理委员会审核。所有患者均同意在本研究中使用其样品, 并签署了知情同意书。

1.1.2 病例入选标准: (1)年龄18-70岁, 男女不限; (2)呼气试验结果为*H. pylori*阳性; (3)近2 wk内未使用抗生素、铋剂、H₂受体拮抗剂或PPI制剂。病例排除标准: (1)严重心、肝、肾功能损害者; (2)妊娠或哺乳期妇女; (3)有食管、胃肠手术史者; (4)患者不能正确表达自己的主诉, 如精神病、严重神经官能症者; (5)患者同时服用非甾体抗炎药或酗酒。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*培养及药敏: 胃粘膜标本经过研磨后接种于含5%羊血的哥伦比亚培养基, 37 °C微需氧培养(5% O₂、10% CO₂、85% N₂)2-3 d, 观察菌落的生长情况, 经生化反应(尿素酶、氧化酶、过氧化氢酶)试验和镜检鉴定, 确定为*H. pylori*菌株后保存菌株。

采用琼脂稀释法进行药敏检测: 将生长出的*H. pylori*菌株分别收集于生理盐水中, 配制成吸光度2-3麦氏的菌悬液, 滴加于抗生素平板上, 每滴2-3 μL, 每个平板滴数在15-25滴之间。建立平行一组, 空白对照一组。于37 °C微需氧培养(5% O₂、10% CO₂、85% N₂)的条件下培养2-3 d, 判读药敏结果, 若有*H. pylori*菌株生长则为耐药, 无*H. pylori*菌株生长为敏感。其中克拉霉素及左氧氟沙星的耐药临界值分别为1 μg/mL和2 μg/mL。质控菌

株为*H. pylori* ATCC26695。

1.2.2 23S rRNA及gyrA基因突变的特异性PCR: PCR体系包含2×Mix(杭州擎科生物技术有限公司)15 μL, 5×Enhancer buffer 6 μL, dd H₂O 5 μL, 引物Forward和Reverse各1 μL和2 μL DNA模板。引物序列如下: 23S rRNA Forward: ATGAATGGCGTAACGAGATG; 23S rRNA Reverse: ACACTCAACTTGCGATTTC; gyrA Forward: GATCATAGGGCGCGCTTTACC; gyrA Reverse: AAGTCGCCATCCCTACAGCGA。PCR条件如下: 94 °C 2 min; 94 °C 10 s, 60 °C 10 s和72 °C 10 s, 30个循环; 72 °C 5 min。PCR产物通过1%琼脂糖凝胶电泳确定大小。

1.2.3 基因组DNA提取和全基因组的制备: 用Qiagen细菌基因组提取试剂盒提取*H. pylori*基因组DNA。用Qubit检测试剂盒(Invitrogen公司, 美国)测量每个样品的DNA浓度。通过使用Nextera XT DNA样品制备试剂盒(Illumina公司, 美国)进行*H. pylori*菌株文库的构建。根据试剂盒说明书将DNA均匀剪切成500 bp左右的片段, 并加上接头序列构成DNA文库, 然后在Illumina MiSeq测序仪上运行。使用MiSeq控制软件分析荧光图像, 并使用MiSeq Reporter Analysis创建FASTQ格式的序列数据。

1.2.4 序列读取和单核苷酸变体(single nucleotide variants, SNV)检测: 重测序下机数据经过处理后获得原始数据, 为了降低突变的错误率, 过滤掉起始的10个碱基, 并截断了每个>Q20读数的末端30个碱基, 然后利用BWA^[2](version 0.7.12)比对软件, 将clean data比对到参考基因组序列上, 统计比对结果, 包括比对参考序列reads数, 平均深度及覆盖率等。参考基因组选用ATCC26695。通过比对结果, 去除出每个文库中由于PCR扩增引起的重复序列, 然后使用SAMTOOLS(version 1.1)软件进行SNV/InDel鉴定, 通过SAMTOOLS的Mpileup模块和Bcftools分析每个位点具体的测序信息等。

1.2.5 临床*H. pylori*菌株中的双重耐药外排泵的变异: 为了鉴定这些临床分离菌株中的其他可能变异, 我们接下来检查了与ToIC同源物的四个基因簇的遗传变异。将不同来源的*H. pylori*耐药基因与参考菌株26695(GenBank登录号: NZ_CP010436)进行比对, 并结合耐药实验结果, 分析耐药机制间的关系。

统计学处理 通过独立t检验分析了外排泵基因的遗传变异与耐药性表型之间的关联。使用95%置信区间, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。所有统计分析软件采用SPSS 24.0。

2 结果

2.1 患者收集情况 2014-06至2015-06, 共入选患者60名, 入选患者年龄在18-70岁之间, 平均年龄为46.93岁, 男女

比例为1.4:1. 男女间年龄不存在统计学差异.

2.2 *H. pylori*培养及药敏结果 本实验共分离获得*H. pylori*菌株51例. 药物敏感实验结果见表1. 其中克拉霉素和左氧氟沙星都耐药的有5例, 克拉霉素与左氧氟沙星都敏感的有13例. 克拉霉素耐药率达到43.1%, 左氧氟沙星耐药率达到41.2%.

2.3 PCR分析结果 选取对克拉霉素及左氧氟沙星都耐药的*H. pylori*菌株5例及对克拉霉素及左氧氟沙星均敏感的菌株5例进行特异性PCR扩增.

两种不同抗性的菌株测序结果如图1所示. 在对两种抗生素都耐药的菌株中23S *rRNA*基因中2143位均具有A>G变异, *gyrA*基因中有4例在87位变异, 1例在91位变异. 而在5个克拉霉素及左氧氟沙星敏感株的23S *rRNA*及*gyrA*基因的相同位置上没有有义变异. 因此, PCR结果与药敏结果一致.

2.4 外排泵基因中编码序列(coding sequence, CDS)变异分析 临床分离株中外排泵基因CDS变异数见表2. 对ToIC同源物的四个基因簇SNV与临床分离株耐药性相关性分析, 没有发现外排泵中SNV总数与敏感和耐药菌株之间存在显著差异.

我们对外排泵编码基因簇中的SNV进行了更详细的分析, 在双重耐药性*H. pylori*菌株中发现一个突变的SNV. 在5株克拉霉素及左氧氟沙星耐药的菌株中, HP0970中存在C111T突变而在5株敏感菌株中未发现该突变. 没有发现敏感菌株中突变而双重耐药菌株中不突变的位点. 这些结果表明外排泵基因中的突变SNV可能有助于菌株对抗生素的耐药性分布.

3 讨论

目前*H. pylori*感染的治疗方法主要基于质子泵抑制剂与阿莫西林和克拉霉素等抗生素联用^[9], 但标准的三联疗法的治愈率已逐渐降低到不可接受的水平^[10]. 共识指出^[11], 当克拉霉素耐药率高于15%-20%时, 不应使用三联疗法来治疗*H. pylori*感染, 应考虑其他治疗方案. 克拉霉素及左氧氟沙星是根除*H. pylori*感染的常用药物, 然而这两种药物的广泛使用导致*H. pylori*原发性耐药的增加. 一项研究表明, *H. pylori*对常用抗生素的三重耐药率达到了7.8%^[12].

本研究药敏试验表明, 丽水地区克拉霉素及左氧氟沙星的耐药率都达到了40%以上, 高于浙江省地区的平均水平(克拉霉素16.1%, 左氧氟沙星19.5%)^[13]. 说明近些年这两种抗生素在丽水地区一直在广泛使用, 应高度重视抗生素的应用, 防止滥用.

*H. pylori*菌株中23S *rRNA*基因及*gyrA*基因位点突变与菌株对克拉霉素及左氧氟沙星产生耐药是目前的

表 1 *H. pylori*临床分离菌株药敏结果

		左氧氟沙星	
		耐药	敏感
克拉霉素	耐药	5	17
	敏感	16	13

H. pylori: 幽门螺杆菌.

已知机制, 此外, *H. pylori*对抗生素耐药性似乎与其他因素有关, 例如对克拉霉素产生耐药性还与菌株*rRNA*甲基化酶的产生^[14], 大环内酯灭活酶的作用以及主动外排泵基因突变有关^[15], 这些在多种细菌中都有描述, 但缺乏其他遗传机制的证据. 还有一些研究表明, 其他细菌遗传因素也可能导致耐药性增加^[16]. 但是, 尚无有关*H. pylori*其他细菌因素的遗传证据.

应用PCR方法检测*H. pylori* 23S *rRNA*及*gyrA*基因中的突变, 确认了这些突变结果与药敏结果相同. PCR利用特异性引物测定突变基因的方法已经比较完善, 可以明确鉴定*H. pylori*菌株对克拉霉素或左氧氟沙星相关耐药基因的突变. PCR是用于鉴定一个碱基对基因变异的有效方法, 但全基因组测序可以同时检测多个碱基对变异. 我们通过基于大规模Illumina的平台对*H. pylori*分离株的整个基因组进行全基因组重测序. 测序结果可以清楚地区分*H. pylori*基因组中的23S *rRNA*及*gyrA*基因中的点突变. 为了未来的*H. pylori*感染治疗有更多方法, 我们需要知道双重耐药菌株外排泵基因的变异是否是菌株耐药性产生的内在因素. RND家族转运蛋白是微生物外排系统的重要组成部分. RND类外排泵是革兰氏阴性菌产生多重耐药的重要原因^[17]. 在*H. pylori* 26695基因组中, 存在编码RND类外排泵的基因, 包括ToIC同源物的四个基因簇HP0605-HP0607(*hefABC*), HP0971-HP0969(*hefDEF*), HP1327-HP1329(*hefGHI*)和HP1489-HP1487^[18]. 本研究发现在双重耐药菌株中的*H. pylori*外排泵系统的四个基因簇(HP0605-HP0607, HP0971-HP0969, HP1327-HP1329和HP1489-HP1487)中存在一个位点突变, 而敏感菌株中没有. 这表明外排泵基因可能有助于微生物耐药性的产生, 这与其他研究结果类似.

本研究探索了双重耐药*H. pylori*的外排泵的重要性. 外排泵基因的特定变异与克拉霉素和左氧氟沙星耐药表型之间存在联系^[5,6]. 这些基因突变的确切机制尚不清楚. 内在耐药性的可能机制包括减少药物吸收或增加药物外排. 本研究结果表明外排泵基因的变异可能与临床分离物中的药物敏感性相关, 药物耐药的相关基因突变可能引导外排泵基因同时突变. 全基因组测序数据包括目前无法从小规模分析中获得的大量其他信息.

表 2 临床分离株中外排泵基因编码序列变异数

	HP0605	HP0606	HP0607	HP0969	HP0970	HP0971	HP1327	HP1328	HP1329	HP1487	HP1488	HP1489
A1	17	6	38	26	7	11	22	15	28	22	7	25
A2	19	7	32	25	11	12	21	15	36	15	3	23
A3	20	2	32	25	7	11	24	14	30	20	6	22
A4	17	3	27	24	9	10	23	12	32	17	4	25
A5	20	9	36	23	7	11	22	14	30	16	5	19
B2	20	8	30	25	9	15	22	14	30	18	4	25
B3	16	6	22	26	14	14	21	13	33	16	5	19
B4	20	8	32	23	8	9	23	11	38	16	4	29
B5	17	9	32	26	14	8	23	15	26	18	5	24



图 1 耐药基因突变位点分析。

4 结论

我们通过PCR的方法验证了*H. pylori*耐药性的基因型,并揭示了全基因组测序在*H. pylori*耐药分析中的潜力。研究结果表明了克拉霉素及左氧氟沙星耐药性菌株中外排泵基因变异的重要作用。由于我们入组患者数据量较小,结果还需进一步验证。因此可以使用全基因组方法进行进一步分析大数据的双重耐药*H. pylori*临床分离菌株以获得更准确的数据。

文章亮点

实验背景

目前抗生素耐药已经成为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染患者根除失败的主要原因。外排泵基因与抗生素耐药存在一定的关联性,先前的不少研究已证实外排泵基因过表达可以增加菌株的耐药性的。

实验动机

外排泵基因的研究可以解决当前*H. pylori*耐药基因研究不足的缺点,研究结果对未来幽门螺杆菌耐药机制起到一定的数据支持作用。

实验目标

本实验将找出双重耐药菌株与敏感菌株外排泵基因存在的变异,探索外排泵基因的变异与双重耐药菌株耐药性产生的内在联系。

实验方法

用¹³C呼气试验及药敏试验筛选出双重耐药菌株及敏感菌株,用特异性PCR的常规方法进行耐药基因突变位点的验证,基于MiSeq平台,分别对双重耐药菌株及敏感菌株进行全基因组测序,以鉴定双重耐药表型与敏感表型的外排泵基因的单核苷酸变体(SNV)并进行分析。

实验结果

筛选出双重耐药菌株5株,特异性PCR耐药基因突变位点验证发现5株临床双重耐药菌株中检测到23S rRNA基因及gyrA的点突变,而在5株临床敏感菌株中未检测到。在5株克拉霉素及左氧氟沙星耐药的菌株中,HP0970中存在C111T突变而在5株敏感菌株中未发现该突变。

实验结论

本研究发现在双重耐药菌株中的*H. pylori*外排泵系统的四个基因簇中存在一个C111T位点突变,而敏感菌株中没有。这表明外排泵基因可能有助于微生物耐药性的产生。

展望前景

利用全基因组测序对*H. pylori*外排泵基因进行研究,揭示了全基因组测序在*H. pylori*耐药分析中的潜力,对于*H. pylori*基因型与表型的关系有了新的认识,对未来关于*H. pylori*耐药机制的研究起到一定的数据支持作用。

5 参考文献

- Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P, Graham DY, Wong VWS, Wu JCY, Chan FKL, Sung JY, Kaplan GG, Ng SC. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology* 2017; 153: 420-429 [PMID: 28456631 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.022]
- 谢晶日, 孙涛, 张冰. 根除幽门螺杆菌失败原因分析及新的治疗对策探讨. 中国中西医结合学会 2017
- 胡美莲, 高阳, 李晓露, 王丽波. 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药性检测研究进展. 中国实验诊断学 2018; 22: 1474-1476
- Lee JW, Kim N, Nam RH, Park JH, Kim JM, Jung HC, Song IS. Mutations of *Helicobacter pylori* associated with fluoroquinolone resistance in Korea. *Helicobacter* 2011; 16: 301-310 [PMID: 21762270 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00840.x]
- Hashemi SJ, Sheikh AF, Goodarzi H, Yadyad MJ, Seyedian SS, Aslani S, Assarzagdegan MA. Genetic basis for metronidazole and clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with gastroduodenal disorders. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 535-543 [PMID: 30881059 DOI: 10.2147/IDR.S192942]
- Liu ZQ, Zheng PY, Yang PC. Efflux pump gene hefA of *Helicobacter pylori* plays an important role in multidrug resistance. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5217-5222 [PMID: 18777600 DOI: 10.3748/wjg.14.5217]
- Blair JM, Piddock LJ. Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Curr Opin Microbiol* 2009; 12: 512-519 [PMID: 19664953 DOI: 10.1016/j.mib.2009.07.003]
- Rosner JL, Martin RG. Reduction of cellular stress by TolC-dependent efflux pumps in *Escherichia coli* indicated by BaeSR and CpxARP activation of spy in efflux mutants. *J Bacteriol* 2013; 195: 1042-1050 [PMID: 23264577 DOI: 10.1128/JB.01996-12]
- Cuesta Hernández M, Pérez Peña C, Matía Martín P, Cabrerizo García L, Pérez-Ferre N, Sánchez-Pernaute A, Torres García A, Rubio Herrera MÁ. *Helicobacter pylori* (hp) infection in obese patients undergoing roux-en-y gastric bypass; efficacy of two different treatment regimens in hp eradication. *Nutr Hosp* 2015; 32: 600-605 [PMID: 26268087 DOI: 10.3305/nh.2015.32.2.9177]
- 施杨利, 陈耀明. 含铋剂的四联用药方案治疗老年幽门螺杆菌相关性消化性溃疡的疗效分析. 山西医药杂志 2017; 46: 682-684 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2017.06.028]
- 刘文忠, 谢勇, 陆红, 成虹, 曾志荣, 周丽雅, 陈辉, 王江滨, 杜奕奇, 吕农华. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 中华内科杂志 2017; 56: 532-545 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.07.014]
- Su P, Li Y, Li H, Zhang J, Lin L, Wang Q, Guo F, Ji Z, Mao J, Tang W, Shi Z, Shao W, Mao J, Zhu X, Zhang X, Tong Y, Tu H, Jiang M, Wang Z, Jin F, Yang N, Zhang J. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in the Southeast Coastal Region of China. *Helicobacter* 2013; 18: 274-279 [PMID: 23418857 DOI: 10.1111/hel.12046]
- 周晴接, 潘杰. 浙江地区幽门螺杆菌临床分离株的耐药性. 世界华人消化杂志 2014; 3552-3556
- Nash KA, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr. A novel gene, erm(41), confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of *Mycobacterium abscessus* but is absent from *Mycobacterium chelonae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 1367-1376 [PMID: 19171799 DOI: 10.1128/AAC.01275-08]
- Roberts MC. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 282: 147-159 [PMID: 18399991 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01145.x]
- Tanuma M, Rimbara E, Noguchi N, Boonyaritchaikij S, Kuwabara K, Fukunaga Y, Sasatsu M. Analysis of clarithromycin resistance and CagA status in *Helicobacter pylori* by use of feces from children in Thailand. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 4144-4145 [PMID: 19794037 DOI: 10.1128/JCM.00786-09]
- 程国军, 罗莎, 谢婧, 吴和涛. 豌豆根瘤菌RND外排转运基因tpaA的功能研究. 中南民族大学学报: 自然科学版 2019; 38: 199-203
- 吴明慧, 黄赞松, 黄衍强. 幽门螺杆菌外排泵的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1630-1635 [DOI: 10.11569/wcjd.v21.i17.1630]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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.

影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析

郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明

郭丽娜, 天津医科大学第二医院肝胆胰外科 天津市 300211

李云超, 孙占峰, 王月明, 天津市宁河区医院普外科 天津市 301500

闫海洋, 李辉, 武警后勤学院附属医院救援研究所 天津市 300162

郭丽娜, 研究方向为腹腔肿瘤。

基金项目: 天津市科技支撑计划项目, No. 15ZXLCY00040; 武警后勤学院基础研究项目, No. WHJ201721.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由郭丽娜, 李云超完成; 病例选择和临床资料整理由孙占峰, 闫海洋和李辉完成; 课题设计、文章修改和审阅由王月明完成。

通讯作者: 王月明, 主任医师, 301500, 天津市宁河区芦台镇沿河路23号, 宁河区医院普外科. 1601638258@qq.com

收稿日期: 2021-01-28

修回日期: 2021-02-16

接受日期: 2021-03-15

在线出版日期: 2021-05-08

Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery

Li-Na Guo, Yun-Chao Li, Zhan-Feng Sun, Hai-Yang Yan, Hui Li, Yue-Ming Wang

Li-Na Guo, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Yun-Chao Li, Zhan-Feng Sun, Yue-Ming Wang, Department of General Surgery, Tianjin Ninghe District Hospital, Tianjin 301500, China

Hai-Yang Yan, Hui Li, Rescue Research Institute of Affiliated Hospital of Logistical College of Armed Police, Tianjin 300162, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Support Plan Project, No. 15ZXLCY00040; Basic Research Project of Logistical Institute of Armed Police, No. WHJ201721.

Corresponding Author: Yue-Ming Wang, Chief Physician, Department of General Surgery, Ninghe District Hospital, No. 23 Yanhe Road, Lutai Town, Ninghe District, Tianjin 301500, China. 1601638258@qq.com

Received: 2021-01-28

Revised: 2021-02-16

Accepted: 2021-03-15

Published online: 2021-05-08

Abstract BACKGROUND

Primary retroperitoneal tumors are mostly malignancies with a variety of etiologies. Parameters such as tumor grade, range of resection, and tumor integrity have been shown to influence prognosis.

AIM

To identify the risk factors for postoperative survival in patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery.

METHODS

Seventy-three patients undergoing radical retroperitoneal tumor surgery were divided into a tumor-free survival group (47 cases) and a recurrence-caused death group (26 cases). Factors affecting patients' tumor-free survival after surgery were collected and analyzed, including age, tumor long diameter, lymph node metastasis, first symptom, tumor type, tumor differentiation degree, and complication with other systemic diseases.

RESULTS

The 5-year tumor-free survival rate for primary retroperitoneal tumors was 64.4% (47/73). Single factor analysis showed that age ($P < 0.05$), tumor long diameter ($P < 0.05$), lymph node metastasis ($P < 0.05$), first symptom ($P < 0.05$), tumor type ($P < 0.05$), and tumor differentiation

degree ($P < 0.05$) were significantly associated with retroperitoneal tumor surgery disease-free survival rate. Multivariate Cox regression analysis indicated that first symptom ($P < 0.05$) and tumor type ($P < 0.05$) were independent risk factors affecting postoperative tumor-free survival in retroperitoneal tumor patients.

CONCLUSION

First symptom and tumor type are the key factors affecting the postoperative tumor-free survival of retroperitoneal tumor patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary retroperitoneal tumor; Prognosis; Survival rates; Risk factors; First symptoms; Tumor differentiation

Citation: Guo LN, Li YC, Sun ZF, Yan HY, Li H, Wang YM. Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 461-466

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/461.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.461>

摘要

背景

原发性腹膜后肿瘤多为恶性肿瘤, 其病因多种多样. 分级、切除范围和肿瘤完整性等参数已被证明影响预后.

目的

探索影响原发性腹膜后肿瘤手术患者术后生存的危险因素.

方法

73例腹膜后肿瘤根治性手术的患者分为无瘤生存组(47例)、复发死亡组(26例). 收集并分析影响患者术后无瘤生存的因素, 包括年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型、肿瘤分化程度以及是否合并其他系统疾病等.

结果

原发性腹膜后肿瘤术后5年无瘤生存率为64.4% (47/73). 对影响原发性腹膜后肿瘤术后无瘤生存率的因素进行单因素分析结果显示: 年龄($P < 0.05$), 肿瘤长径($P < 0.05$), 淋巴结转移($P < 0.05$), 首发症状($P < 0.05$), 肿瘤类型($P < 0.05$), 肿瘤分化程度($P < 0.05$)共6项因素与腹膜后肿瘤术后无瘤生存率相关. 多因素Cox回归分析结果提示首发症状($P < 0.05$)以及肿瘤类型($P < 0.05$)影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的独立危险因素.

结论

首发症状以及肿瘤类型是影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的关键.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 原发性腹膜后肿瘤; 预后; 生存率; 危险因素; 首发症状; 肿瘤分化

核心提要: 由于腹膜后肿瘤发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难. 为此, 本研究总结了影响PRT手术患者生存率的因素以期临床治疗提供指导意义.

文献来源: 郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明. 影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析. *世界华人消化杂志* 2021; 29(9): 461-466

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/461.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.461>

0 引言

原发性腹膜后肿瘤(primary retroperitoneal tumor, PRT)主要来源于腹膜后间隙的脂肪、疏松结缔组织、筋膜、肌肉、血管、神经、淋巴组织以及胚胎残留组织. PRT组织学类型繁多, 按组织学来源可分为: (1)间叶组织肿瘤; (2)神经源性肿瘤; (3)泌尿生殖系统残余肿瘤; (4)胚胎残余组织; (5)来源不明或不能分类. PRT以恶性肿瘤为主, 约占80%. PRT中儿童以畸胎瘤和神经母细胞瘤多见, 成人以神经源性良性肿瘤、平滑肌肉瘤多见^[1]. 由于腹膜后解剖位置的特殊性, 腹膜后肿瘤患者的临床表现多不典型, 不易早期明确诊断. 手术完全切除肿瘤是PRT的唯一有可能根治的治疗方法, 包括开腹手术和腹腔镜手术. 由于PRT发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难. 为此, 本研究总结了影响PRT手术患者生存率的因素以期临床治疗提供指导意义.

1 材料和方法

1.1 材料 2010-10/2015-10期间, 根据纳入和排除标准筛选出本院PRT住院行根治性手术的患者73例. 纳入标准: 入院时明确腹膜后肿瘤诊断, 手术根治性切除, 术后病理明确为原发性腹膜后肿瘤, 非腹膜后器官来源或转移至腹膜后的肿瘤, 全部病例无手术禁忌症行开腹或腹腔镜手术治疗, 全部病例住院病历资料完整, 全部术后73例完成随访并取得知情同意. 排除标准: 术后病理为腹膜后器官来源, 术后病理为转移至腹膜后的肿瘤, 既

往长期心肺慢性疾病, 不能耐受手术, 在随访过程中失访、退出或更改治疗方案的患者。根据随访将5年内没有肿瘤复发和死亡的患者分为无瘤生存组(47例), 将5年内出现复发、二次手术和死亡的患者分为复发死亡组(26例)。

1.2 方法 73例PRT根治手术患者术前诊断通过影像学检查明确, 并由术中所见和术后病理证实。所有两组病例资料经详细统计并行标准化后录入电子计算机数据库。以PRT术后结局(生存或复发死亡)为因变量。以对结局可能影响因素包括性别、年龄、BMI、手术方式、肿瘤部位、肿瘤分化程度、肿瘤病理类型、肿瘤分期、手术时间、肿瘤长径、CEA、CA19-9、吸烟史、饮酒史、是否合并其他系统疾病、是否淋巴结转移、是否远处转移、手术类型(开放手术或者腹腔镜手术)等18项为自变量。其中包括术前影响因素及术后影响因素。术前影响因素主要根据病例病史、体格检查及辅助检查等统计得到, 包括年龄、BMI指数、吸烟史、饮酒史及合并其他系统疾病等因素。术后影响因素主要依据患者术中所见、手术记录和肿瘤病理等资料统计得到等因素。

统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。患者生存分析采用Kaplan-Meier法及Log Rank检验, 计量数据用均数±标准差(mean±SD)表示, 采用单因素分析方法, 计数资料用百分比表示, 行 χ^2 检验, 将单因素分析有统计学意义($P<0.05$)的因素进行多因素Cox回归分析, 分析得出影响腹膜后肿瘤术后无瘤生存率的独立危险因素。

2 结果

2.1 PRT患者术后无瘤生存率分析 通过5年的术后随访, 73例PRT患者术后平均生存(50±17)个月, 其中1年生存率为93.2% (68/73), 3年生存率为78.1% (57/73), 5年生存率为64.4% (47/73) (图1)。

2.2 两组患者一般情况比较 根据PRT患者术后5年随访一般资料(表2, 表3), 无瘤生存组中男性22例, 女性28例; 年龄21-79岁, 平均年龄(55.9±10.5)岁; 术后病理诊断结果显示良性肿瘤患者26例, 恶性肿瘤患者21例。复发死亡组PTH正常组中男性15例, 女性16例; 年龄20-78岁, 平均年龄(50.6±11.9)岁; 术后病理诊断结果显示良性肿瘤患者2例, 恶性肿瘤患者24例。全组资料中良性肿瘤(神经鞘瘤8/28、浆液性囊腺瘤3/28、囊肿3/28等)28例, 恶性肿瘤(脂肪肉瘤17/45、平滑肌肉瘤4/45、粘液肉瘤4/45等)45例。具体病理类型见表1。通过组间比较, 两组患者在性别、体重指数、吸烟史、饮酒史、CEA、CA19-9、是否远处转移、手术类型、合并其他疾病之间比较有差异($P>0.05$) (见表2)。而两组患者在年龄、肿

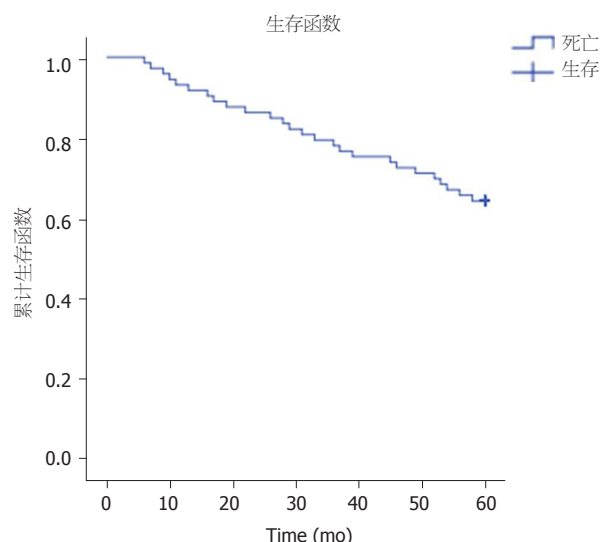


图1 PRT患者术后Kaplan生存曲线。PRT: 原发性腹膜后肿瘤。

瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤分化程度和肿瘤类型之间存在差异($P<0.05$) (表3)。

2.3 影响PRT术后无瘤生存率的多因素分析结果 将上述单因素分析得到的年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型、肿瘤分化共6项有统计学意义的因素作为自变量进行多因素Cox回归分析结果首发症状及肿瘤类型为影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素(表4)。

3 讨论

在本研究中, 通过随访原发性腹膜后肿瘤术后患者的生存情况, 无瘤生存组与复发死亡组相比, 首发症状、淋巴结转移以及肿瘤类型是影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的关键。由于腹膜后间隙位置较深, 缺乏骨性结构及实质性的边缘, 空间的可扩张性使得腹膜后肿瘤患者临床表现多不典型。腹膜后肿瘤多生长缓慢, 发生远处转移者极少, 这种特性决定了腹膜后肿瘤在长大到一定程度时方出现临床症状^[2]。辅助检查对腹膜后肿瘤的患者诊断有很大帮助, 随着人们健康意识的上升以及体格检查的普遍性, 往往能及早发现肿瘤, 这对腹膜后肿瘤的初步诊断以及决定手术方式具有重要意义^[3]。本研究体检发现患者19例(26%), 且体检发现肿瘤的患者比出现疾病症状就诊的患者表现出更高的生存率(95% vs 53%)。

由于腹膜后组织的组成繁杂, 导致腹膜后肿瘤病理类型的多样性, 大体上可分为来源于间叶组织、神经组织、生殖胚胎源性组织以及来源不明的肿瘤四类^[4]。按照生物学行为分为良性肿瘤、恶性肿瘤和交界性肿瘤, 以恶性肿瘤居多, 82%的原发性腹膜后肿瘤为恶性, 18%为良性; 大多数腹膜后肿瘤为恶性, 本组恶性肿瘤占

表 1 原发性腹膜后肿瘤患者术后病理结果

良性肿瘤	例数	恶性肿瘤	例数
神经鞘瘤	8	脂肪肉瘤	17
节细胞神经瘤	2	平滑肌肉瘤	5
副神经节瘤	1	血管肉瘤	1
神经纤维瘤	2	纤维肉瘤	2
脂肪瘤	2	粘液肉瘤	4
Castleman病	2	滑膜肉瘤	1
特发性纤维化	1	横纹肌肉瘤	1
浆液性囊腺瘤	3	混合脂肪肉瘤	3
腺肌病	1	多形性肉瘤	2
孤立性纤维性肿瘤	1	淋巴瘤	2
梭形细胞肿瘤	2	恶性纤维母细胞瘤	4
囊肿	3	粘液囊腺癌	3

表 2 PRT术后无瘤生存率无关联的因素的单因素分析结果

因素	无瘤生存组(47)	复发死亡组(26)	t/χ^2 值	P值
性别(n)			$\chi^2 = 0.15$	0.7
男	22	15		
女	28	16		
BMI (n)			$\chi^2 = 2.477$	0.29
≥24	15	7		
18.5≤BMI<24	15	13		
<18.5	17	6		
吸烟史(n)			$\chi^2 = 0.003$	0.956
有	25	14		
无	22	12		
饮酒史(n)			$\chi^2 = 1.537$	0.215
有	27	11		
无	20	15		
CEA (ng/mL)	10.17 ± 2.16	11.19 ± 2.78	$t = 1.741$	0.086
CA19-9 (U/mL)	80.33 ± 17.57	88.07 ± 16.15	$t = 1.854$	0.068
远处转移(n)			$\chi^2 = 2.024$	0.155
是	5	6		
否	42	20		
手术类型(n)			$\chi^2 = 1.217$	0.27
开放手术	19	14		
腹腔镜手术	28	12		
合并其他疾病(n)	无瘤生存组	复发死亡组	$\chi^2 = 2.321$	0.128
有	22	17		
无	25	9		

PRT: 原发性腹膜后肿瘤.

62%, 低于国外文献报道水平^[5]. 原发性腹膜后肿瘤种类繁多, 文献报道以脂肪组织肿瘤、恶性纤维组织细胞瘤及神经源性肿瘤最常见^[6]. 本研究统计结果依次是脂肪源性肿瘤、神经源性肿瘤、平滑肌肉瘤, 与文献报道基本相同. 腹膜后肉瘤的患者大部分都会复发, 因肿瘤

死亡患者中, 75%都与复发有关^[7]. 有研究表明, 局部复发灶的大小、病灶生长速度以及原发灶的病理类型、病理学级别是影响腹膜后肉瘤局部复发患者预后的独立因素^[8].

原发性腹膜后肿瘤诊治专家共识中指出, 目前尚无

表 3 影响PRT术后无瘤生存率的单因素分析结果

组别	无瘤生存组47	复发死亡组26	t/χ^2 值	P
年龄(岁)	55.9 ± 10.5	50.6 ± 11.9	2.148	0.032
肿瘤长径(cm)			11.123	0.001
≥5 cm	17	20		
<5 cm	30	6		
淋巴转移(n)			9.842	0.002
是	13	17		
否	34	9		
首发症状(n)			11.414	0.003
腹部肿块	16	13		
腹痛腹胀	12	12		
体检发现	19	1		
肿瘤分化程度(n)			13.277	<0.05
高-中分化	28	4		
低-差分化	19	22		
肿瘤类型(n)			16.059	<0.05
良性肿瘤	26	2		
恶性肿瘤	21	24		

PRT: 原发性腹膜后肿瘤。

表 4 73例PRT患者临床病理特征多因素Cox回归分析结果

变量	偏回归系数	标准误	相对危险度	P 值
年龄	0.005	0.021	0.067	0.796
肿瘤直径	-1.518	1.136	1.787	0.181
淋巴结转移	-0.710	0.980	0.526	0.000
首发症状	-2.565	0.689	13.867	0.000
肿瘤类型	6.424	1.486	18.867	0.000
肿瘤分化	0.995	0.905	1.210	0.271

PRT: 原发性腹膜后肿瘤。

证据证实辅助化疗对完整切除的腹膜后肉瘤患者有益。但在晚期或转移性软组织肉瘤的姑息性治疗方法中, 化疗的作用也越来越受临床医师重视。随着对脂肪肉瘤分子学突变机制的不断研究, 新型的靶向药物逐渐走入人们的视野。与传统非特异性细胞毒性化疗相反, 这些新疗法大部分是针对特定的、异常遗传和分子途径的靶向药物。如与DNA小沟结合, 针对FUS-CHOP基因融合型黏液性脂肪肉瘤的曲贝替定, 微管抑制剂甲磺酸艾瑞布林, p53-MDM2抑制剂RG7112、RG7388等靶向药物的出现为RPLPS患者摆脱反复外科手术的疾苦带来希望^[9-11]。

4 结论

综上所述, 原发性腹膜后肿瘤因其腹膜后间隙位置特

殊、临床表现不典型, 体检及早发现腹膜后肿瘤对患者预后具有重要意义。治疗以外科手术切除治疗为主, 肿瘤的病理类型是指导手术方案的关键。

文章亮点

实验背景

Cox回归分析了73例原发性腹膜后肿瘤(primary retroperitoneal tumor, PRT)患者的各项因素, 结果得出首发症状及肿瘤类型为影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素。首发症状的出现意味着更低的生存率, 因此, 本研究体现了体检对PRT患者预后的重要意义。由于腹膜后肿瘤发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难。

实验动机

本研究总结了影响PRT手术患者生存率的危险因素以期为临床治疗提供指导意义。

实验目标

探索影响PRT手术患者术后生存的危险因素。

实验方法

对在本院接受治疗并诊断为PRT并接受肿瘤切除的73例患者进行回顾性研究, 来评估患者术后无瘤生存的独立危险因素。

实验结果

PRT术后5年无瘤生存率为64.4% (47/73)。年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型和肿瘤分化程度与PRT术后无瘤生存率相关, 并且, 首发症状和肿瘤类型是影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素。

实验结论

首发症状以及肿瘤类型是影响PRT患者术后无瘤生存率的关键。

展望前景

随着对PRT分子学突变机制的不断研究, 新型的靶向药物逐渐走入人们的视野。这些针对特定的、异常遗传和分子途径靶向药物的新疗法, 有望为PRT患者摆脱反复外科手术的疾苦带来希望。

5 参考文献

- 1 陈锐, 吴涵潇, 余永伟, 吕晨, 孙颖浩, 冯翔. 腹膜后占位的病理诊断-单中心大样本腹膜后占位分析. 临床与实验病理学杂志 2020; 36: 842-844 [DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2020.07.023]
- 2 Lou J, Moten AS, Reddy SS, Howell KJ, Movva S, von Mehren M,

- Farma JM. Retroperitoneal Sarcomas: Does Laterality Matter? *J Surg Res* 2019; 244: 34-41 [PMID: 31279261 DOI: 10.1016/j.jss.2019.05.016]
- 3 辛星, 夏志军, 宋悦. 原发性盆腔腹膜后肿瘤的诊治进展. *国际妇产科学杂志* 2013; 40: 160-163
- 4 Kim MK, Im CM, Oh SH, Kwon DD, Park K, Ryu SB. Unusual presentation of right-side accessory spleen mimicking a retroperitoneal tumor. *Int J Urol* 2008; 15: 739-740 [PMID: 18786195 DOI: 10.1111/j.1442-2042.2008.02078.x]
- 5 Garcia-Ortega DY, Villa-Zepeda O, Martinez-Said H, Cuellar-Hübbe M, Luna-Ortiz K. Oncology outcomes in Retroperitoneal sarcomas: Prognostic factors in a Retrospective Cohort study. *Int J Surg* 2016; 32: 45-49 [PMID: 27268726 DOI: 10.1016/j.ijsu.2016.06.001]
- 6 Leão P, Vilaça S, Oliveira M, Falcão J. Giant recurrent retroperitoneal liposarcoma initially presenting as inguinal hernia: Review of literature. *Int J Surg Case Rep* 2012; 3: 103-106 [PMID: 22288059 DOI: 10.1016/j.ijscr.2011.03.009]
- 7 Strauss DC, Hayes AJ, Thomas JM. Retroperitoneal tumours: review of management. *Ann R Coll Surg Engl* 2011; 93: 275-280 [PMID: 21944791 DOI: 10.1308/003588411X571944]
- 8 Park JO, Qin LX, Prete FP, Antonescu C, Brennan MF, Singer S. Predicting outcome by growth rate of locally recurrent retroperitoneal liposarcoma: the one centimeter per month rule. *Ann Surg* 2009; 250: 977-982 [PMID: 19953716 DOI: 10.1097/sla.0b013e3181b2468b]
- 9 Lewis JJ, Leung D, Woodruff JM, Brennan MF. Retroperitoneal soft-tissue sarcoma: analysis of 500 patients treated and followed at a single institution. *Ann Surg* 1998; 228: 355-365 [PMID: 9742918 DOI: 10.1097/00000658-199809000-00008]
- 10 Blay JY, Casali P, Nieto A, Tanović A, Le Cesne A. Efficacy and safety of trabectedin as an early treatment for advanced or metastatic liposarcoma and leiomyosarcoma. *Future Oncol* 2014; 10: 59-68 [PMID: 23987833 DOI: 10.2217/fon.13.163]
- 11 Ding Q, Zhang Z, Liu JJ, Jiang N, Zhang J, Ross TM, Chu XJ, Bartkovitz D, Podlaski F, Janson C, Tovar C, Filipovic ZM, Higgins B, Glenn K, Packman K, Vassilev LT, Graves B. Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development. *J Med Chem* 2013; 56: 5979-5983 [PMID: 23808545 DOI: 10.1021/jm400487c]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点

刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲

刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲, 天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心 天津市 300170

刘芳, 副主任医师. 主要从事肝脏及消化系统疾病研究.

基金项目: 天津重大疾病预防科技重大专项项目, No.19ZXDBSY00030.

作者贡献分布: 刘芳与叶青对此文所作贡献均等; 此课题由刘芳、叶青、梁静、向慧玲设计; 研究过程由刘芳、叶青、梁静、曹影影、史利利、赵雪操作完成; 数据分析由刘芳、叶青、梁静、曹影影完成; 本论文写作由刘芳、叶青及梁静完成.

通讯作者: 向慧玲, 主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院消化肝病科, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心. lffyy213@sohu.com

收稿日期: 2021-01-28

修回日期: 2021-02-20

接受日期: 2021-03-26

在线出版日期: 2021-05-08

Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease

Fang Liu, Qing Ye, Jing Liang, Ying-Ying Cao, Li-Li Shi, Xue Zhao, Hui-Ling Xiang

Fang Liu, Qing Ye, Jing Liang, Ying-Ying Cao, Li-Li Shi, Xue Zhao, Hui-Ling Xiang, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, Tianjin 300170, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Plan Project, No.19ZXDBSY00030.

Corresponding author: Hui-Ling Xiang, Chief Physician, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, No. 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. lffyy213@sohu.com

Received: 2021-01-28

Revised: 2021-02-20

Accepted: 2021-03-26

Published online: 2021-05-08

Abstract BACKGROUND

With the aging of global population and the increase in the incidence of NAFLD, the research of elderly NAFLD population is particularly important.

AIM

To study the nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) to provide evidence for disease evaluation, clinical monitoring, and treatment intervention.

METHODS

One hundred and eighteen elderly patients (≥ 60 years) with NAFLD were enrolled at Department of Gastroenterology Tianjin Third Central Hospital from January 2017 to January 2019. A non-NAFLD group consisting of non-NAFLD volunteers ≥ 60 years was also included. Nutritional status and energy metabolism were evaluated with a body composition analyzer and metabolic cart (anthropometric measurement, clinical biochemical examination, etc.).

RESULTS

Body composition analysis showed that the waist-to-hip fat ratio and body fat content of the NAFLD group were significantly higher (waist-to-hip fat ratio 0.95 vs 0.92, body fat 27.20 vs 19.60 kg, $P < 0.05$) compared with those of the non-NAFLD group. The results of metabolic vehicle showed that the resting energy expenditure (REE) of the NAFLD group was increased (1769.00 vs 1706.00 vs 1323.00). In elderly NAFLD patients, body fat, waist-to-hip fat ratio, basal metabolism, and REE in the mild fatty liver group were significantly lower than those in the

moderate-severe fatty liver group.

CONCLUSION

In elderly patients with NAFLD, there are nutritional imbalance and energy metabolism disorder. The nutritional status and energy metabolism of elderly NAFLD patients can be comprehensively evaluated and monitored with a body composition analyzer and metabolic vehicle, so as to provide evidence for disease intervention.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Elderly; Bioelectric impedance analysis; Resting energy expenditure; Nutritional and metabolic status

Citation: Liu F, Ye Q, Liang J, Cao YY, Shi LL, Zhao X, Xiang HL. Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 467-473

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/467.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.467>

摘要

背景

随着全球人口老龄化和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)增长, 老年NAFLD人群特点的研究尤为重要。

目的

观察老年NAFLD患者的营养状态和能量代谢特点。

方法

回顾性分析2017-01/2019-01天津市第三中心医院消化科就诊的NAFLD老年患者118例, 进行人体成分分析仪分析及应用代谢车评估营养及能量代谢指标, 与老年非脂肪肝组进行比较。统计分析中正态分布计量资料采用独立样本 t 检验, 非正态分布计量资料采用Mann-Whitney U 检验, 二元Logistic回归分析老年NAFLD发生的危险因素。

结果

人体成分分析显示老年NAFLD组腰臀脂肪比、体脂肪含量较老年非脂肪肝组明显增加(腰臀脂肪比0.95 vs 0.92, 体脂肪27.20 kg vs 19.60 kg, $P<0.005$); 代谢车测定结果显示老年NAFLD组静息能量消耗均高于老年非脂肪肝组(1769.00 kcal/d vs 1323.00 kcal/d, $P<0.05$); 进一步比较老年NAFLD患者轻度脂肪肝组与中重度脂肪肝组, 轻度脂肪肝组体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗明显低于中重度脂肪肝患者。

结论

在老年NAFLD患者中存在营养失衡和能量代谢紊乱, 随脂肪肝程度加重更为显著, 通过人体成分分析仪和代谢车以综合评价和监测老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 为疾病干预治疗提供依据。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 老年; 生物电阻抗分析; 静息能量消耗; 营养及能量代谢

核心提要: 随着全球人口老龄化和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)增长, 老年NAFLD人群特点的研究尤为重要。在老年NAFLD患者中存在营养失衡和能量代谢紊乱, 随脂肪肝程度加重更为显著, 通过人体成分分析仪和代谢车以综合评价和监测老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 为疾病干预治疗提供依据。

文献来源: 刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲. 老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点. *世界华人消化杂志* 2021; 29(9): 467-473

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/467.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.467>

0 引言

目前非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球普遍关注的医学问题和社会问题^[1], NAFLD以营养过剩和代谢紊乱为特点, 与代谢综合征密切相关^[2,3], 其发生率逐年增加, 部分患者可进展成为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 尽管心血管疾病是NAFLD患者死亡的主要原因, 而肝脏相关死亡率呈明显增加趋势^[4-6], 在未来几十年中, NAFLD可能会成为晚期肝病的主要病因^[7]. 随着人口老龄化的加速, 未来老年NAFLD患者数量将继续增加, 因此对老年NAFLD人群特点的研究至关重要. 在本研究中着重探讨老年NAFLD人群的体脂肪相关指标、骨骼肌含量和基础代谢、静息能量消耗的变化, 为老年NAFLD的疾病评估和临床监测、干预治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 以2017-01/2019-01天津市第三中心医院消化科就诊的B超符合脂肪肝的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的老年患者为研究对象, 依腹部B超结果分为轻度脂肪肝组和中重度脂肪肝组。

纳入标准: (1)NAFLD入选对象诊断依据2018年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病组修订

的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》^[8]的诊断标准; (2) 年龄 ≥ 60 岁; (3) 临床资料完整。

排除标准: (1) 长期饮酒史, 酒精量男 >30 g/d, 女 >20 g/d, 连续5年以上; (2) 合并有病毒性肝炎、药物性肝损伤、自身免疫性肝病、遗传性肝病; 肝硬化; (3) 合并恶性肿瘤、其他严重心、肺、肾等重要脏器疾病、感染性疾病、甲状腺疾病、贫血; (4) 失访或数据不完整的患者。

将同时期进行门诊检查的 ≥ 60 岁老年非脂肪肝组作为对照组, 符合上述排除标准。

本研究获得天津市第三中心医院伦理委员会审查通过。所有纳入人员均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 人体指标检测: 测量身高、体重、腰围(取通过腋中线肋弓最低点和髂前上嵴最高点的中点沿腰围一周的距离)、臀围(沿臀部最膨隆处测量的距离), 计算腰臀比及身体质量指数(body mass index, BMI)。

1.2.2 临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测: 取血前24 h内禁止服用降脂药物, 禁食高脂肪食物和酒类; 检测临床生化学指标, 如血糖(glucose, GLU)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)、血脂分析、游离脂肪酸(free fat acid, FFA)、肝功能[包括丙氨酸基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)]、肾功能[包括肌酐(creatinine, Cr)], 其中血脂分析包括甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、极低密度脂蛋白胆固醇(very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)。无创肝脏脂肪评估(受控衰减参数controlled attenuation parameter, CAP)采用瞬时弹性成像技术进行肝脏脂肪含量检测(设备型号为Fibrotouch-B)。

1.2.3 人体成分分析测定: 采用韩国产BiosSpace Inbody 720型人体成分分析仪(多频生物电阻抗法)测定细胞内水、细胞外水、身体细胞量、骨矿物量、骨骼肌、蛋白质、脂肪、腰臀脂肪比含量等情况。

1.2.4 代谢车的测定: 采用美国SensorMedics公司生产的Vmax229全自动肺功能诊断及代谢检测系统(简称代谢车)进行基础代谢测定, 经气体分析装置分析吸进及呼出气体中 O_2 和 CO_2 浓度, 计算出该时间段内的耗氧量(VO_2)和产生的二氧化碳(VCO_2), 输入24 h尿总氮值(UN), 根据Weir公式: $[3.941(VO_2) + 1.11(VCO_2)] \times 1.44 - 2.17(UN)$, 计算出实测的静息能量消耗(rest energy expenditure, REE, Kcal/day)。

统计学处理 采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计数资料采用构成比或率(%)进行统计描述, 组间比较采用 χ^2 检验; 正态分布的计量资料用(mean \pm SD)表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 非正态分布的计量资料应用中位数 $M(P_{25}-P_{75})$ 表示, 两组间比较采用非参数秩和检验(Mann-Whitney U 检验), 采用二元Logistic回归分析老年NAFLD发生的危险因素。所有的统计分析均基于双侧假设检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究人群基本特征、临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测比较 纳入118例老年NAFLD患者为研究对象, 其中男46例, 女72例, 年龄60-83岁, 平均71.35岁。表1显示了研究人群的基本参数。在老年NAFLD组及老年非脂肪肝组间性别均无统计学差异; 老年NAFLD组BMI及腰臀比、腰围、臀围均高于老年非脂肪肝组(P 值均 < 0.05); 临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测结果, 老年NAFLD组GLU、HbA1c、TG、VLDLC、CAP均高于老年非脂肪肝组($P < 0.05$)。

2.2 研究人群的人体成分分析及代谢指标比较 表2中人体成分分析及代谢率指标结果显示, 老年NAFLD组细胞内水、细胞外水、身体细胞量、蛋白质、体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗均明显高于老年非脂肪肝组($P < 0.05$), 骨骼肌呈下降趋势($P = 0.058$)。

2.3 老年NAFLD发生的危险因素分析 在研究的老年人群中, 应用二元Logistic回归分析结果显示, 在校正性别、年龄、生化学指标等变量后, BMI、腰围、体脂肪、腰臀脂肪比是老年NAFLD发生的危险因素, 结果见表3。

2.4 老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间比较 本研究老年NAFLD患者中, 在轻度脂肪肝组及中重度脂肪肝组的年龄及性别均无统计学差异(年龄70岁 vs 73岁, $P = 0.055$; 男性比例37.21% vs 40.00%, $P = 0.765$); 轻度脂肪肝组BMI、腰臀比、腰围、臀围低于中重度脂肪肝组(P 值均 < 0.05), 结果见图1; 两组生化学指标比较见图2, 其中TG、VLDLC明显低于中重度脂肪肝组(P 值分别为0.001和0.006), HDLC则高于中重度脂肪肝组($P = 0.031$); 表4显示在人体成分分析的指标中, 轻度脂肪肝组细胞内水、细胞外水、身体细胞量、蛋白质、基础代谢、体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗与中重度脂肪肝组比较, 则明显降低($P < 0.05$), 中重度老年脂肪肝组骨骼肌含量呈下降趋势($P = 0.068$)。

表 1 研究人群的临床特征比较

	老年NAFLD组(n = 118)	老年非脂肪肝组(n = 40)	t/Z	P值
年龄(年)	71.00(65.00–76.00)	68.00(64.50–71.00)	–0.397	0.691
BMI(kg/m ²)	28.60(26.05–30.70)	24.90(23.40–26.35)	–5.025	0
腰臀比	0.95(0.90–0.99)	0.92(0.88–0.97)	–2.701	0.007
腰围(cm)	95.98 ± 10.42	85.00 ± 3.60	5.3	0
臀围(cm)	101.00(95.50–110.00)	90.00(88.00–91.50)	–3.644	0
GLU(mmol/L)	7.79(5.83–10.26)	5.21(5.04–5.80)	–1.95	0.049
HbA1c	8.30(7.45–10.90)	7.40(7.30–7.80)	–2.248	0.025
TG(mmol/L)	1.73(1.34–2.69)	1.07(1.05–1.56)	–2.213	0.027
TC(mmol/L)	4.84 ± 1.08	4.53 ± 1.00	1.334	0.184
HDLc(mmol/L)	0.91(0.83–1.09)	0.77(0.66–0.92)	–0.045	0.964
LDLc(mmol/L)	2.71 ± 1.25	2.02 ± 0.60	0.366	0.715
VLDLc(mmol/L)	1.11(0.78–1.43)	0.81(0.74–1.11)	–1.986	0.047
FFA(μmol/L)	527.80(430.35–663.80)	547.20(505.10–551.65)	–0.616	0.538
ALT(U/L)	21.00(14.50–36.50)	10.00(8.50–28.50)	–1.77	0.077
Cr(μmol/L)	65.00(51.00–80.50)	56.00(56.00–58.50)	–0.998	0.318
CAP(dB/m)	283.80 ± 35.75	249.33 ± 5.69	4.018	0

BMI: 身体质量指数; GLU: 血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDLc: 高密度脂蛋白胆固醇; LDLc: 低密度脂蛋白胆固醇; VLDLc: 极低密度脂蛋白胆固醇; FFA: 游离脂肪酸; ALT: 丙氨酸基转移酶; Cr: 肌酐; CAP: 受控衰减参数; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病。

表 2 人体成分分析及代谢率指标比较

	老年NAFLD组	老年非脂肪肝组	t/Z	P值
细胞内水	21.19 ± 3.94	18.77 ± 1.47	3.363	0.001
细胞外水	13.58 ± 2.47	12.47 ± 1.53	3.518	0.001
身体细胞量(kg)	30.65 ± 5.89	26.83 ± 2.06	3.518	0.001
骨矿物量(kg)	2.66 ± 0.45	2.63 ± 0.26	1.851	0.066
骨骼肌(kg)	25.19 ± 5.55	26.02 ± 4.17	1.911	0.061
蛋白质(kg)	9.25 ± 1.78	8.10 ± 0.62	3.501	0.001
体脂肪(kg)	27.20(24.00–30.65)	19.60(19.30–23.90)	–4.448	0.000
腰臀脂肪比	0.95 ± 0.05	0.92 ± 0.03	3.002	0.003
基础代谢(kcal/d)	1395.41 ± 191.29	1286.67 ± 87.36	3.556	0.001
静息能量消耗(kcal/d)	1769.00(1546.00–2098.50)	1323.00(1255.00–1336.00)	–2.025	0.043

NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病。

3 讨论

中国老龄化的挑战日益突显, 其中NAFLD问题更为普遍, NAFLD是遗传易感、环境因素和宿主代谢紊乱相互作用导致的复杂疾病, NAFLD发生与代谢综合征互为因果^[9], 尽管NAFLD患者中存在非肥胖型NAFLD^[10], 但是肥胖仍然是NAFLD发生的重要因素, 与NAFLD患病率及其严重程度密切相关。在我们的研究老年NAFLD组肥胖型(BMI≥25 kg/m²)^[11]比例达90%, 提示肥胖型NAFLD为主导, 老年NAFLD患者BMI、腰围、臀围、腰臀比明显升高, 且与老年脂肪肝的严重程度相关, 多因素二元Logistic回归分析结果显示随BMI、腰围

增加发生NAFLD的风险明显增加, 较臀围、腰臀比更能反映老年NAFLD发病风险。

BMI作为评估和诊断肥胖程度的关键指标, 但在人体肌肉及脂肪组织的成分分析却存在一定局限性, 而人体成分分析能够测量肌肉、蛋白、脂肪和细胞内外水分等不同成分的含量, 目前认为生物电阻抗法(bio-electrical impedance analysis, BIA)人体成分分析技术是一个可靠、简便、安全的营养状态及体型判断的无创评估手段^[12]。在我们的研究中, 老年NAFLD患者脂肪组织明显增加, 同时细胞内水、细胞外水、身体细胞量也增加, 其中体脂肪及腰臀脂肪比是老年NAFLD的独立危

表 3 老年NAFLD发生的危险因素分析

老年NAFLD(是/否)	OR (95 % CI)	P值
BMI	1.531 (1.031–2.274)	0.035
腰围	1.129 (1.035–1.231)	0.006
体脂肪	1.363 (1.151–1.614)	0.000
腰臀脂肪比	1.172 (1.004–1.364)	0.044

BMI: 身体质量指数; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

表 4 老年脂肪肝人群中不同程度脂肪肝之间比较

	老年脂肪肝		<i>t/Z</i>	<i>P</i> 值
	轻度脂肪肝组(<i>n</i> = 47)	中重度脂肪肝组(<i>n</i> = 71)		
细胞内水	19.29 ± 3.06	22.74 ± 3.95	−3.604	0
细胞外水	12.36 ± 1.74	14.58 ± 2.55	−3.396	0.001
身体细胞量(kg)	27.63 ± 4.38	33.11 ± 5.87	−3.899	0
骨骼肌(kg)	25.91 ± 6.24	25.03 ± 5.11	1.852	0.068
蛋白质(kg)	8.33 ± 1.32	9.99 ± 1.78	−3.824	0
体脂肪(kg)	24.85(19.88–27.05)	28.70(26.20–33.80)	−5.191	0
腰臀脂肪比	0.92 ± 0.05	0.97 ± 0.04	−5.277	0
基础代谢(kcal/d)	1299.27 ± 140.81	1473.74 ± 193.25	−3.797	0
静息能量消耗(kcal/d)	1686.50(1504.50–1828.50)	1802.00(1663.00–2155.00)	−2.531	0.011

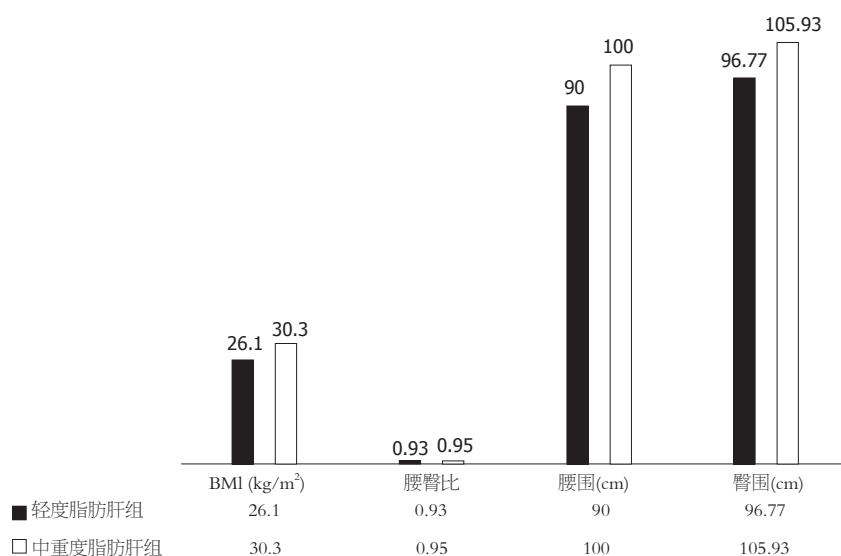


图 1 老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间人体指标比较. NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

险因素, 与老年NAFLD发生密切相关, 老年脂肪肝患者体脂分布异常, 随着体脂肪、腰臀脂肪比的增加, 脂肪肝程度明显加重. 先前有研究显示随BMI增加则机体具有更多的细胞(如脂肪细胞等), Balakrishnan等^[13]针对48例NAFLD患者的研究也提出人体脂肪量与NAFLD发生风险显著相关, 每增加5 kg, NAFLD风险明显增加(OR: 1.27, 95%CI: 1.04–1.54), 我们的结果与这些研究一致.

衰老导致身体成分发生变化, 特别是肌肉含量的减少, 成为机体能量消耗随着年龄的增加而降低的重要因素^[14]. 静息能量消耗(rest energy expenditure, REE)占人体总能量消耗的60%–70%, 略高于在更严格条件下测得的基础代谢率. 通过测量REE可以间接反映机体的能量需求, 以维持机体正常功能和人体觉醒状态, 目前这种间接量热法已经取代直接量热法成为临床工作中最常

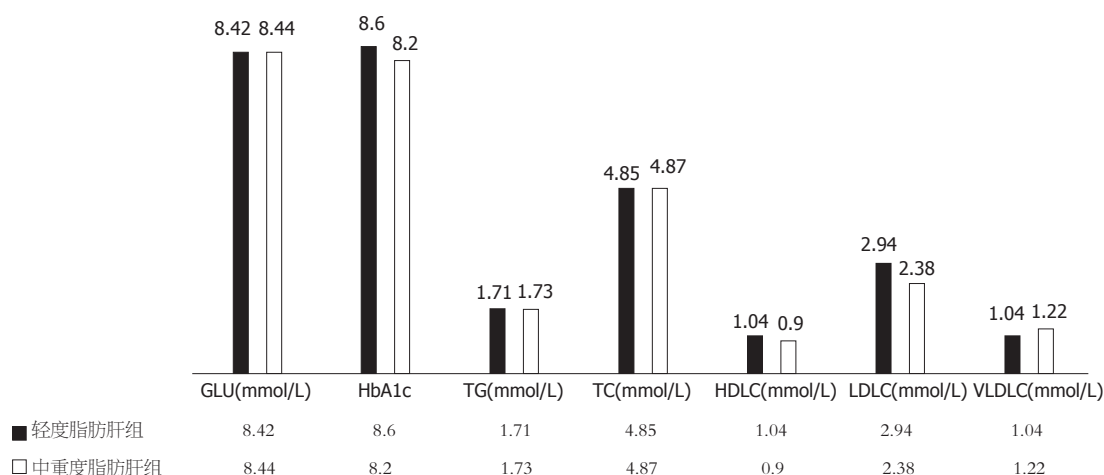


图2 老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间生化指标比较. NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病; GLU: 血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDLC: 高密度脂蛋白胆固醇; LDLC: 低密度脂蛋白胆固醇; VLDLC: 极低密度脂蛋白胆固醇.

用的测定人体能量消耗的一种方法^[15]. 一项纳入301例NAFLD患者的研究^[16]认为NAFLD患者的代谢消耗明显升高, 与对照组相比, NAFLD患者REE更高(1523 kcal vs 1464 kcal, $P = 0.005$), 而且较高的脂肪变性水平与较高的代谢消耗显著相关. 我们针对老年NAFLD人群的研究也得出相同结论, 老年NAFLD患者REE明显升高, 在中重度脂肪肝患者尤为突出, 即老年NAFLD严重程度越高, 其REE值越高, 可能与体重增加、肥胖有关. 由于肥胖人群机体组织结构失衡和代谢紊乱^[17], 具有更高的能量需求, 因此BMI不同则REE并不相同, 有研究提出REE在评估和管理肥胖相关的心脑血管疾病、糖尿病、代谢综合征等起着核心作用^[18]. 有研究提出^[16], 具有高REE患者体重下降更快, 消耗的蛋白质可能比碳水化合物多, 因此, NAFLD患者的治疗干预可以参考其人体成分分析的改变进行更精准研究, 为患者制定个体化方案.

本研究仍然存在一定的不足, 该研究为观察性研究, 且为单中心数据, 为减少可能存在的偏倚, 在今后的研究中, 尚需进一步开展多中心、大样本和前瞻性研究, 为老年NAFLD营养和代谢的临床特点提供数据支持.

4 结论

总之, 本研究探讨老年NAFLD患者人体结构方面改变, BMI、腰围、臀围、腰臀比增加, 体脂肪、腰臀脂肪比升高, 伴静息能量消耗增加, 同时合并血糖升高、血脂异常, 表现出明显的营养失衡和能量代谢紊乱, 在临床工作中可以综合人体成分分析来评估老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 特别是超重、肥胖患者的身体评估至关重要, 及时发现潜在风险, 综合管理, 对预防和延缓老年NAFLD进展提供新的预警策略.

文章亮点

实验背景

由于非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)可能会成为晚期肝病的主要病因. 人口老龄化导致老年NAFLD患者数量增加, 因此对老年NAFLD人群特点的研究至关重要.

实验动机

运用人体成分分析仪及代谢车分析老年NAFLD的营养及能量代谢特点, 以期评估疾病状况及治疗提供参考.

实验目标

本篇论文研究的主要目标是探讨人体成分分析仪及代谢车的应用在老年NAFLD营养及能量代谢状况的评估作用. 结果显示老年NAFLD的营养状况和能量代谢特点, 为临床提供一种全新评估方法.

实验方法

本篇论文为了达到目标, 运用人体成分分析仪及代谢车对老年NAFLD及严重程度进行回顾性数据分析.

实验结果

本篇论文研究达到了实验目标, 研究结果显示老年NAFLD的腰臀脂肪比、体脂肪含量明显增加($P < 0.005$), 静息能量消耗均高于老年非脂肪肝组($P < 0.05$); 而且老年NAFLD随脂肪肝程度加重, 体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗的升高更为显著. 本研究结果说明应用人体成分分析仪及代谢车, 有助于临床上更全面准确的对老年NAFLD的疾病状况进行评估.

实验结论

老年NAFLD患者人体结构方面改变, 特别是体脂肪、腰臀脂肪比升高, 伴静息能量消耗增加, 表现出明显的营养失衡和能量代谢紊乱, 通过人体成分分析及代谢车可以综合评估老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 特别是超重、肥胖患者的身体评估至关重要, 对预防和延缓老年NAFLD进展提供新的预警策略。

展望前景

该研究为回顾性观察研究, 且为单中心数据, 未来研究的方向, 为减少可能存在的偏倚, 尚需进一步开展多中心、大样本和前瞻性研究。

5 参考文献

- Kim SK, Kim KI, Kim SR. Overview of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis Management. *Yakugaku Zasshi* 2019; 139: 1147-1153 [PMID: 31474630 DOI: 10.1248/yakushi.19-00011-1]
- Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA* 2020; 323: 1175-1183 [PMID: 32207804 DOI: 10.1001/jama.2020.2298]
- Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism* 2019; 92: 82-97 [PMID: 30502373 DOI: 10.1016/j.metabol.2018.11.014]
- Wang XJ, Malhi H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Ann Intern Med* 2018; 169: ITC65-ITC80 [PMID: 30398639 DOI: 10.7326/AITC201811060]
- Dhanasekaran R, Felsher DW. A Tale of Two Complications of Obesity: NASH and Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2019; 70: 1056-1058 [PMID: 30958566 DOI: 10.1002/hep.30649]
- Ge X, Zheng L, Wang M, Du Y, Jiang J. Prevalence trends in non-alcoholic fatty liver disease at the global, regional and national levels, 1990-2017: a population-based observational study. *BMJ Open* 2020; 10: e036663 [PMID: 32747349 DOI: 10.1136/bmjopen-2019-036663]
- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15: 11-20 [PMID: 28930295 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109]
- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版). *中华肝脏病杂志* 2018; 16: 195-203 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]
- Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis* 2018; 22: 133-140 [PMID: 29128053 DOI: 10.1016/j.cld.2017.08.010]
- Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, Yang H, Liu C, Kam LY, Tan XE, Chien N, Trinh S, Henry L, Stave CD, Hosaka T, Cheung RC, Nguyen MH. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 739-752 [PMID: 32413340 DOI: 10.1016/S2468-1253(20)30077-7]
- Papathodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Current Concepts. *Curr Pharm Des* 2018; 24: 4574-4586 [PMID: 30652642 DOI: 10.2174/1381612825666190117102111]
- Kivimäki M, Kuosma E, Ferrie JE, Luukkonen R, Nyberg ST, Alfredsson L, Batty GD, Brunner EJ, Fransson E, Goldberg M, Knutsson A, Koskenvuo M, Nordin M, Oksanen T, Pentti J, Rugulies R, Shipley MJ, Singh-Manoux A, Steptoe A, Suominen SB, Theorell T, Vahtera J, Virtanen M, Westerholm P, Westerlund H, Zins M, Hamer M, Bell JA, Tabak AG, Jokela M. Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: pooled analysis of individual-level data for 120 813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. *Lancet Public Health* 2017; 2: e277-e285 [PMID: 28626830 DOI: 10.1016/S2468-2667(17)30074-9]
- Balakrishnan M, El-Serag HB, Nguyen T, Hilal J, Kanwal F, Thrift AP. Obesity and Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Comparison of Bioelectrical Impedance Analysis and Conventionally-Derived Anthropometric Measures. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 1965-1967 [PMID: 28642206 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.06.030]
- Kitazoe Y, Kishino H, Tanisawa K, Uda K, Tanaka M. Renormalized basal metabolic rate describes the human aging process and longevity. *Aging Cell* 2019; 18: e12968 [PMID: 31187606 DOI: 10.1111/ace1.12968]
- Pisanu S, Deledda A, Loviselli A, Huybrechts I, Velluzzi F. Validity of Accelerometers for the Evaluation of Energy Expenditure in Obese and Overweight Individuals: A Systematic Review. *J Nutr Metab* 2020; 2020: 2327017 [PMID: 32832147 DOI: 10.1155/2020/2327017]
- Reddavid R, Cisternino AM, Inguaggiato R, Rotolo O, Zinzi I, Veronese N, Guerra V, Fucilli F, Di Giovanni G, Leandro G, Giannico S, Caruso MG. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease is Associated with Higher Metabolic Expenditure in Overweight and Obese Subjects: A Case-Control Study. *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31394881 DOI: 10.3390/nu11081830]
- Smith RL, Soeters MR, Wüst RCI, Houtkooper RH. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocr Rev* 2018; 39: 489-517 [PMID: 29697773 DOI: 10.1210/er.2017-00211]
- Amaro-Gahete FJ, Jurado-Fasoli L, De-la-O A, Gutierrez Á, Castillo MJ, Ruiz JR. Accuracy and Validity of Resting Energy Expenditure Predictive Equations in Middle-Aged Adults. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30400196 DOI: 10.3390/nu10111635]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性

陈抚标, 唐 鸿, 张心荣

陈抚标, 唐鸿, 浙江省德清县人民医院放射科(邵逸夫医院德清院区) 浙江省湖州市313200

张心荣, 浙江省德清县人民医院超声科(邵逸夫医院德清院区) 浙江省湖州市313200

陈抚标, 主治医师, 主要从事放射诊断工作.

作者贡献分布: 此课题由陈抚标设计, 研究过程由陈抚标, 唐鸿, 张心荣共同操作完成. 研究所用新试剂及分析工具由陈抚标提供, 数据分析及论文写作由陈抚标完成.

通讯作者: 张心荣, 主治医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇英溪南路120号, 浙江省德清县人民医院超声科. zhangxinrong2018@163.com

收稿日期: 2021-01-19

修回日期: 2021-02-15

接受日期: 2021-03-27

在线出版日期: 2021-05-08

Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in rectal cancer

Fu-Biao Chen, Hong Tang, Xin-Rong Zhang

Fu-Biao Chen, Hong Tang, Department of Radiology, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Xin-Rong Zhang, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xin-Rong Zhang, Chief Physician, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, No. 120 Yingxi South Road, Wukang, Deqing, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. zhangxinrong2018@163.com

Received: 2021-01-19

Revised: 2021-02-15

Accepted: 2021-03-27

Published online: 2021-05-08

Abstract BACKGROUND

Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) plays a very important role in assessing tumor nature, blood perfusion, prognosis, and so on. DCE-MRI can quantitatively analyze the blood perfusion state of tumor microcirculation, which can provide valuable hemodynamic information for clinical preoperative evaluation.

AIM

To investigate the correlation of quantitative perfusion parameters of DCE-MRI with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and microvessel density (MVD) in rectal cancer.

METHODS

Sixty-five patients with rectal cancer who were scheduled for surgical resection at our hospital were selected. All patients were examined by DCE-MRI before operation. The quantitative perfusion parameters including forward transport constant (K^{trans}), reverse transport constant (Kep), volume fraction (Ve), and area under the starting curve (iAUC) of the lesion and normal rectal wall were measured. The MVD and VEGF expression were measured by immunohistochemistry. The correlation of DCE-MRI quantitative perfusion parameters with VEGF expression and MVD in rectal cancer was then analyzed.

RESULTS

K^{trans} , Kep , Ve , and iAUC in rectal cancer lesions were significantly higher than those in the normal rectal wall ($P < 0.05$). MVD and VEGF expression in rectal cancer

lesions were significantly higher than those in the normal rectal wall ($P < 0.05$). K^{trans} , Kep , Ve , and $iAUC$ were positively correlated with MVD ($r = 0.76, 0.70, 0.46$, and 0.68 , respectively, $P < 0.05$) and VEGF expression ($r = 0.72, 0.67, 0.41$, and 0.64 , respectively, $P < 0.05$).

CONCLUSION

DCE-MRI quantitative perfusion parameters in rectal cancer can effectively reflect the blood perfusion state of the lesions, and there is a high correlation between K^{trans} and MVD and VEGF expression, which can provide valuable reference for preoperative evaluation of this malignancy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Magnetic resonance imaging; Perfusion; Microvessel density; Vascular endothelial growth factor

Citation: Chen FB, Tang H, Zhang XR. Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor and microvessel density in rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 474-478

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/474.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.474>

摘要

背景

动态增强磁共振成像在肿瘤性质、血流灌注、预后评估等方面发挥着十分重要的作用。动态增强磁共振成像能定量分析肿瘤组织微循环血流灌注状态, 可为临床术前评估提供有价值的血流动力学信息。

目的

探讨直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性。

方法

选取在我院拟行手术切除治疗的65例直肠癌患者作为研究对象。所有患者术前均行DCE-MRI检查, 测定病灶及其周围正常直肠壁的定量灌注参数: 正向转运常数(forward transport constant, K^{trans})、反向转运常数(reverse transport constant, Kep)、容积分数(volume fraction, Ve)和起始曲线下面积(area under the starting curve, $iAUC$)。采用免疫组织化学方法测定术后标本的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达水平、微血管密度(microvessel density, MVD), 分析DCE-MRI定量灌注参数与VEGF、MVD的相关性。

结果

直肠癌病灶的 K^{trans} 、 Kep 、 Ve 和 $iAUC$ 均明显高于正

常直肠壁, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 直肠癌病灶的MVD和VEGF表达水平均明显高于正常直肠壁, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); K^{trans} 、 Kep 、 Ve 和 $iAUC$ 与MVD均呈正相关, 相关系数分别为 $r = 0.76$ 、 $r = 0.70$ 、 $r = 0.46$ 、 $r = 0.68$ (均 $P < 0.05$); 与VEGF表达水平均呈正相关, 相关系数分别为 $r = 0.72$ 、 $r = 0.67$ 、 $r = 0.41$ 、 $r = 0.64$ (均 $P < 0.05$)。

结论

直肠癌DCE-MRI定量灌注参数能有效反映病灶的血流灌注状态, 其中 K^{trans} 与MVD、VEGF表达水平具有较好相关性, 可为术前评估提供有价值的参考。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 直肠癌; 磁共振成像; 灌注; 微血管密度; 血管内皮生长因子

核心提要: 直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)能准确反映肿瘤组织的血流灌注分布。运用DCE-MRI定量分析直肠癌组织的微循环血流灌注, 为术前评估病灶新生血管状态提供参考。

文献来源: 陈抚标, 唐鸿, 张心荣. 直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性. *世界华人消化杂志* 2021; 29(9): 474-478

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/474.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.474>

0 引言

血管生成对于肿瘤的生长和发展是必不可少的^[1]。在直肠癌中, 血管生成与跨壁扩散、淋巴转移和远处血行转移密切相关^[2]。血管生成状态的评估方法有直接法和间接法。直接法一直被认为是评价的“金标准”, 如检测组织标本的微血管密度(microvessel density, MVD)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 但存在耗时长、侵入性强、重复性差等缺点^[3]。直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)可通过对比剂在肿瘤组织中的分布状态分析肿瘤组织的血管灌注变化, 从而间接反映其血管形成及生物学行为。本研究旨在探讨DCE-MRI定量灌注参数与VEGF、MVD的相关性, 以期临床诊治提供有价值的参考。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2018-05/2020-11期间, 在我院拟行手术切除治疗的65例直肠癌患者作为研究对象。其中男42例, 女23例, 平均年龄(53.5 ± 13.4)岁。纳入标准: (1)均经肠

表 1 DCE-MRI定量灌注参数比较

组别/参数	$K^{trans}(\text{min}^{-1})$	$Kep(\text{min}^{-1})$	Ve	iAUC($\text{mmol} \times \text{L}^{-1} \times \text{s}$)
直肠癌	0.23 ± 0.05^b	0.92 ± 0.3^b	0.41 ± 0.25^b	4.68 ± 1.73^b
正常直肠壁	0.09 ± 0.02	0.57 ± 0.21	0.25 ± 0.11	2.07 ± 0.71
T/P值	22.391/0.000	7.711/0.000	4.913/0.000	11.157/0.000

^b $P < 0.01$, 与正常直肠壁比较. DCE-MRI: 直肠癌动态增强磁共振成像; K^{trans} : 正向转运常数; Kep : 反向转运常数; Ve: 容积分数; iAUC: 起始曲线下面积.

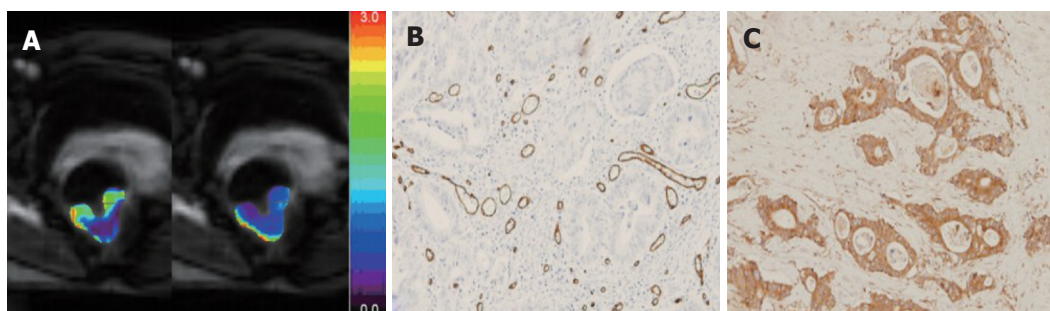


图 1 直肠癌DCE-MRI及术后病理检查. A: 描绘感兴趣区, 测定DCE-MRI定量灌注参数; B: 术后标本病理显示: 热点MVD中血管内皮细胞呈棕黄色; C: VEGF呈强表达, 胞浆内呈棕黄色阳性表达. DCE-MRI: 直肠癌动态增强磁共振成像; MVD: 微血管密度; VEGF: 血管内皮生长因子.

镜病理活检证实为直肠癌; (2)术前均未曾行放疗、化疗等任何治疗.

排除标准: (1)DCE-MRI检查禁忌证; (2)无法配合检查; (3)对比剂过敏. 所有患者均于术前1 wk内行直肠DCE-MRI检查并签署知情同意书. 本研究经本院医学伦理委员会审批通过(批件号: 20180012).

1.2 方法

1.2.1 DCE-MRI检查: 采用3.0 T磁共振成像仪行扫描检查, 对比剂采用钆-喷酸葡胺, 注射剂量为 $0.1 \text{ mmol} / \text{kg}$, 注射流速为 $1.5 \text{ mL} / \text{s}$. 以体部相控阵表面线圈行全直肠常规平扫和增强扫描. 检查前, 患者接受充分肠道准备, 常规平扫包括T1WI、T2WI、DWI; 增强扫描为T1WI. 由一名经验丰富的高年放射专业副主任医师, 采用盲法在DWI图像上描绘感兴趣区(避开囊变和坏死区域), 测定病灶及其周围正常直肠壁(距离肿瘤边缘至少2 cm以外的肠壁)的DCE-MRI定量灌注参数: 正向转运常数(forward transport constant, K^{trans})、反向转运常数(reverse transport constant, Kep)、容积分数(volume fraction, Ve)和起始曲线下面积(area under the starting curve, iAUC). 见图1A.

1.2.2 MVD及VEGF表达水平测定^[4]: 对术后标本组织行CD34和VEGF免疫组织化学染色. MVD测定: 在低倍放大镜下确定3个肿瘤“热点”(肿瘤内高血管化区域), 采用Weidner N计数法, 在200倍放大镜下计数每个“热点”中最多微血管数目, 取平均值. VEGF染色

采用染色强度(1, 否; 2, 弱; 3, 中等; 4, 强染色), 200倍放大时肿瘤面积百分比(1, $<5\%$; 2, $5\%-20\%$; 3, $21\%-50\%$; 4, $>50\%$), 这两个评分的总和作为VEGF表达水平的评分值, 范围为2-8分. 见图1B和C.

统计学处理 采用SPSS 20.0统计学软件对数据进行分析. 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 对符合正态性分布的数据采用配对 t 检验. 相关性分析采用Spearman相关分析. $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 术后病理结果情况 65例病理确诊的直肠癌均行根治性手术, 其中Miles手术6例, 低位切除术51例, 超低位切除术8例. 肿瘤大小2-6 cm, 平均 $3.42 \text{ cm} \pm 1.16 \text{ cm}$. 肿瘤类型: 上段19例, 中段38例, 下段8例. 组织病理学分期: T1期5例, T2期10例, T3期41例, T4期9例. 肿瘤分化程度: 高分化者6例, 中分化者58例, 低分化者1例.

2.2 DCE-MRI定量灌注参数情况 直肠癌病灶的 K^{trans} 、 Kep 、Ve和iAUC均明显高于正常直肠壁, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$). 见表1.

2.3 术后组织标本MVD及VEGF表达水平测定情况 直肠癌病灶的MVD明显高于正常直肠壁, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 直肠癌病灶的VEGF表达水平明显高于正常直肠壁, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表2.

2.4 DCE-MRI定量灌注参数与MVD及VEGF表达水平的相关性 K^{trans} 、 Kep 、Ve和iAUC与MVD均呈正相关,

表 2 MVD及VEGF表达水平比较

组别/参数	VEGF(分)	MVD(条/200倍视野)
直肠癌	5.26 ± 1.55 ^b	71.51 ± 10.47 ^b
正常直肠壁	3.35 ± 0.99	36.20 ± 8.97
T/P值	9.744/0.000	25.414/0.000

^b $P < 0.01$, 与正常直肠壁比较. MVD: 微血管密度; VEGF: 血管内皮生长因子.

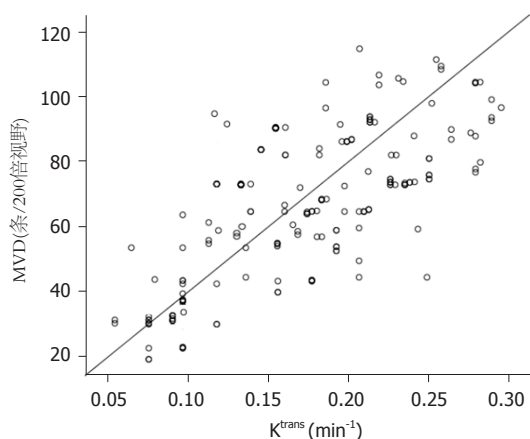


图 2 K^{trans} 与MVD的相关性图. K^{trans} : 正向转运常数; MVD: 微血管密度.

相关系数分别为 $r = 0.76$ 、 $r = 0.70$ 、 $r = 0.46$ 、 $r = 0.68$ (均 $P < 0.05$); 与VEGF表达水平均呈正相关, 相关系数分别为 $r = 0.72$ 、 $r = 0.67$ 、 $r = 0.41$ 、 $r = 0.64$ (均 $P < 0.05$); 其中 K^{trans} 与MVD、VEGF表达水平的相关性最高. 见图2、3.

3 讨论

直肠癌是一种较为常见的恶性消化道肿瘤, 目前临床治疗的主要手段包括手术切除、放疗、化疗等多种手段^[5]. 正确选择合适的治疗手段是治疗的关键. 近年来, 影像学检查技术发展迅速, DCE-MRI检查不仅能从肿瘤形态大小、浸润范围、信号强度等方面进行术前评估, 而且能定量分析肿瘤微循环血流灌注状态^[6].

DCE-MRI通过分析感兴趣区对比剂吸收的定量参数, 能有效反映肿瘤组织的渗透性或血流量状态, 其中 K^{trans} 是对比剂经血管内皮转运到血管外间隙的速度, 可反映局部组织的血管渗透性以及血流灌注量; Kep 是对比剂从血管外间隙回流入相应血管腔内的速度, 能反映毛细血管的渗透性; 而*iAUC*因其不受灌注参数模型影响, 能有效反映感兴趣区的整体血流量状态^[7]. 本研究结果中, 直肠癌病灶的 K^{trans} 、 Kep 、 Ve 和*iAUC*均明显高于正常直肠壁, 提示DCE-MRI能有效监测直肠癌病灶的血管通透性、血流量等血管功能状态, 能有效反映病灶的血管解剖、病理功能状态与正常直肠壁之间的

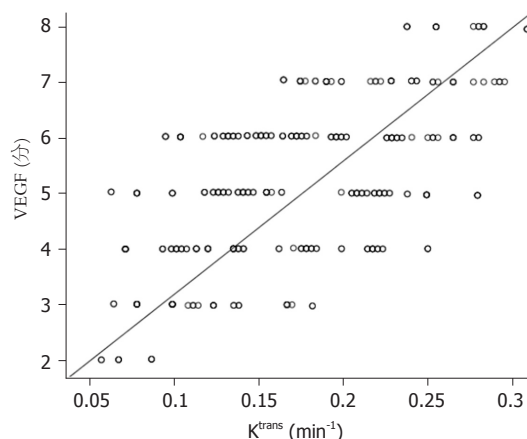


图 3 K^{trans} 与VEGF表达水平的相关性图. K^{trans} : 正向转运常数; VEGF: 血管内皮生长因子.

差异. 肿瘤为了获得生长、转移所需的营养, 其在结构和功能上的发展依赖于新生血管, 而这些新生血管容易发生渗漏, 并形成危险的复杂的相互连接模式^[8,9]. 这将导致肿瘤具有更高的内皮通透性以及血液流动性, 使DCE-MRI定量灌注参数发生改变. 本研究结果与Kim等^[10]和Yao等^[11]的研究结果相一致, 肿瘤新生血管结构功能均发育不完善, 较正常血管具有更高渗透性以及血流量, 导致 K^{trans} 、 Kep 和*iAUC*相应增高. 但*Ve*的变化在不同研究中存在差异, Kim等^[10]的研究显示直肠癌*Ve*与正常肠壁之间无明显差异, 原因可能是: (1) Kim等^[10]研究中DCE-MR扫描时间过长, 导致阴性结果出现; (2) 血管外间隙可能受多种因素如组织缺氧、细胞密度等影响.

MVD在肿瘤生长和转移过程中发挥着十分重要的作用. 伴随着MVD的升高, 肿瘤细胞进入血管的机会增加, 发生转移的几率相应升高. 而VEGF在肿瘤血管内皮细胞增殖中发挥着重要的诱导分化作用, 在新生血管生成过程中发挥着重要的促进作用, 是肿瘤微小血管生成的重要因子^[12]. 本研究结果显示, 直肠癌病灶的MVD、VEGF表达水平均明显高于正常直肠壁, 表明二者在直肠癌病灶的新生血管状态评估中具有十分重要的价值, 能客观反映直肠癌局部微环境的组织病理学变化. 本研究相关性分析结果显示, K^{trans} 、 Kep 、 Ve 和*iAUC*分别与MVD、VEGF表达水平均呈正相关, 其中 K^{trans} 与MVD、VEGF表达水平的相关性最高. 提示利用DCE-MRI定量灌注参数能在一定程度上反映直肠癌病灶的血管解剖特征及血管功能状态, 其中 K^{trans} 的临床应用价值更优.

4 结论

总之, 直肠癌DCE-MRI定量灌注参数能有效反映病灶的血流灌注状态, 其中 K^{trans} 与MVD、VEGF表达水平具有较好相关性, 可为术前评估提供有价值的参考.

文章亮点

实验背景

准确评估直肠癌微循环血流灌注及新生血管生成状态有助于指导临床治疗, 而影像学检查在其术前评估方面发挥着重要作用。

实验动机

本研究运用直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)定量分析直肠癌血流灌注状态, 探讨DCE-MRI灌注参数与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、微血管密度(microvessel density, MVD)的相关性, 以期为临床术前评估提供一种无创性影像学方法。

实验目标

探讨直肠癌的DCE-MRI灌注参数与VEGF、MVD的相关性。结果显示DCE-MRI定量灌注参数能反映病灶的血管解剖特征及功能状态。

实验方法

本研究采用了DCE-MRI术前评估直肠癌血流灌注及新生血管生成状态。DCE-MRI能定量分析病灶的微循环灌注状态, 而VEGF、MVD水平能准确反映新生血管生成状态。

实验结果

本篇论文的研究达到实验目标并取得以下研究结果: 直肠癌病灶的DCE-MRI灌注参数以及MVD和VEGF表达水平明显高于正常直肠壁; 直肠癌病灶的 K^{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 和 $iAUC$ 与MVD及VEGF表达呈正相关。说明DCE-MRI灌注参数能反映直肠癌微循环血流灌注, 能间接反映新生血管生成状态, 为临床术前评估提供有价值的参考。

实验结论

DCE-MRI灌注参数在直肠癌病灶与正常直肠壁之间存在差异。DCE-MRI能定量分析直肠癌的血流灌注状态, 其灌注参数 K^{trans} 、 K_{ep} 、 V_e 和 $iAUC$ 均与MVD、VEGF呈正相关, 而 K^{trans} 与MVD、VEGF的相关性最高, 能间接反映直肠癌的新生血管生成状态, 可为临床术前评估直肠癌的新生血管生成状态提供一种可靠方法。

展望前景

DCE-MRI容易受患者运动干扰, 导致图像质量下降, 影响分析结果。本研究未来研究的方向是DCE-MRI结合其它监测指标对直肠癌进行术前评估。而未来研究的最佳方法是DCE-MRI联合超声造影评估直肠癌的新生血管状态。

5 参考文献

- 1 饶慕圣, 曹胜华, 徐兴东, 王刚, 王学成. 肿瘤细胞主导的血管生成拟态与肿瘤侵袭转移. 国际科学杂志 2019; 46: 60-63 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2019.01.016]
- 2 毕研翠, 翟所席, 孟慧英. MSCT与MR-DWI在诊断结肠癌区域淋巴结分期与转移中的价值. 中国CT和MRI杂志 2020; 127: 56-59
- 3 Berretta M, Cobellis G, Franco R, Panarese I, Rinaldi B, Nasti G, Di Francia R, Rinaldi L. Features of microvessel density (MVD) and angiogenesis inhibitors in therapeutic approach of hepatocellular carcinoma (HCC). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 10139-10150 [PMID: 31799686 DOI: 10.26355/eurev.201911_19584]
- 4 Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147: 9-19 [PMID: 7541613 DOI: 10.1007/s10147-016-0966-0]
- 5 权瑞泉, 熊明兰. 新辅助放化疗对直肠癌患者临床分期、手术方式及预后的影响. 实用癌症杂志 2018; 33: 127-130
- 6 Buckley DL, Drew PJ, Mussurakis S, Monson JR, Horsman A. Microvessel density of invasive breast cancer assessed by dynamic Gd-DTPA enhanced MRI. *J Magn Reson Imaging* 1997; 7: 461-464 [PMID: 9170027 DOI: 10.1002/jmri.1880070302]
- 7 Di N, Cheng W, Jiang X, Liu X, Zhou J, Xie Q, Chu Z, Chen H, Wang B. Can dynamic contrast-enhanced MRI evaluate VEGF expression in brain glioma? An MRI-guided stereotactic biopsy study. *J Neuroradiol* 2019; 46: 186-192 [PMID: 29752976 DOI: 10.1016/j.neurad.2018.04.008]
- 8 Meyer HJ, Wienke A, Surov A. Correlation Between K^{trans} and Microvessel Density in Different Tumors: A Meta-analysis. *Anticancer Res* 2018; 38: 2945-2950 [PMID: 29715121 DOI: 10.21873/anticancer.12543]
- 9 谢宗源, 徐香玖, 黄刚, 周星, 马小梅, 王治民, 铁萍, 张庆. 直肠癌DCE-MRI参数与病理特征的相关性研究. 磁共振成像 2015; 21: 289-293 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-8034.2015.04.15]
- 10 Kim YE, Lim JS, Choi J, Kim D, Myoung S, Kim MJ, Kim KW. Perfusion parameters of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging in patients with rectal cancer: correlation with microvascular density and vascular endothelial growth factor expression. *Korean J Radiol* 2013; 14: 878-885 [PMID: 24265562 DOI: 10.3348/kjr.2013.14.6.878]
- 11 Yao WW, Zhang H, Ding B, Fu T, Jia H, Pang L, Song L, Xu W, Song Q, Chen K, Pan Z. Rectal cancer: 3D dynamic contrast-enhanced MRI; correlation with microvascular density and clinicopathological features. *Radiol Med* 2011; 116: 366-374 [PMID: 21298356 DOI: 10.1007/s11547-011-0628-2]
- 12 Lucarini G, Zizzi A, Rubini C, Ciolino F, Aspriello SD. VEGF, Microvessel Density, and CD44 as Inflammation Markers in Peri-implant Healthy Mucosa, Peri-implant Mucositis, and Peri-implantitis: Impact of Age, Smoking, PPD, and Obesity. *Inflammation* 2019; 42: 682-689 [PMID: 30406462 DOI: 10.1007/s10753-018-0926-0]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



中医药调节肠道微生态研究技术进展

李小雅, 谭周进

李小雅, 谭周进, 湖南中医药大学, 湖南省长沙市 410208

李小雅, 博士研究生, 研究方向方剂配伍疗效的微生物生态学机理研究.

基金项目: 国家自然科学基金项目, No.81874460.

作者贡献分布: 本论文由李小雅负责文献查阅及文献综述写作; 谭周进负责论文选题, 修改及审核.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-02-05

修回日期: 2021-03-10

接受日期: 2021-03-26

在线出版日期: 2021-05-08

Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine

Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan

Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-02-05

Revised: 2021-03-10

Accepted: 2021-03-26

Published online: 2021-05-08

Abstract

The intestine is a diversified microecosystem whose

structure and function are research hotspots in the fields of life sciences and medicine. The research on the regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine is of great significance to the elucidation of the basic theories and the mechanism of therapeutic effects of traditional Chinese medicine. The microecological research technology is very important for the research in this field. We, by reviewing the relevant literature, summarize the related technologies for the intestinal micro-ecological research of traditional Chinese medicine, such as microbial culture counting method, molecular biology techniques (denaturing/temperature gradient gel electrophoresis (DGGE/TGGE), gene chip, real-time quantitative polymerase chain reaction (PT-PCR), terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), fluorescent *in situ* hybridization (FISH), high-throughput sequencing (HTS), metabolic level analysis techniques, and proteomics), intestinal enzyme activity detection, microbial activity detection technology, and *in vitro* simulated gastrointestinal environment experiments, with an aim to provide reference for the intestinal microecological research of traditional Chinese medicine and the application of related technologies.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal microecology; Traditional Chinese medicine; Research technology; Microbial culture counting method; Molecular biology techniques

Citation: Li XY, Tan ZJ. Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 479-487

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.479>

摘要

肠道是一个多元化的微生态系统, 其结构及功能是生命科学及医学领域的研究热点, 中医药调节肠道微生态的研究对中医基础理论、中医药疗效机制等的阐明具有重要意义。肠道微生态研究技术对该领域研究至关重要, 笔者通过查阅相关资料, 对中医药调节肠道微生态研究的相关技术如微生物培养技术、分子生物学技术(变性/温度梯度凝胶电泳技术(DGGE/TGGE)、基因芯片技术(Gene chip)、实时荧光定量PCR技术(PT-PCR)、末端限制性片段长度的多态性技术(T-RFLP)、扩增核糖体DNA限制性酶切片分析技术(ARDRA)、荧光原位杂交技术(FISH)、高通量测序技术(HTS)、代谢水平分析技术、蛋白质组学技术)、肠道酶活性检测、肠道微生物活度检测技术以及体外模拟胃肠道环境实验进行总结, 对中医药肠道微生态的研究及相关技术的应用提供参考。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道微生态; 中医药; 研究技术; 微生物培养计数法; 分子生物学技术

核心提要: 随着现代分子生物学技术的快速发展, 中医药肠道微生态领域研究取得突破性进展, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据, 对推动中药现代化研究进程具有重要的意义。

文献来源: 李小雅, 谭周进. 中医药调节肠道微生态研究技术进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 479–487

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.479>

0 引言

近年来, 中医药在调节肠道微生态治疗疾病中发挥重要作用, 以中医药为靶点, 选择合理的研究技术有利于全面了解肠道微生物群落结构和作用, 充分挖掘其潜在价值。谢果珍等^[1]对小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌及大肠杆菌进行微生物培养时发现, 铁皮石斛多糖可调节小鼠肠道菌群发挥“益生元”作用。王永安等^[2]发现大承气汤可调节小鼠肠道菌群结构及多样性, 恢复肠道细菌群落, 达到治疗过敏性哮喘的效果。何云山等^[3]发现保和丸治疗后食积小鼠肠道内容物及肠黏膜中木聚糖酶、淀粉酶以及蛋白酶的活性下降, 揭示保和丸对食积小鼠的肠道酶活性的调节作用。唐圆等^[4]发现痛泻要方能够使小鼠肠道内容物中微生物活度降低, 肠黏膜微生物活度增加, 初步阐明痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的作用机制。体外模拟实验可在一定程度

上还原胃肠道状态, 在探究葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响时发现^[5], 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和沙门菌均有较好的抑制效果, 且随消化时间延长对各个细菌的抑制效果发生变化。本文将从微生物培养技术、分子生物学技术、酶学技术等方面概述中医药在调节肠道微生态领域的应用进展, 为利用肠道微生态研究中医药理论及其应用提供方法学思路(见表1)。

1 微生物培养计数法在中医药调节肠道微生态研究中的应用

肠道微生物培养是较为传统的微生物鉴定方法。中医药利用微生物培养技术在调节肠道微生态治疗疾病过程中发挥关键作用。龙承星等^[19]对脾虚便秘及灌胃铁皮石斛多糖后小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌进行微生物培养, 发现铁皮石斛多糖明显恢复了大肠杆菌的菌落数, 乳酸菌和双歧杆菌明显减少, 总数显著超过正常组, 提示铁皮石斛多糖在一定程度上能扶植乳酸菌和双歧杆菌等有益菌, 抑制大肠杆菌等有害菌, 调控脾虚便秘小鼠肠道微生态平衡, 优化肠道环境, 改善脾虚便秘症状。唐标等^[20]在探究降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物的影响时, 发现降脂理肝汤能够抑制肠道细菌、大肠杆菌及乳酸菌的生长, 使细菌总数和乳酸菌数量恢复至正常组水平, 表明降脂理肝汤能调整非酒精性脂肪肝大鼠肠道菌群种群, 改善肠道微环境紊乱的现象, 达到治疗效果。肠道微生物培养技术已经逐渐深入到中医药调节肠道微生态治疗疾病的各个方面, 选择符合培养条件的培养基对肠道中的细菌进行培养, 通过检测肠道细菌数量变化初步衡量肠道菌群是否在疾病发生发展过程中及中药干预治疗后发挥作用, 明确中医药作用的可培养菌类, 为进一步从微观角度探索中医药调节肠道菌群治疗疾病的机制研究, 为相关纯化及菌剂研究提供更为直接的证据。另外, 微生物培养过程复杂, 对分离物很难进行精确鉴定, 导致研究微生物多样性的真实概况受到限制。鉴于此, 我们可通过优化培养条件、改善培养基营养并综合其他分子技术, 有助于评定特定肠道共生菌的功能, 进一步阐述有益菌和致病菌之间的相互作用, 为挖掘肠道微生物益生功能及抗病功能奠定基础。

2 分子生物学技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

2.1 基于核酸的分析技术

2.1.1 变性/温度梯度凝胶电泳技术: 变性/温度梯度凝胶电泳(denaturing/temperature gradient gel electrophoresis,

表 1 肠道微生态研究技术

研究技术	技术原理	优点	缺点	技术要点
微生物培养技术	在一定培养条件下, 选择适 合菌种生长的培养基进行培 养, 通过倍比稀释和培养来 测定菌的数量和分离微生物 ^[6]	显示不同细菌对宿主肠道系统 中各种营养物质的利用情况	(1)可培养的微生物菌株数量较 少; (2)严格厌氧菌培养要求高; (3)过程复杂, 难以精确鉴定; (4)分辨水平低, 不能充分反映 微生物群落的多样性	(1)根据菌种特性选择培 养基; (2)严格控制培养 条件; (3)把控稀释过程 的稀释比例
基于核 酸分析 的技术	变性/温度梯 度凝胶电泳 技术 碱基序列存在差异的不同等 长 DNA 通过递增的化学变 性剂浓度/温度梯度把长度相 近碱基组成不同的DNA片段 区分开, 根据凝胶上形成条 带的数目和丰度信息反应微 生物的多样性 ^[7]	(1)分辨率高, 检测可达到一个 碱基; (2)可以保证电泳的重现 性以及结果的重复性; (3)快速 对大量混合标本进行分析; (4) 无须对引物标记; (5)节约样 品; (6)在揭示微生物群落遗传 多样性和种群差异方面具有 明显优越性	(1)只对优势种群进行分析; (2) 受到电泳条件诸多因素的影 响, 出现“共迁移”现象; (3) 对微生物鉴定, 仅限于基因数 据库中菌种	(1)选择最佳变性梯度/ 温度梯度范围; (2)确定 电泳时间及温度; (3)严 格“GC夹板”操作步 骤; (4)染色方法的选择 体现灵敏度
末端限制性 多态性技术	利用琼脂或聚丙烯酰胺凝胶对 限制性酶切片断电泳分离, 对微生物种类可以定性定量 经染色后不同长度的DNA片 段停留在不同的凝胶位置上, 例为1%的细菌; (4)灵敏度高, 呈现多态性的电泳图谱 ^[8]	(1)结果数据化, 重复性好; (2) 对微生物种类可以定性定量 分析; (3)能检测到群落中比 据量大分析较困难; (3)酶切后 TRF长度分布会造成对复杂群 落多样性的低估 一种高效微生物群落结构 分析方法; (5)适合对微生物多 样性进行灵敏的分析评价	(1)只能检测带荧光标记的末 端限制性片段; (2)所需DNA数 量(如上下游引物序列的特 异性、上下游引物之间 序列长度等); (2)避免选 择酶切位点在序列保守 区限制性内切酶	(1)考虑引物的特异性 (如上下游引物序列的特 异性、上下游引物之间 序列长度等); (2)避免选 择酶切位点在序列保守 区限制性内切酶
扩增核糖体 DNA限制性 酶切片段分 析技术	依据原核生物rDNA序列的 保守性, 将扩增的rDNA片段 进行酶切, 通过酶切图谱来 分析菌间的多样性 ^[9]	(1)特异性强, 效率高; (2)不受宿主干扰	(1)对于大样本的检测分析费时 费力; (2)对图谱进行定量分析 困难	严格把握引物设计、扩 增过程以及酶切位点
基因芯片技 术	将大量DNA探针有序地固定 在载体表面, 形成储存大量 信息的DNA微阵列与标记的 核酸样品杂交后获取样品核 酸序列信息 ^[10]	(1)快速对成百上千基因进行 分析; (2)高通量、自动化; (3) 所需样品量少、成本低	(1)探针的合成和固定较为复 杂, 特别针对于高密度的探针 阵列; (2)探针杂交存在一定的 错配率; (3)信号的获取和分析 时, 灵敏度较低, 分析范围窄	(1)考虑探针的设计及布 局, 确定芯片所需的检 测对象; (2)杂交之前需 进行分离、扩增和标记 杂交反应; (3)确定杂交 信号在芯片上的位置
荧光原位杂 交技术	荧光标记已知序列的单链核 酸作为探针, 与待检测样本 中互补的单链核酸特异性结 合, 通过荧光显微镜观察带 测目标与组织细胞的结构关 系 计算杂交荧光标记探针细胞, 鉴定细菌 ^[11]	(1)探针稳定, 一次标记后两年 之内可以使用; (2)特异性好, 实验周期短; (3)特异性显示检 测目标与组织细胞的结构关 系	(1)无法对序列未知的微生物检 测; (2)操作时很容易受到各种污 染的干扰; (3)样品自身产生的荧 光, 以及探针的特异性等因素, 容易产生假阳性实验结果; (4) 探针设计不合理、细菌细胞中 rRNA含量、荧光褪色等因素, 容易产生假阴性的实验结果	(1)考虑多种探针的利 用; (2)杂交前的需要对 细胞通透性、杂交背景 等进行处理; (3)杂交过 程中环境保持黑暗、潮 湿, 控制杂交时间、温 度以及探针浓度和长度
实 时 荧 光 PCR技术	利用荧光信号变化实时检测 PCR扩增反应中每个循环扩 增产物的变化, 通过Ct值 和标准曲线实现对起始模板 的定量分析 ^[12]	(1)直接监测扩增中荧光信号 变化获得定量结果, 精确性和 灵敏度; (2)检测速度快, 可 同时进行几个反应; (3)特异 性、重复性强	(1)引物二聚体、单链二级结构 及扩增产物错误, 会出现假阳性 结果; (2)荧光素种类及检测光源 的局限性会限制 RT-PCR的复 合式检测应用能力; (3)无法得到 整个微生物群落的信息	(1)设计合适引物, 防止 非特异性扩增; (2)设计 合适的探针温度、浓度 等, 保证探针的灵敏度 和特异性; (3)PCR体系 反应参数的设定
高通量检测 技术	当引物与模板DNA 在酶的协同作用下, dNTP 聚 合与荧光信号的释放偶联, 以荧光信号的形式实时记录 模板 DNA 的核苷酸序列 ^[13]	复性后, (1)测序片段短、无需构建基 因文库; (2)高输出量和高解析 度; (3)同时对样品中的优势物 种、稀有物种及一些未知的 物种检测	(1)设备昂贵、测序成本高; (2) 大数据量的DNA样本, 缺乏匹 配的参考数据库, 许多数据无 法进行功能注释; (3)无法确定 样品中特定微生物的具体数量	(1)选择适合的测序平台和 可变区

基于蛋白质的分析	蛋白质组学技术	基于质谱技术, 对完整的细胞、组织、体液等样品的全部蛋白质进行定性、定量的分析 ^[14]	在整体水平上对基因组表达的全部蛋白质进行大规模研究, 直接说明肠道菌群的功能	(1)对于一些低丰度蛋白质的检测能力有限; (2)容易受到饮食等其他因素干扰	(1)尽可能完整地将所有蛋白质从细胞或者组织中提取; (2)蛋白质组样品的分离方法的选择
基于代谢产物的分析	色谱技术	利用带分离的各种物质在两相中(固相、流动相)的分配系数、吸附能力等亲和力的不同进行分离 ^[15]	(1)具有高分离能力的色谱技术能够提高检测效率, 准确获得样品中目标化合物的相关信息; (2)分析灵敏度高, 重复性好	(1)样品前处理技术复杂, 容易影响实验结果; (2)检测条件受检测器制约, 存在局限	(1)色谱条件的设定(包括色谱柱、柱温、检测波长等); (2)检测器的选择
肠道酶活性检测技术		将酶液与底物混合, 通过水浴、终止反应、定容等步骤, 最后利用紫外分光光度计在特定波长下测定吸光度 ^[16]	(1)快速简便; (2)样本用量较少	(1)检测通过对代谢产物进行间接地证明酶的活性高, 可靠性受到影响; (2)侵入性手段影响实验的准确性	(1)酶液、底物的配置; (2)水浴温度、时间; (3)显色温度、时间; (4)波长的设定
肠道微生物活性检测技术		利用荧光素二乙酸与磷酸缓冲液混合, 加入待测样液充分混合后, 丙酮终止反应, 利用紫外分光光度计测定吸光度 ^[17]	(1)快速简便; (2)灵敏度高	(1)丙酮加入终止反应后, 放置时间过长, 影响实验结果; (2)实验过程中稀释和定容不准确, 对于实验结果影响较大	(1)FDA反应液制备; (2)丙酮加入的先后顺序; (3)把握实验过程中的稀释和定容
体外模拟胃肠道环境		活化的菌种按比例接种至人工胃液和人工肠液中培养一段时间后进行活菌计数 ^[18]	(1)操作简单快速; (2)不受伦理限制; (3)较直观的看到实验结果	(1)选择接种液与接种方式的不同, 对结果呈现很大影响; (2)与人体胃肠道人工胃肠液的浓度配比	(1)菌种接种至已灭菌的斜面培养基上进行活化; (2)人工胃肠液的浓度配比

DGGE/TGGE)技术可直接分析样品总DNA的微生物多样性, 在揭示微生物群落遗传多样性和种群差异方面具有明显优越性^[21]。邝枣园等^[22]应用DGGE分析探讨黄连解毒汤对高脂血症小鼠肠道微生态的影响时, 对各组小鼠肠道粪便的细菌群落进行聚类分析发现各组小鼠肠道菌群都建立了新的细菌群落结构, 但部分组别细菌群落结构仍不稳定。而黄连解毒汤组可能从抑制肠道中某些细菌的生长方面, 调节肠道形成新的、相对稳定的细菌群落结构, 从而干预脂质代谢过程治疗高脂血症。杨泽锐等^[23]从相似性系数角度分析红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响时, 发现在聚类分析中, 各剂量组破壁饮片以及常规饮片组的组内相似度都会明显改变, 说明服用破壁饮片和常规饮片之后比较有可能形成稳定的肠道菌群环境。应用DGGE/TGGE技术我们可以从对比不同微生物群落之间的差异变化方面, 探究中医药在疾病的治疗过程可能的机制研究, 对肠道微生物的群落的结构、功能和动态变化有着更好的阐述, 为全面、快速、准确分析和鉴定复杂的肠道微生物提供新的方向。

2.1.2 末端限制性片段长度的多态性技术: 末端限制性片段长度的多态性(terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)技术以分子系统学原理为基础, 运用了PCR、限制性酶切、荧光标记和DNA序列分析等技术, 通过对特定核酸片段长度多态性的测定来分析微生物群落结构和功能^[24]。Wu等^[25]采用T-RFLP技术

研究甘草中类黄酮异黄酮苷元调节结肠炎相关大肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)肠道菌群影响时, 发现甘草中类黄酮异黄酮苷元改变了小鼠肠道菌群群落结构, 其中*Lachnospiraceae*、*Rikenellaceae*含量降低、*Helicobacteraceae*含量增加, 证明甘草中类黄酮异黄酮苷元可保护小鼠免受CAC的侵害, 且它和肠道菌群可能具有协同的抗癌作用。与定性分析的DGGE/TGGE技术不同, T-RFLP技术可定性、定量分析微生物群落结构和功能。应用T-RFLP技术在短时间内对肠道中细菌群落以及群落中细菌组成定量分析, 证实中药对疾病主要调控作用的肠道细菌靶点, 为中药可能通过调节肠道微生物群来预防疾病发生发展提供新的证据。

2.1.3 扩增核糖体DNA限制性酶切片片段分析技术: 扩增核糖体DNA限制性酶切片片段分析(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)技术是一种快速、有效的现代生物鉴定方法, 在微生物遗传多样性及其分类研究中应用广泛^[26]。郭抗萧等^[27]采用ARDRA技术研究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道菌群多样性的影响时发现, 乳酸杆菌16S rDNA的PCR产物经酶切后传统汤药(七味白术散)组与模型组相比ARDRA条带增加, 且接近于正常组, 提示造模后小鼠肠道菌群失调, 乳酸杆菌量减少, 多样性下降; 七味白术散治疗后可改变小鼠肠道菌群多样性, 与正常组群落结构的相似性系数接近。根据ARDRA条带的丰富程度, 我们可以看出肠道

菌群群落的多样性, 且ARDRA条带信号越强, 表示肠道菌群中该物种的数量越多. 从实验结果中证实了七味白术散能够促进乳酸杆菌的生长, 增加乳酸杆菌的丰富度, 为今后七味白术散应用于临床提供了新的方向. ARDRA技术能够在一定程度上反映出核糖体DNA的遗传多样性, 通过ARDRA技术应用中医药领域的肠道微生态研究对微生物鉴定、共生菌、病原菌的微生物遗传多样性的检测, 了解疾病过程中破坏肠道微生态的主要影响因素, 以及建立中医药良性、稳定的肠道微生态结构具有重要意义, 为今后开发有利于特异性中药抑制剂具有重要的实际应用价值.

2.1.4 基因芯片技术: 基因芯片(Gene chip)技术又称DNA微阵列, 能快速、准确、大规模地对获取样品核酸序列信息进行定性分析. Gene chip技术已应用于粪便、环境样本等的众多领域中, 主要应用于基因表达分析、基因组测序、疾病诊断及药物筛选等方面^[28]. 周鸿云^[29]在用Gene chip技术探索人参乌梅汤加味对腹泻模型大鼠结肠差异基因的分子调控机制发现, 有17个基因表达上调, 34个基因表达下调, 提示中药对腹泻的调控是多层次、多靶点的. Gene chip技术不仅可以从基因层面初步揭示中医药应用肠道微生态治疗疾病的分子机制. 而且由于不同基因存在不同功能, 参与不同的信号通路, 涉及疾病的多个阶段多个环节, 互相之间存在着复杂的交互网络作用关系, 它们可能单个发挥作用, 可能需要多个基因同时参与某条通路或表达某项功能. 基于此, 我们也可以深入“中药组分-信号通路-调控”的新视角, 宏观与微观结合系统研究中药复方多成分、多靶点、多途径作用机制, 为进一步诠释中医药应用肠道微生态治疗疾病的现代科学内涵奠定基础.

2.1.5 荧光原位杂交技术: 荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH) 技术对不同类群的微生物在细胞水平上进行原位的定性定量分析, 描述微生物的形态特征、丰度以及在样品上的空间分布和动态^[30]. 应用FISH技术探究中药多糖调节抗生素菌群失调小鼠肠道菌群变化时发现^[31], 中药多糖组中小鼠肠道双歧杆菌的含量较模型组升高, 大肠杆菌的含量降低, 提示中药多糖具有扶植肠道正常菌群生长的作用. 实验中经中药多糖干预后快速有效地通过大肠杆菌探针针对金葡菌、双歧杆菌等进行杂交检测, 得到中药多糖可通过调节肠道菌群结构及丰度达到治疗抗生素引起菌群失调的现象. FISH方法在检测中医药调节菌群失调的应用较传统微生物培养法具有明显的优势, 不仅能够对多种微生物进行定性定量检测, 而且能够分析微生物群落及对特定菌群进行空间定位和原位生理学研究, 提高了肠道菌群检测的速度和种类变化的准确度, 有助于对中药发挥疗效功能

进行准确、客观的评价, 对中药的开发提供技术支持.

2.1.6 实时荧光定量PCR技术: 实时荧光定量PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)技术即应用RT-PCR检测系统对实验反应过程中荧光信号的强度进行检测, 通过标准曲线对未知模板进行定量分析. 该技术能够分析明确肠道中某类有益菌和致病菌的定植规律, 逐渐应用于人类以及动物肠道特定菌群的分析检测^[32]. 在探究安肠汤治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作用机制过程中, 孙平良^[33]应用RT-PCR技术检测大鼠肠内容物中各菌属基因表达, 发现安肠汤对UC大鼠肠道菌属有明显的调节作用. 曾艺鹏等^[34]在探究葛根芩连汤治疗2型糖尿病湿热证对患者肠道菌群影响时发现, 葛根芩连汤在一定程度上改善了肠道微生态, 能有效抑制致炎细菌、促进益生菌的生长, 从而达到治疗2型糖尿病湿热证的效果. RT-PCR技术不仅可以从基因水平的量化检测来描述中药对肠道微生物的特定效应, 而且可以对中药干预治疗后肠道中某些有益菌和致病菌的定植规律进行定量分析, 这充分显现出肠道菌群中医药治疗疾病过程中的重要地位, 日益凸显中医药在肠道菌群结构及细菌定量、病原检测、基因表达等方面的优越性.

2.1.7 高通量测序技术: 高通量测序(high-throughput sequencing, HTS)技术能够以样品中各微生物基因组信息作为研究对象直接进行微生物组成的分析, 可准确获得肠道微生物群落信息^[35]. 而测序技术的发展由于测序原理、测序平台的不同也出现了较大的差异. 其中二代测序可对多个样本进行测序, 在单位时间内数据测序通量及产出量增长. 与二代测序不同的是, 三代测序技术测序过程更加简化, 读长变长, 可对16S rRNA基因全长进行测序, 直接对给定的模板DNA或者RNA进行测序, 实现真正意义上的实时测序^[36]. 张晨阳等^[37]应用高通量二代测序技术对小鼠肠内容物菌群16S rRNA基因V3-V4可变区进行扩增, 探究番泻叶灌胃对小鼠肠内容物菌群的影响. 结果发现番泻叶灌胃后可改变小鼠肠内容物菌群中*Streptococcus*, *Sutterella*和*Dorea*的变化. 之后又利用高通量三代测序技术获取小鼠肠黏膜16S rRNA基因全长序列信息, 分析小鼠肠黏膜微生物对肝气乘脾证泄泻的影响发现^[38], 模型组小鼠肠黏膜菌群多样性与空白组相比明显升高. 其中*Stigmatella aurantiaca*、*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse*、*Erythrobacter gaetbuli*、*Desulfobacterium hafniense*、*Ochrobactrum pituitosum*和*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse-NL*明显降低, 提示肝气乘脾证泄泻的发生与肠黏膜菌群多样性、群落结构以及相对丰度相关. 虽然测序技术在短短几十年的时间里

取得了突飞猛进的发展,但仍存在亟待完善的地方,二代测序在大基因检测时,其测序读长较短会产生大量高度碎片化的重复片段,对于后续测序拼接成为较大困扰;同时在测序读长时针对某一可变区域进行,读长长度较短;并且测序时间长,无法完全满足临床样本快速诊断的需要^[39].而三代测序平台读长较长,测序错误率较高,后续数据处理分析较依赖处理软件与数据库的选择^[40].基于HTS的宏基因组学技术通过提取肠道中的微生物总DNA、构建文库,可获得大量肠道微生物群落种类、丰度及相关生物学信息,为人类研究肠道营养健康提供支持^[41].郭抗萧等^[42]基于宏基因组技术评估七味白术散对肠道菌群失调腹泻的治疗机理发现,经七味白术散治疗后小鼠肠道菌群菌属结构以及多样性等发生明显改变,说明七味白术散可能对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌群落有恢复的作用.

HTS技术不仅能够反映环境中微生物的群落结构,而且在以功能基因为核心的分子生态学研究也备受青睐^[43].*mcrA*基因编码mcr的A亚基,可作为肠道甲烷产量的生物标记物检测产甲烷菌的多样性和系统发育情况,对于研究针对性减少甲烷的方法具有积极作用^[44].硫酸盐还原细菌(sulphate-reducing bacteria, SRB)的功能基因*dsrB*可鉴定SRB物种信息来探究炎症性肠病与SRB之间的可能联系,为之后中医药治疗提供指导性建议^[45].贺璐等^[46]探讨四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌功能基因的影响时,发现四磨汤可通过提高肠道细菌能量和营养物质的代谢,提高遗传信息的复制、转录、翻译和跨膜转运水平来达到治疗脾虚便秘的效果.微生物的各种转化功能主要依赖酶来完成,通过编码相关酶的功能基因作为微生物功能标记物,成为了微生物多样性研究的新方向^[47].在探究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性的影响时,龙承星^[48]发现七味白术散对小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因的多样性和丰度有明显恢复作用,能够修复小鼠肠道黏膜细菌产乳糖酶基因的群落结构.实验试从肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性层面进一步探讨七味白术散对菌群失调腹泻疗效的认识,为阐明七味白术散对菌群失调腹泻疗效的现代生物学机理提供佐证.由此可以看出,中医药发挥疗效时可通过借助高通量测序技术从肠道菌群中的物种组成分析、多样性分析、物种差异分析、功能基因等方面准确获取肠道微生物信息,揭示多种肠道疾病相关的分子机制,为之后进一步挖掘中医药作用的具体作用靶点(如针对某一通路或功能预测)埋下伏笔,也为更好探究中医药与肠道微生物的关系提供研究基础.

2.2 基于蛋白质的分析技术 随着蛋白质组学技术日趋成熟,蛋白质组学在促进中医药肠道微生态领域发展的

同时,中医药研究也为蛋白质组学提供方向与动力,已成为蛋白质组学的重要研究领域之一^[49].王佳等^[50]探讨健脾祛痰化痰法对脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠差异蛋白的影响时发现,健脾祛痰化痰中药方影响脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠多种蛋白表达,涉及细胞黏附分子、脂肪消化和吸收、胆汁酸分泌等通路,提示该方通过调控这些关键通路蛋白的表达改善巴马猪小肠消化吸收功能异常,进而改善脾虚痰浊动脉粥样硬化.蛋白质组学的快速发展为我们深入研究疾病过程中蛋白质表达和功能作用提供了可能.蛋白质组学技术可以在整体水平上检测出疾病中一些特异蛋白的表达,明确疾病过程中相关蛋白的表达和功能变化,加快对疾病病理改变的认识.将中医药现代化研究与蛋白质组学研究结合,从微观角度探讨中药复方作用机制,为中医药的证候治疗提供准确分子标志物,以此针对性的达到治疗的效果.

2.3 基于代谢产物的分析技术 肠道细菌代谢产物如短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)在机体生理和病理过程中扮演着重要角色.随着关于SCFAs在机体中的作用研究的不断深入,越来越多的实验要求对人或实验动物粪便或肠内容物中短链脂肪酸含量进行方便、快捷的测定^[51].目前的检测方法以色谱技术较为常见.在探究肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的实验中,吴月滢^[52]发现肺系调治方可促进大鼠肠内容物中乙酸、丙酸、正丁酸的表达,提示肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的作用机制可能与大鼠肠内容物中增加的SCFAs有关.李慧等^[53]探讨黄连解毒汤对小鼠粪便中SCFAs代谢的影响时发现,灌胃黄连解毒汤后小鼠粪便中乙酸、丙酸和丁酸含量显著升高,提示黄连解毒汤可能促进了肠道菌群代谢,从而导致其代谢产物短链脂肪酸增加.通过应用色谱技术检测SCFAs的含量变化可以间接的反映出机体肠道细菌的变化,有利于挖掘肠道中产乙酸、丙酸、丁酸的肠道有益细菌,是中医药通过促进这些有益细菌生长及靶向调控防治多种人体疾病的潜在重要方法,以此为中医药防治疾病及药物研发提供新的研究思路.

3 肠道酶活性检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

酶能在温和的条件下,高效率促进生物体的新陈代谢.肠道功能酶是机体肠道内重要组成部分,影响机体营养物质吸收、免疫以及生长发育^[54].酶活性检测技术已逐渐应用于肠道内容物以及肠黏膜各种功能酶活性的检测中.吴仪等^[55]用痛泻要方治疗肝气乘脾泄泻小鼠,应用酶活性检测小鼠肠黏膜前、中、后段及肠内容物中

消化酶活性发现, 与自然恢复组比, 中药干预组小鼠肠内容物中乳糖酶活性升高, 肠道前段黏膜纤维素酶活性显著降低, 肠道中段黏膜蛋白酶、淀粉酶以及纤维素酶活性升高, 肠道后段黏膜乳糖酶、蔗糖酶活性显著升高, 提示痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道消化酶活性具有调节作用, 但对于肠道不同部位消化酶活性调节作用有所不同。谭周进等^[56]发现七味白术散对菌群紊乱腹泻的肠道微生态环境具有调整作用, 之后在探究七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响时发现, 七味白术散治疗后小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复且提高, 说明七味白术散可促进腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复而治疗腹泻^[16]。基于此, 通过检测肠道中各种消化酶活性发现, 中药不仅可以通过肠道黏膜影响肠道消化酶的分泌量, 使肠道消化酶活性发生变化, 而且还会影响肠道微生物使肠道酶的来源受到影响, 进一步阐明中药对肠道消化酶活性的调节机理, 为之后从酶活性角度探索中药调节肠道菌群治疗疾病提供思考。

4 肠道微生物活度检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

微生物活度检测技术最早应用于土壤微生物检测当中, 肠道中不同种类的酶能够反映微生物参与生化反应的活跃程度, 也是微生物活度检测的重要指标^[57]。荧光素二乙酸(fluorescein diacetate, FDA)能够被细菌及真菌中的非专一性酶水解, 我们常通过测定样品FDA水解程度体现肠道中微生物的总体活度^[58]。惠华英等^[17]在研究葛根芩连汤对肠道湿热证泄泻小鼠肠内容物及肠黏膜微生物活度影响时发现, 治疗组小鼠肠内容物及黏膜微生物活度降低向正常组水平变化, 提示葛根芩连汤治疗肠道湿热证泄泻可能与肠道微生物活度有关。肠道微生物活度可在一定程度上反映肠道微生物的总体代谢能力, 肠内容物以及肠黏膜中微生物活度的不同提示处于此处的肠道微生物的种类、丰度等有所差异, 不同种类、丰度的肠道微生物必然会影响微生物总体代谢能力。通过肠道微生物活度检测可明确中药治疗疾病过程中对于肠道微生物总体代谢能力的调控作用, 丰富了中医药治疗与肠道微生物的关系, 也为今后从肠道微生态出发探讨中医药治疗临床疾病的机理打开一扇新的大门。

5 其他检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

体外模拟胃肠系统是一种基于生理学模拟生物体进行生物学研究的创新技术。针对肠道益生菌的开发与应用, 胃肠道环境耐受性试验已成为一个主要内容。我们通常采用体外模拟胃肠道环境模型对其进行评价, 为更

好的评估益生菌的适应性及其科学有效的使用提供依据。刘艳平等^[59]在探究知母皂苷B II 模拟人体胃肠道环境的稳定性研究时, 发现知母皂苷B II 在人工胃液、人工肠液中能稳定生存, 不会发生明显降解, 这对于知母皂苷B II 剂型选择和生物利用度改善具有重要意义, 也为进一步阐明知母的体内药效物质提供参考。

6 结论

肠道微生物的平衡与宿主的健康和疾病有着密切的关联。中医药通过调控肠道微生物中菌种结构组成, 从而维持肠道微生态平衡, 对疾病的治疗有显著效果。目前, 分子生物学技术被广泛运用于中医药调节肠道微生态研究中, 通过分子生物学技术来探讨肠道微生态的平衡与紊乱, 阐释肠道微生物与宿主的生理及病理相关性, 揭示多种肠内外疾病中医症候表现的分子机制, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据和研究基础, 这对于全面了解中药药效物质基础, 为中医药在调节肠道菌群方面取得新的突破性进展, 推动中药现代化研究进程具有重要的意义。相较于传统的肠道微生物研究方法, 目前的技术手段已经取得了非常大的进步。但是这些技术仍然存在缺陷, 对于研究肠道微生物来说仍显不足, 如对于样品的处理方式应有所突破, 样品信息的处理仍需优化。在未来, 随着分子生物学自身的发展, 期待有更简便快捷的方法出现, 并结合目前已有的研究技术, 按照需求进行选取以更有效地达到实验目的, 而借助生物大数据的方法可能会是未来研究的发展方向。

7 参考文献

- 1 谢果珍, 惠华英, 于子真, 彭买姣, 谭周进. 铁皮石斛多糖对肠道微生态的影响研究. 时珍国医国药 2019; 30: 2603-2605 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2019.11.015]
- 2 王永安, 李亚兰, 吴佳佳, 葛东宇, 彭桂英. 基于高通量测序分析大承气汤对过敏性哮喘小鼠肠道菌群的影响. 中国中医药信息杂志 2021; 28: 1-5 [DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202008445]
- 3 何云山, 谭周进, 李丹丹, 惠华英. 保和丸对食积小鼠的肠道微生物及酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2019; 31: 763-767 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201907004]
- 4 唐圆, 吴仪, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 17-20 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202001004]
- 5 何云山, 唐圆, 肖奕菲, 肖嫩群, 惠华英. 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 125-130+137 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202002001]
- 6 黄皓, 郝丽, 肖向红, 张晶钰, 柴龙会, 刘畅. 肠道菌群功能及检测技术研究进展. 黑龙江畜牧兽医 2018; 13 45-48 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2017.08.0266]
- 7 于文雅, 孙泽威. 动物胃肠道微生物研究技术的应用进展. 黑龙江畜牧兽医 2015; 3: 53-56 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2015.0172]
- 8 方治国, 郝翠梅, 姚文冲, 欧阳志云. 空气微生物群落解析方法: 从培养到非培养. 生态学报 2016; 36: 4244-4253 [DOI: 10.5846/stxb201411272355]
- 9 周建波, 姜亚, 宁俊平, 曹晓燕, 黄怡, 王士长. 应用扩增性DNA

- 限制性酶切片段多态性分析技术研究竹鼠盲肠细菌菌群的多样性. 动物营养学报 2013; 25: 2504-2508 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2013.10.035]
- 10 刘玉婷, 郝微微, 温红珠, 邵兰君. 肠道菌群的检测方法及其研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24: 3142-3148 [DOI: 10.11569/wjcd.v24.i20.3142]
- 11 李景, 王素英, 周鑫. 分子生物学技术在肠道微生态研究中的应用. 黑龙江畜牧兽医 2009; 19: 14-16 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2009.19.004]
- 12 黄卫强, 张和平. 分子生物学技术在肠道菌群研究中的进展. 微生物学通报 2014; 41: 1195-1202 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.130449]
- 13 刘莹, 韩钰, 王文磊, 马成玉, 张沛. 高通量技术在微生物培养中的应用进展及分子测序对比分析. 安徽农业科学 2020; 48: 16-19 [DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.15.005]
- 14 刘璇, 岳庆喜, 果德安. 蛋白质组学技术及其在中药复杂体系研究中的应用. 中国天然药物 2009; 7: 260-269 [DOI: 10.3724/SP.J.1009.2009.00260]
- 15 高冰, 于秋颖, 贾海莲, 苏军, 邵大鹏, 李梦格, 戈娜. 短链脂肪酸提取与检测的研究进展. 包头医学院学报 2019; 35: 116-117+145 [DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2019.12.042]
- 16 惠华英, 申可佳, 李丹丹, 谭周进. 七味白术散对庆生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2018; 30: 1126-1129 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201810003]
- 17 惠华英, 何云山, 罗成宇, 谭周进. 葛根苓连汤对肠道湿热证泻泄小鼠肠道微生物活度和酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2020; 2: 1-8 [DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2020.02032]
- 18 肖新云, 刘又嘉, 邓艳玲, 谭周进. 汉逊德巴利酵母菌在胃酸、肠胆盐环境的耐受性研究. 湖南农业科学 2016; 6: 6-8 [DOI: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2016.06.003]
- 19 龙承星, 贺璐, 郭艳芳, 刘又嘉, 于子真, 任婷, 谭周进. 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响. 天然产物研究与开发 2017; 29: 1020-1024+1034 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.020]
- 20 唐标, 肖新云, 刘又嘉, 姚天振, 尹抗抗, 谭周进. 降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2016; 22: 442-445
- 21 杨翠, 李祖明. 分子生物学技术在肠道微生物研究中的应用进展. 中国微生态学杂志 2017; 29: 229-233+238 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702029]
- 22 邝枣园, 马嫒, 宋梦微, 李岩, 张韧, 李明. 黄连解毒汤对高脂血症形成过程中小鼠肠道微生态的影响. 中国医药指南 2013; 11: 85-87 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2013.09.067]
- 23 杨泽锐, 曾桂梅, 彭丽华, 张苗苗, 成金乐, 詹若挺. 红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响的初步研究. 中国中药杂志 2015; 40: 3053-3058 [DOI: 10.4268/cjcm.20151526]
- 24 邱浩然, 赵霞, 王晓春, 孔秀琴, 陈吉祥. 现代分子生物学技术在活性污泥微生物菌群多样性研究中的应用. 四川环境 2013; 32: 129-132 [DOI: 10.14034/j.cnki.schj.2013.06.002]
- 25 Wu M, Wu Y, Deng B, Li J, Cao H, Qu Y, Qian X, Zhong G. Isoliquiritigenin decreases the incidence of colitis-associated colorectal cancer by modulating the intestinal microbiota. *Oncotarget* 2016; 7: 85318-85331 [PMID: 27863401 DOI: 10.18632/oncotarget.13347]
- 26 宁华, 张荣先, 陈浩, 杨志荣, 孙群. 滇池中芽孢杆菌的ARDRA分类及溶藻特性. 湖泊科学 2008; 05: 675-680 [DOI: 10.18307/2008.0518]
- 27 郭抗萧, 肖新云, 刘又嘉, 龙承星, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 应用与环境生物学报 2015; 21: 1071-1075 [DOI: 10.3724/sp.j.1145.2015.04030]
- 28 Niewold TA, Kerstens HH, van der Meulen J, Smits MA, Hulst MM. Development of a porcine small intestinal cDNA microarray: characterization and functional analysis of the response to enterotoxigenic E. coli. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 105: 317-329 [PMID: 15808309 DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.02.010]
- 29 周鸿云. 基于“五味合化”理论研究人参乌梅汤加味及其性味折方对腹泻模型大鼠结肠差异基因表达的影响. 四川省: 成都中医药大学 2019
- 30 何世斌, 柴连琴, 沈尧, 周萍, 马云峰, 李立家. 荧光原位杂交技术的研究进展. 植物科学学报 2014; 32: 199-204 [DOI: 10.1016/10.3724/SP.J.1142.2014.20199]
- 31 郭建壮. 用中药调节剂采取边抗边调等方式对抗生素所致菌群失调进行防治的研究. 新疆: 佳木斯大学 2012
- 32 周良云, 刘谈, 王升, 唐金富, 康利平, 郭兰萍. 实时荧光定量PCR研究进展及其在中药领域的应用. 中国现代中药 2016; 18: 246-251+262 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2016.2.027]
- 33 孙平良. 基于代谢组学的溃疡性结肠炎大鼠肠道微生态变化及安肠汤干预机制研究. 广西省: 广西医科大学 2017
- 34 曾艺鹏, 冯新格, 谷成英, 郭亚芳, 许迎烈. 葛根苓连汤治疗对2型糖尿病湿热证肠道菌群影响. 河北医学 2016; 22: 1731-1734 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2016.10.064]
- 35 彭买蛟, 惠华英, 肖嫩群, 谭周进. 芦笋对高脂饮食小鼠肠道内容物细菌多样性的影响. 核农学报 2019; 33: 2229-2236 [DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2019.11.2229]
- 36 王玉静, 陆梓滢, 陈俊煌, 陈毅歆. 高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用现状. 厦门大学学报(自然科学版) 2020; 6: 1-11 [DOI: 10.6043/j.issn.0438-0479.202006033]
- 37 Zhang C, Shao H, Li D, Xiao N, Tan Z. Role of tryptophan-metabolizing microbiota in mice diarrhea caused by Folium sennae extracts. *BMC Microbiol* 2020; 20: 185 [PMID: 32600333 DOI: 10.1186/s12866-020-01864-x]
- 38 Zhang C, Shao H, Peng X, Liu T, Tan Z. Microbial characteristics colonized in intestinal mucosa of mice with diarrhoea and repeated stress. *3 Biotech* 2020; 10: 372 [PMID: 32832332 DOI: 10.1007/s13205-020-02368-1]
- 39 Schatz MC, Delcher AL, Salzberg SL. Assembly of large genomes using second-generation sequencing. *Genome Res* 2010; 20: 1165-1173 [PMID: 20508146 DOI: 10.1101/gr.101360.109]
- 40 Rhoads A, Au KF. PacBio Sequencing and Its Applications. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13: 278-289 [PMID: 26542840 DOI: 10.1016/j.gpb.2015.08.002]
- 41 吴森, 张莺莺, 答林森. 基于高通量测序的宏基因组学技术在动物胃肠道微生物方面的研究进展. 生物技术进展 2015; 5: 77-84 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.02.01]
- 42 郭抗萧, 彭买蛟, 彭昕欣, 惠华英, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌多样性的影响. 微生物学通报 2018; 45: 1470-1478 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.170751]
- 43 Xie G, Tan K, Peng M, Long C, Li D, Tan Z. Bacterial diversity in intestinal mucosa of antibiotic-associated diarrhea mice. *3 Biotech* 2019; 9: 444 [PMID: 31763122 DOI: 10.1007/s13205-019-1967-2]
- 44 McGovern E, McCabe MS, Cormican P, Popova M, Keogh K, Kelly AK, Kenny DA, Waters SM. Plane of nutrition affects the phylogenetic diversity and relative abundance of transcriptionally active methanogens in the bovine rumen. *Sci Rep* 2017; 7: 13047 [PMID: 29026096 DOI: 10.1038/s41598-017-13013-y]
- 45 Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, Dawson C, Bai H, Waring RH, Ramsden DB, Hunter JO, Cauchi M, Bessant C, Fowler DP, Walton C, Turner C, Cole JA. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 55-68 [PMID: 22309113 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00935.x]
- 46 贺璐, 龙承星, 李丹丹, 张雪, 彭买蛟, 谭周进. 四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌丰度及功能基因的影响. 中国微生态学杂志 2017; 29: 133-138 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702003]
- 47 He L, Liu Y, Guo Y, Shen K, Hui H, Tan Z. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San. *3 Biotech* 2018; 8: 4 [PMID: 29242764 DOI: 10.1007/s13205-017-1024-y]
- 48 龙承星. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌及乳糖

- 49 酶基因多样性的影响. 湖南省: 湖南中医药大学 2019
- 49 刘宁宁, 张铁军, 郝非凡, 徐霞, 苗华, 王艳炜. 半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压机制探讨. 河北中医学报 2020; 35: 40-43+57 [DOI: 10.16370/j.cnki.13-1214/r.2020.04.011]
- 50 王佳. 基于蛋白组学探讨健脾祛痰化痰法对脾虚痰浊AS巴马猪小肠差异蛋白及能量代谢变化的影响. 辽宁中医药大学 2020
- 51 邵玉健, 沈红, 徐金娣, 康东周, 李松林. 粪便中短链脂肪酸测定方法研究进展. 药物分析杂志 2019; 39: 967-974 [DOI: 10.16155/j.0254-1793.2019.06.02]
- 52 吴月滢. 肺系调治方干预肠黏膜屏障防治小儿反复呼吸道感染的实验研究. 云南省: 云南中医药大学 2019
- 53 李慧, 杨光勇, 刘茜明, 陈瑞, 何光志, 王文佳, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东. 黄连解毒汤对小鼠血清中Trp、Kyn、5-HT及粪便中短链脂肪酸代谢的影响. 黑龙江畜牧兽医 2019; 9: 126-129 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2018.06.0060]
- 54 刘又嘉, 肖新云, 邓艳玲, 郭抗萧, 余颜, 谭周进. 七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻模型小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 航天医学与医学工程 2016; 29: 175-180
- 55 吴仪, 唐圆, 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对“肝气乘脾”泄泻小鼠肠黏膜及肠内容物消化酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 745-749 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007001]
- 56 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. 生态学报 2012; 32: 6856-6863 [DOI: 10.5846/stxb201109271422]
- 57 王佳佳, 周桦, 张进. 土壤样品中微生物活性的荧光分析方法. 环境化学 2012; 31: 1637-1644
- 58 许云翔, 何莉莉, 刘玉学, 吕豪豪, 汪玉瑛, 陈金媛, 杨生茂. 施用生物炭6年后对稻田土壤酶活性及肥力的影响. 应用生态学报 2019; 30: 1110-1118 [DOI: 10.13287/j.1001-9332.201904.002]
- 59 刘艳平, 余自成. 知母皂苷BII在模拟人体胃肠道环境及生物样品中的稳定性研究. 中国现代应用药学 2018; 35: 653-656 [DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.007]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

书 讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行。

腹痛是消化系统最常见的症状之一,可引起腹痛的疾病很多,容易发生误诊或漏诊,以致患者得不到及时的诊治。本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔,为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作。精装,图文并茂,内容新颖实用,全书2014千字,分上下两篇,上篇为总论,包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章。下篇为各论,分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗。从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗。从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰、肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗。从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗。最后一章为经典案例53例,分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训。

全书以症状鉴别诊断为中心,与治疗并重,均作了全面与详尽的阐述,是一部有关腹痛诊治的新作,有较高的学术水平和参考价值,可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考。每册定价188元,购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书,欢迎选购。

结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究

查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方

查华英, 吴岩, 浙江省德清县中医院内科 浙江省湖州市 313200

尚洛南, 浙江省德清县中医院影像科 浙江省湖州市 313200

孙方, 浙江省德清县中医院放化疗科 浙江省湖州市 313200

查华英, 副主任中医师, 研究方向为中医内科.

作者贡献分布: 此课题由查华英设计; 研究过程由吴岩, 尚洛南, 孙方操作完成.

通讯作者: 查华英, 副主任中医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇群益街383号, 浙江省德清县中医院. xunfangyaobai@163.com

收稿日期: 2020-12-18

修回日期: 2021-01-23

接受日期: 2021-04-02

在线出版日期: 2021-05-08

Association of glutathione thioltransferase P1 (GSTP1) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients

Hua-Ying Cha, Yan Wu, Luo-Nan Shang, Fang Sun

Hua-Ying Cha, Yan Wu, Department of Medicine, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Luo-Nan Shang, Department of Imaging, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Fang Sun, Department of Radiotherapy and Chemotherapy, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hua-Ying Cha, Deputy Chief Physician of Traditional Chinese Medicine, Department of Medicine, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, No. 383 Qunyi

Street, Deqing Country, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. xunfangyaobai@163.com

Received: 2020-12-18

Revised: 2021-01-23

Accepted: 2021-04-02

Published online: 2021-05-08

Abstract BACKGROUND

Colon cancer has a high incidence, and chemotherapy is still the only treatment for it. Oxaliplatin, as a third generation platinum chemotherapy drug, has a good efficacy in the treatment of colorectal cancer. However, due to the influence of genetic susceptibility, people with different genotypes have different sensitivities to oxaliplatin. As a result, the therapeutic effect varies greatly among different patients.

AIM

To explore the association of glutathione sulfhydryl transferase P1 (GSTP1) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine (TCM) syndrome types in colon cancer patients.

METHODS

A total of 246 colon cancer patients who received chemotherapy with oxaliplatin-based regimens at our hospital from January 2015 to June 2020 were selected. The Ile105Val polymorphism of GSTP1 gene was detected before chemotherapy, and the curative effect was evaluated after three cycles of chemotherapy. The clinical data and the distribution of GSTP1 genotypes of patients with different chemotherapy effects were compared, and the factors affecting the efficacy of oxaliplatin chemotherapy were analyzed. The distribution of TCM syndrome types of colon cancer patients was also

calculated, and the relationship between GSTP1 genotype and TCM syndrome types and syndrome elements was evaluated.

RESULTS

There was a polymorphism in the Ile105Val locus of the GSTP1 gene, which conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium law and was representative of the population ($P > 0.05$). After three cycles of oxaliplatin chemotherapy in 246 patients with colon cancer, the total effective rate was 43.90% (108/246). Clinical stage IV, moderate/well differentiation lymph node metastasis, and GSTP1 genotypes AG and GG were important factors influencing the effect of oxaliplatin chemotherapy in colon cancer patients ($P < 0.05$). The distribution of TCM syndromes in 118 patients with colon cancer was as follows: Stasis-toxin internal resistance type > Spleen and kidney Yang deficiency type > Qi and blood deficiency type > Damp-heat accumulation type > Liver and kidney Yin deficiency type. There was a statistically significant difference in the distribution of GSTP1 genotypes in patients with blood stasis internal resistance type and Qi and blood deficiency type ($P < 0.05$). There was a statistically significant difference in the distribution of TCM syndrome types among patients with different GSTP1 genotypes ($P < 0.05$). The distribution of spleen, lung, and kidney elements of TCM syndromes in patients with different GSTP1 genotypes was significantly different ($P < 0.05$).

CONCLUSION

There is an association between the GSTP1 gene polymorphism and sensitivity to oxaliplatin and TCM syndrome types in colon cancer patients. Therefore, the detection of GSTP1 gene polymorphism is helpful to evaluate the therapeutic effect in patients receiving oxaliplatin as the basic drug chemotherapy, determine the type of TCM syndrome, and provide scientific guidance for individualized treatment of colon cancer.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Glutathione sulfhydryl transferase P1; Gene polymorphism; Oxaliplatin; TCM syndrome type

Citation: Cha HY, Wu Y, Shang LN, Sun F. Association of glutathione thioltransferase P1 (GSTP1) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 488-495
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/488.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.488>

摘要

背景

结肠癌属于发病率均较高的癌症, 化疗仍是其只要

治疗手段, 奥沙利铂作为第三代铂类化疗药物在治疗肠癌方面有较好的疗效, 但受基因易感性的影响, 不同基因型的人群对药物的敏感性不同, 因而治疗效果也有较大差异。

目的

探究结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(Glutathione S-transferase pi 1, GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性。

方法

选取我院2015-01/2020-06结肠癌患者246例, 均行奥沙利铂方案化疗, 化疗前检测GSTP1基因Ile105Val位点多态性, 化疗3个周期后评价疗效。比较不同化疗疗效患者临床资料、GSTP1基因型分布情况, 分析奥沙利铂化疗疗效的影响因素, 并统计结肠癌患者中医证型分布情况, 评价GSTP1基因型与中医证型、证素的关系。

结果

GSTP1基因Ile105Val位点存在多态性, 符合哈迪-温伯格(Hardy-Weinberg)遗传平衡定律检验, 具有人群代表性($P > 0.05$)。246例结肠癌患者经奥沙利铂方案化疗3个周期后, 总有效率为43.90%(108/246)。临床分期IV期、中高分化、淋巴结转移、GSTP1基因型AG、GG是结肠癌患者奥沙利铂化疗效果的重要影响因素($P < 0.05$)。118例结肠癌患者中医证型分布情况: 瘀毒内阻型 > 脾肾阳虚型 > 气血双亏型 > 湿热蕴结型 > 肝肾阴虚型。瘀毒内阻型、气血双亏型患者GSTP1基因型分布比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 不同GSTP1基因型患者中医病位证素脾、肺、肾分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论

结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性、中医证型均存在一定相关性, 因此检测GSTP1基因多态性, 有助于评价患者接受以奥沙利铂为基础药物化疗的治疗效果, 判断中医证型, 从而为结肠癌个体化治疗提供科学指导。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠癌; 谷胱甘肽巯基转移酶P1; 基因多态性; 奥沙利铂; 中医证型

核心提要: 本研究从化疗药物和中医证型两方面来探讨GSTP1基因多态性与结肠癌治疗的相关性, 通过中西医结合的方式发现GSTP1基因多态性对奥沙利铂的敏感性和中医证型均密切相关。

文献来源: 查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方. 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 488-495

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/488.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.488>

0 引言

流行病学调查显示, 结肠癌是全球第3大常见恶性肿瘤, 其发生率随饮食结构改变不断增长, 且5年生存率仅为50.0%^[1-3]. 以奥沙利铂为基础的化疗方案治疗晚期结肠癌有效率为20.0%-30.0%, 但其易产生外周神经炎等不良反应, 影响患者生存质量, 甚至中断治疗进程^[4,5]. 目前, 中医药已成为结肠癌患者综合治疗的一个有效组成部分, 在增强免疫功能、降低毒副反应、提高患者对化疗耐受性、预防复发转移等方面具有一定作用, 但中晚期结肠癌的中医证型缺乏统一的辨证标准^[6]. 另外, 生物医学研究已表明^[7], DNA损伤修复、药物代谢及解毒等基因存在单核苷酸多态是药物治疗疗效及耐受性个体差异的重要影响因素. 谷胱甘肽巯基转移酶P1(glutathione S-transferase P1, GSTP1)是人类谷胱甘肽S转移酶家族主要成员, 有学者认为, 其不仅与化疗药物代谢具有密切联系, 也与结肠癌发病及易感性有关^[8], 然而关于其与结肠癌患者中医证型的相关性仍缺乏循证依据, 有待进一步深入探讨. 基于此, 本研究尝试分析结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性. 详情如下.

1 材料和方法

1.1 一般资料 选取我院2017-01/2020-06结肠癌患者118例, 均行奥沙利铂方案化疗, 其中女49例, 男69例, 年龄40-65岁, 平均(53.25±3.69)岁. 本研究经我院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书.

纳入标准: (1)均符合《2014 JSCCR指南: 结直肠癌的治疗》^[9]中结肠癌诊断标准, 并经手术病理组织学检查证实; (2)符合奥沙利铂方案化疗适应证; (3)临床分期IIIB-IV期; (4)中医证型标准: 参照《实用中医肿瘤学》^[10]和《中医内科学》^[11]进行中医辨证分型, 并均符合下述2项主症或1项主症、1项次症、舌脉标准: ①气血双亏型. 主症: 腹痛绵绵, 或腹内结块, 肛门重坠, 大便带血, 泄泻; 次症: 形瘦纳少, 面色苍白, 唇甲不华, 舌质淡, 苔薄白, 脉细弱无力; ②湿热蕴结型. 主症: 腹部阵痛, 下利赤白, 里急后重, 大便干稀不调, 肛门灼热; 次症: 口干、发热、纳差、小便黄; 舌质红, 苔黄腻, 脉滑数; ③肝肾阴虚型. 主症: 腹痛隐隐, 腹内结块, 便秘, 大便带血为主症; 次症: 腰膝酸软, 头晕耳鸣, 口咽干燥, 盗汗, 形瘦纳差; 舌红少苔, 脉弦细数; ④瘀毒内阻型. 主症: 腹胀刺痛

拒按, 下利紫黑脓血, 量多; 次症: 痛处拒按, 烦热口渴, 唇甲青紫或有肌肤甲错; 舌质黯或有瘀斑、瘀点, 苔黄, 脉涩; ⑤脾肾阳虚型. 主症: 腹痛喜温喜按, 下利清谷, 五更泄泻, 见大便带血; 次症: 面色苍白或萎黄, 少气无力, 畏寒肢冷, 腰酸膝冷; 舌质淡胖有齿痕, 苔薄白, 脉沉细弱.

排除标准: (1)合并肝肾等其他重要脏器器质性病变者; (2)预计生存期<6 mo; (3)存在奥沙利铂、亚叶酸钙、5-氟尿嘧啶等药物过敏史者; (4)凝血机制紊乱或活动性出血者; (5)精神失常者.

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集: 自制临床资料调查问卷(经预试验, 本问卷内部一致性信度Cronbach's α 系数为0.85, 内容效度为0.92), 收集患者年龄、性别、肿瘤直径、卡氏评分(karnofsky performance scale, KPS)、临床分期、分化程度、淋巴结转移等资料, 其中KPS评分包括功能状况、体力状况两部分, 总分0-100分, 得分与生活质量呈正相关.

1.2.2 奥沙利铂方案化疗: (1)67例采用改良FOLFOX4方案: d1, 静脉滴注奥沙利铂(海南锦瑞制药有限公司, 国药准字H20143023, 规格: 50 mg)130 mg/m², 持续静脉滴注120 min; d1-5, 静脉滴注亚叶酸钙[江苏奥赛康药业有限公司, 国药准字H20060198, 规格: 50 mg(按亚叶酸计)]130 mg/m², 持续静脉滴注120 min, 同时静脉滴注5-氟尿嘧啶(远大医药黄石飞云制药有限公司, 国药准字H20051138, 规格: 0.5 g)300 mg/m², 持续静脉滴注240 min, 21 d为1个周期. (2)51例采用Xelox方案: d1, 静脉滴注奥沙利铂130 mg/m², 持续静脉滴注120 min; d1-14, 口服卡培他滨(正大天晴药业集团股份有限公司, 国药准字H20143044, 规格: 0.5 g)250 mg/m², 2次/d, 21 d为1个周期.

1.2.3 GSTP1基因多态性检测: 所有研究对象化疗前均留取2 mL静脉血, 置于乙二胺四乙酸抗凝管中, 严格按照赛默飞世尔科技(中国)有限公司提供的血液基因组DNA提取试剂盒说明书提取样本DNA, 采用北京海天友诚科技有限公司提供的752N型紫外分光光度计测定DNA纯度. GSTP1基因片段PCR扩增引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 引物序列如下: 上游引物: 5'-ACCCAGGGCTCTATGGGAA-3'; 下游引物: 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3'; 探针引物1(FAM): 5'-GCAAATACATCTCCCTCA-3'; 探针引物2(HEX): 5'-GCAAATACGTCTCCCTCA-3'. PCR扩增体系: 总共25 μ L, 分别为Nuclease-free Water 9.25 μ L, GSTP1上、下游引物、探针引物各0.5 μ L, Premix Taq 12 μ L, 基因组DNA 1 μ L, 二甲基亚砜1.25 μ L. PCR反应条件: 94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 72 $^{\circ}$ C 2 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s,

表 1 奥沙利铂化疗不同疗效患者临床资料

资料	有效患者(<i>n</i> = 108)	无效患者(<i>n</i> = 138)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i> 值
年龄(岁)	53.38 ± 7.19	54.22 ± 6.28	0.977	0.330
性别				
男	58(53.70)	77(55.80)	0.107	0.743
女	50(46.30)	61(44.20)		
肿瘤直径(cm)				
≤3	39(36.11)	47(34.06)	0.112	0.738
>3	69(63.89)	91(65.94)		
临床分期				
IIIB期	60(52.56)	45(32.61)	13.040	< 0.001
IV期	48(47.44)	93(67.39)		
分化程度				
中高分化	67(62.04)	57(41.30)	10.418	0.001
低分化	41(37.96)	81(58.70)		
淋巴结转移				
无	55(50.93)	40(28.99)	12.304	0.001
有	53(49.07)	98(71.01)		
KPS评分(分)				
60-70	43(39.81)	58(42.03)	0.123	0.726
> 70	65(60.19)	80(57.97)		

KPS评分: 卡氏状态功能评分标准。

63.4 °C低温复性30 s, 72 °C退火延伸30 s, 共40个循环。每个循环结束时, 自动检测荧光信号。分型结果由仪器自动生成。

1.2.4 质量控制: 上述操作均由接受专业培训后质检人员进行统计与检测, 并签署患者信息保密书, 以保证数据安全性, 保护患者隐私问题。

1.3 疗效判定标准 化疗3个周期后所有患者均接受CT检查, 采用单径测量法测定肿瘤直径、垂直径, 并参照RECIST标准^[12]评估两组治疗效果。完全缓解(complete response, CR): 肿瘤完全消失, 维持≥4 wk; 部分缓解(partial response, PR): 肿瘤最大直径与最大垂直径乘积减少>50.0%, 并维持≥4 wk; 疾病稳定(stable disease, SD): 介于PR、疾病进展(progressive disease, PD); PD: 肿瘤最大直径与最大垂直径乘积增加>25.0%, 或出现新病灶。总有效率=(CR+PR+SD)/总例数×100%。

1.4 观察指标 (1)统计GSTP1基因型分布情况; (2)分析奥沙利铂化疗疗效, 并比较不同化疗疗效患者临床资料; (3)比较不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况; (4)分析结肠癌患者奥沙利铂化疗疗效的影响因素; (5)统计结肠癌患者中医证型分布情况; (6)分析GSTP1基因型与中医证型的关系; (7)GSTP1基因型与中医病位证素的关系。

统计学处理 采用统计学软件SPSS 22.0处理数据, 计量资料采取Bartlett方差齐性检验与夏皮罗-威尔克

正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态布, 以mean±SD描述, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料用 $n(\%)$ 表示、 χ^2 检验, 等级资料用 u 表示、Ridit检验; 影响因素采用Logistic多因素回归分析。均采用双侧检验, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 GSTP1基因型分布情况 GSTP1基因Ile105Val位点经Taqman-PCR法检测显示: 野生纯合型(AA)、突变杂合型(AG)、突变纯合型(GG), PCR扩增目的片段经琼脂糖凝胶电泳鉴定后, 随机选取10%样本进行基因测序验证, 使用BioEdit version 5.0.6软件查看测序结果, 证实GSTP1基因Ile105Val位点存在多态性。PCR产物电泳图见图1。本研究246例样本中, 共检测到140例AA, 82例AG, 24例GG, 多态性分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验, 具有人群代表性($P>0.05$)。

2.2 奥沙利铂化疗疗效及不同疗效患者临床资料 246例结肠癌患者经奥沙利铂方案化疗3个周期后, CR 0例, PR 58例, SD 50例, PD 138例, 总有效率为43.90%(108/246)。有效患者年龄、性别、肿瘤直径、KPS评分与无效患者差异无统计学意义; 有效患者临床分期、分化程度、淋巴结转移与无效患者差异有统计学意义($P<0.05$), 见表1。

表 2 不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况

组别	例数	AA	AG	GG
有效患者	108	36(33.33)	54(50.00)	18(16.67)
无效患者	138	104(75.36)	28(20.29)	6(4.35)
χ^2			5.829	
P			<0.001	

表 3 奥沙利铂化疗疗效的影响因素

变量	β	$S.E.$	Wald χ^2	P	OR	95%CI
临床分期						
IIIB期					1.000	
IV期	1.072	0.314	11.651	<0.001	2.921	1.813–4.705
分化程度						
低分化					1.000	
中高分化	-0.555	0.178	9.710	<0.001	0.574	0.362–0.911
淋巴结转移						
无					1.000	
有	1.543	0.452	11.658	<0.001	4.680	2.428–9.021
GSTP1基因型						
AA					1.000	
AG	-0.742	0.201	12.889	<0.001	0.486	0.317–0.745
GG	-0.644	0.197	10.683	<0.001	0.525	0.334–0.826

表 4 GSTP1基因型与中医证型的关系

中医证型	AA($n=140$)	AG($n=82$)	GG($n=24$)	χ^2	P
瘀毒内阻型	19(13.57)	36(43.90)	15(62.50)	38.509	<0.001
脾肾阳虚型	38(27.14)	22(26.83)	2(8.33)	4.018	0.134
气血双亏型	41(29.29)	6(7.32)	2(8.33)	17.884	<0.001
湿热蕴结型	24(17.14)	9(10.98)	1(4.17)	3.733	0.155
肝肾阴虚型	18(12.86)	9(10.98)	4(16.67)	0.565	0.754
χ^2	20.804	48.262	35.104		
P	<0.001	<0.001	<0.001		

表 5 GSTP1基因型与中医证素的关系

基因型	例数	肝	脾	大肠	肺	肾
AA	140	18(12.86)	38(27.14)	24(17.14)	41(29.19)	57(40.71)
AG	82	9(10.98)	34(41.46)	9(10.98)	4(4.88)	25(30.49)
GG	24	4(16.67)	16(66.67)	1(4.17)	1(4.17)	4(16.67)
χ^2		0.565	15.664	3.733	23.959	6.292
P		0.754	<0.001	0.155	<0.001	0.043

2.3 不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况 Ridit检验, 有效患者GSTP1基因型分布情况与无效患者存在显著差异($P<0.05$), 见表2.

2.4 奥沙利铂化疗疗效的影响因素 以奥沙利铂化疗疗效为因变量(有效 = 0, 无效 = 1), 以临床分期、分化程度、淋巴结转移、GSTP1基因型作为自变量(临床分期:

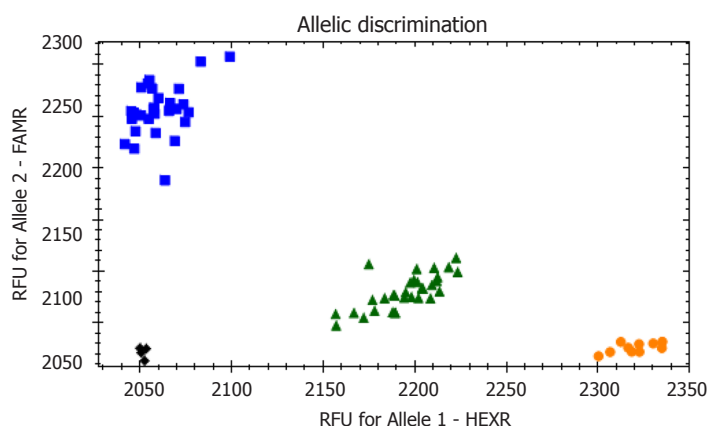


图1 分型结果散点图。

IIIB期 = 1, IV期 = 2; 分化程度: 低分化 = 1, 中高分化 = 2; 淋巴结转移: 否 = 0, 是 = 1; GSTP1基因型引入哑变量赋值: AA = 1, AG = 2, GG = 3), Logistic回归分析, IV期结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是IIIB期患者的2.730倍; 中高分化结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是低分化患者的0.558倍; 有淋巴结转移的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是无淋巴结转移的4.570倍; GSTP1基因型AG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.470倍, GSTP1基因型GG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.502倍($P < 0.05$), 见表3。

2.5 结肠癌患者中医证型分布情况 118例结肠癌患者中医证型分布情况: 瘀毒内阻型 > 脾肾阳虚型 > 气血双亏型 > 湿热蕴结型 > 肝肾阴虚型, 详见图2。

2.6 GSTP1基因型与中医证型的关系 瘀毒内阻型、气血双亏型患者GSTP1基因型分布存在显著差异($P < 0.05$), 脾肾阳虚型、湿热蕴结型、肝肾阴虚型患者GSTP1基因型分布差异无统计学意义; 不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布差异有统计学意义($P < 0.05$); 见表4。

2.7 GSTP1基因型与中医病位证素的关系 不同GSTP1基因型患者中医病位证素脾、肺、肾分布差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表5。

3 讨论

由于中晚期结肠癌患者病灶通常无法彻底切除, 姑息性切除适应证少, 故化疗是其治疗首选方案, 但化疗方案较多, 并非所有患者均能从特定化疗方案中获益^[13,14], 因此, 明确影响结肠癌化疗疗效因素, 有助于指导临床拟定针对性化疗方案。

3.1 结肠癌奥沙利铂化疗疗效与GSTP1基因多态性的关联性 GSTP1属II相代谢酶, 可结合亲电子细胞毒药物, 提高亲电子细胞毒药物水溶性, 调控化疗药物代谢^[15-17],

Ile105Val是其最为常见的一种多态, 可降低GSTP1酶稳定性及催化活性。本研究中, 246例结肠癌患者GSTP1基因Ile105Val位点符合Hardy-Weinberg遗传平衡, 可见纳入患者具有良好群体代表性。另外, 闫晋等^[18]研究证实, 与突变型编码的GSTP1酶解毒活性比较, GSTP1 Ile105Val野生型编码的GSTP1酶解毒活性可上调2-3倍。本研究经Logistic多因素回归分析, GSTP1基因型AG、GG是结肠癌患者奥沙利铂化疗效果的保护因素, 这可能归因于GSTP1酶作为调控铂类药物代谢的重要酶, 其突变后可明显减弱GSTP1酶结合奥沙利铂的能力, 抑制奥沙利铂代谢排出, 进而增强机体对铂类药物的敏感性。由此可见, GSTP1基因可能是结肠癌奥沙利铂敏感性的标志之一。但McLeod等^[19]通过520例晚期大肠癌患者却发现, GSTP1 GG基因型患者因神经毒性可能终止FOLFOX方案化疗进程, 与本研究结果存在一定差异, 可能与种族、地域不同有关。另外, 在评估奥沙利铂化疗疗效的同时还应将临床分期、分化程度、淋巴结转移等因素纳入考虑范围内, 以减少研究结果偏移。

3.2 结肠癌中医证型与GSTP1基因多态性的关系 目前结肠癌中医证型尚无统一标准。方汉钦^[20]研究认为, 结肠癌临床分期为III期、IV期患者以虚证多见, 主要表现为气滞血瘀证。另有学者指出^[21], 大肠癌证候演变多是由实转虚, 随病情演变, 正邪胶着日久, 肿瘤末期脏腑机能损伤, 气血津液损伤, 故虚证是大肠癌晚期常见证型。本研究将结肠癌分为5种中医证型, 其中证型分布以虚证为多见, 尤以脾肾阳虚型多见, 实证分布以瘀毒内阻型最为多见, 考虑其原因可能与结肠癌病理机制存在一定相关性, 本虚标实是结肠癌病机, 素体亏虚是其内因, 邪气外侵是其外因, 正气虚衰, 致使邪气留滞不去, 脾虚运化无力, 痰湿结聚体内, 气血运化不畅, 日久化热, 与瘀、毒搏结日久而致病。另有学者通过分析GSTP1遗传多态性发现^[22], AA、AG及GG 3种基因型患者兼夹脾证素频率逐一减小, 说明GSTP1基因多态性可能影响结

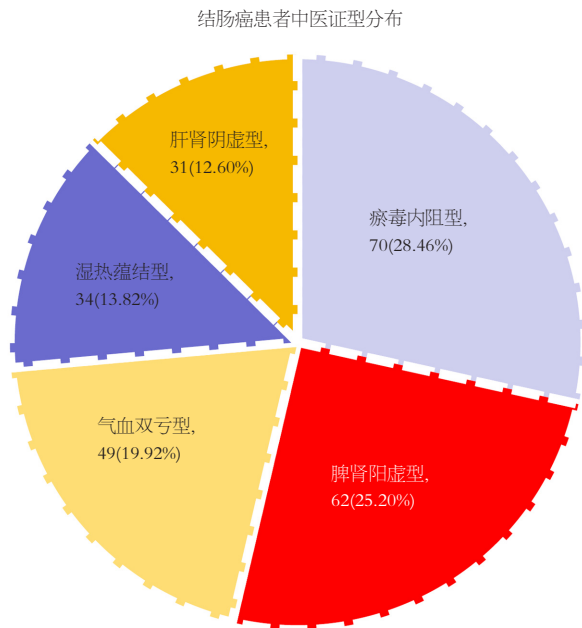


图2 结肠癌患者中医证型分布情况。

直肠癌术后患者气虚证兼夹。本研究结果表明, *GSTP1* 基因AG、GG患者中医证型以瘀毒内阻型为多, 且不同 *GSTP1* 基因型分布患者中医证型分布、中医病位证素脾、肺、肾分布比较, 差异有统计学意义, 由此推测, 结肠癌患者 *GSTP1* 基因多态性与中医证型存在一定相关性, 这可能与不同 *GSTP1* 基因型对基因产物酶活性或代谢底物亲和性的影响不一, 从而诱导患者出现不同中医证型易患趋势有关, 同时, 不同中医证型奥沙利铂化疗敏感性不一可能也是上述结果出现的原因之一。

4 结论

综上所述, 结肠癌患者 *GSTP1* 基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型均存在一定相关性, 因此检测 *GSTP1* 基因多态性, 有助于评价患者接受以奥沙利铂为基础药物化疗的治疗效果, 判断中医证型, 从而为结肠癌个体化治疗提供科学指导。

文章亮点

实验背景

目前对于结肠癌的治疗, 比较有效的还是常规手术和药物化疗, 但是由于受遗传因素的影响, 基因型不同人群可能对化学药物的敏感性不同。同时, 中医对癌症的辅助治疗也可能受到遗传因素的作用, 而产生不同的治疗效果。

实验动机

本研究试图探讨遗传因素之基因多态性对化疗药物敏

感性和中医证型之间的联系, 为结肠癌患者的更有效治疗提供基因分型的依据和化疗药物的使用指导。

实验目标

本研究旨在通过对 *GSTP1* 基因进行分型, 建立结肠癌患者对奥沙利铂敏感性和中医证型关系的模型, 从而确定不同基因型的患者对同样化疗药物以及中医证型的敏感程度, 为结肠癌患者的靶向治疗提供借鉴和依据。

实验方法

本研究主要采用数据分析的方法, 分析结肠癌患者奥沙利铂化疗疗效的影响因素, 统计并分析 *GSTP1* 基因型与中医证型和中医病位证素的关系, 分别从中医和西医两方面来阐述 *GSTP1* 基因型对肠癌患者治疗效果的影响。

实验结果

GSTP1 基因型AG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.470倍, *GSTP1* 基因型GG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.502倍。不同 *GSTP1* 基因型分布患者中医证型分布, 中医病位证素脾、肺、肾分布均有显著差异。

实验结论

结肠癌患者 *GSTP1* 基因多态性与奥沙利铂敏感性有关, 和中医证型也有一定的相关性, 有助于评价患者是否适用于接受奥沙利铂等铂类药物化疗药进行治疗, 判断中医证型, 指导结肠癌的个体化治疗。

展望前景

本研究是基于统计学方法建立模型来研究, 同时大部分患者均来自周边, 因此受到地域和样本量等因素的影响, 要反映整体中国或汉族人群的情况, 还有待进一步扩大其他地域的样本量来进一步验证。

5 参考文献

- 周维富, 邓旭峰, 方智民, 张文勇, 刘晓丽, 沈玉光. 结肠癌术后11年肺转移1例报道. 重庆医学 2018; 47: 575-576 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.04.048]
- 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, Hoffe 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, Wutrick 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]
- 丛照, 樊建慧. P-糖蛋白对结肠癌多药耐药的影响. 中国生物化学与分子生物学报 2019; 35: 19-26 [DOI: 10.13865/j.cnki.qjbm.2019.01.04]

- 4 张诗慧, 丁伶清, 林美钦, 宋洪涛. 基因多态性与结直肠癌患者奥沙利铂化疗不良反应的相关性. 中国新药杂志 2018; 27: 1572-1576
- 5 胡晓云, 吴志堃, 陈瑜, 魏敏杰, 吴慧哲. 大肠癌DNA修复通路基因和ABCG2基因的多态性与奥沙利铂化疗的环境因素及预后的相关性. 中国药理学与毒理学杂志 2019; 33: 148
- 6 王俊杰. 奥沙利铂化疗的结直肠癌患者证素分布情况与GSTP1多态性的关系. 福建中医药大学 2016
- 7 李然, 马旭, 白羽. 奥沙利铂在消化道肿瘤患者中药物相关基因单核苷酸多态性及化疗不良反应相关性研究. 中国医院药学杂志 2020; 40: 203-207 [DOI: 10.13286/j.1001-5213.2020.02.15]
- 8 张清月. GSTP1基因启动子区rs6591256多态性与结直肠癌发病风险、生物学行为及预后的关联研究. 中国医科大学 2019
- 9 Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, Tanaka S, Ito Y, Ajioka Y, Hamaguchi T, Hyodo I, Igarashi M, Ishida H, Ishihara S, Ishiguro M, Kanemitsu Y, Kokudo N, Muro K, Ochiai A, Oguchi M, Ohkura Y, Saito Y, Sakai Y, Ueno H, Yoshino T, Boku N, Fujimori T, Koinuma N, Morita T, Nishimura G, Sakata Y, Takahashi K, Tsuruta O, Yamaguchi T, Yoshida M, Yamaguchi N, Kotake K, Sugihara K; Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2015; 20: 207-239 [PMID: 25782566 DOI: 10.1007/s10147-015-0801-z]
- 10 孙桂芝. 实用中医肿瘤学. 北京: 中国中医药出版社 2009: 3
- 11 吴勉华. 中医内科学. 北京: 中国中医药出版社 2012: 266
- 12 张萍, 艾斌. 实体瘤免疫治疗疗效评价标准. 国际肿瘤学杂志 2016; 43: 848-851 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2016.11.012]
- 13 肖鹏, 梅家转, 白桦, 栗敏, 刘桂举, 李瑞君, 沈杰. 细胞色素P450 1A1基因多态性对奥沙利铂联合卡培他滨方案治疗结直肠癌患者临床疗效的影响. 中国临床药理学与治疗学 2018; 23: 159-164 [DOI: 10.12092/j.issn.1009-2501.2018.02.008]
- 14 陈琦, 程景洪, 周芯茹, 孟凡义, 孔洁红, 汪维鹏, 张洪建. PD-L1基因多态性与结直肠癌患者奥沙利铂化疗疗效和安全性的相关性研究. 现代生物医学进展 2018; 18: 1828-1832 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.006]
- 15 Bhat A, Masood A, Wani KA, Bhat YA, Nissar B, Khan NS, Ganai BA. Promoter methylation and gene polymorphism are two independent events in regulation of GSTP1 gene expression. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317697563 [PMID: 28443466 DOI: 10.1177/1010428317697563]
- 16 Nissar S, Sameer AS, Rasool R, Chowdri NA, Rashid F. Promoter methylation and Ile105Val polymorphism of GSTP1 gene in the modulation of colorectal cancer risk in ethnic Kashmiri population. *Indian J Cancer* 2019; 56: 248-253 [PMID: 31389389 DOI: 10.4103/ijc.IJC_11_18]
- 17 Rajesh D, Balakrishna S, Azeem Mohiyuddin SM, Suryanarayana R, Kutty AVM. Novel association of oral squamous cell carcinoma with GSTP1 Arg187Trp gene polymorphism. *J Cell Biochem* 2019; 120: 5906-5912 [PMID: 30378178 DOI: 10.1002/jcb.27877]
- 18 闫晋, 谢利明, 沈国芳, 于德栋, 王一霖. GSTP1 Ile105Val基因多态性与口腔癌易感性的meta分析. 上海口腔医学 2014; 23: 498-504
- 19 McLeod HL, Sargent DJ, Marsh S, Green EM, King CR, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, Findlay BP, Thibodeau SN, Grothey A, Morton RF, Goldberg RM. Pharmacogenetic predictors of adverse events and response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer: results from North American Gastrointestinal Intergroup Trial N9741. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3227-3233 [PMID: 20530282 DOI: 10.1200/JCO.2009.21.7943]
- 20 方汉钦. 结肠癌中医证型与血液高凝状态的相关性研究. 福建中医药大学 2019
- 21 许仲宁, 杨宇飞. 晚期大肠癌中医证素在KRAS、BRAF、NRAS基因突变类型中的分布差异性分析. 中华中医药杂志 2017; 32: 1029-1032
- 22 廖凌虹, 魏丞, 崔欢, 王俊杰, 吴同玉. 结直肠癌术后患者气虚证的兼夹特点及其影响因素的研究. 世界中医药 2017; 12: 2509-2513 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.058]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6,7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年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。

经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内膜异位症1例并文献复习

王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌

王超, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌, 天津市第五中心医院消化内科 天津市 300450

郑末, 天津市第五中心医院病理科 天津市 300450

王超, 医师, 2013年大连医科大学硕士, 主要从事消化内镜诊断和治疗方面工作。

作者贡献分布: 查阅文献及手稿的写作由王超完成; 手术操作由孙光斌完成; 病理阅片由郑末完成; 资料收集由王超、李甜甜、王珏磊共同完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化内科. sun19660901@sina.com

收稿日期: 2021-02-17

修回日期: 2021-03-13

接受日期: 2021-03-26

在线出版日期: 2021-05-08

Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review

Chao Wang, Mo Zheng, Tian-Tian Li, Jue-Lei Wang, Guang-Bin Sun

Chao Wang, Tian-Tian Li, Jue-Lei Wang, Guang-Bin Sun, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450 China

Mo Zheng, Pathology Department, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Corresponding author: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2021-02-17

Revised: 2021-03-13

Accepted: 2021-03-26

Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

Endometriosis is a chronic estrogen-dependent disease that occurs in women of childbearing age. Ectopic endometrium can invade any part of the body. Since colonic endometriosis has a low incidence and atypical clinical manifestations, it is difficult to diagnose and has a high misdiagnosis rate.

CASE SUMMARY

A woman presented with diarrhea and she was diagnosed as having colonic endometriosis by endoscopic piecemeal mucosal resection, which helped avoid unnecessary surgery.

CONCLUSION

Endoscopic piecemeal mucosal resection for large biopsy may be used as a method to improve the diagnostic rate of colorectal endometriosis. But it needs to be confirmed by a large sample study.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon; Endometriosis; Endoscopic piecemeal mucosal resection; Big biopsy

Citation: Wang C, Zheng M, Li TT, Wang JL, Sun GB. Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 496-500

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/496.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.496>

摘要

背景

子宫内膜异位症是发生于育龄期女性的一种慢性雌

激素依赖性疾病, 异位内膜可侵犯全身任何部位, 结直肠子宫内膜异位症发生率低, 临床表现不典型, 误诊率高。

病例简介

本文报道了1例因腹泻就诊于消化科内科的患者, 通过内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)确诊了结直肠子宫内膜异位症, 避免了不必要的外科手术。

结论

应用EPMR大活检或可作为提高结直肠子宫内膜异位症诊断率的一种方法, 但尚需大样本量的研究证实。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠; 子宫内膜异位症; 内镜下分次黏膜切除术; 大活检

核心提要: 结直肠子宫内膜异位症发病率低, 诊断率低, 极易误诊, 本文报道了1例经内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)诊断的结直肠子宫内膜异位症, 为临床诊断结直肠子宫内膜异位症提供了一个新的诊疗思路。

文献来源: 王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌. 经内镜下分次黏膜切除术诊断结直肠子宫内膜异位症1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 496-500

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/496.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.496>

0 引言

内异症是指有活性的内膜细胞种植在子宫内膜以外的位置而形成的一种妇科疾病, 该疾病好发于育龄期女性, 可发生于盆腔的所有组织和器官, 以卵巢、子宫直肠凹陷和宫骶韧带最常见, 8%-12%累及肠道^[1], 其中90%发生于结肠段, 而乙状结肠、直肠最常受累。结肠内异症发病率低, 诊断困难, 误诊率高, 常常通过手术后病理才能得到诊断。本例通过内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)大活检确诊了1例乙状结肠内异症, 现对该病例进行回顾性分析, 并复习相关文献。

1 病例简介

1.1 临床资料 患者女性, 43岁, 因发现结肠黏膜病变一月余就诊。患者自述一月余前因腹泻3 d就诊于门诊并行结肠镜检查, 腹泻前无不洁饮食史, 无腹痛、腹胀、便血等不适症状, 近期否认体重下降。患者既往体健, 育

有1子, 平素月经周期规则, 月经量中等, 颜色正常, 否认痛经史。

1.2 实验室检查及影像表现 (1)血常规、凝血功能、CEA、CA125、CA199均未见异常; (2)结肠镜示(图1A、1B): 乙状结肠距肛门18 cm局部黏膜隆起, 表面粗糙、片状红, 局部肠腔略狭窄, 范围约1.5 cm × 1.8 cm, 内镜可通过; 病理示黏膜慢性炎症并轻度急性炎症, 局部黏膜水肿并轻度出血部分隐窝结构紊乱, 局灶腺上皮轻-中度异型增生; (3)全腹平扫+增强CT(图2A、2B、2C、2D)检查考虑乙状结肠远段肠壁局部增厚, 考虑不排除乙状结肠肿瘤性病变, 结合结肠镜检查; (4)手术及病理: 因结肠镜病理提示乙状结肠黏膜局灶腺上皮轻-中度异型增生, 术前与家属充分沟通。手术经过: 进镜距肛门18 cm(乙状结肠)可见一平坦隆起性病变, 局部黏膜粗糙, 片状发红, 中央不规则凹陷, NBI示局部腺管开口紊乱, 肠道轻度狭窄, 肠管僵硬, 结肠袋形消失。考虑不排除黏膜下浸润癌, 或者与前次活检黏膜下粘连有关, 病灶整块切除可能性小, 再次与家属充分沟通后分次切除送病理, 行诊断性大活检, 依据病理结果决定下一步治疗措施。手术中对病灶行黏膜下注射, 抬举征阴性, 对病灶行黏膜下剥离, 分次圈套器切除。术后病理结果(图3): (乙状结肠, 活检)黏膜慢性炎症, 轻度活动, 局部黏膜水肿并轻度出血, 免疫组化染色固有膜内可见两小灶ER、PR、CD10和Vimentin阳性区域, 结合前次活检病理符合子宫内膜异位。免疫组化结果: CD(+), ER(+), PR(+), Vimentin(+).

2 最终诊断

结直肠子宫内膜异位症。

3 治疗

患者出院后就诊于专科医院, 未予特殊处理。

4 随访

出院后1年复查结肠镜示: 乙状结肠距肛门18 cm-20 cm处局部黏膜轻度隆起, 片状红、表面粗糙, 边界与正常黏膜分解不清; 再次复查全腹平扫+增强CT较前无明显变化。随访1年中, 患者未再出现腹泻, 无不适主诉, 定期随访复查。

5 讨论

内异症为一种慢性雌激素依赖性疾病, 是育龄期妇女腹痛、痛经、慢性盆腔疼痛及不孕的重要原因。目前内异症的发病机制尚不明确, 但对病因学提出了多种说法, 包括子宫内膜种植学说、淋巴及静脉播散学说、遗传学说、免疫学说等。1921年由Sampson^[2]提出了种

表 1 总结结肠子宫内膜异位症内镜下表现

作者/年限	平均年龄(岁)	位置	总结例数(个)	镜下表现
张晟瑜等, 2018 ^[10]	38.3 ± 8.9	直肠和乙状结肠	34	病灶呈隆起型或隆起, 顶端略有凹陷, 可伴局部肠腔狭窄; 病灶表面多充血, 伴结节感
李丽娟等, 2019 ^[12]	40.5	直肠和乙状结肠	2	大部分黏膜完整, 部分黏膜有充血、水肿、糜烂或浅溃疡, 有时可见炎性息肉, 少数见黏膜隆起, 导致肠腔狭窄
许捷鸿, 2009 ^[13]	33	直肠	5	病变呈结节样隆起, 围绕管腔可致肠腔环形狭窄, 病变部位黏膜有轻微或明显皱缩, 多呈一侧性或半周性放射状排列偶见黏膜下暗紫色出血斑
Lin等, 2018 ^[8]	48	直肠和乙状结肠	15	病变呈隆起型, 表面黏膜粗糙、充血, 呈小颗粒样增生, 伴管腔狭窄
Kim等, 2011 ^[14]	44	直肠和乙状结肠	17	病变呈偏心性增厚和息肉样隆起, 表面部分呈结节感

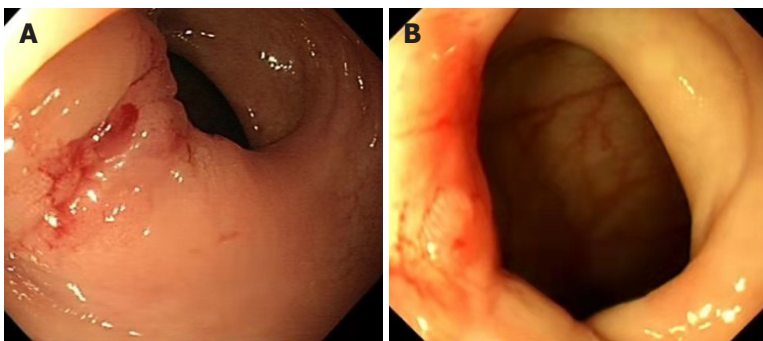


图 1 结肠镜示: A: 乙状结肠距肛门18 cm局部黏膜隆起, 表面粗糙、片状红, 局部肠腔略狭窄, 范围约1.5 cm × 1.8 cm, 内镜可通过; B: 乙状结肠距肛门18 cm-20 cm处局部黏膜轻度隆起, 片状红、表面粗糙, 边界与正常黏膜分解不清(1年后复查)。

植学说, 被多数学者广泛接受, 但并不能解释盆腔外内异症发生的原因, 也无法解释多数育龄期女性存在经血逆流, 但仅有10%-15%发病; 郎景和等^[3]提出了“在位内膜决定论”补充和修正了Sampson提出的“种植学说”, 解释了为什么多数育龄女性存在经血逆流, 但只有少数发病。近年有学者研究结肠内异症的发病机制是多因素的, 该研究表明与氧化应激、微生物、神经扩散及遗传等有关^[4]。有研究表明^[5], 15%-37%的盆腔内异症患者的子宫内膜异位会影响肠道。

结直肠内异症常引起腹痛、腹泻、便血、肠梗阻、便秘等消化道症状, 因此有相当一部分最终诊断为内异症的患者是以消化道症状为首发症状就诊于消化科, 如本文所述这例患者以腹泻为首发症状就诊于消化科而确诊的结肠内异症, 所以消化内科医师应深化对结直肠内异症的认识。结肠内异症的症状因受累部位及肠壁的深度而异, 若表现为肠腔狭窄或黏膜下肿瘤, 病变主要累及固有肌层或浆膜层; 若表现为便血, 病变主要累及黏膜层。

内异症有三种临床类型: 腹膜型、卵巢型和深层浸润型, 其中深层浸润型中有约24%的患者有乙状结肠或直肠受累^[6]。目前认为腹腔镜为诊断内异症的金标准, 但并不是每个病人都可以施行该手术, 即使腹腔镜诊

断的内异症, 其与病理检查结果的符合率也只有70%或更少^[3]; 消化道的子宫内膜异位诊断更困难, 据报道结直肠内异症的术前诊断不足10%^[7]。Lin等^[8]回顾性分析15例结肠内异症患者, 只有1例患者在结肠镜检查中怀疑内异症, 8例患者因临床表现为结肠癌而接受手术治疗, 术后病理诊断为内异症; Ishii等^[5]报道了7例结肠内异症合并结肠癌患者, 均没有在术前诊断为肠道内异症。其诊断率低的原因主要有: (1)内异症好发于育龄期女性, 偶见于绝经期女性, 部分患者临床症状与月经周期非一致性表现, 只有约40%的病人的症状是周期性的^[9], 往往容易出现漏诊, 如本例患者以“腹泻”为首发症状就诊, 追问病史腹泻与月经周期无规律性; (2)结肠内异症病灶常位于浆膜下及固有肌层, 黏膜下层亦可受累, 很少异位在黏膜层, 结肠镜活检数量少且难以取得更深层的组织, 所以病理结果阳性率低, 如本例患者首次行结肠镜检查病理结果提示为乙状结肠黏膜局灶腺上皮轻-中度异型增生, 活组织结果未见异位组织(本例患者共取活检5次, 包括2次深凿活检); (3)因消化道的子宫内膜异位症发病率低, 且无特征性的临床表现, 影像学及内镜检查可与结肠恶性肿瘤、炎症性肠病、感染性腹泻、缺血性肠病、放射性结肠炎、憩室病等疾病相混淆, 往往在临床上需要与以上疾病鉴别诊断; (4)临

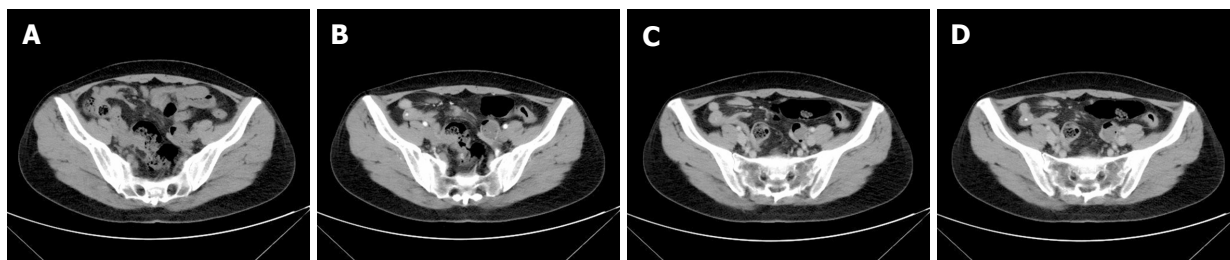


图2 全腹CT. A: 乙状结肠远段右侧肠壁局部增厚, 走行较僵硬, 最厚处约16 mm, CT值约36 HU, 浆膜面模糊; B: 乙状结肠远段增厚肠壁呈中度持续强化, 动脉期CT值约62 HU; C 门静脉期CT值约66 HU; D: 平衡期CT值约70 HU.

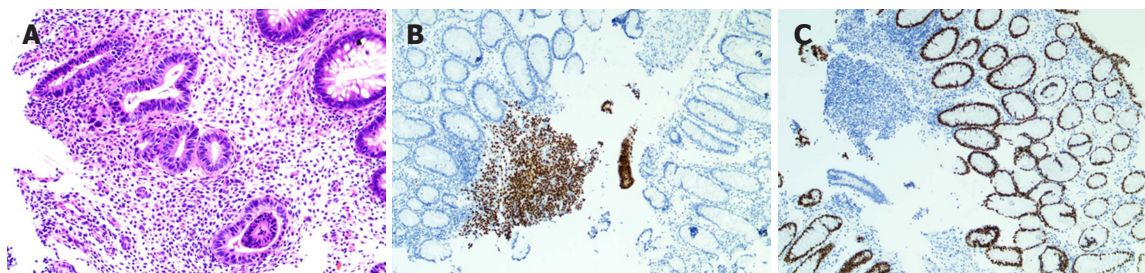


图3 术后病理. A: HE染色, 肠粘膜内可见异位的子宫内膜腺体和子宫内膜间质(10×20倍); B: 免疫组化染色ER显示异位子宫内膜腺体和子宫内膜间质均阳性(10×10倍); C: 免疫组化染色CDX-2显示子宫内膜腺体阴性, 而肠粘膜腺体阳性(10×10倍).

床医师对该疾病的认识不足, 易造成误诊或漏诊.

前文已提到结直肠子宫内膜异位症的术前诊断率低, 易误诊为结直肠恶性肿瘤, 因此术前尽可能提高其可能诊断或明确诊断率, 可避免部分患者非必要的手术治疗, 且为下一步临床治疗提供理论依据. 结肠镜为结直肠内异症的重要检查手段, 国内外对于结直肠内异症的报道多为个案报道, 对于总结结肠镜下表现的文献数量有限, 搜集国内外相关文献, 总结如下表1; 我国张晟瑜等^[10]对34例结直肠子宫内膜异位症的结肠镜下表现进行一项单中心回顾性研究, 尽管其为目前国内最大规模的研究, 但结肠镜下病变特点与月经周期的关系仍不明确, 而病灶特点可能随月经周期改变而变化; 本文所述病例结肠镜下表现为局部黏膜粗糙、片状红, 表面结节感, 隆起于结肠黏膜表面伴肠腔轻度狭窄, 与本文所总结的国内外相关文献结肠镜下特点相似. 结肠镜下活检及加做免疫组化有助于诊断结直肠内异症, 但结直肠内异症很少异位在黏膜层, 所以内镜下活检阳性率低; 张晟瑜等^[10]提出适当增加活检数量, 可提高内镜下活检阳性率; Lin等^[8]提出内镜活检标本进行免疫组化可以提高肠道内异症的诊断率. 本文病例术前病理活检提示黏膜炎性改变, 局部轻-中度异型增生, 行EPMR大活检病理可见内膜间质, 免疫组化CD(+), ER(+), PR(+), Vimentin(+), 符合子宫内膜异位症. 结合本病例发现增加活检病变的深度及范围或可提高活检阳性率, 但本文病例数量少, 尚待更多样本量的研究证实. 结直肠内

异症病灶位置深, 单纯应用EPMR大活检诊断有局限性, 可联合超声内镜引导下细针穿刺(EUS-FNA)进行诊断; 国内相关文献^[11]报道对7例诊断为肠道内异症的患者行EUS-FNA, 镜下可见子宫内膜间质及腺体, 均诊断为内异症. 本例患者通过结肠镜下EPMR大活检及免疫组化诊断为结肠内异症, 未再进一步行超声内镜检查.

6 结论

综上所述, 随着内镜技术的发展, 将内镜下大活检联合超声内镜应用于诊断结直肠内异症, 或可作为提高其诊断的手段之一, 但尚需大样本量研究证实.

7 参考文献

- 1 Chou D, Perera S, Condous G, Cario G, Rosen D, Choi S, Al-Shamari M, Bukhari M. Shaving for Bowel Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2020; 27: 268-269 [PMID: 31783162 DOI: 10.1016/j.jmig.2019.11.012]
- 2 谢幸. 妇产科学(9版). 北京: 人民卫生出版社 2018: 261-267
- 3 郎景和. 子宫内膜异位症研究的深入和发展. *中华妇产科杂志* 2010; 45: 241-242 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2010.04.001]
- 4 Yong PJ, Bedaiwy MA, Alotaibi F, Anglesio MS. Pathogenesis of bowel endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2021; 71: 2-13 [PMID: 32646752 DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2020.05.009]
- 5 Ishii M, Yamamoto M, Tanaka K, Asakuma M, Masubuchi S, Hamamoto H, Akutagawa H, Egashira Y, Hirose Y, Okuda J, Uchiyama K. Intestinal endometriosis combined with colorectal cancer: a case series. *J Med Case Rep* 2018; 12: 21 [PMID: 29378641 DOI: 10.1186/s13256-017-1537-3]
- 6 Erol T, Reis E, Koç Ö, Taşbaş B. Colon resection for endometriosis. *Turk J Surg* 2019; 35: 325-328 [PMID: 32551431 DOI: 10.5578/turksurg.4054]

- 7 张文俊, 胡俊霞, 梁文波. 直肠子宫内膜异位症误诊直肠癌一例. 中华临床医师杂志 2012; 6: 537 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.02.074]
- 8 Lin TJ, Chang TA, Ting CT, Lin CL, Chen KY. Sigmoid colonic endometriosis mimicking colon cancer: A case report. *Advances in Digestive Medicine* 2018; 5: 59-62 [DOI: 10.1002/aid.213072]
- 9 Dimoulis P, Koutroubakis IE, Tzardi M, Antoniou P, Matalliotakis IM, Kouroumalis EA. A case of sigmoid endometriosis difficult to differentiate from colon cancer. *BMC Gastroenterol* 2003; 3: 18 [PMID: 12906714 DOI: 10.1186/1471-230X-3-18.]
- 10 张晟瑜, 李骥, 王强, 冯云路, 蒋青伟, 蒋芳, 费贵军, 姚方, 朱丽明, 钱家鸣, 杨爱明. 结直肠子宫内膜异位症的结肠镜下表现: 一项单中心回顾性研究. 中华内科杂志 2018; 57: 275-278 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.04.009]
- 11 郭文, 邱恩棋, 程天明, 朱薇, 周丹, 刑同印, 智发朝, 姜泊. EUS及EUS-FNA对肠道子宫内膜异位症的诊断价值探讨. 2012年中国消化病学大会 2012
- 12 李丽娟, 李淑莲, 王景波, 吴影. 结直肠子宫内膜异位症误诊为腺癌2例并文献复习. 牡丹江医学院学报 2019; 40: 85-88
- 13 许捷鸿. 直肠子宫内膜异位症的临床特点与误诊原因. 临床误诊误治. 2009; 22: 43-44
- 14 Kim KJ, Jung SS, Yang SK, Yoon SM, Yang DH, Ye BD, Byeon JS, Myung SJ, Kim JH. Colonoscopic findings and histologic diagnostic yield of colorectal endometriosis. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 536-541 [PMID: 21030871 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181fd297b]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景。

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

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

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:
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: 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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 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: j.l.wang@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, μ 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), ρ (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*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 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_r* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/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、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用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 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为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% CO₂应为50 mL/L CO₂; 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 = 45×10^{-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 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*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^a*P*<0.05或^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^c*P*<0.05和^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05和^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可1次完成, 不得多次完成, 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写作

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

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

3 手稿全文中文格式

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

3.2 作者 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2和3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人名写清楚自己对文章的贡献, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、单盲还是开放性; 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度; 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征; 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现和诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究. 结果应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确和具体, 所列数据经用何种统计学方法处理, 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值(概率写 P 后应写出相应显著性检验值). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

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

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法

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

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论

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

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

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^[1]报告……, 研究^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献^[8]. 所引参考文献必须以近2-3年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
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

